

# Molekularne aspekty nowotworzenia – wybrane zagadnienia

JANUSZ A. MADEJ

Katedra Anatomii Patologicznej, Patofizjologii, Mikrobiologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,  
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Madej J. A.

## Molecular aspects of neoplasia – selected problems

Summary

At the basis of neoplastic processes there lie molecular lesions i.e. non-lethal, multi-stage damage to genetic material. The paper describes damage to nuclear chromatin and the role of RNA in neoplasia as well as the involvement of adhesion molecules, extracellular matrix (ECM), signal transduction (including humoral signals) and the role of cell cycle in the process. The significance of molecular techniques in the diagnosis of tumours was also shown.

**Keywords:** neoplasia, molecular aspects, genes, hormones, adhesion molecules

Antropomorfizując, nowotwór wykazuje wzrost anarchiczny i rewolucyjny. Zbudowany jest z komórek będących w różnych stadiach podziału, tj. z komórek znajdujących się w stanie spoczynku  $G_0$ , aktualnie będących w cyklu podziałowym, względnie komórek wchodzących do podziału ze stanu spoczynku lub odwrotnie. Wzrost nowotworu jest zgodny z modelem Gomysertziana, kiedy to po początkowym okresie wzrostu następuje faza *plateau*, a liczba komórek ginących jest równa liczbie nowo powstałych komórek potomnych (15). Guz o średnicy 1 cm „wysiewa” w ciągu doby u zwierząt około miliona komórek do krążenia żylnego, ale większość z nich ginie wskutek uszkodzeń mechanicznych w świetle naczyń. U ludzi obliczono, że prawdopodobieństwo przerzutu od jednej komórki nowotworowej obecnej we krwi wynosi  $> 1 \times 10^6$  (9). Czas przeżycia komórki w naczyniu jest wprost proporcjonalny do długości przebywania we krwi, tj. im dłużej jest ona tam obecna, tym szybciej obumiera. Czasem guz pierwotny (macierzysty) hamuje wzrost przerzutów i wówczas jego usunięcie wyraźnie przyspiesza wzrost metastazy, jak ma to miejsce np. w nadnerczaku (13).

U podstaw nowotworzenia leżą zmiany molekularne, polegające na nieletalnym, wieloetapowym uszkodzeniu materiału genetycznego, a więc nowotwór to „choroba” DNA komórki. Uszkodzenia genetyczne dotyczą czterech kategorii prawidłowych genów, tj. protoonkogenów („c-onc” – cellular oncogens) promujących wzrost komórki, genów supresorowych nowotworów (antyonkogenów), genów regulujących apoptozę oraz genów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzonego DNA (9). Jednocześnie należy dodać, że zmutowane allele protoonkogenów nazywa się onkogenami, czyli

genami dominującymi, gdyż prowadzą do transformacji nowotworowej mimo obecności ich prawidłowego odpowiednika. Natomiast w genach supresorowych (onkogeny recesywne) muszą być zmutowane oba allele, aby doszło do nowotworowej transformacji. Z kolei geny regulujące apoptozę mogą być protoonkogenami lub genami supresorowymi nowotworu (24).

