

# Wartość diagnostyczna pomiaru aktywności telomerazy w wybranych nowotworach skóry psów

MAGDALENA ŻMUDZKA, JACEK MICUŃ, ROMAN LECHOWSKI

Zakład Chorób Wewnętrznych Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,  
ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

Żmudzka M., Micuń J., Lechowski R.

## Diagnostic value of telomerase activity measurement for skin neoplasms in dogs

### Summary

The aim of this study was to discern whether telomerase activity might serve as a marker for canine skin tumors. Telomerase activity was measured in 57 samples of tumor tissues from operated dogs. Telomerase activity in the samples was measured using the diagnostic kit Telo TAGGG Telomerase PCR ELISA plus of ROCHE – photometric enzyme immunoassay for quantitative determination of telomerase activity, utilizing the telomeric repeat amplification protocol (TRAP). The samples were also investigated histopathologically. The performed investigations permitted the following conclusions: telomerase activity is substantially higher in malignant lesions than in benign lesions, but there is no differences between telomerase activity in benign lesions and normal skin. Telomerase activity in normal skin near malignant tumors is substantially higher than in normal skin from healthy dogs and there is no correlation between telomerase activity in malignant tumors and in the normal skin in their proximity.

**Keywords:** telomerase, cancer, dog

Nowotwory są jednym z najważniejszych wyzwań w medycynie człowieka, a w ostatnich latach, w związku z rozwojem usług weterynaryjnych, również w medycynie weterynaryjnej (8, 19). Badaczom problemu nowotworzenia zależy na ocenie zwłaszcza tych zjawisk, których poznanie dawałoby nadzieje na opracowanie możliwie wczesnej, pewnej i mało inwazyjnej diagnostyki uwzględniającej rokowanie (5, 21). Jak już wspomniano w poprzednim artykule, przedmiotem sporego zainteresowania stała się w ostatnich latach telomeraza – jeden z markerów nowotworzenia.

Najpowszechniej stosowana do oceny ekspresji telomerazy metoda wykorzystuje aktywność telomerazy jako odwrotnej transkryptazy i jest oparta na wykrywaniu jej produktów – fragmentów DNA o charakterystycznej sekwencji. Metoda została opracowana przez Kima i wsp. (7) i opublikowana pod nazwą TRAP (telomeric repeat amplification protocol) w 1994 r. Od kilku lat dostępne są także gotowe komercyjne zestawy oparte na metodzie TRAP. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, metoda nadaje się do badań u psów (28).

Około 80-90% nowotworów złośliwych u ludzi cechuje się wysoką aktywnością telomerazy w tkance (1, 12, 15), podczas gdy nowotwory niezłośliwe oraz większość tkanek wykazuje brak lub niską jej aktywność (4, 23). Opublikowano dotychczas szereg prac dotyczących pomiarów aktywności telomerazy w tkankach różnych typów nowotworów u ludzi (6, 11, 23).

Taylor i wsp. (25) stwierdzili u ludzi w 15 na 18 przypadków raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego pod-

wyższą aktywność telomerazy, podczas gdy Parris wykazał ją tylko w 3 na 12 przypadków (2). Taylor i wsp. (25) wykazali także podwyższoną aktywność telomerazy w 73 spośród 77 przypadków raka podstawnkomórkowego, natomiast badając przypadki czerniaka, wykazał podwyższoną aktywność telomerazy w 6 na 7 przypadków. Boldrini i wsp. (3) wykazali podwyższoną aktywność telomerazy w 35 przypadkach raka podstawnkomórkowego i 14 raka płaskonabłonkowego, przy czym aktywność enzymu w tych ostatnich była statystycznie istotnie wyższa. W badaniach przeprowadzonych przez Schneider-Stock i wsp. (17), dotyczących tłuszczakomięsaków, podwyższoną aktywność telomerazy wykazywało 12 z 19 guzów. W innych badaniach tego samego autora 69% tłuszczakomięsaków wykazało podwyższoną aktywność telomerazy (18). Na podstawie przeprowadzonych pomiarów autor wysnuł wniosek, że badanie aktywności telomerazy pozwala na różnicowanie nowotworów niezłośliwych od złośliwych wywodzących się z tkanki tłuszczowej u ludzi.

