

## Predykcyjna rola ekspresji topoizomerazy II $\alpha$ w chemioterapii raka piersi z udziałem antracyklin

Katarzyna Sosińska-Mielcarek, Jacek Jassem

*Od wielu lat poszukuje się czynników predykcyjnych, które ułatwiłyby wybór optymalnego schematu chemioterapii. Antracykliny (doksorubicyna i epirubicyna) należą do najbardziej aktywnych cytostatyków w terapii raka piersi, jednak wywołują szereg działań niepożądanych – zarówno wczesnych, jak i późnych. W ostatnim czasie szczególne zainteresowanie budzi predykcyjna wartość oznaczenia ekspresji topoizomerazy II $\alpha$ . Topoizomeraza II $\alpha$  jest kluczowym enzymem w procesie replikacji DNA oraz celem molekularnym jej inhibitorów, w tym antracyklin. Wyniki badań in vitro wskazują, że raki piersi, w których stwierdza się wysokie stężenie topoizomerazy II $\alpha$ , są szczególnie wrażliwe na tę grupę leków. Dotychczasowe wyniki są obiecujące, jednak niewielkie grupy chorych objętych badaniami nie pozwalają jeszcze na wyciągnięcie ostatecznych wniosków i wprowadzenie oceny ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  jako standardowego testu diagnostycznego. Obecnie realizowane są dwa duże projekty, których celem jest ocena wartości tego markera jako czynnika predykcyjnego dla antracyklin stosowanych w leczeniu raka piersi. W niniejszej pracy przedstawiono obecny stan wiedzy na temat topoizomerazy II $\alpha$  w tym nowotworze.*

### Predictive role of topoisomerase II $\alpha$ expression in anthracycline based breast cancer chemotherapy

*Several studies have been performed to identify useful predictive factors for chemotherapy. Anthracyclines (doxorubicin and epirubicin) are considered to be among the most active cytostatic agents in breast cancer, however at the expense of considerable toxicity. Recently topoisomerase II $\alpha$  protein has attracted particular interest as a potential predictive factor for the anthracyclines. Topoisomerase II $\alpha$  is a key enzyme in DNA replication and a molecular target for topoisomerase II inhibitors, including anthracyclines. In vitro results indicate high anthracycline sensitivity in tumors with high topoisomerase II $\alpha$  expression. These early promising results are based on small groups of patients though and do not allow topoisomerase II $\alpha$  assays to be recommended as standard diagnostic tests. Two large ongoing projects are expected to verify topoisomerase II $\alpha$  role as a predictive factor for anthracycline based chemotherapy in breast cancer patients. This article summarizes current knowledge on topoisomerase II $\alpha$  predictive value in this tumor.*

**Słowa kluczowe:** topoizomeraza II $\alpha$ , antracykliny, rak piersi

**Key words:** topoisomerase II $\alpha$ , anthracyclines, breast cancer

### Wstęp

Rak piersi jest chorobą heterogenną, w której odpowiedź na chemioterapię wykazuje duże indywidualne różnice [1]. Od wielu lat poszukuje się więc czynników predykcyjnych, które ułatwiłyby indywidualny dobór schematu chemioterapii. W ostatnich latach szczególne zainteresowanie budzi potencjalna wartość predykcyjna markerów biologicznych. Wyniki dotychczasowych badań [2-4], w tym metaanalizy, przeprowadzonej przez Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG) [5] wskazują, że w leczeniu uzupełniającym raka piersi schematy z udziałem antracyklin są bardziej skuteczne niż stosowany uprzednio schemat CMF i jego pochodne. Leczenie