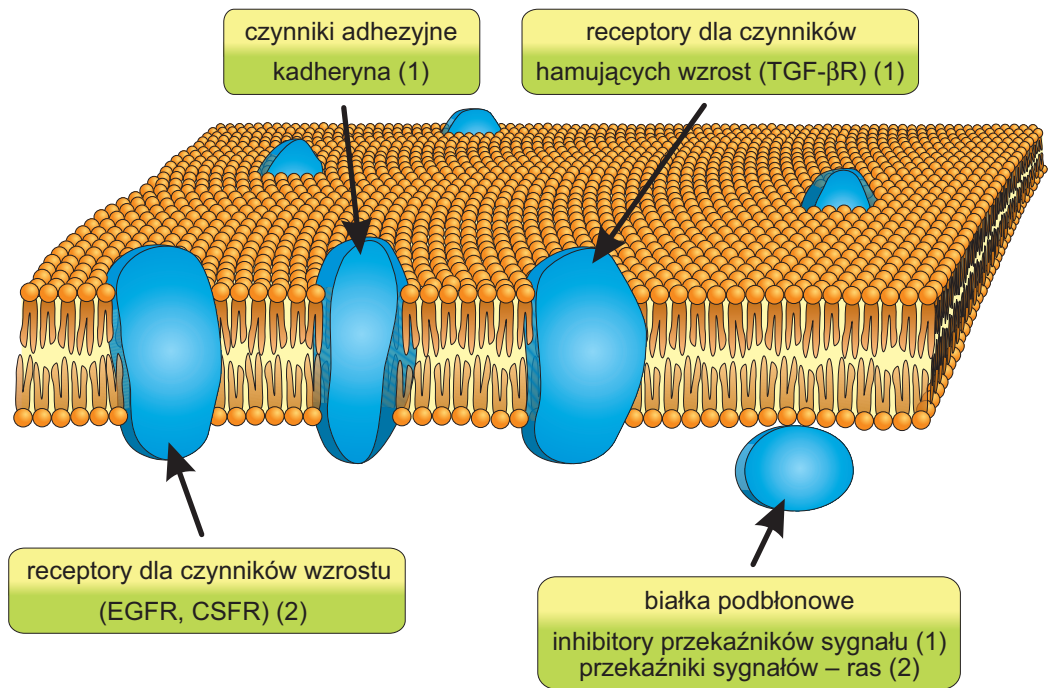
Geny naprawy DNA włączają protoonkogeny, geny supresorowe nowotworu i geny regulujące apoptozę. Błąd w tym procesie prowadzi do mutacji w genomie i powstania nowotworu. Każdy z genów związanych z nowotworami ma określoną funkcję w komórce, co pozwala na przedstawienie patogenezы molekularnej nowotworów przy uwzględnieniu różnych czynników onkogennych egzo- i endogennych (3). Oprócz mutagenów egzogennych, np. spalin samochodowych, dymu papierosowego, istnieją i zawsze istnieć będą mutacje spontaniczne, które pojawiają się z częstością ok.  $10^{-6}$ - $10^{-7}$  mutacji/gen/na podział komórki, nawet bez mutagenów (4). Każdy gen u człowieka w ciągu całego życia może teoretycznie ulec mutacji w  $> 10^9$  przypadków. Na szczęście, potrzeba 2-4 mutacji, aby powstał nowotwór, a ponadto mutacje nie pojawiają się jednocześnie, ale przez wiele lat. Komórki nowotworowe zawierające wiele mutacji są ponadto niestabilne genetycznie, tj. replikacja genomu jest niedokładna, naprawa DNA zła, są pęknięcia i rearanżacje chromosomów (niestabilność kariotypu). Następują powtarzające się cykle mutacji i proliferacji komórek, aż powstanie klon komórek nowotworu złośliwego (progresja nowotworowa) i śmierć makroorganizmu. Z kolei fenotyp złośliwości nowotworu określony jest przez 6 cech, tj. samowystarczalność w odniesieniu do sygnałów wzrostu, brak wrażliwości

na sygnały hamujące wzrost, unikanie apoptozy, niepo- hamowana replikacja, pod- trzymywanie angiogenezy i powstanie przerzutów (8, 9).