Na tle badań u ludzi informacje dotyczące zwierząt są nieliczne. Yazawa i wsp. (27), badając różne rodzaje nowotworów u 45 psów – w tym 21 guzów sutków, 16 guzów skóry, gruczołów okołoodbytowych i jamy ustnej, 7 naczynek i 1 guz Sertolego, stwierdzili, że istnieje związek między inwazyjnością guza i jego skłonnością do tworzenia przerzutów a aktywnością telomerazy. Do badania związku aktywności telomerazy z nowotworami skóry wykorzystano tylko kilka pojedynczych przypadków: 3 gruczolaki i 2 gruczolakoraki z gruczołów oko-

odbytowych, 1 nabłoniaka gruczolakowatego torbielowego, 1 raka podstawnokomórkowego, 1 raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego, 1 czerniaka złośliwego. Nie prowadzono żadnych ukierunkowanych badań dotyczących konkretnych grup nowotworów skóry lub innych jej chorób. Pojawiające się w literaturze dane mają jedynie charakter przyczynkowy i dotyczą pojedynczych przypadków. Funakoshi i wsp. (4) jako przykładową wartość aktywności telomerazy w zdrowej skórze podali wartość poniżej 1 U/2  $\mu$ g białka. Natomiast Yazawa (27) podał wartości aktywności telomerazy w kilku pojedynczych przypadkach nowotworów skóry u psów.

Celem badań było określenie aktywności telomerazy w wybranych, zdiagnozowanych zmianach skórnych u psów oraz ocena wartości diagnostycznej wyników tych pomiarów.

### Materiał i metody

Materiałem do badań były wycinki odgraniczonych zmian skórnych stwierdzanych u psów – pacjentów ambulatoryjnych, usuwane chirurgicznie za zgodą właścicieli. Zmiany skórne o charakterze odgraniczonym były usuwane chirurgicznie z marginesem tkanek niezmiennych. Próbki do badań pobierane były natychmiast po wycięciu zmiany z zachowaniem zasad aseptyki i dzielone na dwie części. Jeden fragment umieszczony był w zbuforowanej formalinie w celu późniejszego badania histopatologicznego, drugi, wielkości ziarna owsa, umieszczony był w jałowej probówce okrągłodennej, natychmiast zamrażany w ciekłym azocie ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). Drugi wycinek był przeznaczony do oceny aktywności telomerazy w tkance. Zamrożone wycinki przechowywane były w butli z ciekłym azotem do dalszych badań.

Wycinki tkanek do badania histopatologicznego utrwalane były w 4% formalinie buforowanej fosforanami. Wyniki badania histopatologicznego pobranych tkanek były podstawą do kwalifikacji zmian do poszczególnych grup nowotworów oraz dla porównania wyników aktywności telomerazy w tych nowotworach. Spośród zebranych przypadków, do badań aktywności telomerazy zakwalifikowano 57 wycinków: 8 przypadków raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego, 9 przypadków czerniaka złośliwego, 5 przypadków raka podstawnokomórkowego, 7 przypadków guza z komórek tłuszczowych, 5 przypadków tłuszczakomięsa, 8 przypadków tłuszczaka, 7 przypadków zapalenia skóry, 9 próbek kontrolnych.

Pomiary aktywności telomerazy dokonywano testem TeloTAGGG telomerase PCR ELISA plus, firmy Roche. Zasada testu wykorzystuje schemat TRAP opracowany przez Kima i wsp. (7).

Ze względu na to, że rozkład badanej cechy nie miał charakteru normalnego, do obliczeń statystycznych zastosowano testy nieparametryczne. Za pomocą testu Kruskala-Wallisa, będącego odpowiednikiem analizy wariancji dla cech o rozkładzie normalnym (14), z zastosowaniem nieparametrycznego testu Manna-Whitneya, służącego do badania dwóch cech niezależnych, oceniane były różnice w aktywności telomerazy w poszczególnych rodzajach zmian skórnych (14). Porównano pod względem aktywności telomerazy wszystkie pary nowotworów. Dodatkowo posłużono się dokładnym testem Fishera, wykorzystywanym w przypadku małej liczebności grup (14).

