

# Porównanie ekspresji protoonkogenu c-myc w prawidłowym i nowotworowym endometrium u kobiet

MACIEJ SKRZYPCZAK\*, JULITA ZIELEWICZ, STANISŁAW WINIARCZYK\*\*, JACEK WOJCIEROWSKI, JERZY A. JAKOWICKI\*, LESZEK KACZMAREK

\*II Katedra i Klinika Ginekologii Wydziału Lekarskiego AM, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin  
Zakład Genetyki Medycznej AM, ul. Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin

\*\*Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Skrzypczak M., Zielewicz J., Winiarczyk S., Wojcierowski J., Jakowicki J. A., Kaczmarek L.  
**Differential analyses of the expression of c-myc gene in normal and neoplastic endometrium**

## Summary

The last two decades have brought about significant discoveries in the molecular mechanisms of oncogenesis. Genes which play a major role in the malignant transformation of cells and are also important in many processes important for the life of cells, such as differentiation, regeneration and programmed cell death, have been discovered in vertebrate genomes (including those of humans).

The aim of the present study was to evaluate the expression of the c-myc gene in normal and neoplastic endometrium of humans by in-situ hybridization, and to test this expression in relation to histopathological and clinical parameters. The study examined over thirty five tissue samples taken from patients of the Department of Gynecological Surgery at the Lublin University School of Medicine. Twenty cases involved patients with Aden carcinoma. Normal endometrial tissue was found in fifteen samples - seven from the proliferate phase and eight from the secretive phase. All cases involved the expression of the c-myc gene. Expression was higher in the carcinogenic tissue than in normal endometrium both in the proliferate and secretion phases. The location and changes of signal in the menstrual cycle and in the carcinogenic cells confirm the important role of the c-myc gene in neoplastic transformation.

**Keywords:** c-myc gene, endometrium, endometrial cancer, in-situ hybridization

W komórkach kręgowców znajdują się onkogeny homologiczne z genami onc retrovirusów (onkogenne wirusy typu RNA). Komórkowe geny onc są naturalnymi genami, które biorą udział w procesach różnicowania (6), w przebiegu rozwoju embrionalnego (12), w procesach regeneracji (9), a ich ekspresję w genomie osobników dojrzałych wykazano, między innymi, w aktywnie proliferujących komórkach i programowanej śmierci komórki, czyli apoptozie (7), oraz w procesie rozwoju łożyska (8).

W komórkach nowotworowych aktywowane są niektóre z genów onc. Będąc naturalnym elementem genomu Eukariota posiadają silne właściwości rakotwórcze wynikające z umiejscowienia się genu onc w sąsiedztwie wirusowych sekwencji promotorowych. Zakażenie hodowli komórkowej lub zwierząt rekombinantami takich wirusów może prowadzić do zwiększonej ekspresji białka onc i indukcji nowotworów (10).

Jednym z najwcześniej odkrytych onkogenów jest gen c-myc. Gen c-myc człowieka, homologiczny do v-myc wirusa mieloblastozy ptaków (MC29) (1), liczący 4053 par zasad, został zlokalizowany na chromosomie 8 w regionie q24.

Ekspresję genu c-myc zaobserwowano w komórkach dzielących się, gdzie wzrost aktywności transkrypcyjnej był związany z transformacją nowotworową.

Ekspresja genu c-myc jest pod ścisłą kontrolą wielu czynników, w tym również produktu genu przeciwnowotworowego Rb1 (4), protoonkogenu c-ABL (26), czynnika NF- $\kappa$ B czy białka Yin-Yang-1. Mechanizmy aktywujące transkrypcję genu c-myc mogą mieć istotne znaczenie w genezie powstawania nowotworów wielu rodzajów tkanek: płuc, macicy (3), jelita (5), gruczołu piersiowego, kości. W organizmach transgenicznych zwiększonej ekspresji genu c-myc towarzyszyła podwyższona aktywność transkrypcyjna kilku innych onkogenów, takich jak: Ha-RAS i MYB (27) oraz BCL-2 (21), co w rezultacie prowadziło do przyspieszenia rozwoju nowotworów. W komórkach nie proliferujących poziom mRNA genu c-myc i białka c-Myc jest praktycznie niewykrywalny (25).

Celem badań było wykazanie ekspresji protoonkogenu c-myc w gruczolakoraku błony śluzowej macicy oraz odniesienie jej poziomu do parametrów klinicznych i histopatologicznych.