Błędy w naprawie DNA, jak już wspomniano, mogą predysponować do nowo- tworzenia, np. w *ataxia te- leangiectasia*, jest obniżo- na zdolność do naprawy pęknięć łańcucha tego kwa- su nukleinowego. U homo- zygot rozwija się białaczka oraz chłoniaki. Z kolei u chorych na *xeroderma pigmentosum* dochodzi do nadwrażliwości na działa- nie promieni UV wskutek niemożności naprawy ad- duktów wewnątrzscio- wych DNA, czyli dimerów pirymidynowych, utworzo- nych przez to promieniowa- nie (12). Efektem jest 1000- -krotnie częstsze występo- wanie nowotworów skóry, zwłaszcza u Murzynów i ra- sy kaukaskiej, za co odpowiedzialne są geny XP-A do XP-G (7 genów), chociaż nie ustalono dotąd, czy pro- dukty tych genów współdziałają w postaci białkowego kompleksu naprawy DNA, czy też działają po kolei. Natomiast w niedokrwistości Fanconiego wskutek de- fektu naprawy wiązań krzyżowych w DNA może po- wstać m.in. białaczka szpikowa. Z kolei mutacje intron- nów niektórych genów u ludzi, np. NF 1 oraz *Sis* wiąże się z powstawaniem, odpowiednio: neurofibromatozy, czyli choroby von Recklinghausena i oponiaków, nato- miast insercje L 1 unieczynnijące gen APC (adenoma- tous polyposis coli) prowadzą do indukcji raka jelita grubego i odbytu (9).

### Uszkodzenia chromatyny jądrowej

Patologiczna fuzja chromosomów 15:17 lub 11:17 prowadzi u ludzi do powstania genów hybrydowych alfa- receptora kwasu retinowego (RARA – retinoic acid receptor-alfa) ułożonych poniżej, a więc dalej od po- czątku DNA, w stosunku do sekwencji kontrolnych ge- nów (16). Odpowiednio, powstaje wówczas białaczka PML (promyelocytic leukemia – białaczka promielocy- towa) lub PLZF (promyelocytic leukemia zinc finger – białaczka promielocytowa „palca cynkowego”). Białko PML hamujące wzrost komórki prawidłowej jest zlo- kalizowane w jej jądrze, natomiast białko fuzyjne, tj. PML – RARP, jest zarówno w jądrze, jak i w cytoplaz- mie komórki. Białko fuzyjne może hamować aktywność białka PML i dochodzi wówczas do wyindukowania białaczki (16). Z kolei fuzja chromosomów, prowadzą- ca do zwiększenia ekspresji Myc, tj. białka wiążącego



**Ryc. 1. Czynniki uczestniczące w transformacji nowotworowej komórki zlokalizowane w jej błonie komórkowej**

Objaśnienia: 1 – czynniki kodowane przez geny supresorowe; 2 – czynniki kodowane przez proto- onkogeny; EGFR – epidermal growth factor receptor – receptor naskórkowego czynnika wzrostu; CSFR – colony stimulating factor receptor – receptor czynnika pobudzającego kolonie limfocytów; TGF-βR – transforming growth factor β-receptor – receptor β transformującego czynnika wzrostu

DNA w tkance limfatycznej, jest odpowiedzialna za in- dukcję chłoniaka Burkitta. Wskutek translokacji gen Myc jest kontrolowany przez promotora immunoglobulin i limfocyty B z taką translokacją mają duży poziom ekspresji Myc (20).

Miejsce łamliwe chromosomów FRA 3 B jest zloka- lizowane na krótkim ramieniu chromosomu 3, w rejonie 3 p 14.2, często ulegającemu uszkodzeniu lub dele- cji w raku szyjki macicy lub w raku płuc (9).

Translokacja chromosomalna charakteryzuje się pęk- nięciami DNA, do których dochodzi na dwóch różnych chromosomach w tej samej komórce. Takie uszkodze- nie DNA jest bardzo trudne do naprawy, stąd ich dras- tyczne konsekwencje kliniczne. Powodem translokacji chromosomów często są geny regulujące transkrypcję (ETS) - (2). Np. w erytroblastozie u ptaków (gen trans- formujący v-ets), w mięsaku Ewinga (gen EWS) może ulec fuzji z genami podobnymi do genu ERG czy FLI 1, a w białaczce dochodzi do fuzji genu ERG z genem TLS (2). Częściej mamy do czynienia z rearanżacją genów TEL (translocation ETS leukemia), w który to proces włączają się geny kodujące receptor beta – płytkowego czynnika wzrostu o aktywności kinazy tyrozynowej (TEL/PDGFR beta), receptor neurotrofinowy TRK (TEL/TRKC), białko jądrowe ABL (TEL/ABL) i biał- ko sygnałowe JAK (TEL/JAK 2). Przeciwnie, utrata fuzji genu ETS może być powodem ostrej białaczki limfo- blastycznej TEL/AML 1, w której mamy do czynienia z delecją niehybrydowego allele TEL (12).

