Patomorfologia raków

JANUSZ A. MADEJ

Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Otrzymano 06.10.2017

Zaakceptowano 14.11.2017

Madej J. A.

Pathomorphology of the carcinomas

Summary

The paper describes the morphological and functional differentiation of cancer cells and mentions basic markers combined with that phenomenon. Table 1 presents cariotypic and immunophenotypic changes, neoplastic biomarkers and biological products present within the cells in selected cancer types. The authors also present changes in the cell cycle that leads to cancerogenesis with an emphasis put on the role of so-called genome guardians, i.e. TP53 and RB1 genes, and describe the main epigenetic factors, including the DNA methylation process in CDH1 (cadherin1) gene. The article also shows the morphologic types of proliferative changes: pre-cancer lesions (laesio praecancerosus), pre-cancer states (status praecancerosus) and pre-invasive carcinoma (carcinoma praeinvasivum, carcinoma in situ). A new classification of carcinomas is presented, including tumours originating from: a – a luminal epithelial-like cell line (with typical epithelial markers – E-cadherin, desmoplakin 1), b – a weakly luminal epithelial-like cell line (with a visibly weakened expression of epithelial antigens) and c – a mesenchymal-like cell line (with the presence of proteins typical for mesenchymal cells – vimentin, N-cadherin, and lack of epithelial-specific antigens). Moreover, the authors extensively describe the so-called epithelial mesenchymal transition (EMT) that can be observed both in in vitro and in vivo conditions. The role of cancer-associated fibroblasts (CAFs) in that process is shown. The cells exhibit an increase in the expression of genes involved in adhesion and angiogenesis and an increased expression of neurotransmitter receptors (adrenaline, noradrenaline).

Keywords: carcinomas – cariotype, phenotype, neoplastic biomarkers, types of differentiation

Raki (*carcinomata*) wywodzą się z tkanki nabłonkowej (*textus epithelialis s. epithelium* – pochodnej ekto- endo- i mezodermy), reprezentowanej przez nabłonek pokrywający (wyściełający) i nabłonek gruczołowy, a stanowiący ok. 60% wszystkich komórek ustroju, lub powstają z komórek różnicujących się w tym kierunku (14, 16, 17). Zwane są także nabłoniakami złośliwymi (*epitheliomata s. epitheliomas maligna*) i powstają z tkanki, której komórki zdolne są do rozmnażania, co oznacza, że nie tworzą się z komórek dojrzałych (pomiotycznych). Cechą charakterystyczną nowotworów złośliwych jest anaplazja, czyli dosłownie „krok wstecz”, ale aktualnie nie jest ona uważana za etap w transformacji nowotworowej, gdyż nowotwory powstają raczej z komórek macierzystych obecnych w ich tkance wyjściowej. Wiele nieprawidłowości obserwowanych w funkcjonowaniu wspomnianych komórek usposabia je do kancerogenezy, np. stan ich niezróżnicowania czy zdolność do proliferacji. Program różnicowania nowotworowego odbywa się na poziomie DNA, RNA i białek, i znajduje odzwierciedlenie w fenotypie komórek. Z reguły kierunek różnicowania jest zgodny z tkanką wyjściową nowotworu, chociaż czasem kierunek ten nie odpowiada tkance macierzystej, przynajmniej w niektórych

strefach nowotworu (14). Przykładem mogą być raki wywodzące się z komórek neuroendokrynnych wydzielające hormony polipeptydowe lub aktywne aminy. Odmienne różnicowanie może także manifestować się produkcją ektopową hormonów przez komórki raka, np. raka oskrzeli, mimo że nie ma on pochodzenia neuroendokrynnego. Atypowe różnicowanie prowadzi również do powstania nowotworów mieszanych, np. włókniakogruczolak, gruczolak wielopostaciowego ślinianki (nabłonkowo-mioepitelialnego) czy potworkniaka. Z punktu widzenia histogenetycznego uważa się także, że rak mógłby być określany ogólnym mianem *zygotema malignum* (28). Z kolei raki niezróżnicowane (anaplastyczne) powstają raczej wskutek braku różnicowania komórek macierzystych aniżeli odróżnicowania komórek wyspecjalizowanych; są więc wyrazem niezdolności do różnicowania i dojrzewania, ale z zachowaną możliwością do proliferacji (13). Różnicowanie raków dokonuje się w oparciu o badania morfologiczne w mikroskopie świetlnym, mikroskopie elektronowym, metodą immunocyto(histo)chemiczną oraz metodą biologii molekularnej.

Do podstawowych markerów związanych z różnicowaniem się komórek nabłonka zalicza się: cytokeratyny, EMA (epithelial membrane antigen – naskórkowy

antygen błonowy), PSA (prostate specific antigen – specyficzny antygen sterczowy), PSPA (prostate specific acid phosphatase – kwasna fosfataza swoista stercza), tyreoglobulinę, AFP i CEA (antygeny płodowe – alfa-fetoprotein – alfa-fetoproteina, carcinoembryonal antigen – antygen rakowo-płodowy), CA-15-3, CA-19-9, gonadotropinę kosmówkową dla raka sutka, CA-135 dla raka jajnika, Abp53 oraz CA72.4 dla raka jelita grubego i innych nowotworów, glikoproteinę 48 dla raka szyjki macicy czy beta-hCG – dla *choriocarcinoma* (1, 17, 27). Ponadto raki mogą być: wimentyno –/+ , LCA – (leukocyte common antigen – wspólny antygen leukocytów), dla białka S-100 –/+ i HMB-45 –/+ , jak również niektórym rakom towarzyszy koekspresja keratyny, wimentyny i neurofilamentów (rak rdzeniasty tarczycy) czy kerastyny i neurofilamentów (rak skóry Merkla) (16). Wymienione markery służą nie tylko do immunocytochemicznego diagnozowania nabłonkowców, ale także monitorowania efektów ich leczenia. Z reguły najpierw wykazuje się obecność markerów ogólnych, zwłaszcza w guzach nieznanego pochodzenia lub o niejednoznacznej klasyfikacji – NOS (not otherwise specified), później markerów specyficznych i w końcu hormonów typowych, szczególnie w odniesieniu do nowotworów neuroendokrynych, mając jednocześnie na uwadze fakt, że niektóre raki, np. rak rdzeniasty tarczycy produkuje dodatkowo hormony nietypowe (kortykotropinę, serotoninę, cholecystokininę) (30). Niezależnie od tego część raków, tzw. raki nieme, mimo cytochemicznego wykazania w nich obecności hormonów, nie dają żadnych objawów klinicznych. Znaczne problemy diagnostyczne sprawiają także komórki nabłonkowe obserwowane w obrazie cytologicznym, np. komórki typu ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance – atypowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieustalonym znaczeniu) i ich podtyp – ASC-H (atypical squamous cells cannot exclude), czyli komórki nie pozwalające na wykluczenie zmian śródplaskonabłonkowych typu SIN (squamous intraepithelial neoplasia – śródnabłonkowe nowotworzenie) w raku szyjki macicy (16).

Kancerogeneza określana jest jako nieletalne uszkodzenie materiału genetycznego, tj. uszkodzenie protoonkogenów, których poznano już ponad 500, genów supresorowych (antyonkogenów), genów regulujących apoptozę i około 100 genów odpowiadających za reparację uszkodzonego DNA (2, 4, 6). Geny supresorowe, których poznano też ponad 100, są zlokalizowane w jądrze komórki (np. RB 1, TP53, BRCA 1, BRCA 2, WT-1), cytoplazmie (np. APC, NF-1, NF-2) lub w błonie komórkowej (np. E-kadheryna, receptor TGF-beta) (17). Molekularne podstawy procesu kancerogenezy przedstawiono we wcześniejszej pracy (18). W klasycznym już doświadczeniu Harrisa (cyt. za 14) wykazano, że komórka nowotworowa po fuzji z komórką prawidłową staje się nienowotworową, co

tłumaczy się obecnością w komórce zdrowej genów supresorowych nowotworu, jakie zostają wprowadzone do komórki nowotworowej w momencie ich fuzji. Tak więc geny te nie tylko hamują podziały komórki, ale także rozwój nowotworu.