z udziałem antracyklin obarczone jest jednak większym ryzykiem działań niepożądanych, szczególnie kardiotoxycznością, oraz możliwością indukcji białaczki szpikowej [4-9]. Do tej pory wydawało się, że największe korzyści z zastosowania antracyklin mogą odnieść chore z nadekspresją receptora HER2 lub amplifikacją protoonkogenu HER2 w komórkach pierwotnego guza [10, 11]. Związek pomiędzy ekspresją receptora HER2 a wrażliwością na antracykliny bywa jednak kwestionowany [12, 13]. Równocześnie pojawiły się doniesienia, iż zwiększona wrażliwość na antracykliny guzów z nadekspresją HER2 może być związana z amplifikacją genu topoizomerazy II $\alpha$  (cecha ta występuje wyłącznie w guzach z amplifikacją HER2 i dotyczy w tej grupie około 25-40% przypadków) [14, 15]. Zależność ta ma także swoje biologiczne podstawy, bowiem biorąc udział w syntezie DNA topoizomeraza II $\alpha$  jest molekularnym celem jej inhibitorów, w tym antracyklin. Wstępne obserwacje sugerują, że komórki,

w których stwierdzono niższe stężenie topoizomerazy II $\alpha$ , cechuje mniejsza wrażliwość na antracykliny w porównaniu do komórek z wyższym stężeniem tego białka [16]. Wyniki te okazały się na tyle zachęcające, iż podjęto próby oceny predykcyjnej roli ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  w badaniach klinicznych. W niniejszej pracy przedstawiono obecny stan wiedzy na temat predykcyjnej wartości ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  u chorych na raka piersi leczonych antracyklinami.

### Topoizomeraza II $\alpha$

Topoizomerazy należą do rodziny enzymów biorących udział w procesach związanych z metabolizmem DNA, w tym transkrypcji, rekombinacji, replikacji oraz segregacji chromosomów podczas podziałów komórkowych [17]. Istnieją dwa rodzaje topoizomeraz: I i II. Typ I bierze udział w regulacji przestrzennej struktury DNA. W komórkach ludzkich istnieją natomiast dwie izoformy topoizomerazy II:  $\alpha$  (170-kd) i  $\beta$  (180-kd). Gen topoizomerazy II $\alpha$  zlokalizowany jest w chromosomie 17q21, w pobliżu genu HER-2 (17q12), a topoizomerazy II $\beta$  – w chromosomie 3p. Funkcja genu topoizomerazy II $\beta$  nie została do tej pory dokładnie poznana, nie wykazano również dla niego fazowo swoistego wzoru ekspresji [18, 19]. Topoizomeraza II $\alpha$  związana jest z segregacją nowo zreplikowanych par chromosomów, kondensacją i formowaniem szkieletu chromosomów oraz modyfikacją superhelisy DNA [20]. Najsilniejszą ekspresję topoizomerazy II $\alpha$  obserwuje się w fazie G<sub>2</sub>/M cyklu komórkowego, a najniższą – pod koniec mitozy [18, 19]. Topoizomeraza II $\alpha$  jest również celem molekularnym dla wielu leków nowotworowych z grupy jej inhibitorów, do których oprócz antracyklin należą także pochodne podofiliny, daktynomycyna oraz mitoksantron [21]. Hamowanie funkcji topoizomerazy II $\alpha$  prowadzi do powstania licznych wiązań wewnątrz nici DNA, które blokują podstawowe procesy życiowe – transkrypcję i replikację [22]. Komórki z uszkodzonym DNA eliminowane są na drodze apoptozy [23]. Wyniki badań *in-vitro* wskazują na związek pomiędzy nasileniem ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  w komórkach nowotworowych a wrażliwością na leki z grupy jej inhibitorów [13, 14, 16, 24–27]. Zaobserwowano również, że silna ekspresja topoizomerazy II $\alpha$  jest charakterystyczna dla komórek nowotworowych o dużej aktywności proliferacyjnej [27–29].

W około 45 do 80% pierwotnych raków piersi wykazujących amplifikację HER-2 stwierdza się zmienioną liczbę kopii genu dla topoizomerazy II $\alpha$  – amplifikację lub delecję, przy czym oba te zaburzenia występują z podobną częstością [20, 30]. Amplifikacja genu topoizomerazy II $\alpha$  występuje w około 8% wszystkich pierwotnych raków piersi [16, 20, 30–33]. Zjawiska tego nie obserwuje się w komórkach guzów z prawidłową liczbą kopii genu HER-2. Współwystępowanie podwyższonej liczby kopii obu genów próbowano tłumaczyć ich bliskim sąsiedztwem w chromosomie 17q (locus 17q12 oraz 17q21, co odpowiada odległości około 590 kilobaz), prowadzącym do jednoczasowej amplifikacji długiego odcinka chromosomu