Wzrost aktywności transkrypcji prowadzi do zwięk- szonej aktywności telomerazy, co obserwuje się w 80-

-90% nowotworów u ludzi i zwierząt. Np. w *neuroblastoma*, który ulega spontanicznej regresji, aktywność telomerazy jest niska lub brak jej zupełnie, natomiast w guzach rosnących agresywnie – odwrotnie, co związane jest z amplifikacją N-myc, która sprzyja nieśmiertelności komórek (9).

Mutacje, które powodują utratę funkcji genów *MMR* (mismatch repair – geny systemu poreplikacyjnej naprawy błędnie sparowanych zasad) są odpowiedzialne za pojawienie się dziedzicznego, niepolipowatego raka okrężnicy – HNPCC (hereditary nonpolyposis colon cancer) u ludzi (4).

Mutacja dwóch genów *BRCA-1* i *BRCA-2*, wskutek ich inaktywacji, spotykana jest w 80% rodzinnych raków sutka, gdyż geny te są odpowiedzialne za naprawę DNA. Komórki, które utraciły te geny, mają złamanie chromosomów i charakteryzują się aneuploidią (11, 19). Mutacja genu *BRCA-1* ma miejsce na chromosomie 17q21.3, a *BRCA-2* na chromosomie 13q12.13. Ponadto bierze się pod uwagę nadekspresję protoonkogenu *ERBB2* (*HER2/NEU*), która ulega amplifikacji u 30% kobiet. Amplifikacji ulegają także geny *RAS* i *MYC*, jak również spotyka się mutacje niektórych genów supresorowych, np. *Rb* i *TP 53* (19).

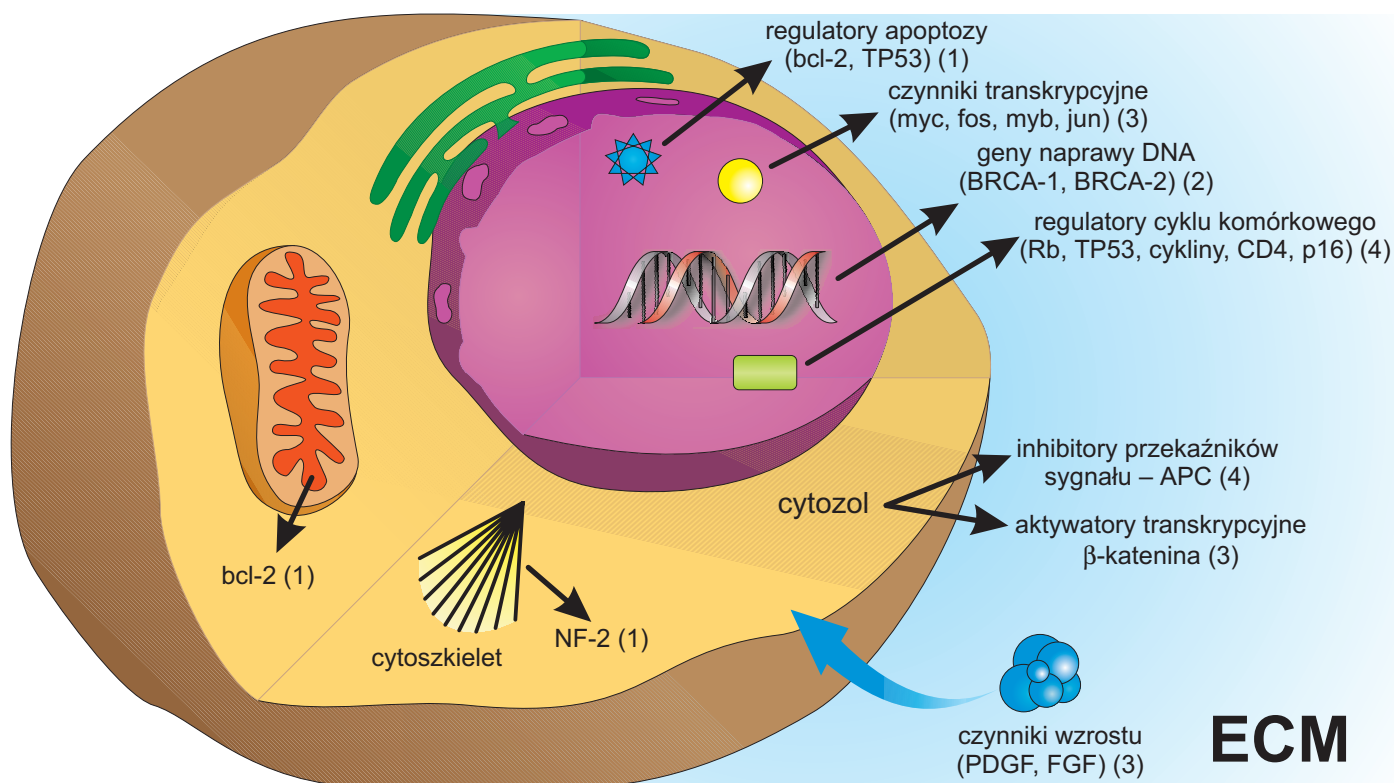
Translokacja chromosomalna w obszarach *loci* kodujących zarówno *TCR* (receptor komórek T), jak i im-