Geny regulujące apoptozę to geny hamujące ją (np. bcl-2, bcl-XL) i geny proapoptotyczne (np. bax, bad, bcl-xS) (16, 17). Z kolei geny regulujące naprawę DNA to geny mutatorowe, czyli mismatch repair genes (geny błędnie sparowanych zasad, np. hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2). Brak naprawy DNA usposabia do rozszerzenia się mutacji w genomie i transformacji nowotworowej. W komórkach rakowych dochodzi zatem do zmian kariotypu, które to zmiany mogą być strukturalne (translokacja, delecja, inwersja, addycja, duplikacja), do zmian liczbowych, dotyczących chromosomów (na ogół wzrostu ich liczby nawet do kilkuset w jednej komórce), a także zmian strukturalnych i liczbowych zachodzących jednocześnie. Mają one charakter pierwotny i uważa się, że są związane przyczynowo z kancerogennością (tab. 1). Często towarzyszą im wtórne zmiany w kariotypie, a te z kolei wiąże się z progresją nowotworu. W efekcie mamy do czynienia z bardzo skomplikowanymi zmianami kariotypu komórki, chociaż ich roli nie należy przeceniać, gdyż za proces kancerogenezy głównie odpowiedzialne są chromosomy, a właściwie ich aberracje i pęknięcia oraz zawarte w nich geny (13, 14). I tak w komórkach nowotworowych obecne są np. zmutowane geny supresorowe (głównie gen RB1 i gen TP53), których zadaniem w komórkach prawidłowych, jest ochrona przed kancerogenezą. Uszkodzenie genu TP53 prowadzi m.in. do opóźnienia apoptozy komórek nowotworowych wskutek niemożności zatrzymania cyklu komórkowego i naprawy uszkodzonego DNA. Podobnie białka E6 i E7 wirusa HPV (human papillomavirus) mają zdolność inaktywowania genu TP53 i RB1. Zauważono bowiem, że pewne allele TP53 są wyraźnie podatne na degradację, a nosicielki tych alleli narażone na zwiększoną zachorowalność na raka szyjki macicy. Z kolei samo białko E7 HPV znosi działanie genu RB1, w związku z czym komórki dzielą się nieograniczenie (20). Tak więc zmutowane geny ulegają ekspresji i powstają nowe generacje komórek zmutowanych z towarzyszącymi im aberracjami chromosomów czy transpozonów, ruchomych elementów DNA przemieszczających się w obrębie chromosomu, o typowym fenotypie komórki nowotworowej. Niemniej zmiany genetyczne prowadzące do kancerogenezy muszą wystąpić aż 4-5-krotnie (klonogenność), aby komórka prawidłowa przekształciła się w złośliwą komórkę nowotworową (16). Pojedyncza mutacja powoduje bowiem jedynie proliferację prawidłowej fenotypowo tkanki, w efekcie której powstaje nowotwór niezłośliwy. Dopiero włączenie się kolejnych torów mutacyjnych prowadzi do powstania nowotworu złośliwego. Nieodzownym elementem

Tab. 1. Zmiany kariotypowe, immunofenotypowe, biomarkery nowotworowe oraz produkcja substancji biologicznych w komórkach wybranych typów raka

Typ nowotworu	Zmiany kariotypu*	Immunofenotyp/biomarkery nowotworowe	Produkcja substancji biologicznej
Rak oskrzela	nadekspresja c-myc i K-ras, mutacja genów TP 53, Rb 1, CDK N2P16/CKKN24, polimorfizm genów CYP1A1 cytochromu P450, utrata heterozygotyczności/loss of heterozygosity – LOH chromosomów 3p, 5p, 8p, 9q, 11q, 17q	CEA, fragment CK 19 cytokeratyny (CYFRA -21.1), NSE, nadekspresja EGFR, antygen MAGE-1 (melanoma antigen-1)	ADH, ACTH, zespół SIADH (syndrome of inappropriate andidiveretic hormone secretion – zespół nieodpowiedniego (nadmiernego) wydzielania ADH, parathormon, kalcytonina, bombezyna, gonadotropiny, serotoninina, Leu-7**
Rakowiak oskrzela (<i>APUD-oma</i>)		białko S-100 +, HCG	chromogranina, bombezyna, kalcytonina, synaptolizyna, enolaza neuronospecyficzna, serotoninina, ACTH
Rak krtani	akumulacja białka p53, mutacja genu TP53, amplifikacja HER-2	mała czułość markerów	
Rak krtani – stany SIN prowadzące do nowotworu	akumulacja białka p53, mutacja genu TP53, utrata 3p, 9p		
Rak nosogardła (często jako rak utajony)		cytokeratyny, EMA, LCA –	
Rak jamy ustnej	mutacja genu TP53, amplifikacja INT2, delecja w 3p, 8p, 10p, 18p		
Rak śluzowo-naskórkowy ślinianki		cytokeratyny, czasem koekspresja z wimentyną, białko S-100 –, aktyna –	
Rak gruczołowo-torbielowaty ślinianki		aktyna i białko S-100 + (w komórkach mioepitelialnych), w komórkach nabłonka białko S-100 +, cytokeratyna, EMA, CEA	
Rak przełyku	mutacja genów TP53, p14, p16, onkogenu BCL-2	mała czułość markerów, antygen MAGE-1	
Rak żołądka	akumulacja białka p53, inaktywacja genu TP53, ekspresja produktu onkogenu ras p21, ekspresja bcl-2, aktywacja genu c-met, obecność genów kodujących homologi fibroblastycznych czynników wzrostu hst-1 i FGF-3	CEA, GIGA, brak chymotrypsyny i alfa-1-antytrypsyny, lizozym, antygen TAG-12, antygen MAGE-1	
Rak hepatoidalny żołądka	amplifikacja genu c-erbB2 i K-sam (oba produkujące białko o aktywności kinazy tyrozynowej)	AFP (50% przypadków)	produkcja glikogenu, żółci
Rak jelita grubego (dziedziczny) Rak jelita grubego (niedziedziczny)	mutacja genu supresorowego APC na chromosomie 5q21 (nadmiar beta-keniny), mutacja genu K-ras, utrata genu DCC, delecja chromosomu 17 (kodowanie białka p53), niedostateczna metylacja DNA, mutacja genów kodujących naprawę DNA (hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, mutacja receptora TGF-beta, utrata allelu 5q21 (gen APC) w 35-65% przypadków, inaktywacja genu supresorowego MCC (mutated in colorectal carcinoma) w 15% przypadków	Abp53 (przeciwciała przeciwko p53), CEA, GIGA, LIMA, SIMA (w małym procencie przypadków)	
Rak wątroby	aktywacja protoonkogenów c-myc, c-H-ras, c-fos, inaktywacja genu TP53 (wirus), mutacja genu TP53	AFP, EMA (rak cholangogenny), CA50, CA19-9, antygen MAGE-1	glukuronian bilirubiny
Wątrobiak płodowy (<i>hepatoblastoma</i>)		AFP, alfa-1 – antytrypsyna, hCG	
Rak trzustki	mutacja punktowa genu K-ras, inaktywacja genu TP53, DCP4, nadekspresja czynników wzrostu, NADH4, P16(CDKN2A), mutacja białka SMAD4 związana z sygnałami TGF-beta, onkogen IK4 kodujący p16	CA19-9, CEA, DUPAN2, M1MUC1, CEA, GIGA	wzrost produkcji amyliny, produkcja czynników prokoagulogennych, np. PAF i telomerazy (70-90% przypadków), zespół SIADH