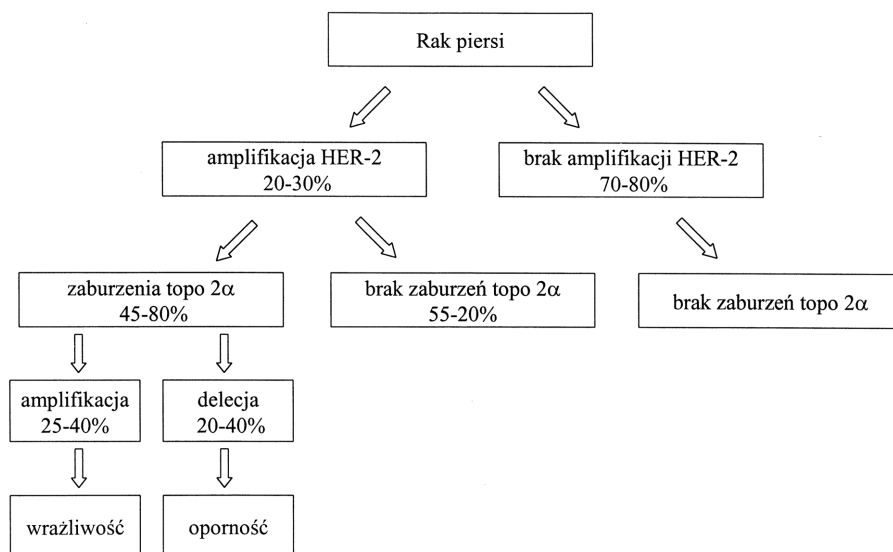
(amplikonu) zawierającego oba geny [31, 32]. Dalsze badania wykazały jednak, że mechanizm ten jest bardziej złożony, a geny te rozmieszczone są na oddzielnych amplikonach [33]. Dodatkowo wiadomo, iż w około 20 do 40% guzów z amplifikacją HER-2 obserwuje się zmniejszoną liczbę kopii genu topoizomerazy II $\alpha$  [20, 30]. Podobnie do amplifikacji genu topoizomerazy II $\alpha$ , również delecja nie występuje w komórkach bez nadekspresji lub amplifikacji genu HER-2, choć dane te wymagają jeszcze potwierdzenia [16, 33]. Mechanizm powstawania delecji genu topoizomerazy II $\alpha$  w komórkach z amplifikacją HER-2 nie został do tej pory poznany. Oprócz amplifikacji oraz delecji obserwuje się także mutację punktową genu topoizomerazy II $\alpha$ , ale zjawisko to jest rzadkie i nie przedstawia wartości diagnostycznej [34].

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że w rakach piersi z nadekspresją lub amplifikacją genu HER-2 liczba kopii genu topoizomerazy II $\alpha$  związana jest z odpowiedzią na leczenie inhibitorami topoizomerazy II $\alpha$ , przy czym amplifikacja wiąże się z większą, natomiast delecja – z mniejszą wrażliwością (Ryc. 1). Z drugiej strony w około 15% guzów z amplifikacją HER-2 stwierdza się heterogenną liczbę kopii genu topoizomerazy II $\alpha$  (współwystępowanie w obrębie tego samego guza komórek zarówno z amplifikacją, jak i delecją tego genu) [15, 20, 33]. Zjawisko to może utrudniać przewidywanie odpowiedzi na antracykliny oraz tłumaczyć powstającą często w trakcie leczenia chemiooporność.

Ponieważ czynniki predykcyjne oceniane są z reguły na podstawie materiału pochodzącego z guza pierwotnego, istniała również obawa, że w przypadku rozsiewu choroby nowotworowej może dochodzić do zmiany biologicznych cech guza. Okazało się jednak, że w większości przypadków amplifikacja lub nadekspresja topoizomerazy II $\alpha$  w ogniskach przerzutowych jest podobna do obserwowanej w guzie pierwotnym [1, 35, 36].