### Wyniki i omówienie

Średnią aktywności telomerazy w badanych zmianach skórnych u psów oraz w skórze psów z grupy kontrolnej przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Aktywność telomerazy w badanych zmianach skórnych

Rodzaj zmiany	n	Średnia	SD $\pm$	Min.	Max.
Guz z komórek tłuszczowych	7	611,57	63,492	547	720
Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	8	407,50	87,513	339	560
Guz podstawnokomórkowy	5	192,60	49,783	111	242
Czerniak	9	536,00	111,125	374	670
Tłuszczakomięsak	5	316,40	29,134	281	345
Tłuszczak	7	7,29	8,597	0	25
Skóra zmieniona zapalnie	7	25,57	22,112	0	58
Kontrola	9	1,56	2,651	0	7

Tab. 2. Porównanie aktywności telomerazy testem Manna-Whitneya przy pomocy rang w zależności od charakteru zmiany (złośliwe/niezłośliwe)

Grupa zmian	Liczba przypadków	Średnia ranga	Średnia	SD $\pm$
Zmiany niezłośliwe	23	12,0	10,61	16,259
Nowotwory złośliwe	34	40,5	438,53	162,340
Razem	57			
Istotność asymptotyczna	0,000 (*)			

Objaśnienie: \*  $p \leq 0,01$

Tab. 3. Porównanie aktywności telomerazy w zależności od rodzaju guza złośliwego testem Kruskala-Wallisa

Rodzaj guza	Liczba przypadków	Średnia ranga
Guz z komórek tłuszczowych	7	27,57
Guz podstawnokomórkowy	5	3,00
Czerniak	9	24,17
Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	8	15,75
Tłuszczakomięsak	5	8,70
Istotność asymptotyczna	*	

Objaśnienie: \*  $p \leq 0,01$

Największy rozrzut wartości stwierdzono w przypadku czerniaków i raków podstawnokomórkowych. Uwzględniając charakter rozkładu aktywności telomerazy w poszczególnych grupach zmian, istotność różnic między stwierdzanymi aktywnościami obliczonych testem Manna-Whitneya (14) przedstawiono w tab. 2. Przeprowadzona analiza aktywności telomerazy w zmianach o charakterze złośliwym oraz w pozostałych zmianach wykazała, że aktywność enzymu w pierwszej grupie jest istotnie wyższa.

W celu weryfikacji istotności różnic pomiędzy konkretnymi rodzajami nowotworów w grupie zmian o charakterze złośliwym przeprowadzono analizę aktywności poszczególnych przypadków, obliczając istotność różnic w parach nowotworów złośliwych testami Kruskala-Wallisa oraz Spearmana. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 3 i 4.

Tab. 4. Wyniki korelacji aktywności telomerazy w parach nowotworów złośliwych

I nowotwór	II nowotwór	Istotność asymptotyczna	Ocena istotności
Guz z komórek tłuszczowych	Guz podstawnokomórkowy	0,004	**
Guz z komórek tłuszczowych	Czerniak	0,314	n.i.
Guz z komórek tłuszczowych	Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	0,003	**
Guz z komórek tłuszczowych	Tłuszczakomięsak	0,004	**
Guz podstawnokomórkowy	Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	0,003	**
Guz podstawnokomórkowy	Tłuszczakomięsak	0,371	n.i.
Guz podstawnokomórkowy	Czerniak	0,003	**
Czerniak	Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	0,018	*
Czerniak	Tłuszczakomięsak	0,003	**
Rak płaskonabłonkowy rogowaciejący	Tłuszczakomięsak	0,016	*

Objaśnienie: \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*  $p \leq 0,05$ ; ni – nieistotne

Wykazano, że pomiar aktywności telomerazy w tkance guza złośliwego może być wykorzystany do częściowego różnicowania zmiany złośliwej, z wyjątkiem czerniaka i guza z komórek tłuszczowych oraz guza podstawnokomórkowego i tłuszczakomięsaka. W przypadku tych dwóch par różnice między wynikami aktywności telomerazy były statystycznie nieistotne. W grupie zwierząt ze zmianami o charakterze niezłośliwym oraz w wycinkach skóry psów z grupy kontrolnej aktywność telomerazy nie różniła się istotnie. Wyniki odnośnych obliczeń przedstawiono w tab. 5.

Porównanie aktywności telomerazy i analiza istotności różnic w grupie zmian niezłośliwych i skórze psów klinicznie zdrowych dokonane w poszczególnych parach testem Spearmana przedstawiono w tab. 6.

Analiza wewnątrzgrupowa pozwoliła na uściślenie obserwowanych wcześniej zależności. Okazało się, że istotne różnice wykazano jedynie w odniesieniu do grupy zapaleń skóry w porównaniu ze skórą zdrową. Mimo iż średnie wartości aktywności telomerazy w tkance tłuszczaków i skórze zdrowej różniły się znacznie, to duży rozrzut wartości w obu grupach sprawił, że nie wykazano między nimi istotnych różnic.