Typ nowotworu	Zmiany kariotypu*	Immunofenotyp/biomarkery nowotworowe	Produkcja substancji biologicznej
Wyspiaki trzustki: <i>insulinoma</i> , <i>glucagonoma</i> , <i>gastrinoma</i> , <i>somatostatynoma</i> , <i>VIP-oma</i> , <i>PP-oma</i>			neuronospecyficzna enolaza, chromogranina A i C, synaptofizyna, ACTH, ADH, MSH, kalcytonina, neurotensyna, parathormon, PTHrP, GH. Wydzielają: monoklonalne przeciwciała przeciwko określonym hormonom wysepek wyznaczające typ produkowanej substancji***
Rak nerki	dziedziczenie dwu genów (rak urotelialny) z delecją dla transferazy glutationowej (glutathion S transferase M1 – GSTM1) – genotyp O/O, monosomia i heterozygotyczność chromosomu 9 (brak genu supresorowego)	cytokeratyna, CEA, wimentyna (45% przypadków)	substancje o działaniu zbliżonym do PTH, ACTH, prolaktyny, gonadotropiny, wzrost aktywności telomerazy (70-90% przypadków), erytropoetyna (Epo) – czerwienica
Rak chromochłonny nerki	utrata licznych chromosomów 1, 2, 6, 10, 13, 17, 21	cytokeratyna, CEA	
Rak jasnokomórkowy nerki	mutacja genu VHL w rejonie 3p25.3 (utrata całego chromosomu), delecja, przeniesienie krótkiego ramienia chromosomu, gen hamuje wydłużanie RNA	CEA	Epo (czerwienica)
Rak brodawkowaty nerki	trisomia 7 i 12, a nawet dodatkowe chromosomy przy progresji nowotworu, mutacja protoonkogenu MET, translokacja t (X,1) dotycząca genu PRCC	CEA	Epo (czerwienica)
Rak pęcherza moczowego	uaktywnienie genów supresorowych na chromosomie 9 i 14, utrata funkcji genu TP53, delecja na chromosomie 9q i 9p, monosomia chromosomu 9, delecja 9p21 na genie 16 (MTS1), delecja 13q (gen Rb), 17 (gen TP53), mutacja genu TP53	CEA, utrata antygenów grupowych ABO, antygen MAGE-1	
Nasieniak (<i>seminoma</i>)	anomalnie 12p, obecność izochomozomu krótkiego ramienia chromosomu 12 i 12p	CEA	hCG, glikogen
Guz germinalny jądra i pęcherzyka żółtowego (YST)		alfa-1 – antytypsyna	produkcja hormonów polipeptydowych (AFP, hCG) i enzymów (LDH)
Rak prostaty****	uszkodzenie genu w okolicy 1q 24-25, geny supresorowe dla E-kadheryny (16q22) zlokalizowane na krótkich ramionach chromosomów 8 i 12 i długich ramionach 10 i 16, mutacja genu BRCA2	PSA, PSPA, PSP94, fosfataza kwaśna, TURP27, P25.48, P25.91, PD41 (przeciwciała mysie), przeciwciała 34 beta – E12, cytokeratyny	
Rak szyjki macicy i rak endokrynną szyjki macicy	amplifikacja 3q	CEA, cytokeratyny, EMA, NSE	synaptofizyna, chromogranina, keratyny, utrata glikogenu
Rak endometrium	nadekspresja genu TP53, HER-2 (ERBB2), EGFR, ploidia DNA		
Rak jajnika	mutacja genów BRCA1 i BRCA2, nadekspresja HER-2, (ERBB2), mutacja genu TP53 i K-RAS	glikoproteina CA-125	gonadotropina kosmówkowa i progesteron (<i>choriocarcinoma s. chorioepithelioma</i> – nabłoniak kosmówkowy), estrogeny, rzadko androgeny (<i>folliculoma</i> – ziarniszcza), androgeny lub estrogeny (<i>arrhenoblastoma</i> , Sertoli-Leydig cell tumour – jądrzak, glikogen i GAG (glikozaminoglikany) – rak jasnokomórkowy
Mięsakorak macicy*****		cytokeratyna, EMA (co wskazuje, że guz jest rakiem metaplastycznym)	
Rak sutka	mutacja genów BRCA1, BRCA2, TP53, ATM (zlokalizowanego na 11q chromosomu 22-23 lub 10q, kumulacja białka p53 i Bid (Gpr78), nadekspresja HER-2 i erbB3, amplifikacja c-erb – 2/HER-2, nadekspresja p185, obecność genów kodujących homologi fibroblastycznych czynników wzrostu hst-1 i FGF-3, ekspresja genu UGT8 (w przerzucie do płuc u myszy bezgrasiczych)	CEA, CA, MFGH, GCDFP-15, EMA (MFGM), DF-2 (CA-3), antygen T i TN, B-72.3 (TAG72), gp 52, CU18, CU26, CU46 (CEA, S-100, alfa-laktoglobulina – rak śluzotwórczy). U suk: ekspresja MCM2, MCM3, MMP2, MMP9, antygeny Sialyl Le, antygeny T/Tn, BCRP1, UGT8, HIF-1 alfa (hypoxia-inducible factor-1 alfa)	

Typ nowotworu	Zmiany kariotypu*	Immunofenotyp/biomarkery nowotworowe	Produkcja substancji biologicznej
Rak sutka męskiego	mutacja genu BRCA2 (a nie BRCA1)		
Rak tarczycy	mutacja genu RET, REP/PTC i TP53, translokacja t (2;3) (q13;p25) > fuzja czynnika transkrypcyjnego PAX8 i genu PPARgamma1	kalcytonina, CEA	CGRP, serotonina, VIP, GRP, ACTH, neurotensyna, somatostatyna
Rak kory nadnerczy			nadmiar: glikokortykosteroidów/zespół Cushinga), mineralokortykosteroidów (zespół Conna), androgenów (wiryliizm, nadmierne owłosienie)
Rak nadnerczy i ciątek przyzwojowych – barwiak (<i>phaeochromocytoma</i>)			katecholaminy (napadowe nadciśnienie tętnicze)
Zespół MEN I i zespół MEN II	mutacja na chromosomie 1 (11q13), mutacja w genie RET		
Złośliwy nerczak zarodkowy (<i>nephroblastoma s. tumor Wilmsi</i>)	aberracja genetyczna del/mut 11p13, 11p15.5, del 16q13	cytokeratyny CK26 i CK10, wimentyna (w komórkach blastemy nowotworowej)	
Rak podstawnkomórkowy skóry (BCC)	mutacja w genie supresorowym PATCHED, brak ekspresji ICAM-1	brak CEA	
Rak płaskonabłonkowy skóry (SCC)	ekspresja ICAM-1	cytokeratyna (zwłaszcza wysokocząsteczkowego CK903, HMWK34), EMA, CEA, postać	glikogen (postać jasnokomórkowa raka)
Rak łojowy skóry		niskocząsteczkowe cytokeratyny (LMWCK), EMA, brak CEA	
Rak ekrynowy skóry		cytokeratyny AE1, 3, 13, 14, CK7, S-100, bcl-2, EMOA, Ber-EP4, Alpha-5MA, CEA, LeuM1	
Rak Merkla skóry		cytokeratyna, wimentyna	synaptofizyna, chromogranina, enolaza neuronospecyficzna, liczne neuropeptydy
Rak niezróżnicowany typu limfoepitelioma*****		cytokeratyny, EMA, brak LCA	

Objaśnienia: * – zmiany pierwotne, głównie odpowiadające za transformację nowotworową; ** – ACTH (zespół Cushinga), parathormon (hiperkalcemia), kalcytonina (hipokalcemia), gonadotropiny (ginekomastia); *** – nowotwory te są w większości złośliwe, słabo zróżnicowane, hormonalnie czynne i histologicznie podobne do rakowiaków; *gastrinoma* produkuje nadmiar gastryny (zespół Zollingera-Ellisona), *somatostatinoma* – nadmiar somatostatyny, spada stężenie insuliny, glukagonu, gastryny (łagodna cukrzyca), *VIP-oma* wydziela wazoaktywny polipeptyd trzustkowy i jest odpowiedzialny za hipokaliemię, *glucagonoma* – hiperglikemia (łagodna cukrzyca); **** – często jako rak utajony (*carcinoma occultum*); ***** – raki złożone (*tumor mixtus malignus Mulleri, carcinosarcoma – tumor mixtus mesodermalis*); ***** – często ognisko pierwotne jest nieuchwytnie; EMA (epithelial membrane antigen) – nabłonkowy antygen błonowy; APC (adenomatous polyposis coli) – gruczolakowata polipowatość jelita grubego; PAF (platelet-activating factor) – czynnik aktywujący płytki krwi; DCC (deleted in colon cancer) – brakujący gen w raku okrężnicy; PRCC (papillary renal cell carcinoma) – rak brodawkowy nerki; SIN (squamous intraepithelial neoplasia) – śródnabłonkowe nowotworzenie kolczystokomórkowe; ATM (*ataxia teleangiectasia* – mózdkowa niezdolność ruchowa, rozszerzenie drobnych naczyń skóry i spojówki) – ponadto w chorobie tej onkogen atm może prowadzić do powstania różnych postaci białaczek; AFP – alfa-fetoproteina; BRCA1 i BRCA2 (breast cancer type I and II susceptibility protein) – białko typu I i II podatne na raka sutka; CEA (carcinoembryonal antigen) – antygen rakowo- płodowy; ICAM (cell adhesion molecules) – cząsteczki adhezyjne; NF1 i 2 – geny nerwiakowłókniakowatości typu I i II; MCC (mutated in colorectal carcinoma) – zmutowany gen APC; EGFR (epidermal growth factor receptor) – receptor naskórkowego czynnika wzrostu; LCA (leukocyte common antigen) – wspólny antygen leukocytów; HMB 45 (human melanoma black) – czerniak ludzki; MEN I i MEN II (multiple endocrine neoplasia) – mnoga gruczolakowatość; BCC i SCC – klasyfikowane jako niemieliocytowe raki skóry – przy czym SCC (squamous cell carcinoma) to rak kolczystokomórkowy, BCC (basal cell carcinoma) – rak podstawnkomórkowy; APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) – komórki pobierające i dekarboksylujące aminy i ich prekursorzy, czyli DNES (diffuse neuroendocrine system) – układ rozproszonych komórek neuroendokrynnych; TGF-beta (transforming growth factor – transformujący czynnik wzrostu); YST (yolk sac tumor – *tumor sacci vitellini*) – guz pęcherzyka żółtkowego; VHL – choroba von Hippel-Lindena; HCG (human chorionic gonadotropin) – ludzka gonadotropina kosmówkowa; GIGA (gastrointestinal cancer antigen) – głównie monosjalogiozyd, LIMA (large intestinal mucin antigen), SIMA (small intestinal mucin antigen); MFGM (milk fat globule membrane protein) – laktoalbumina, kazeina, białko błonowe, GCDFP-15 (gross cystic disease fluid protein-15)