### Wartość predykcyjna genu i białka topoizomerazy II $\alpha$

Wyniki badań oceniających zależność pomiędzy amplifikacją genu topoizomerazy II $\alpha$  a nadekspresją jego białkowego produktu są różne. Jarvinen i wsp. [15, 16, 20] na podstawie badań *in vitro* zaobserwowali, że amplifikacji towarzyszy nadekspresja białka topoizomerazy II $\alpha$  i lepsza odpowiedź na antracykliny, natomiast delecji – mniejsza ekspresja i pierwotna oporność na te leki. Z kolei Durbecq i wsp. [30] oraz Mueller i wsp. [37] nie wykazali związku pomiędzy liczbą kopii genu topoizomerazy II $\alpha$  a ekspresją białka topoizomerazy II $\alpha$ . Dane te mogą sugerować, że regulacja ekspresji białka topoizomerazy II $\alpha$  jest procesem złożonym i może odbywać się na wielu poziomach komórkowych [30]. Dotychczas nie wiadomo więc, czy ocena odpowiedzi na antracykliny wymaga oznaczenia zarówno liczby kopii genu topoizomerazy II $\alpha$ , jak i poziomu ekspresji jego białkowego produktu, czy też wystarczy jedna z tych metod. Co szczególnie istotne, nadal nie ustalono także, która z tych metod ma większe znaczenie dla oceny odpowiedzi na antracykliny. Wydaje się, że oce-



**Ryc. 1.** Udział zaburzeń HER-2 i topoizomerazy II $\alpha$  (topo II $\alpha$ ) u chorych na raka piersi oraz przypuszczalny związek tych cech z odpowiedzią na antracykliny [15, 30]

**Figure 1.** HER-2 and topoisomerase II $\alpha$  (topo II $\alpha$ ) aberrations in breast cancer patients and its presumable correlation with anthracycline based chemotherapy

na amplifikacji jest metodą o wyższej swoistości, lecz mniejszej czułości w porównaniu z oceną ekspresji [30]. Odpowiedź na te i inne pytania przynieść mogą jedynie wyniki dużych badań klinicznych, porównujących wartość obu metod.

#### **Badania kliniczne oceniające przydatność amplifikacji genu topoizomerazy II $\alpha$ jako czynnika predykcyjnego dla antracyklin**

Obecnie dostępne są wyniki kilku badań mających określić przydatność oceny amplifikacji genu topoizomerazy II $\alpha$  jako czynnika predykcyjnego dla antracyklin [30, 38-42]. W badaniach tych wartość predykcyjną topoizomerazy II $\alpha$  oceniano u chorych otrzymujących chemioterapię przedoperacyjną, pooperacyjną oraz w rozsiałym raku piersi. Angelo di Leo i wsp. [38] opublikował w 2002 roku wyniki retrospektywnej analizy, przeprowadzonej w grupie 430 chorych na raka piersi, które otrzymywały pooperacyjną chemioterapię, zawierającą antracykliny w wysokiej lub średniej dawce, albo schemat CMF. Amplifikację topoizomerazy II $\alpha$  stwierdzono w 23 spośród 61 (38%) dostępnych próbek guzów z amplifikacją HER-2, co stanowiło 6% ogółu chorych na raka piersi. Amplifikacji topoizomerazy II $\alpha$  nie obserwowano w guzach bez nadekspresji lub amplifikacji genu HER-2. Mimo iż końcowa liczebność podgrup była niewielka, wykazano, że największe korzyści (czas do nawrotu) związane z leczeniem antracyklinami w porównaniu do schematu CMF uzyskano u chorych z amplifikacją zarówno HER-2, jak i topoizomerazy II $\alpha$ . W trzech innych badaniach ocenę wartości predykcyjnej amplifikacji topoizomerazy II $\alpha$  przeprowadzono u chorych na miejscowo zaawansowanego raka piersi, które otrzymywały przedoperacyjną chemioterapię z udziałem antracyklin [39, 40]. W badaniu Coona i wsp. [40] amplifikację topoizomerazy II $\alpha$  stwierdzono u 6 spo-