## Materiał i metody

*Endometrium* nowotworowe pobierano od pacjentek operowanych w Klinice Ginekologii Operacyjnej AM w Lublinie i zamrażano w  $-70^{\circ}\text{C}$ . Pokrojone na kriostacie w temperaturze  $18-20^{\circ}\text{C}$  skrawki tkankowe o grubości 12-16  $\mu\text{m}$  utrwalano przez 10 minut w zimnym roztworze 4% paraformaldehydu.

Matrycą do syntezy sondy cRNA był fragment restrykcyjny PstI otrzymany w wyniku cięcia enzymem PstI DNA genu c-MYC, obejmujący większą część sekwencji kodującej drugi ekson genu (ok. 1 kpz) i wklonowany w wektor pGEM1 firmy Promega. Reakcję syntezy znakowanej sondy przeprowadzono metodą transkrypcji *in vitro* używając: 40 mM Tris HCl pH 7,9, 6 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM dithio-treitolu, 2 mM spermidyny, 0,5 mM ATP, 0,5 mM GTP, 0,5 mM CTP, 0,5 mM bio-11-UTP; 2,5 jednostki SP6 RNA Polimerazy. Inkubację mieszaniny reakcyjnej o objętości 50  $\mu\text{l}$  przeprowadzono przez 1 godzinę w temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$ . Reakcję przerywano przez umieszczenie próbki w łaźni lodowej. Ilość otrzymanej sondy sprawdzano metodą detekcji biotylowanych sond RNA z zastosowaniem streptawidyny i fosfatazy alkalicznej sprzężonej z biotyną.

Reakcję hybrydyzacji przeprowadzono przez 12 godzin w  $37^{\circ}\text{C}$  w buforze o składzie: 50% dejonizowany formamid,  $4 \times \text{SSC}$ , 10% siarczan dekstranu, 400  $\mu\text{g/ml}$  nośnikowy DNA łososia i cRNA znakowanej nieradioaktywnie sondy w ilości 100 ng/ml.

Preparaty po zakończeniu hybrydyzacji z nieradioaktywną sondą płukano w warunkach wysokiej specyficzności. Wstępnie płukanie przeprowadzono w temperaturze pokojowej, stosując  $1 \times \text{SSC}$  przez 3 minuty, a następnie płukano w  $0,2 \times \text{SSC}$  buforze przez 30 minut w temperaturze  $52^{\circ}\text{C}$ .

Preparaty tkankowe po etapie płukania poddawano inkubacji z enzymem RN-azą A, stosowaną w stężeniu 20  $\mu\text{g/ml}$  w buforze z  $2 \times \text{SSC}$  przez 10 minut w temperaturze pokojowej i przez 3 minuty w PBS o temperaturze pokojowej.

Detekcję związanej w reakcji hybrydyzacji sondy wykrywano metodą detekcji biotylowanych sond RNA z zastosowaniem streptawidyny i fosfatazy alkalicznej sprzężonej z biotyną.

Następnie preparaty traktowano 80% etanolem przez 20 sek., pokrywano olejkim imersyjnym oraz przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i fotografowano pod mikroskopem firmy Olympus z przystawką fotograficzną.

Ocenę ilości mRNA c-myc wykrywanego reakcją hybrydyzacji *in situ* w każdym preparacie mikroskopowym przeprowadzono na losowo wybranych dwustu komórkach gruczołowych i dwustu komórkach podścieliska. Intensywność reakcji określano w umownej skali od 0 do +4.

Ogólną ocenę preparatu przeprowadzono przyjmując wartość, którą wykazywało 30 lub więcej procent badanych komórek.

Dodatkowo oceniano reakcję barwną nad jądrem komórkowym i cytoplazmą. Każdy preparat był oceniany dwukrotnie (w powiększeniach  $500 \times$  i  $1000 \times$ ) w minimum pięciu

polach widzenia. Mikroskopowej oceny ekspresji genu c-myc w badanych preparatach dokonywały niezależnie dwie osoby.