powstania nowotworu w organizmie jest także moment „przyswojenia” przez układ odpornościowy na jego rozwój lub ten ostatni uzyskuje zdolność do produkcji czynników immunosupresyjnych (zjawisko tolerancji), co oznacza, że układ obronny ustroju nie odpowiada, względnie odpowiada nieadekwatnie na obecność komórek nowotworowych. Przyczyną tolerancji jest ignorancja immunologiczna, anergia (brak sygnałów kostymulujących zależnych od działania CD28 i CD80 na etapie limfocytów T cytotoksycznych – komórka docelowa) oraz delecja swoistych limfocytów cytolytycznych T (CTL) – cytolytic T lymphocyte spowodowana ekspresją Fas-L (FAS ligand – ligand receptora FAS) na komórce nowotworowej (30).

Tkanka nabłonkowa stanowi barierę między środowiskiem zewnętrznym i wewnętrznym organizmu, dlatego też uważa się, że wszystkie kancerogeny przechodzące tą drogą mogą indukować proces rakowacenia. Raki u ludzi są częstsze niż nabłonkowce niezłośliwe i rosną szybciej u osób młodych aniżeli starszych, chociaż populacje komórek pochodzących od osobników starych zdecydowanie częściej ulegają spontanicznej transformacji nowotworowej niż od osobników młodych, jak również są bardziej podatne na działanie kancerogenów (16). Ostatnio w onkogenezie podkreśla się także rolę zapalenia starczego (inflammaging), prowadzącego do starzenia entropowego, manifestującego się przewagą procesów destrukcji nad procesami reparacji. Główną rolę w zapaleniu spełnia czynnik transkrypcji NFkB (nuclear factor kappa – light chain – enhancer of activated B cells – jądrowy czynnik kappa pobudzający łańcuchy lekkie aktywnych komórek B) i jego szlaki transdukcji sygnałów (9). Aktywacja tego czynnika prowadzi m.in. do produkcji prozapalnych cytokin, chemokin, cząsteczek adhezyjnych, COX (cyklooksygenaz eikozanoidów), metaloproteaz czy syntazy NO. Ponadto obecność NFkB – cytokina prozapalna TNF-alfa – aktywuje białko mTOR (mammalian target of rapamycin – ssaczy cel rapamycyny), które hamuje autofagię, energetykę i metabolizm komórki lub odwrotnie – włącza cykl komórkowy (9).

Raki mogą powstać ze zmiany przednowotworowej (przedrakowej – *laesio praecancerosus*), czyli miejsca o zwiększonym ryzyku do nowotworzenia, np. leukoplakii (rogowacenia białego), erytroplakii (rogowacenia czerwonego), zmiany mieszanej (leukoerytroplakii), leukoplakii kiłowej u ludzi czy rogowacenia podjęzykowego (16). Stan przednowotworowy (*status praenacerosus*), czyli przedzłośliwy (*status premalignus*) z kolei to choroba predysponująca do nowotworu złośliwego, np. marskość wątroby, prowadząca do raka wątrobokomórkowego, liszaj płaski, zespół Plummer-Vinsoni (chroniczny niedobór żelaza), *xeroderma pigmentosum* czy *lupus erythematosus*. Inaczej mówiąc, stan przedrakowy to proces, na podłożu którego częściej rozwija się nowotwór niż w tkankach prawidłowych tego samego narządu (16). W związku z powyższym stany te dzieli się na:

- stany właściwe, na podłożu których raki rozwijają się często, np. polipowatość jelita grubego, rogowacenie skóry, róg skórny;

- stany niewłaściwe, tj. takie, w których przebiegu tworzą się dopiero właściwe stany przedrakowe, np. przewlekłe owrzodzenia, polipy jelita grubego, nadżerka szyjki macicy w okresie epidermizacji. Stany właściwe przedrakowe manifestują się opóźnionym i spaczonym różnicowaniem pojedynczych komórek, a więc dysplazją, cechującą się zaburzeniami biegunowości komórek i powiększeniem ich jądra. Inni autorzy definiują stany przedrakowe jako choroby nienowotworowe lub zaliczają tu niektóre nowotwory niezłośliwe, z których często rozwija się nowotwór złośliwy. Ich wspólnym mianownikiem są procesy odrostu i rozrostu łatwiej podlegające działaniu czynników kancerogennych (3, 7). Istnieje także podział na stany przedrakowe względne (*relativae*) i stany przedrakowe bezwzględne (*absolutae*). Te drugie obligatoryjnie, w przeciwieństwie do pierwszych, prowadzą do uzłośliwienia nowotworu.

Rak przedinwazyjny (*carcinoma praeinvasivum s. ca intraepitheliale* – rak śródnabłonkowy), *carcinoma in situ* (rak O°) z kolei, charakteryzuje się rozrostem nabłonka komórek złośliwych, ale ograniczony jest jedynie do obszaru nabłonka. Nabłonek tworzą mało zróżnicowane różnokształtne komórki, różnej wielkości, z hyperchromatycznymi jądrami o grudkowej chromatynie ułożone chaotycznie. Rośnie także liczba typowych i atypowych mitoz. Rak ten nie daje przerzutów, ale nieleczonej zawsze przechodzi w raka naciekającego. Ten nosi nazwę mikroraka (*microcarcinoma*), a samo zjawisko – wczesną inwazję. Kolejnym etapem jest głębsze wnikanie komórek nowotworowych, czyli inwazja w pełni rozwinięta. Obliczono, że okres przejścia zmian dysplastycznych, np. nadżerki szyjki macicy w raka przedinwazyjnego, a następnie inwazyjnego trwa zwykle u kobiet ok. 10 lat. Na tym etapie zmiany te aktualnie określa się jako SIN/CIN – squamos/cervical intraepithelial neoplasia, a w prostatie – jako PIN (prostatic intraepithelial neoplasia). Przyjmuje się nawet, że wszystkie raki naciekające przechodzą w czasie swego rozwoju przez fazę zmian dysplastycznych i raka przedinwazyjnego (17, 20, 21, 27). W końcu w rakach inwazyjnych obserwuje się nieprawidłowe mitozy m.in. tzw. opóźnione chromosomy, czyli chromosomy nie ściągnięte do biegunów komórki, efektem czego jest hipoploidia i powstanie mikrojądra z jednym chromosomem, nierozszczepienie chromosomów homologicznych (nondisjunkcja – heteroploidia/trisomia i hipoploidia/monosomia), jak również pojawienie się dodatkowych centrosomów, co prowadzi do mitozy wielobiegunowej (obecność metafazy o kształcie liter X, Y i H (9). Wzrost zawartości DNA w komórkach nowotworowych odzwierciedla ich anaploidię, z reguły hiperdiploidalną.