śród 35 badanych (17%). U wszystkich tych chorych wystąpiła również amplifikacja HER-2. W populacji tej uzyskano wyższy odsetek obiektywnych odpowiedzi na leczenie w porównaniu do grupy z prawidłową liczbą kopii genu topoizomerazy II $\alpha$  ( $p = 0,034$ ). W badaniu tym u wszystkich chorych oceniano również ekspresję topoizomerazy II $\alpha$ , przy czym amplifikacja okazała się bardziej wiarygodnym czynnikiem predykcyjnym. Podobne wyniki – amplifikacja topoizomerazy II $\alpha$  u 19 spośród 67 badanych chorych (28%), wyłącznie w komórkach z amplifikacją HER-2, uzyskali Park i wsp. [39]. Odsetek odpowiedzi u chorych bez amplifikacji topoizomerazy II $\alpha$  oraz HER-2 był znacznie niższy niż w grupie wykazującej te cechy. Z kolei w badaniu Petita i wsp. [41], obejmującym 119 chorych, nie wykazano związku pomiędzy amplifikacją topoizomerazy II $\alpha$  lub HER-2 a odpowiedzią na antracykliny. W badaniu Cardoso i wsp. [42], obejmującym 350 chorych na miejscowo zaawansowanego lub rozsianego raka piersi, najwyższy odsetek odpowiedzi na antracykliny uzyskano w podgrupie chorych z amplifikacją topoizomerazy II $\alpha$ . Nie stwierdzono natomiast związku pomiędzy amplifikacją HER-2 a odpowiedzią na chemioterapię. Podobne wyniki uzyskano w badaniu belgijskim [30]. Amplifikacja topoizomerazy II $\alpha$  była najsilniej wyrażona u chorych z całkowitą odpowiedzią na leczenie z udziałem antracyklin.

#### **Badania kliniczne oceniające przydatność ekspresji topoizomerazy II $\alpha$ jako czynnika predykcyjnego dla antracyklin**

Wyniki dotychczasowych badań, oceniających predykcyjną rolę występowania topoizomerazy II $\alpha$  w komórkach raka piersi, są zróżnicowane. Jednym z podstawowych problemów jest brak jednolitego punktu odcięcia, klasyfikującego wynik badania immunohistochemicznego jako

dodatni – w poszczególnych badaniach granica ta wahała się w przedziale pomiędzy 10 a 36% komórek wykazujących obecność tego białka w jądrach komórkowych [30, 40, 43, 44]. W części przypadków ocena wyników była również utrudniona nieswoistym barwieniem się struktur pozajądrowych [43]. Dodatkową trudność stanowi zależność stężenia topoizomerazy II $\alpha$ , uważanej za marker aktywności proliferacyjnej guza, od fazy cyklu komórkowego [30]. Badanie Di Leo i wsp. [43], obejmujące chore otrzymujące chemioterapię uzupełniającą (CMF lub schematy zawierające antracykliny), potwierdziło obserwowaną w badaniach *in vitro* większą skuteczność leczenia antracyklinami guzów z nadekspresją topoizomerazy II $\alpha$ . Spośród czterech badań, w których wartość predykcyjną ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  oceniano u chorych otrzymujących indukcyjną chemioterapię, w dwóch [40, 44] cecha ta była związana z wyższym odsetkiem odpowiedzi na antracykliny, a w pozostałych dwóch [41, 45] nie wykazano takiej zależności. Związku pomiędzy ekspresją topoizomerazy II $\alpha$  a odpowiedzią na chemioterapię nie stwierdzili także Jarvinen i wsp. [46] w badaniu obejmującym chore na rozlanego raka piersi.