Liczba nowotworów skóry u psów, w których oznaczano aktywność telomerazy jest stosunkowo nieduża i ogranicza się do kilku przypadków niejednorodnych morfologicznie (4, 27). Yazawa (27), badając aktywność telomerazy w zmianach nowotworowych u psów, stwierdził w 16 przypadkach różnych zmian (skóry dotyczyło zaledwie 5 przypadków) aktywność enzymu w zakresie od 4 do 924 U/2  $\mu\text{g}$  białka, zaś u 5 zdrowych osobników stanowiących kontrolę nie wykazał obecności telomerazy. Z przeprowadzonych przez tego autora badań wynika, że aktywność telomerazy stwierdzano zarówno w nowotworach niezłośliwych, jak i złośliwych. Podobne badania przeprowadzone u ludzi w wybranych nowotworach skóry wskazały na bardzo szeroki zakres stwierdzanych aktywności enzymu w takich samych histologicz-

nie zdiagnozowanych zmianach. Dodatkowym utrudnieniem były także często sprzeczne informacje odnośnie do stwierdzanych zależności (3, 16, 24).

Podobnie jak w badaniach przeprowadzonych przez Boldriniego (3) u ludzi, w badaniach własnych u psów aktywność telomerazy była istotnie wyższa w przypadkach raka płaskonabłonkowego niż w guzach podstawnokomórkowych. W badaniach własnych aktywność telomerazy w przypadku raka płaskokomórkowego wynosiła średnio 399 U/ $\mu\text{g}$  białka, we wszystkich badanych przypadkach była podwyższona.

W przypadku guzów podstawnokomórkowych we wszystkich badanych zmianach stwierdzono podwyższoną aktywność telomerazy, zaś średnia wartość wyniosła 212,6 U/ $\mu\text{g}$  białka. U ludzi Taylor (25) wykazał podwyższoną aktywność telomerazy w 73 spośród 77 przypadków raka podstawnokomórkowego. Nowotwory wykorzystane w badaniach własnych były w zaawansowanym stadium klinicznym i prawdopodobnie dlatego, w odróżnieniu od innych doniesień (3, 16, 24), wszystkie wykazywały wysoką aktywność telomerazy. Fakt ten może stanowić potwierdzenie doniesień mówiących o związku aktywności telomerazy i stadium klinicznego guza (9).

Najwyższą aktywność telomerazy w badaniach własnych stwierdzono w guzach z komórek tłuszczowych. Średnia wartość wynosiła 612,5 U/ $\mu\text{g}$  białka, a wysokie wartości aktywności telomerazy stwierdzano we wszystkich badanych próbkach. U ludzi rozrost komórek tłuszczowych ma inny charakter niż u psów (18). Na skórze pojawia się najczęściej w postaci łagodnej zmiany w wieku dziecięcym i zanika w okresie dorastania (18). Prawdopodobnie w związku z tym, że nie stanowi poważnego problemu zdrowotnego, nie zostały opublikowane żadne badania dotyczące pomiaru aktywności telomerazy w guzie z komórek tłuszczowych skóry u ludzi. U psów guz

Tab. 5. Porównanie aktywności telomerazy testem Kruskala-Wallisa w grupie zmian niezłośliwych i w skórze zdrowej

Rodzaj tkanki	Liczba przypadków	Średnia ranga
Zapalenie	7	16,36
Tłuszczak	7	12,64
Kontrola	9	8,11
Razem	23	
Istotność asymptotyczna	0,117 (NS)	

Objaśnienie: NS – nieistotna

Tab. 6. Wyniki korelacji aktywności telomerazy w parach zmian niezłośliwych i skóry zdrowej

I tkanka	II tkanka	Istotność asymptotyczna	Ocena istotności
Zapalenie	Skóra zdrowa	0,027	*
"	Tłuszczak	0,155	NS
Tłuszczak	Skóra zdrowa	0,079	NS

Objaśnienie: \* – istotna; NS – nieistotna

komórek tucznych stanowi poważny problem onkologiczny (15), jednakże również w przypadku tego gatunku zwierząt brak jest doniesień dotyczących aktywności telomerazy. Uzyskane w badaniach wyniki są po raz pierwszy publikowane i mogą stanowić podstawę ustalenia wartości referencyjnych.

Czerniaki analizowane w badaniach własnych stanowiły drugą grupę o najwyższej średniej aktywności telomerazy po guzach z komórek tucznych. Wynosiła ona 536 U/ $\mu$ g białka. Wszystkie próbki czerniaków wykazywały podwyższoną aktywność telomerazy i jest to wynik bardzo zbliżony do rezultatów badań Taylora. Wyniki te potwierdzają wysoką złośliwość tego nowotworu.