Aktualnie przyjmuje się, że heterogenność nowotworów złośliwych wynika z kolejnych, nabytych

mutacji somatycznych, a więc raki składają się z wielu subklonów, z reguły zdominowanych przez komórki o największej agresywności proliferacyjnej. Raki składają się zatem z różnych komórek, tj. komórek raka – CCs (cancer cells), komórek inwazyjnych raka – ICCs (invasive cancer cells), komórek macierzystych raka – CSCs (cancer stem cells), fibroblastów towarzyszących komórkom rakowym – CAFs (cancer-associated fibroblasts), komórek immunologicznych wchodzących w skład nacieku zapalnego – ICs (immune inflammatory cells), komórek śródbłonna i pericytów naczyń krwionośnych, a także – wyjątkowo z macierzystych mezenchymalnych komórek pnia – MsCs (mesenchymal stem cells) (1, 5, 18). Tylko pewne subklony tych komórek, zwłaszcza ICC, wydzielają autokrynne czynniki wzrostu, co predysponuje je do proliferacji, inne, wskutek ekspresji odpowiednich genów – produkują enzymy proteolityczne, np. katepsynę D, kolagenazę czy urokinazowy aktywator plazminogenu, co pozwala im degradować błonę podstawną i infiltrować otoczenie (4). Komórki takie, wnikać do naczyń krwionośnych, nazywa się komórkami krążącymi – CTCs (circulating tumor cells). Z kolei komórki CSC uważane są za „nieśmiertelne” (immortalize), ponieważ dokonując inwazji „niszy nowotworowej” z czasem uniezależniają się od niej i stają się autokrynne. Wynika to z faktu, że są one odporniejsze na niedotlenienie, co wyraża się wzrostem ekspresji białek związanych z hipoksją, czyli HIF-1 alfa (hypoxia inducible factor), w porównaniu do guza macierzystego i pozwala im na przeżycie w nowym miejscu jako przerzutu (18). Wzrost tych komórek regulują geny uczestniczące w kancerogenezie, tj. bml1, notch, sonic hedgehog i wnt (25). Dlatego też uważa się, że zaburzenia w szlakach związanych z samoodnową komórek CSCs są powodem nowotworzenia, a zatem zniszczenie ich powinno doprowadzić do samoistnej regresji starych komórek i sukcesu w terapii.

Raki mogą ulegać w czasie swego istnienia modyfikacji, uzależnionej od genetycznej niestabilności komórek, wpływu mikrośrodowiska lub/i przebiegu procesu terapii (5). Właściwości biologiczne raków nie są więc stałą cechą i nowotwory te zawsze mogą podlegać dalszemu różnicowaniu i nasilonej progresji. Z tego wniosek, że najistotniejszym elementem rokowniczym nie jest histogeneza, a sposób zachowania się nowotworu w momencie jego diagnozy (czynnik predykcyjny i prognostyczny). Czynniki predykcyjne, np. stan receptora estrogenów ER i progesteronu PgR, pozwalają przewidzieć odpowiedź na leczenie hormonalne. Do innych czynników zalicza się: białka kodowane przez geny supresorowe (TP53, p21/WAF1, Cip1/Sdi1), biomarkery inwazji (katepsyna D, aktywatory i inhibitory plazminogenu, E-kadheryna, wimentyna, receptor lamininowy), receptory czynników wzrostu (EGFR, c-erbB-2/Her-2/neu, fenotypowy marker potencjału przerzutowego – nm23). Ten ostatni np., czyli

białko nm23 (non-metastatic 23), obecne w komórkach nowotworowych „pozbawia” je możliwości dawania przerzutów. Tak więc w oparciu o obraz histologiczny i klasyfikację TNM (*tumor* – guz, *noduli* – węzły chłonne, *metastases remotae* – przerzuty odległe), dokonuje się oceny stopnia złośliwości nowotworu (tzw. grading), jak również oceny stadium zaawansowania procesu nowotworowego (tzw. staging) (13, 28).

Raki dzieli się na niezróżnicowane (anaplastyczne), podobne w każdej tkance, zróżnicowane jednokierunkowo lub zróżnicowane wielokierunkowo, co wyraźnie determinuje ich cechy biologiczne. Zwłaszcza te dwie ostatnie grupy wykazują silną swoistość narządową. Raki naciekają tkanki w postaci wielkoogniskowej (*infiltratio macrofocalis*), droбноogniskowej (*infiltratio microfocalis*) i rozproszonej (*infiltratio dispersa*) (16). Ostatnio raki, głównie sutka, dzieli się na wywodzące się z linii: a – nabłonkowo-podobnej (luminal epithelial-like) o typowych markerach komórek nabłonka (E-kadheryny, desmoplakiny I); b – częściowo nabłonkowej (weakly luminal epithelial-like) o wyraźnie osłabionej ekspresji antygenów nabłonkowych i c – mezenchymalno-podobnej (mesenchymal-like), gdzie pojawiają się białka typowe dla komórek mezenchymalnych (wimentyna, N-kadheryna), a brak jest antygenów typowych dla nabłonka. Jest to tzw. przejście nabłonkowo-mezenchymalne komórek raka – EMT (epithelial mesenchymal transition), notowane zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* (11, 29). Komórki nabłonka zmieniają wówczas swój fenotyp na typowy dla komórek mezenchymalnych, poprzez zmianę ekspresji wielu genów, np. kodujących białka cytoszkieletu komórki, jak również poprzez nabycie zdolności do migracji i inwazji tkanek. Ma to szczególne znaczenie w trakcie wędrówki komórki rakowej z guza do naczynia krwionośnego i z naczynia (ekstrawazacja) do „niszy nowotworowej” i nosi wówczas miano transformacji nabłonkowo-mezenchymalnej i mezenchymalno-nabłonkowej (11). Między innymi wykazano, że linie komórkowe mezenchymalno-podobne i hormonalnie zależne w raku sutka u ludzi charakteryzują się wysokim poziomem ekspresji UGT8, tj. galaktozylotransferazy UDP – galaktoza:ceramid, kodowanej przez gen UGT8 i jednocześnie zmniejszają podatność tego nowotworu na apoptozę indukowaną cytostatykami (8). I odwrotnie, zahamowanie w raku sutka UGT8 obniża ich potencjał proliferacyjny i zwiększa podatność na apoptozę, co redukuje przerzutowanie nowotworu (8).

Badając mikromacierz DNA wykazano, że w przejściu nabłonkowo-mezenchymalnym biorą także udział inne komórki, np. fibroblasty towarzyszące rakowi sutka (CAFs), poprzez wzrost w nich ekspresji genów zaangażowanych w adhezję i angiogenezę oraz zwiększenia ekspresji receptorów neuroprzekaźników, zwłaszcza dla adrenaliny i noradrenaliny (15). Oznacza to, że fibroblasty uwrażliwiają komórki nowotworowe na działanie adrenaliny, co zwiększa wpływ reakcji

stresowej na rozwój nowotworu. Niezależnie od tego wykazano wzrost ekspresji genu PCDH19, którego mutacja uważana jest za jedną z przyczyn epilepsji, choroby mającej predysponować do częstszego występowania raka piersi u kobiet (15).

Najczęstsze są raki gromadzące śluz w cytoplazmie komórek (komórki sygnetowe – *ca muciparum*) lub wydzielające go do światła gruczołów. W przypadku obecności dużej ilości śluzu i wydzielania go do zrębu, mamy do czynienia z rakiem galaretowatym (*ca mucinosum vel gelatinosum*). Produkcja śluzu czy innych substancji (melaniny, glikogenu, hormonów, żółci, alfaboglobuliny), to przykład zróżnicowania czynnościowego komórek nowotworowych, nie zaś zróżnicowania morfologicznego. Ma ono istotne znaczenie w radioterapii, ze względu na znaczną oporność, np. raków śluzotwórczych, na promieniowanie rtg i większość cytostatyków (26). Raki podlegają też metaplastji płaskonabłonkowej, np. *adenoacanthoma* w endometrium lub ich cewki wypełniają szkliste masy, jak ma to miejsce w *cylindroma* – raku gruczołowo-torbielowatym ślinianki (25).

Nie wszystkie nowotwory złośliwe wykazują tą samą inwazyjność czy potencjał przerzutowania, dlatego też wykrycie w guzie macierzystym komórek o wyraźnie zdefiniowanych cechach do metastazy jest obecnie niemożliwe. Niemniej przypuszcza się, że prawdopodobieństwo przerzutu od jednej komórki nowotworowej obecnej we krwi u ludzi wynosi $> 1 \times 10^6$, czyli na każde 10^5 - 10^6 krążących komórek przeżywa 1-10 i tworzy przerzut (12). Wśród najlepiej poznanych genów przerzutowania wymienia się: gen SDF1 (stromal cell-derived factor 1 – czynnik komórek zrębu 1), gen BRMS1 (breast cancer metastasis suppressor), gen MET (mesenchymal-epithelial transition factor), gen IAP-4 (inhibitor of apoptosis protein – inhibitor aktywatora plazminogenu), gen KAI-1 (metastasis suppressor protein – gen supresji przerzutów), gen KISS-1 (kisspeptyna, metastatyna), gen NM-23-H1 (non metastatic clone no 23-H1 – gen supresji przerzutów), gen UGT8 i gen alfa Klotho (18). Raki z reguły dają przerzuty klasyczne, ale niektóre z nich powodują powstanie przerzutów wstecznych, np. rak prostaty do kości miednicy i kręgosłupa (zamiast do płuc), rak wątroby do węzłów chłonnych (zamiast do krwi) i wtórnie do śledziony i wątroby (bez płuc) czy rak jasnokomórkowy nerki do kręgosłupa (krew wstecznie osiąga spłot żylny kręgowy) (18).