### Projekty nowych badań

Ponieważ wyniki dotychczasowych badań nad predykcyjną rolą genu oraz białka topoizomerazy II $\alpha$  nie są rozstrzygające, podjęto próbę oceny tego zagadnienia w większych grupach chorych. Obecnie realizowane są dwa projekty. Pierwszy z nich ma na celu ocenę predykcyjnej wartości HER-2 i topoizomerazy II $\alpha$  we wczesnym raku piersi. W tym celu planuje się przeprowadzenie retrospektywnej metaanalizy, obejmującej dane pochodzące z czterech badań klinicznych [3, 4, 9, 47], porównujących skuteczność pooperacyjnej chemioterapii zawierającej antracykliny ze schematem CMF. Ocena zaburzeń genów HER-2 oraz topoizomerazy II $\alpha$  zostanie przeprowadzona za pomocą metody hybrydyzacji *in situ* (FISH) w centralnym laboratorium. Hipoteza badawcza zakłada wyższą skuteczność chemioterapii zawierającej antracykliny w podgrupie chorych z jednoczesną amplifikacją HER-2 i topoizomerazy II $\alpha$ . Drugi projekt – badanie TOP (Trial of Principle) – zakłada natomiast prospektywną ocenę genu i białka topoizomerazy II $\alpha$  u chorych otrzymujących chemioterapię indukcyjną z użyciem epirubicyny. Autorzy tego badania oczekują, że w podgrupie z równoczesną amplifikacją HER-2 i topoizomerazy II $\alpha$  udział całkowitych remisji potwierdzonych badaniem histopatologicznym (pCR) będzie 3-krotnie wyższy w porównaniu z podgrupą z prawidłową liczbą kopii genu topoizomerazy II $\alpha$ , natomiast u chorych u których nie stwierdzi się amplifikacji HER-2 ale wystąpi nadekspresja topoizomerazy II $\alpha$  (obserwowana w guzach o wysokiej aktywności proliferacyjnej, niezależnie od liczby kopii genu HER-2), udział całkowitych remisji potwierdzonych badaniem histopatologicznym będzie 2,5-krotnie wyższy. Dodatkowo w badaniu tym planuje się przeprowadzenie analizy mikromacierzy cDNA oraz oceny mutacji genu *P53*.

### Wnioski

W dalszym ciągu poszukuje się czynników predykcyjnych, które umożliwiłyby właściwy wybór schematu chemioterapii. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wskazują, że rolę taką dla antracyklin mogłaby spełniać topoizomeraza II $\alpha$ . Istnieje jednak szereg pytań dotyczących roli i mechanizmów regulacji genu topoizomerazy II $\alpha$  oraz jego białkowego produktu. Nadal nie wiadomo, czy konieczne jest zarówno badanie molekularne jak i immunohistochemiczne, oraz która z tych metod ma większą wartość predykcyjną. Nie stworzono również jednolitych kryteriów oceny ekspresji topoizomerazy II $\alpha$ , co utrudnia bezpośrednie porównanie wyników różnych badań klinicznych. Dodatkowo niewielka liczba chorych w dotychczasowych badaniach nie pozwala na zastosowanie oceny topoizomerazy II $\alpha$  w praktyce klinicznej. Wątpliwości te mogą zostać wyjaśnione jedynie na podstawie ujednoliconej oceny dużych grup chorych. Oczekuje się, że rozstrzygające znaczenie mogą mieć wyniki dwóch przygotowywanych obecnie projektów badawczych.

**Prof. dr hab. med. Jacek Jasem**  
Klinika Onkologii i Radioterapii AMG  
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 7  
tel./ fax: +58-349 22 70  
e-mail: jjassem@amg.gda.pl

### Piśmiennictwo

- Cardoso F, Di Leo A, Larsimont D i wsp. Evaluation of HER2, p53, bcl-2, topoisomerase II-alpha, heat shock proteins 27 and 70 in primary breast cancer and metastatic ipsilateral axillary lymph nodes. *Ann Oncol* 2001; 12: 615-20.
- Hutchins L, Green S, Ravdin P i wsp. CMF versus CAF with and without tamoxifen in high-risk node negative breast cancer patients and a natural history follow-up study in low-risk node negative patients: first results of Intergroup trial INT 0102. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17: 1a.
- Mouridsen HT, Andersen J, Anderson M i wsp. Adjuvant anthracycline in breast cancer. Improved outcome in premenopausal patients following substitution of methotrexate in CMF combination with epirubicin. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; 18: 68a.
- Levine MN, Bramwell VH, Pritchard KI i wsp. Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2651-8.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998; 19: 352: 930-42.
- Zambetti M, Moliterni A, Materazzo C i wsp. Long-term cardiac sequelae in operable breast cancer patients given adjuvant chemotherapy with or without doxorubicin and breast irradiation. *J Clin Oncol* 2001; 19: 37-43.
- Bonneterre JM, Roche H, Kerbrat P i wsp. Long-term cardiac follow-up in free of disease patients after receiving 6 FEC 50 vs 6 FEC 100 (FASG-05 trial) as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: 39a.
- Buzdar AU, Kau SW, Smith TL i wsp. Ten-year results of FAC adjuvant chemotherapy trial in breast cancer. *Am J Clin Oncol* 1989; 12: 123-8.
- Piccatt MJ, Di Leo A, Beauduin M i wsp. Phase III trial comparing two dose levels of epirubicin combined with cyclophosphamide with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in node-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3103-10.