W opracowaniu statystycznym otrzymanych wyników badań procentowej ilości komórek o określonym poziomie ekspresji protoonkogenu c-myc z uwzględnieniem różnych faz cyklu miesięczkowego prawidłowej błony śluzowej kobiety, stopnia zróżnicowania G1-G3, klasyfikacji klinicznej FIGO oraz głębokości naciekania mięśnia macicy, miejsca pochodzenia ekspresji dla tkanek nowotworowych i prawidłowych wyliczono podstawowe parametry: oceny wyników, średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Dla stworzonych grup wyników, uwzględniających powyższy podział w porównaniach zastosowano jedną z metod wnioskowania statystycznego opartą o testy nieparametryczne: test Manna-Whitneya (porównanie dwóch grup) i test Kruskala-Wallisa (porównanie więcej niż trzech grup). Istotność różnic stwierdzono przy poziomie  $p < 0,05$ .

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica wersja 4.5, firmy StatSoft Inc.USA, w wersji pracującej pod kontrolą systemu operacyjnego Windows 95 PL na komputerze IBM PC Pentium-10.

## Wyniki i omówienie

Badania ekspresji genu c-myc przeprowadzono w grupie 35 ( $n = 35$ ) pacjentek operowanych w Klinice Ginekologii Operacyjnej II Katedry Położnictwa i Chorób Kobiety AM w Lublinie. Wiek pacjentek wynosił od 39 do 73 lat. Materiał w przypadku prawidłowego *endometrium* stanowiło piętnaście pacjentek. Siedem przypadków pochodziło z fazy wzrostowej cyklu miesięczkowego, natomiast z fazy wydzielniczej cyklu pochodziło osiem przypadków.

Dwadzieścia przypadków stanowiły pacjentki z rozpoznaniem *adenocarcinoma endometriale*, osiem przypadków było dobrze zróżnicowanych, a ich stopień zróżnicowania wg klasyfikacji WHO wynosił G1.

**Tab. 1. Odsetek komórek wykazujących ekspresję c-myc mRNA (powyżej +1) w preparatach tkankowych z prawidłowej i nowotworowej błony śluzowej macicy u kobiet**

Błona śluzowa macicy	Komórki podścieliska		Komórki gruczołowe	
	Jądro	Cytoplazma	Jądro	Cytoplazma
Prawidłowa	17,90	13,60	39,67	37,50
• faza proliferacyjna	20,20	8,86	53,72	19,99
• faza wydzielnicza	17,38	17,75	26,75	52,87
Nowotworowa	33,80	23,40	62,15	50,50
• stopień G1	15,10	16,90	43,90	42,90
• stopień G2	43,30	24,80	71,80	50,80
• stopień G3 wg WHO	43,90	36,90	73,20	65,00
Nowotwory naciekające < 1/2	22,00	7,40	46,20	40,00
Nowotwory naciekające > 1/2 wg FIGO	36,40	26,20	65,60	54,00
Nowotwory stopień I	30,30	18,80	59,70	47,00
Nowotwory stopień II i III	44,50	35,20	74,70	62,20

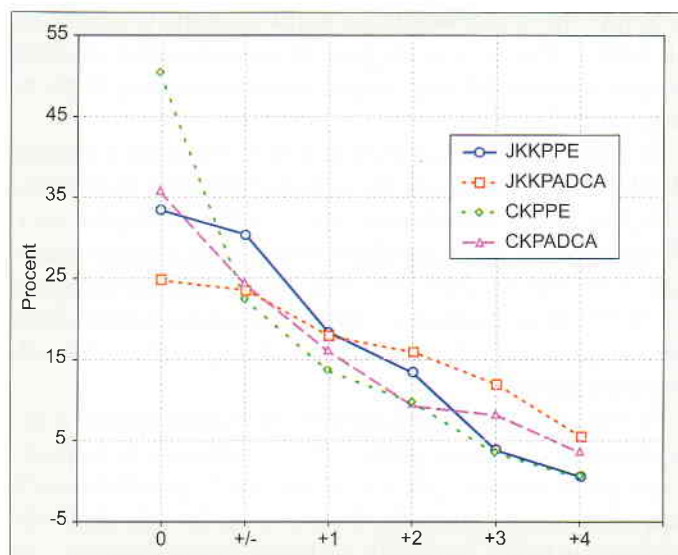


W ośmiu przypadkach stwierdzono stopień zróżnicowania G2, cztery przypadki były słabo zróżnicowane G3.