Istnieje także pojęcie borderline case tumors – BTs („raki graniczne”), czyli nowotwory zakwalifikowane pomiędzy rakami inwazyjnymi i gruczolakami, gdyż nie naciekają one destrukcyjnie istoty międzykomórkowej – ECM (extracellular matrix), chociaż mogą wszczepiać się do otrzewnej, np. z jajnika. Guzy graniczne BTs, czyli raki o małym potencjale złośliwości (carcinoma of low malignant potential) są nowotworami o mozaikowej budowie histologicznej i trudnej do

ustalenia progresji. Przykładem jest rakomięsak (*carcinosarcoma*), w którym dochodzi do równoczesnego rozplemu komórek nabłonka i/lub komórek mioepitelialnych (spindle cell carcinoma) z komórek tkanki łącznej, przy obecności istoty międzykomórkowej (ECM), przypominającej lub formującej chrząstkę lub kość, także o charakterze złośliwym. Tak więc tkanka chrzęstna lub kostna może pochodzić z różnych tkanek (nabłonkowej, łącznej, komórek mioepitelialnych), jak również wywodzić się z komórek pnia o zdolności do wielokierunkowego różnicowania. W mięsakoraku dochodzi zatem do wymieszania zarówno komponenty nabłonkowej jak i mezenchymalnej, mimo że nowotwór powstaje z jednej stransformowanej komórki. Odróżnia go to od guza kolizyjnego (collision tumor), w którym rak rośnie niezależnie obok mięsaka (10, 17).

Raki należą do nowotworów korzystających ze zrębu tkanki miejscowej, a nie jak mięsaki produkujące go. Antropomorfizując można powiedzieć, że podścielisko raka jest skolonizowane przez nowotwór i pracuje jak „niewolnik” na potrzeby swojego właściciela. Stan zrębu, a głównie unaczynienie i naciek komórkowy lub jego brak, w dużym stopniu determinuje los komórek mięszszowych nowotworu. Raki mogą jednocześnie pobudzać do rozplemu elementy tkanki łącznej podścieliska (rak desmoplastyczny, czyli włóknotwórczy – *ca desmoplasticum scirrhosum s. durum s. scirrhus*), nawet z wytworzeniem tkanki kostnej (*ca osteoplasticum*). Ta fibroplazja z reguły łączy się z odmłodzeniem zrębu. Z kolei w rakach wysoko zróżnicowanych mamy do czynienia ze zrębem podobnym do dojrzałej tkanki łącznej (10, 16). Młody zręb o dobrym unaczynieniu ułatwia dostęp promieniom jonizującym do tkanki nowotworowej, natomiast odwrotnie dzieje się w zrębie szklistym, zwapniałym i utworzonym z tkanki kostnej lub chrzęstnej. Podobne zmiany w zrębie spotyka się również po jego napromieniowaniu.

Komórki rakowe niszczą wszystkie elementy tkankowe, jakie spotkają na swej drodze, co od dawna porównuje się do działania lawy po wybuchu wulkanu, doprowadzając do zaburzeń w krążeniu (wylewy krwi, zatory, zawały, obrzęk), zmian zwyrodnieniowych (wapnienie, kostnienie, zwyrodnienie szkliste, śluzowe, tłuszczowe) i martwiczych oraz okołogniskowych odczynów zapalnych, jako tendencji obronnych ze strony gospodarza. Naciek komórkowy w podścielisku może być także wynikiem zakażenia nowotworu bakteriami. W przypadku uszkodzenia jądra komórki nowotworowej do ECM guza mogą przedostać się różne związki chemiczne, tj.: glikogen, lipidy proste i złożone, cholesterol, aminokwasy (kwas homogentyzynowy z tyroksyny), białka (hialina, amyloid, paraproteina), puryny (kwas moczowy), glikozaminoglikany (śluz), lipofuscyna, ceroid, melanina, hemosydera, porfiry, barwniki żółciowe, aminy naczynioaktywne (histamina, serotonina) czy mediatory zapalenia (kininy, PAF, TNF) (19). Tak więc nowotwory te, same będąc

zmianami postępowymi, obejmują wszystkie działy patologii ogólnej.

Podsumowując należy stwierdzić, że rozwój i progresja raków wiąże się z licznymi zaburzeniami molekularnymi, głównie z mutacjami protoonkogenów oraz genów supresorowych. Zmiany genomu prowadzą do zmian fenotypu z prawidłowego na nowotworowy, co odpowiada pojęciu tzw. toru mutacyjnego. Proces kancerogenezy jest zatem złożony i nie ma pojedynczej zmiany molekularnej, która byłaby w stanie tego dokonać *in vivo*, chociaż osiągnięcie fenotypu komórkowego przez komórki prawidłowe jest możliwe w warunkach *in vitro* (6). Fakt ten raczej wyklucza możliwość przeniesienia eksperymentu teoretycznego do warunków *in vivo*, gdyż nie uwzględnia ono na przykład wpływu układu immunologicznego na rozwój lub supresję transformacji nowotworowej (7). Komórki rakowe z łatwością przechodzą przez punkty kontrolne cyklu komórkowego fazy G₁, S, G₂ i M (głównie G₁ → S), wskutek przekształcenia protoonkogenów w onkogeny, co spowodowane jest mutacją lub translokacją chromosomów, jak również hamowaniem ekspresji genów supresorowych (21). Aktywacji protoonkogenów i onkogenów dokonują także kinazy MAPERK (antigen-activated protein, extracellular-signal-regulated kinases) regulujące cykl komórkowy, np. przez cytokiny, drogą sygnałów z zewnątrz przez cytoplazmę do jądra komórki (14). Dlatego produkty proto- i onkogenów, tj. białka receptorowe oraz białka szlaków transdukcji sygnałów znajdują się w ciągłej aktywności. Takimi produktami są białka genów supresorowych (TP53, RB1, INK4, CIP/KIP), nie hamujące cyklu komórkowego i bezpośrednio odpowiedzialne za kancerogenezę. Mutacje w genach supresorowych i genach kodujących naprawę DNA mogą być dziedziczone po rodzicach, czyli predyspozycje silne szybko ujawniające się lub związane są z osobniczym tłem genetycznym (predyspozycje słabe). Zjawisko to zwane jest polimorfizmem genowym i obejmuje geny detoksykacyjne, stanowiące 10% całego genomu oraz geny mutatorowe komórki (25). Geny te determinują osobniczą wrażliwość na chorobę nowotworową. Wrodzone predyspozycje do nowotworzenia dzieli się na:

- zespoły nowotworowe autosomalnie dominujące (siatkówczak, polipowatość jelita grubego, zespół MEN, neurofibromatoza I i II typu),
- nowotwory rodzinne (rak sutka, rak jajnika – oba z udziałem genów BRCA1 w chromosomie 17q21 i BRCA2 w chromosomie 13q12-13, gdzie mutacja genu BRCA1 powoduje wzrost zachorowalności o 50-80%, rak jelita grubego nie wynikający z polipowatości,
- zespoły uszkodzonej naprawy DNA autosomalnie recesywne (*ataxia teleangiectasia*, *xeroderma pigmentosum*, zespół Blooma u ludzi – nadwrażliwość na słońce, teleangiektazje skórne, karłowatość). Wprawdzie trzy wymienione grupy stanowią u ludzi tylko 5-10%

wszystkich nowotworów, niemniej zmiany genetyczne mogą także wpływać na rozwój nowotworów indukowanych przez środowisko, jak to np. obserwuje się w przypadku międzybłoniaka wywołanego przez azbest (16).

Zauważono także, że zaburzenia w cyklu komórkowym związane są, co np. obserwowano w raku sutka u ludzi, z nadmierną produkcją cykliny D1, która pobudza transformację nowotworową jako aktywator CDK4/6, a jednocześnie współpracuje z receptorami dla estrogenów, która wzmacnia ich transkrypcję (17). Niektóre raki, np. rak sutka wymagają aktywności hormonalnej i cecha ta jest czasem wykorzystywana w terapii na ich niekorzyść. Raki zachowują się też jak typowe pasożyty i mogą rosnąć u pacjentów będących w stanie wyniszczenia organizmu, konkurując o tlen i metabolity z komórkami zdrowymi. Komórki nowotworowe posiadają również telomerazę, tj. enzym wydłużający telomery obecne na końcach chromosomów, co jest powodem permanentnej proliferacji tych komórek i tłumaczy ich nieśmiertelność. Z kolei markerem nieśmiertelności linii komórkowej fibroblastów jest także mortalina, czyli białko szoku (stresu) termicznego HSPs70 (mthsp 70/PBP74/GR75), rozmieszczona wokół jądra komórki w przeciwieństwie do komórek starzejących się, gdzie lokalizuje się równomiernie w cytoplazmie. Ma zdolność hamowania białka p53 (14).