10. Thor AD, Berry DA, Budman DR i wsp. erbB-2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymph node-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1346-60.
11. Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF. When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19:2334-56.
12. Pegram MD, Finn RS, Arzoo K i wsp. The effect of HER-2/neu overexpression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 1997; 15: 537-47.
13. Jarvinen TA, Liu ET. Effects of HER-2/neu on chemosensitivity of tumor cells. *Drug Resist Updat* 2000; 3: 319-324.
14. Withoff S, Keith WN, Knol AJ i wsp. Selection of a subpopulation with fewer DNA topoisomerase II alpha gene copies in a doxorubicin-resistant cell line panel. *Br J Cancer* 1996; 74: 502-7.
15. Jarvinen TA, Liu ET. HER-2/neu and topoisomerase IIalpha in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 78: 299-311.
16. Jarvinen TA, Tanner M, Rantanen V i wsp. Amplification and deletion of topoisomerase IIalpha associate with ErbB-2 amplification and affect sensitivity to topoisomerase II inhibitor doxorubicin in breast cancer. *Am J Pathol* 2000; 156: 839-47.
17. Wang JC. DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem.* 1996; 65: 635-92.
18. Meyer KN, Kjeldsen E, Straub T i wsp. Cell cycle-coupled relocation of types I and II topoisomerases and modulation of catalytic enzyme activities. *J Cell Biol* 1997; 136: 775-88.
19. Yang X, Li W, Prescott ED i wsp. DNA topoisomerase IIbeta and neural development. *Science* 2000; 287: 131-4.
20. Jarvinen TA, Liu ET. HER-2/neu and topoisomerase IIalpha – simultaneous drug targets in cancer. *Comb Chem High Throughput Screen* 2003; 6: 455-70.
21. Kellner U, Sehested M, Jensen PB i wsp. Culprit and victim – DNA topoisomerase II. *Lancet Oncol.* 2002; 3: 235-43.
22. Potemski P, Stempczyńska J. Leczenie systemowe nowotworów. W: Kordek R (red.). *Onkologia. Podręcznik dla studentów*. Wyd. 1. Gdańsk: Medical Press SC; 2003, 68-74.
23. Froelich-Ammon SJ, Osheroff N. Topoisomerase poisons: harnessing the dark side of enzyme mechanism. *J Biol Chem.* 1995; 270: 21429-32.
24. Gurdkov AV, Zelnick CR, Kazarov AR i wsp. Isolation of genetic suppressor elements, inducing resistance to topoisomerase II-interactive cytotoxic drugs, from human topoisomerase II cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90: 3231-5.
25. Mo YY, Ameiss KA, Beck WT. Overexpression of human DNA topoisomerase II alpha by fusion to enhanced green fluorescent protein. *Biotechniques* 1998; 25: 1052-77.
26. Zhou Z, Zwelling LA, Kawakami Y i wsp. Adenovirus-mediated human topoisomerase IIalpha gene transfer increases the sensitivity of etoposide-resistant human breast cancer cells. *Cancer Res* 1999; 59: 4618-24.
27. Jarvinen TA, Kononen J, Pelto-Huikko M i wsp. Expression of topoisomerase IIalpha is associated with rapid cell proliferation, aneuploidy, and c-erbB2 overexpression in breast cancer. *Am J Pathol* 1996; 148: 2073-82.
28. Sandri MI, Hochhauser D, Ayton P i wsp. Differential expression of the topoisomerase II alpha and beta genes in human breast cancers. *Br J Cancer* 1996; 73: 1518-24.
29. Rudolph P, Olsson H, Bonatz G i wsp. Correlation between p53, c-erbB-2, and topoisomerase II alpha expression, DNA ploidy, hormonal receptor status and proliferation in 356 node-negative breast carcinomas: prognostic implications. *J Pathol* 1999; 187: 207-16.