U piętnastu pacjentek wykazano głębokie naciekanie mięśnia macicy, podawane w opisie histopatologicznym jako przekraczające 1/2 jego grubości. U pięciu pacjentek głębokość naciekania *myometrium* wynosiła poniżej 1/2 jego grubości. W 16 przypadkach stwierdzono I stopień zaawansowania klinicznego wg FIGO. Stopień II stwierdzono u dwóch pacjentek, stopień III również posiadały dwie pacjentki. W ocenie ogólnej ekspresja genu *c-myc* w rakach gruczołowych była wyraźnie podwyższona w porównaniu z prawidłowym *endometrium*. Dotyczy to zwłaszcza komórek gruczołowych i nowotworów nisko zróżnicowanych (stopień zróżnicowania G3) (tab. 1).

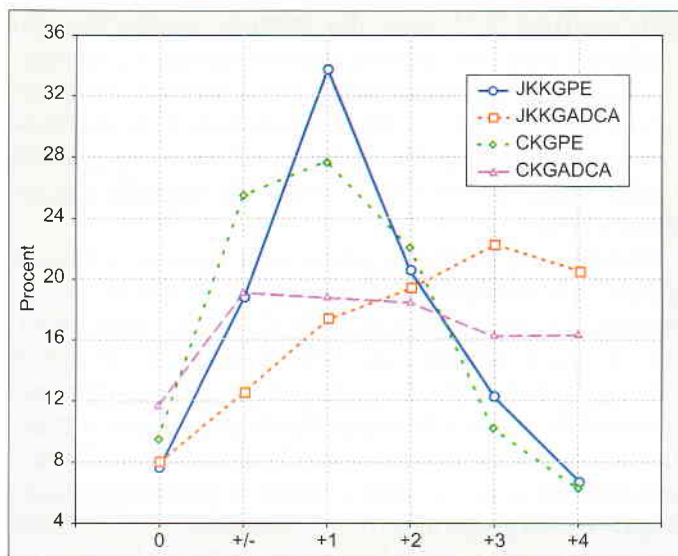
W tabeli 1 przedstawiono poziom mRNA *c-myc* w komórkach podścieliska i komórkach gruczołowych błony śluzowej macicy z analizowanych przypadków gruczolaka. Wyniki przedstawiono w procentach komórek wykazujących różny stopień ekspresji tego genu (od 0 do +4). Zliczenia liczby komórek poszczególnych poziomów ekspresji wykonywano odrębnie dla obszaru jąder i cytoplazmy. Wyniki te były podstawą dalszej analizy statystycznej.

Porównanie ekspresji genu *c-myc* w komórkach prawidłowego *endometrium* z komórkami tkanki nowotworowej przedstawiają ryc. 1 i 2. W komórkach podścieliska również w przypadku tkanki nowotworowej przeważały komórki nie wykazujące ekspresji genu *c-myc* lub wykazujące ekspresję bardzo słabą. Dla gruczolaka komórki silnie wyznakowane stanowiły 33,4% (sygnał pochodzący z jądra komórkowego) i 21,6% (sygnał pochodzący z cytoplazmy), podczas gdy wartości te dla prawidłowego *endometrium* wykazywały odpowiednio 18% i 13,6%. Dane te są znamienne statystycznie ( $p < 0,01$ ). W komórkach gruczołowych gruczolaka przeważają zdecydowanie komórki bardzo silnie wyznakowane (ponad 3+). Stanowią one 42,75% (sygnał pochodzenia jądrowego) i 32,55% (sygnał cytoplazmatyczny). Odpowiednie wartości dla *endometrium* prawidłowego wynosiły 19% i 16,5%. Różnice te są statystycznie znamienne ( $p < 0,02$ ). W tabeli 1 zostały przedstawione wyniki średnie procentów komórek wykazujących ilość *c-myc* mRNA (powyżej +1) w preparatach z błony śluzowej macicy prawidłowej i nowotworowej z rozbiciem na komórki podścieliska i komórki gruczołowe. Z przedstawionych danych wynika, że ilość mRNA *c-myc* jest znacznie większa w komórkach gruczołowych niż w komórkach podścieliska we wszystkich badanych grupach. W *endometrium* nowotworowym ekspresja genu *c-myc* jest znacznie podwyższona w stosunku do prawidłowej błony śluzowej, dotyczy to zarówno komórek podścieliska, jak i komórek gruczołowych. Również w tym przypadku przeważa lokalizacja w jądrze komórkowym zarówno w komórkach gruczołowych, jak i w komórkach podścieliska. W mało zaawansowanych przypadkach nowotworów (stopień G1,