Komórki nowotworowe podlegają stresowi, co manifestuje się nieprawidłowym fałdowaniem się w nich białek siateczki śródplazmatycznej szorstkiej RER (rough endoplasmic reticulum) i nosi miano odpowiedzi UPR (unfolded protein response) (14). Włączenie UPR oraz mutacja białek PERK (kinaza), IRE1 (RNA-aza), ATF 6 (prekursor czynnika transkrypcji) i białka BIP (GPR78) mogą wspomagać rozwój nowotworów, kumulując się w nich. Ich inaktywacja natomiast hamuje rozwój nowotworu. Z kolei stres oksydacyjny inaktywuje fosfatazę PTEN, co zwiększa aktywność Akt/PKB, SG4 i przyspiesza proliferację, prowadząc m.in. do powstania raka sutka (26). Jest to przykład indukcji nowotworowej spowodowanej defektem białka hamującego proliferację. Tak więc komórki nowotworowe nabywają cech większej oporności na stres, co może skutkować wyraźną ich progresją (14).

Raki wydzielają liczne cytokiny, np. TNF-alfa (kachektynę) prowadzący wspólnie z innymi czynnikami do wyniszczenia organizmu. Niestety, molekularne podłoże, tłumaczące w sposób zadawalający rozwój nowotworowych zmian morfologicznych, opisano jedynie w przebiegu raka jelita grubego u ludzi. W największym skrócie: dochodzi w nim do takiej sekwencji zdarzeń, jak: inaktywacja genu supresorowego APC → aktywacja protoonkogenu K-RAS → oraz unieczynienie innych genów supresorowych, m.in. TP53 (17).

U ludzi dokonuje się ok. 10 podziałów komórek/sek, w wyniku których aż 33% komórek może mieć

zmutowane DNA (16). Zmutowane komórki albo giną, albo ulegają naprawie, względnie mutacje kumulują się, prowadząc oprócz starzenia się komórek do ich nowotworzenia. I tak w replikacji genomu DNA raz na 10^5 - 10^6 nukleotydów powstaje błąd, czyli w jednej rundzie replikacji powstaje ok. 30 000 błędów, które są usuwane przez system naprawy błędnie sparowanych zasad i kodowany przez geny MSH2, MSH6, HLH1, PMS1 i PMS2. Zmutowanie genów naprawy DNA powoduje proliferację komórek z mutacjami w tym kwasie nukleinowym o pozytywnym fenotypie błędu replikacyjnego (RER+). Obecność błędów DNA powoduje z kolei zmianę ilości powtórzeń mikrosatelitarne DNA (sekwencje tandemowe powtórzeń DNA), czyli niestabilności satelitarnej (21). Mutacja tych genów prowadzi do wzrostu mutacji rozproszonych w całym genomie, tj. w protoonkogenach i genach supresorowych i następowej lawiny niestabilności genetycznej. Zmiany te ocenia się na podstawie badania tzw. krótkich sekwencji mikrosatelitarnych, wskazujących na zaburzenia w ekspresji genów, które kodują naprawę błędnie sparowanych zasad. Takie błędy spotyka się zarówno w rakach dziedzicznych (np. rak jelita grubego), jak i spontanicznych, jako efekt mutacji somatycznych w genach naprawy DNA. Bada się także regiony o zatartej strukturze chromosomów HSR (homogeneous staining regions – struktury prążkowe), jak również bardzo małe fragmenty pozachromosomowego DNA pod postacią tzw. minipar – double minutes (dmin), obserwowane np. w 35% przypadków *neuroblastoma* przy amplifikacji genu MYCN czy amplifikacji genu HER-2 (ERBB2) w raku sutka u ludzi (28).

Głównym strażnikiem genomu jest gen TP53, którego defekt jest notowany w 70% nowotworów u ludzi, a pozostałe 30% mają defekt w genach, jakie pobudzają lub hamują szlak tego genu. W komórkach somatycznych homogenetyczną utratę genu TP53 obserwuje się we wszystkich rakach, a mutacja inaktywująca dotyczy obu alleli TP53 (22). Do indukcji nowotworu wystarczy dziedziczenie jednego zmutowanego allelu, ponieważ pojedyncze dodatkowe uszkodzenie prowadzi do inaktywacji drugiego prawidłowego allelu. Ponadto do kancerogenezy usposabia poliubikwitynacja nadmiernej liczby białek supresorowych proliferacji komórkowej, np. białka p53 (TP53). Natomiast po to aby nastąpił rozwój siatkówczaka (*retinoblastoma*) muszą zaistnieć „dwa uderzenia” (two hits), które obejmują gen RB1 obecny na chromosomie 13 q14, jak również muszą być inaktywowane oba prawidłowe allele obecne w *locus* tego genu (24). Niezależnie od tego mutacje genów cyklu komórkowego, oprócz choroby zasadniczej, np. łuszczyca, mogą prowadzić do powstania nowotworów towarzyszących tym chorobom. Np. zmutowany gen RB1 oprócz siatkówczaka, jest przyczyną mięsaka kości, a zmutowany gen *atm* w chorobie *ataxia teleangiectasia* – różnych form białaczki (14).

Istotną rolę w kancerogenezie spełniają także procesy epigenetyczne, tj. zmiany w obrębie materiału genetycznego zmierzające do wyciszenia aktywności transkrypcyjnej genów bez zmiany ich sekwencji. Wiele genów nowotworowych ma zmetylowany promotor i grupa metylowa jest przyłączona do cytozyny w obrębie dwunukleotydów CpG, np. geny uczestniczące w detoksykacji (GST), geny regulujące cykl komórkowy (P16), geny naprawy DNA (BRCA1), czy geny adhezji komórkowej (E-kadheryna). Uważa się, że brak produktów tych genów i ich ekspresja prowadzi do destabilizacji genomu komórki i przyspieszenia transformacji nowotworowej. Najlepiej zmiany epigenetyczne, np. zjawisko metylacji DNA, poznano w genie CDH1 (cadherin 1), kodującego kadherynę, utrata funkcji którego przyczynia się do progresji nowotworowej. Podobnie bardzo istotna w prawidłowej ekspresji genów jest dostępność chromatyny dla aparatu transkrypcyjnego, czyli wpływ zarówno na wyciszenia, jak i aktywację różnych genów oraz białka przebudowujące chromatynę, zależne od ATP. Mają one wpływać na replikację i naprawę DNA, a zaburzenia tego procesu skutkują zmianami metabolizmu i promują proces kancerogenezy (23, 25).

Raki, stanowiące ponad 90% wszystkich nowotworów złośliwych u ludzi, to „choroba DNA” i cyklu komórkowego, charakteryzująca się drastycznym zerwaniem homeostatycznych więzi komunikacyjnych wewnątrz-, między- i pozakomórkowych (ECM) między komórką nowotworowo stransformowaną a jej klonalnym potomstwem, rosnące anarchicznie i bezcelowo (13). Szybkość jego wzrostu sterowana jest przez układ naczyniowy i czasem przez układ hormonalny. Właściwości biologiczne raków nie są cechą stałą, ponieważ uzależnione są od genetycznej niestabilności ich komórek, wpływu mikrośrodowiska lub/i przebiegu procesu terapii. Mogą podlegać dalszemu różnicowaniu morfologicznemu i czynnościowemu oraz stałej progresji (5). Istnienie bloku w procesie różnicowania i dojrzewania powoduje, że klon komórek nowotworowych może wykazywać dużą różnorodność cech morfologicznych, cytogenetycznych, immunologicznych i molekularnych. Szybko dzielące się komórki rakowe nasilają procesy anaboliczne związane ze wzrostem syntezy DNA i RNA, glikolizy tlenowej i beztlenowej czy aktywnością reduktazy nukleotydowej, przy jednocześnie obniżonej funkcji katabolicznej, np. katabolizmu pirymidyn. Wymienione wskaźniki biochemiczne świadczą o zmienionej regulacji genów, co manifestuje się między innymi syntezą antygenu karcyno-embionalnego (CEA), hormonów, często ektopowych, lub czynników wzrostu, np. TGF. Każde zatem ilościowe odchylenie metaboliczne może stać się cechą charakterystyczną dla wzrostu nowotworowego, gdy pojawi się w nieodpowiednim miejscu i w nieodpowiednim czasie. Taka znajomość cech biochemicznych komórek nowotworowych odgrywa istotną rolę w wyborze chemioterapii, gdyż wskazuje, jakie

typy komórek należy zlikwidować, np. ok. 50% raków sutka u kobiet wykazuje ekspresję zarówno receptora estrogenowego (ER), jak i receptora progesteronowego (PR); wówczas rosną one wolniej i szybciej reagują na terapię onkologiczną aniżeli guzy bez tych receptorów (23). Niezależnie od tego wykrycie nowotworu złośliwego o jedno stadium wcześniej daje choremu co najmniej 20% więcej szans na wyleczenie, chociaż jednocześnie należy podkreślić, że zbyt intensywna chemioterapia może być powodem śmierci nadmiernej liczby komórek nowotworowych poprzez ich martwicę lub/i apoptozę, z następowym uwolnieniem się jonów potasu, fosforu, kwasu moczowego oraz kwasów nukleinowych do krwi, co jest powodem uszkodzenia wielonarządowego (25). Rozwija się zespół ostrego rozpadu guza – ATLS (acute tumor lysis syndrome), autointoksykacja i często śmierć chorego. Zespół ten może mieć postać utajoną (laboratory LTLS) lub jawną (clinical CTLS).