30. Di Leo A, Isola J. Topoisomerase II alpha as a marker predicting the efficacy of anthracyclines in breast cancer: are we at the end of the beginning? *J Clin Breast Cancer* 2003; 4: 179-86.
31. Murphy DS, McHardy P, Coutts J i wsp. Interphase cytogenetic analysis of erbB2 and topoII alpha co-amplification in invasive breast cancer and polysomy of chromosome 17 in ductal carcinoma in situ. *Int J Cancer* 1995; 64: 18-26.
32. Hoare SF, Freeman CA, Coutts JC i wsp. Identification of genetic changes associated with drug resistance by reverse in situ hybridization. *Br J Cancer* 1997; 75: 275-82.
33. Jarvinen TA, Tanner M, Barlund M i wsp. Characterization of topoisomerase II alpha gene amplification and deletion in breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 26: 142-50.
34. Prost S. Mechanisms of resistance to topoisomerases poisons. *Gen Pharmacol* 1995; 26: 1673-84.
35. Tanner M, Jarvinen P, Isola J. Amplification of HER-2/neu and topoisomerase IIalpha in primary and metastatic breast cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 5345-8.
36. Durbecq V, Di Leo A, Cardoso F i wsp. Comparison of topoisomerase-IIalpha gene status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 77: 199-204.
37. Mueller RE, Parkes RK, Andrulis I i wsp. Amplification of the TOP2A gene does not predict high levels of topoisomerase II alpha protein in human breast tumor samples. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 288-97.
38. Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D i wsp. HER-2 amplification and topoisomerase IIalpha gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1107-16.
39. Park K, Kim J, Lim S i wsp. Topoisomerase II-alpha (topoII) and HER2 amplification in breast cancers and response to preoperative doxorubicin chemotherapy. *Eur J Cancer* 2003; 39: 631-4.
40. Coon JS, Marcus E, Gupta-Burt S i wsp. Amplification and overexpression of topoisomerase IIalpha predict response to anthracycline-based therapy in locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1061-7.
41. Petit T, Wilt M, Velten M i wsp. Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2004; 40: 205-11.
42. Cardoso F, Durbecq V, Larsimont D i wsp. Correlation between complete response to anthracycline-based chemotherapy and topoisomerase II-alpha gene amplification and protein overexpression in locally advanced/metastatic breast cancer. *Int J Oncol* 2004; 24: 201-9.
43. Di Leo A, Larsimont D, Gancberg D i wsp. HER-2 and topo-isomerase IIalpha as predictive markers in a population of node-positive breast cancer patients randomly treated with adjuvant CMF or epirubicin plus cyclophosphamide. *Ann Oncol* 2001; 12: 1081-9.
44. MacGrogan G, Rudolph P, Mascarel Id i wsp. DNA topoisomerase IIalpha expression and the response to primary chemotherapy in breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 666-71.
45. Burcombe RJ, Makris A, Wilson G i wsp. Evaluation of topoisomerase IIalpha as a predictor of clinical and pathological response to neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: 447a.
46. Jarvinen TA, Holli K, Kuukasjarvi T i wsp. Predictive value of topoisomerase IIalpha and other prognostic factors for epirubicin chemotherapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1998; 77: 2267-73.
47. Earl H, Poole C, Dunn J i wsp. NEAT National Epirubicin Adjuvant Trial, a multicenter phase III randomized trial of epirubicin x 4 and classical CMF x 4 vs CMF x 6. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: 60b.

Otrzymano: 26 października 2004 r.  
Przyjęto do druku: 6 stycznia 2005 r.