Ryc. 1. Porównanie ekspresji protoonkogenu *c-MYC* w komórkach podścieliska prawidłowego *endometrium* z podścieliskiem nowotworowym

Objaśnienia: JKKPPE – jądro komórkowe komórek podścieliska prawidłowego *endometrium*; JKKPADCA – jądro komórkowe komórek podścieliska gruczolaka *endometrium*; CKPPE – cytoplazma komórek podścieliska prawidłowego *endometrium*; CKPADCA – cytoplazma komórek podścieliska gruczolaka *endometrium*



Ryc. 2. Porównanie ekspresji protoonkogenu *c-myc* w komórkach gruczołowych prawidłowego *endometrium* z *endometrium* nowotworowym

Objaśnienia: JKKGPE – jądro komórkowe komórek gruczołowych prawidłowego *endometrium*; JKKGADCA – jądro komórkowe komórek gruczołowych gruczolaka *endometrium*; CKGPE – cytoplazma komórek gruczołowych prawidłowego *endometrium*; CKGADCA – cytoplazma komórek gruczołowych gruczolaka *endometrium*

brak naciekania, I° zaawansowania klinicznego) ekspresja genu *c-myc* jest porównywalna z zaobserwowaną w prawidłowej błonie śluzowej macicy, zwłaszcza z wartościami średnich oznaczeń dla jąder komórkowych fazy proliferacyjnej lub cytoplazmy fazy sekrecyjnej. W przypadkach zaawansowanych ekspres-

ja genu *c-myc* jest wyraźnie podwyższona w stosunku do normy. Dotyczy to zwłaszcza nowotworów stopnia zróżnicowania G3 oraz stopni zaawansowania klinicznego guza II i III.

W komórkach gruczołowych nowotworów o niskim stopniu zróżnicowania (G3) podwyższenie to wynosi 188,3% (jądra komórkowe) i 123,3% (cytoplazma). W komórkach podścieliska wartości te są jeszcze większe i wynoszą 245,2% dla jąder komórkowych i 271,3% dla cytoplazmy. Wynika to prawdopodobnie ze zwiększonej liczby komórek nowotworowych w podścielisku.

W naszych badaniach obserwowaliśmy ogólne podwyższenie ekspresji genu *c-myc* zarówno w komórkach podścieliska, jak i w komórkach gruczołowych tkanek nowotworowych. (ryc. 1, ryc. 2 i tab. 1). Podwyższenie to dla komórek podścieliska wykazujących ekspresję genu *c-myc* na poziomie +3 i +4 wynosiło 1,85 razy dla sygnału pochodzącego z jąder komórkowych i 1,59 razy dla sygnału pochodzącego z cytoplazmy. W przeliczeniu na liczbę komórek podścieliska wykazujących obecność mRNA *c-myc* ekspresja w tkance nowotworowej była podwyższona w tym samym stopniu (tab. 1). Podwyższenie liczby komórek gruczołowych wykazujących silną ekspresję genu *c-myc* w stosunku do prawidłowego *endometrium* osiągało wartość 2,25 razy dla sygnału pochodzącego z jądra i 2 razy dla sygnału pochodzącego z cytoplazmy. Również liczba komórek gruczołowych wykazujących jakikolwiek sygnał hybrydyzacji była w nowotworach znacznie podwyższona (1,6 razy dla sygnału z jąder komórkowych i 1,35 razy dla sygnału z cytoplazmy) (tab. 1).

Zwiększoną ekspresję genu *c-myc* opisano w rakach jądra (20), woreczka żółciowego (23), piersi, szyjki macicy (18, 19), trzonu macicy (2, 3, 18). Sato i wsp. (18) oceniali tkankę raka *endometrium* u 10 kobiet i stwierdzili zwiększoną ekspresję genu *c-myc* we wszystkich badanych przypadkach, przy czym wyraźnie większa ekspresja dotyczyła komórek nabłonka nowotworowego w porównaniu z podścieliskiem. Wspomniana grupa autorów w odróżnieniu od naszych badań obserwowała także immunohistochemicznie wysoką ekspresję białka *c-Myc* we wszystkich badanych przypadkach oraz stwierdziła zgodność pomiędzy wynikami uzyskanymi drogą hybrydyzacji *in situ* z mRNA *c-Myc* a badaniami białka *c-Myc* identyfikowanego immunohistochemicznie. Należy zauważyć, że podwyższenie zawartości mRNA lub białka *c-Myc* w komórkach nowotworowych nie musi być uważane za atrybut tych komórek, ale może wynikać z ich zwiększonej aktywności proliferacyjnej. Wynika to, między innymi, z badań Kaczmarka i wsp. (5), oceniających ekspresję genu *c-myc* w komórkach raka jelita grubego w odniesieniu do ekspresji markera fazy S cyklu komórkowego. Przyczyną zwiększenia ilości mRNA *c-myc* w komórkach nowotworowych może być zarówno amplifikacja genu *c-myc*, jak i jego pod-