We wszystkich przypadkach tłuszczakomięsaków stwierdzono podwyższenie aktywności telomerazy w tkance guza – średnia wartość wyniosła 316 U/ $\mu$ g białka. Badania własne u psów wskazały, że zachowanie telomerazy w przypadku omawianych nowotworów jest podobne jak u ludzi (17).

W zmianach o charakterze niezłośliwym wykorzystanych do oceny aktywności telomerazy, wartości były istotnie niższe. W przypadku tłuszczaków średnia wartość aktywności telomerazy wyniosła zaledwie 7 U/ $\mu$ g białka i nie różniła się istotnie od średnich wartości uzyskanych w przypadku zapaleń skóry (25,6 U/ $\mu$ g białka) oraz skórze klinicznie zdrowych psów pochodzących z grupy kontrolnej (2,3 U/ $\mu$ g). Ponadto w dwóch przypadkach tłuszczaków i dwóch zmian zapalnych w ogóle nie stwierdzono aktywności telomerazy. Doniesienia o aktywności enzymu w skórze zdrowej są stosunkowo częste u ludzi. Ueda (26) wykazał, że w części przypadków nie zmienionej nowotworowo skóry aktywność telomerazy była podwyższona. W szczególności dotyczyło to komórek warstwy podstawnej, a więc obszaru o stosunkowo największej aktywności proliferacyjnej. Na tej podstawie wysnuto wniosek, że u ludzi komórki naskórka podobnie jak komórki macierzyste są wyjątkiem od reguły mówiącej o braku aktywności telomerazy w komórkach somatycznych (10, 13). W badaniach własnych okazało się, że również u psów można wykazać aktywność telomerazy w zmianach nienowotworowych oraz skórze klinicznie niezmienionej, przy czym stwierdzane wartości są bardzo niskie.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że na podstawie aktywności telomerazy można różnicować zmiany niezłośliwe od złośliwych, co jest zgodne z licznymi doniesieniami dotyczącymi badań telomerazy u ludzi (24, 26). Przeprowadzone badania stanowią rozszerzenie nielicznych obserwacji dotyczących psów (4, 11, 27). Ponadto, co dotychczas nie było przedmiotem badań, wykazano istnienie pewnych zależności pomiędzy rodzajem nowotworu złośliwego i wartościami aktywności telomerazy w jego tkance. Fakt ten stwierdzono porównując statystyczne różnice w wartościach aktywności telomerazy w parach nowotworów złośliwych. Wyjątkiem były czerniaki i guzy z komórek tucznych oraz tłuszczakomięsaki i guzy podstawnokomórkowe. Między tymi parami nowotworów brak było istotnych różnic w aktywności telomerazy.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że pomiar aktywności telomerazy w tkance guza pozwala na ocenę jego charakteru i jest dodatkowym wskaźnikiem rozszerzającym informacje uzyskane w badaniu histopatologicznym.