Istnieją także inne układowe powikłania chemioterapii, ponieważ opiera się ona na zasadzie kinetyki pierwszego rzędu, tj. liczby zniszczonych komórek, która jest wprost proporcjonalna do dawki leku. Stąd wniosek, że wysoka dawka leku niszczy nie tylko więcej komórek nowotworowych, ale także więcej komórek zdrowych. Z kolei do późnych powikłań popromiennych w wyniku radioterapii (nawet po 10-20 latach) należą: zmiany martwicze, włóknienie, krwotoki, efekt teratogeny, kancerogeneza (głównie białaczki, rak sutka, rak okrężnicy, rak tarczycy) oraz nowotwory wtórne narządów poddanych terapii (zwłaszcza rak wrzecionokomórkowy skóry) (25). Nie jest także dokładnie znana liczba komórek „pozostawionych” po terapii onkologicznej (prawdopodobnie wynosi ona ok. < 5% lub $10\% < 10^{10} = 1$ g tkanki), czyli tzw. choroba resztkowa – MRD (minimal residual disease), ponieważ nie można ich wykryć za pomocą tradycyjnych metod diagnostycznych. Służą temu jedynie techniki molekularne, pozwalające na przykład na ocenę ekspresji śródnabłonkowych komórek nowotworowych w pęcherzu moczowym, które utraciły geny harcownicze (forerunner genes) lub wykazanie delecji 13q genu RB1 i 17p genu TP53, tj. zmian niewykrywalnych w ocenie histologicznej (25). Podobnie techniką PCR i fluorycencyjną hybrydyzacją *in situ* (FISH) można ujawnić amplifikację onkogenów HER-2 w raku sutka, a także mutację genu RET w raku tarczycy (26).

Obraz mikroskopowy nowotworu macierzystego nie pozwala na ocenę, czy są już obecne mikroprzerzuty, niemniej badania dodatkowe (immunocytochemiczne, cytometryczne czy techniki molekularne) pozwalają określić statystyczne prawdopodobieństwo występowania przerzutów (18). Ułatwia to kwalifikowanie pacjenta do grupy małego lub dużego ryzyka wznowy i zastosowania odpowiedniej terapii, która będzie dla niego najskuteczniejsza, a działania uboczne zminimalizowane.

Piśmiennictwo

1. Aoyagi Y., Oguro M., Yanagi M., Mita Y., Suda A., Suzuki Y., Mata K., Ichii K., Asakura H.: Clinical significance of simultan alfa-fetoprotein and desgamma-carboxyprothrombin in monitoring securrence in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1966, 77, 1781-1786.
2. Bartnik E., Lorenc A.: Nowotwory a geny. *Post. Biol. Kom.* 2000, 15, 5-20.
3. Bassarova D., Nesland J. M., Sedloev T.: Pilomatrix carcinoma with lymph node metastases. *J. Cutan Pathol.* 2004, 31, 330-335.
4. Bertram J. S.: The molecular biology of cancer. *Mol. Aspects Med.* 2001, 21, 67-75.
5. Blaching T. A., Wilson H., Argyle D. J.: Is cancer a stem cell disease? Theory, evidence and implications. *Vet. Comp. Oncology* 2007, 5, 75-89.
6. Boch J. S., Hahn W. C.: Understanding transformation, progress and gaps. *Curr. Opin. Gent. Develop.* 2005, 15, 13-17.
7. Brown S. B., Brown E. A., Walter J.: The role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet Oncology* 2004, 5, 497-508.
8. Dziegiel P., Owczarek T., Plazuk E., Gomulkiewicz A., Majchrzak M., Podhorska-Okolów M., Driouch K., Liderau P., Ugorski M.: Ceramide galactosyltransferase (UGT8) is a molecular marker of breast cancer malignancy and lung metastases. *Br. J. Cancer* 2010, 103, 524-531.
9. Franceschi C., Campisi J.: Chronic inflammation (inflammaging) and its petential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2014, 69, 84-89.
10. Goldschmidt M., Pena L., Rassotto R., Zappulli V.: Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet. Pathol.* 2011, 48, 117-131.
11. Gos M., Miłoszewska J., Przybyszewska M.: Rola przejścia epitelialno-mezenchymalnego w progresji nowotworowej. *Post. Bioch.* 2009, 55, 121-128.
12. Hahn W. C., Weinberg R. A.: Modelling the molecular circuitry of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2002, 2, 331-341.
13. Hanahan D., Weinberg R. A.: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011, 144, 646-674.
14. Kawiak J., Zabel M. (pod red.): *Seminaria z cytofizjologii*. Wyd. Med. Urban&Partner, Wrocław 2012.
15. Król M., Pawłowski K. M., Szyszko K., Maciejewski H., Manuali E., Dolka I., Jank M., Motyl T.: Gene expression profiles of canine mammary cancer cells grown with carcinoma-associated fibroblasts (CAFs) as a co-culture in vitro. *BMC Veterinary Res.* 2012, 8, 35-45.
16. Krus S., Skrzypek-Fakhoury E.: *Patomorfologia kliniczna*. PZWL, Warszawa 2007.
17. Kumar V., Cotran R. S., Robbins S. L.: *Robbins Patologia*. Elsevier Urban &Partner, Wrocław 2007.
18. Madej J. A.: Molekularne aspekty nowotworzenia – wybrane zagadnienia. *Med. Weter.* 2009, 65, 291-295.
19. Madej J. A.: Patomorfologia zmian kumulacyjnych i rozrostowych nienowotworowych w substancji międzykomórkowej. *Med. Weter.* 2008, 64, 977-983.
20. Madej J. A., Rotkiewicz T.: *Patologia ogólna zwierząt*. Wyd. III, Wyd. UWM w Olsztynie 2011.
21. Mori M., Tezuka F., Chiba R., Funae Y., Watanabe M., Nukiwa T., Takahashi T.: Atypical adenomatous hyperplasia and adenocarcinoma of the human lung. *Cancer* 1966, 77, 665-674.
22. Pecorino L.: *Molecular biology of cancer. Mechanisms, Targets and Therapeutic*. Oxford University Press 2012.
23. Piekarski J.: Receptory estrogenowe i progesteronowe w raku piersi – współczesny stan wiedzy. *Współ. Onkol.* 2005, 9, 371-379.
24. Pławski A., Słomski R.: Geny supresorowe nowotworów. *Post. Biol. Kom.* 1998, 10, 251-260.
25. Siedlecki J. A.: *Biologia molekularna nowotworów*, [w:] Szczeklik A. (red.): *Choroby wewnętrzne. Stan wiedzy na rok 2011. Medycyna praktyczna*, Kraków 2011.
26. Silbernagl S., Lang F.: *Atlas patofizjologii*. MedPharm Polska Wrocław 2011.
27. Sokucu S. N., Kocaturk C., Urer N., Sonmezoglu Y., Dalar L., Karasulu L., Altin S., Bedirhan M. A.: Evaluation of six patients with pulmonary carcinoma with a literature review. *Sci. World J.* 2012, 10, 1-5.
28. Stachura J., Domagala W.: *Patologia – znaczy słowo o chorobie*. PAU, Kraków 2003.
29. Thiery J. P.: Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* 2002, 2, 442-454.
30. Zabel M. (red.): *Immunocytochemia*. PWN, Warszawa 1999.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Norwida 31, 50-345 Wrocław; e-mail: janusz.madej@up.wroc.pl