wyższona ekspresja. W naszych badaniach jednak nie określaliśmy stopnia amplifikacji tego genu.

Odniesienie uzyskanych wyników oznaczeń poziomu mRNA *c-myc* w komórkach z różnych grup gruczolakoraka do badań przeprowadzonych w innych ośrodkach jest trudne z powodu małej liczby doniesień odnoszących się do tego zagadnienia. Większość autorów określała jedynie zawartość białkowego produktu genu *c-myc*, co niekiedy może wykazywać brak korelacji z aktualnym poziomem mRNA, między innymi z powodu różnej stabilności mRNA i białka w skrawkach parafinowych.

Sato i wsp. (19) stwierdzili dużą zgodność poziomów mRNA *c-myc* i białka *c-Myc* w przypadkach raków *endometrium*. Autorzy ci oceniali ekspresję genu *c-myc* w zależności od stopnia zróżnicowania oraz stopnia zaawansowania klinicznego. Autorom nie udało się wykazać znaczących korelacji pomiędzy ekspresją genu *c-myc* i parametrami klinicznymi czy prognostycznymi, aczkolwiek zwiększoną ekspresję mRNA *c-myc* obserwowali w dwóch przypadkach. Pierwszy z nich posiadał stopień zróżnicowania G3, drugi – G2. Wyżej wymienieni badacze japońscy nie odnosili swoich obserwacji do głębokości naciekania *myometrium*. Odnotowali natomiast występowanie dużego tła w preparatach z hybrydyzacji *in situ* spowodowane użyciem izotopu siarki S<sup>35</sup> do znakowania sondy molekularnej, co, być może, wpłynęło na ich interpretację wyników, podczas gdy w naszych badaniach użyto sondy cRNA znakowanej bio-11-UTP. Wspomnieni badacze japońscy odnieśli wyniki do głębokości naciekania w innej swojej publikacji oceniali ekspresję genów *c-MYC*, *EGFR*, *c-ERB-B2* w raku *endometrium* i raku szyjki macicy metodami immunohistochemicznymi, obserwowali zwiększoną ilość białka *c-Myc* w 23 przypadkach raka *endometrium* (19). Nie udało się wykazać znaczącej korelacji pomiędzy parametrami, takimi jak: głębokość naciekania tkanek a poziomem ekspresji białka *c-Myc*. Sato, Ito i wsp. (18) badali immunohistochemicznie lokalizację jądrową i cytoplazmatyczną białka *c-myc* w komórkach nowotworowych. Przeważała lokalizacja jądrowa, ale nie jest pewne, czy odnosi się to do komórek gruczołowych, czy do komórek podścieliska. W naszych doświadczeniach, w ośmiu przypadkach na 20 badanych, gdzie stwierdzono sygnał pochodzący zarówno z jądra, jak i z cytoplazmy występowało głębokie naciekanie *myometrium*. Monk i wsp. (13) badając ekspresję i amplifikację genu *c-myc* w stosunku do oceny histopatologicznej raka trzonu na materiale stanowiącym 37 przypadków, z których 10 było dobrze zróżnicowanych, 18 – średnio i 6 – słabo, w 23 przypadkach stwierdzili naciekanie *myometrium* na obszarze mniej niż 1/3 jego grubości, podczas gdy pozostałe 14 przypadków cechowało głębokie naciekanie *myometrium*. Amplifikację genu *c-myc* wykazywało ponadto 10 przypadków, cztery przypadki z amplifikowanym genem wykazywały głębokie na-



ciekanie *myometrium*, jednakże tylko 2 z nich cechowała zwiększona ekspresja genu *c-myc*. W przedstawionej powyżej pracy badaniom ekspresji genu *c-myc* metodą Northern-blot poddano jednak tylko 17 przypadków, natomiast w 20 na 37 badanych ekspresja nie była badana.