## Piśmiennictwo

- Balcom J. H., Keck T., Warsaw A. L., Antonio B., Graeme-Cook F., Fernandez del Castillo C.: Telomerase activity in periampullary tumors correlates with aggressive malignancy. *Ann. Surg.* 2001, 234, 344-350.
- Bednarek A., Chu Y.: Telomerase and cell proliferation in mouse skin papillomas. *Mol. Carcinog.* 1997, 20, 329-331.
- Boldrini L.: Evaluation of telomerase in non-melanoma skin cancer. *J. Mol. Med.* 2003, 11, 607-611.
- Funakoshi Y., Nakayama H., Uetsuka K., Nishimura R., Sasaki N., Doi K.: Cellular proliferative and telomerase activity in canine mammary gland tumors. *Vet. Pathol.* 2000, 37, 177-183.
- Greider C. W., Blackburn E. H.: Telomery, telomeraza i rak. *Świat Nauki* 1996, 4, 34-40.
- Hiyama E., Gollahon L., Kataoka T.: Telomerase activity in human breast tumors. *J. Natl. Cancer.* 1996, 88, 1161-1172.
- Kim N. W., Piatyszek M. A., Prowse K. R., Harley C. B., West M. D., Ho P. L., Coviello G. M., Wright W. E., Weinrich S. L., Shay J. W.: Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994, 266, 2011-2015.
- Malicka E., Piusiński W., Sendecka H., Bielecki W., Osińska B., Lenartowicz-Kubrat Z.: Nowotwory psów stwierdzane w badaniach anatomopatologicznych w latach 1985-1993. *Medycyna Wet.* 1996, 52, 103-106.
- Martin De Las Mulas J., Millan Y., Ruiz-Villamor E., Bautista M. J., Rollon E., Espinosa De Los Monteros A.: Apoptosis and mitosis in tumors of the skin and subcutaneous tissues of the dog. *Res. Vet. Sci.* 1999, 66, 139-146.
- Matthews P., Jones C. J.: Clinical implications of the telomerase detection. *Histopatol.* 2001, 38, 485.
- Nasir L., Devlin T., Mckevitt T., Rutteman G., Argyle D.: Telomere lengths and telomerase activity in dog tissues: a potential model to study human telomere and telomerase biology. *Neoplasia* 2001, 3, 351-359.
- Novak K. D.: Telomeres and telomerases in cancer. *AACR Special Conf. San Francisco* 7-11.12.2002, 32-39.
- Ogoshi M., Le T., Shay J. W., Taylor R. S.: In situ hybridization analysis of the expression of human telomerase RNA in normal and pathologic conditions of the skin. *J. Inv. Derm.* 1998, 110, 818-823.
- Olech W., Wieczorek M.: Zastosowanie metod statystyki w doświadczałnictwie zootechnicznym. *Wyd. SGGW, Warszawa* 2002, 35-36.
- Patnaik A. K.: Canine cutaneous mast cell tumor: morphological grading and survival time in 83 dogs. *Vet. Pathol.* 1984, 21, 601-605.
- Saretzki G., Ludwig A., von Zglinicki T., Runnenbaum I. B.: Ribozyme-mediated telomerase inhibition induces immediate cell loss but not telomere shortening in ovarian cancer cells. *Cancer. Gene. Ther.* 2001, 8, 827-834.
- Schneider-Stock R.: High telomerase activity and high HTRT mRNA expression differentiate pure mixoid and mixoid/round-cell liposarcomas. *J. Cancer.* 2000, 89, 63-68.
- Schneider-Stock R.: Telomeric lengths and telomerase activity in liposarcomas. *Mol. Carcinog.* 1999, 24, 144-151.
- Schumacher U.: Lectin-binding studies of human skin mastocytoma. *Histochem. J.* 1989, 21, 44-46.
- Sendecka H., Malicka E., Piusiński W., Bielecki W., Krawiec M., Osińska B., Sobczak M.: Nowotwory u zwierząt w badaniach diagnostycznych Zakładu Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego w Warszawie w latach 1987-1996. *I. Konf. Nauk.: Onkologia weterynaryjna. Postępy w diagnostyce i terapii.* Olsztyn 4-5.09.1997, s. 67-70.
- Shay J. W., Zou Y., Hiyama E., Wright W. E.: Telomerase and cancer. *Hum. Mol. Genet.* 2001, 10, 677-685.
- Siwicki J. K.: Telomery i telomeraza w procesach rozwoju nowotworów. *Nowotwory* 1997, 47, 483-497.
- Spangler E., Rogers K., Thomas J., Pusteyovsky D., Boyd S., Shippen D.: Telomerase enzyme activity as a diagnostic tool to distinguish effusions of malignant and benign origin. *J. Vet. Med.* 2000, 14, 146-150.
- Sulaimon S., Kitchell B., Ehrhart E.: Immunohistochemical detection of melanoma-specific antigens in spontaneous canine melanoma. *J. Comp. Pathol.* 2002, 127, 162-168.
- Taylor R. S., Ramirez R. D., Ogoshi M.: Detection of telomerase activity in malignant and nonmalignant skin conditions. *J. Invest. Dermatol.* 1996, 106, 759-765.
- Ueda M.: Telomerase in cutaneous carcinogenesis. *J. Dermat. Sci.* 2000, 23, 37-40.
- Yazawa M., Okuda M., Setoguchi A.: Measurement of telomerase activity in dog tumors. *J. Vet. Med. Sci.* 1999, 61, 1125-1129.
- Żmudzka M., Micuń J., Lechowski R.: Ocena przydatności metody TRAP do pomiaru aktywności telomerazy w nowotworach skóry u psów. *Medycyna Wet. (w druku)*.

Adres autora: dr Magdalena Żmudzka, ul. Niemirowska 1 m. 27, 02-921 Warszawa; e-mail: madzia.zuk@wp.pl