Ambros (2) stwierdził w 3 na 18 badanych przypadków zwiększoną ilość produktu genu *c-myc* oraz obecność tego białka w jądrze komórkowym i cytoplazmie. Jednocześnie autor stwierdził głęboką inwazję mięśniówki i naczyń w badanych nowotworach. Należy podkreślić, że autor oceniał ilość białka w komórkach, a nie ekspresję genu na poziomie mRNA. Bai i wsp. (3) zbadali immunohistochemicznie tkanki prawidłowego *endometrium* (11 z fazy proliferacyjnej oraz 11 z fazy sekrecyjnej cyklu), 43 próbki *endometrium* rozrostowego i 26 tkanek raka trzonu macicy. Immunolokalizacja białka *c-Myc* była w jądrze komórek gruczolowych w fazie proliferacyjnej cyklu miesięczkowego, natomiast w fazie sekrecyjnej występowała głównie w cytoplazmie. Autorzy obserwowali lokalizację białka *c-Myc* w komórce, które było zbliżone do stwierdzanych w moich badaniach lokalizacji mRNA oraz do wyników Odoma i wsp. (15) badających ekspresję białka *c-Myc* w cyklu miesięczkowym. W świetle badań ekspresji genu *c-Myc* interesujące wydają się badania nad mechanizmem estrogenozależności gruczolakoraka *endometrium*. Wobec braku bezpośredniej regulacji genu *c-myc* poprzez sekwencje ERE (11) wydaje się, że jego aktywacja odbywa się przez przekązniki drugiego obiegu (jak TNF alfa), co mogłyby potwierdzać badania Tabibzadeha (22). Według tego autora, poziom TNF alfa jest wyraźnie podwyższony w fazie luteinowej cyklu w stosunku do fazy proliferacyjnej. Tabibzadeh (22) twierdzi ponadto, że ilość tej cytokiny hamuje proliferację i ma wpływ na indukcję apoptozy w komórkach błony śluzowej.

W mało zaawansowanych nowotworach *endometrium* ekspresja genu *c-myc* jest nieznacznie podwyższona w stosunku do obserwowanej w prawidłowym *endometrium*. W zaawansowanych nowotworach *endometrium* (stopień zróżnicowania G3 i stopień zaawansowania klinicznego II i III) ekspresja genu *c-myc* jest wyraźnie podwyższona w stosunku do normy, dotyczy to zwłaszcza komórek podścieliska tych nowotworów.

## Piśmiennictwo

- Alitalo K., Bishop J. M., Smith D. H., Chen E. Y., Coldy W. W., Levinson A. D.: Nucleotide sequence of the v-myc oncogene of avian retrovirus MC29. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1983, 80, 100-104.
- Ambros R. A.: C-myc gene expression in stage I endometrioid adenocarcinoma of the uterus. Polish J. Med. Pharm. 1992, 2476-78.
- Bai M. K., Costopulos J. S., Christoforidou B. P., Papadimitrou C. B.: Immunohistochemical detection of the c-myc oncogene product in normal, hyperplastic and carcinomatous endometrium. Oncology 1994, 51, 314-319.
- Batsche E., Lipp M., Cremisi C.: Transcriptional repression and activation in the same cell type of the human c-myc promoter by the retinoblastoma gene protein: antagonism of both effects by SV40T antigen. Oncogene 1994, 9, 2235-2243.

- Calabretta B., Kaczmarek L., Mong P.-M. L., Au F., Ming S.-C.: Expression of c-myc and other cell cycle-dependent genes in human colon neoplasia. Cancer Res. 1985, 45, 6000-6004.
- Chin L., Schreiber-Agus N., Pellicer I., Chen K., Lee H.-W., Dudas M., Cardon-Cardo C., DePinho R. A.: Contrasting roles for Myc and Mad proteins in cellular growth and differentiation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995, 92, 8488-8492.
- Evan G. I., Wyllie A. H., Gilbert C. S., Littlewood T. D., Lan H., Brooks M., Waters C. M., Penn L. Z., Hancock D. C.: Induction apoptosis in fibroblasts by c-Myc protein. Cell 1992, 69, 119-128.
- Goustin A. S., Betsholtz C., Pfeifer-Olsson S., Persson H., Rydert J., Bywater M., Holmgren G., Heldin C. H., Westermark B., Ohlsson R.: Co-expressing of the sis and myc protooncogenes in developing human placenta suggest autocrine control of trophoblast growth. Cell 1985, 41, 301-312.
- Goyette M., Petropoulos C. J., Shank P. R., Fausto N.: Expression of a cellular oncogene during liver regeneration. Science 1983, 219, 510-512.
- Huebner J. R., Todaro J. G.: Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1969, 64, 1087-1093.
- Hyder S. M., Shipley G. L., Stancel G. M.: Estrogen action in target cells: selective requirements for activation of different hormone response elements. Molecular and Cellular Endocrinology 1995, 112, 35-43.
- MacLean-Hunter S., Makela T. P., Grzeschiczek A., Alitalo K., Moroy T.: Expression of a RLF/L-Myc minigene inhibits differentiation of embryonic stem cells and embryoid body formation. Oncogene 1994, 9, 3509-3517.
- Monk B. J., Chapman J. A., Johnson G. A., Brightman B. K., Wilczynski S. P., Schell M. J., Fan H.: Correlation of C-myc and HER-2/neu amplification and expression with histopathologic variables in uterine corpus cancer. Am. J. Obstet. Gynecol. 1994, 171, 1193-1197.
- Ocadiz R., Saucedo R., Cruz M., Graef A. M., Gariglio P.: High concentration molecular alterations of the c-myc oncogene and carcinoma of the uterine cervix. Cancer Res. 1987, 47, 4173-4177.
- Odom L. D., Barrett J. M., Pantazis C. G., Stoddard L. D., McDonough P. G.: Immunocytochemical study of ras and myc proto-oncogene polypeptide expression in the human menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynecol. 1987, 161, 1663-1668.
- Polaczar S. V., Darne I., Sheridan E. G., Ginsberg R., Sharp F.: Endocervical carcinoma and precursor lesions: C-myc expression and the demonstration on field changes. J. Clin. Pathol. 1991, 44, 896-899.
- Sato K., Miyahara M., Saito T., Kobayashi M.: c-myc mRNA overexpression is associated with lymph node metastasis in colorectal cancer. European J. Cancer 1994, 30A, 1113-1117.
- Sato S., Ito K., Ozawa A., Yajima A., Sasano H.: Expression of c-myc epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 in human endometrial carcinoma and cervical adenocarcinoma. Tohoku J. Exp. Med. 1991, 165, 137-145.
- Sato S., Jiko K., Ito K., Ozawa N., Yajima A., Mijazaki S., Sasano H.: Expression of c-myc mRNA and protein in human endometrial carcinoma: Simultaneous study of in situ hybridization and immunohistochemistry. Tohoku J. Exp. Med. 1993, 170, 229-234.
- Sikora K., Evan G., Stewart J., Watson I. V.: Detection of the c-myc oncogene 22 product in testicular cancer. Br. J. Cancer 1985, 52, 171-176.
- Strasser A., Harris A. W., Bath M. L., Cory S.: Novel primitive lymphoid tumors induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. Nature 1990, 48, 331-333.
- Tabibzadeh S.: The signals and molecular pathways involved in human menstruation, a unique process of tissue destruction and remodelling. Molecular Human Reproduction 1996, 2, 77-92.
- Varavud N., Foster C. S., Gilbertson I. A., Sikora K., Waxman J.: Oncogene expression in cholangiocarcinoma and in normal hepatic development. Human Pathology 1989, 20, 1163-1168.
- Walker R. A., Senior P. V., Jones I. L., Crithley D. R., Valey I. M.: An immunohistochemical and in situ hybridization study of c-myc and c-erbB-2 expression in primary human breast carcinomas. J. Pathol. 1989, 158, 97-105.
- Waters C. W., Littlewood T. D., Hancock D. C., Morre J. P., Evan G. I.: C-Myc protein expression in untransformed fibroblasts. Oncogene 1991, 6, 797-805.
- Wong K. K., Hardin J. D., Boast S., Cooper C. L., Merrell K. T., Doyle T. G., Gogg S. P., Calame K. L.: A role for c-abl i c-myc regulation. Oncogene 1995, 10, 705-711.
- Yakota J., Tsunetsugu-Yakota Y., Battifora H., Lefevre C., Cline M. J.: Alterations of c-myc, myb, Ha-ras protooncogenes in cancers are frequent and show clinical correlation. Science 1985, 231, 261-265.