munoglobuliny prowadzą do indukcji białaczek limfocytarnych. Należy także wspomnieć, że nieprawidłowa glikozylacja występuje w niektórych nowotworach (czerniak, rak nerki) i może towarzyszyć ekspresji antygenów grupowych ABH oraz antygenowi Lewisa. Dochodzi wówczas do hamowania aktywności glikozylotransferazy, co powoduje wzmożoną ekspresję antygenów Lewis b ( $Le^c$ ) i Lewis  $Le^x$  i decyduje o prognozowaniu w procesie nowotworzenia (20).

Podział czynników uczestniczących w transformacji nowotworowej komórki przyjęto wg Hanahana i Weinberga (12). Udział takich czynników zlokalizowanych w błonie komórkowej przedstawiono na ryc. 1, zaś zlokalizowanych w jądrze, organellach, cytoplazmie oraz w macierzy pozakomórkowej komórki nowotworowej na ryc. 2.

### Rola RNA w nowotworzeniu

RNA, w przeciwieństwie do DNA, ma niestabilną strukturę, a więc jest podatny na błędy wskutek predykcji do rozkładu przez rybonukleazy. Ponadto uracyl jest mniej trwały niż tymina, a także kwas ten nie może „sprawdzić”, czy nowy replikowany łańcuch jest prawidłowy w porównaniu z pierwotną komplementarną sekwencją (brak kontrolnego czytania korekcyjnego), co posiada DNA (9). Dlatego też RNA jest podatny na ku-



**Ryc. 2.** Czynniki uczestniczące w transformacji nowotworowej komórki zlokalizowane w jądrze, organellach, cytoplazmie oraz w macierzy pozakomórkowej

Objaśnienia: 1 – czynniki kodowane przez geny regulujące apoptozę; 2 – czynniki kodowane przez geny naprawy DNA; 3 – czynniki kodowane przez protoonkogeny; 4 – czynniki kodowane przez geny supresorowe; *BRCA-1* i *BRCA-2* – geny odpowiedzialne za raka sutka; *Rb* – retinoblastoma gene – gen siatkówczaka; *TP53* (dawniej *p53*) – gen tzw. „strażnik genomu”; *CDK* – cyclin dependent kinase – kinazy zależne od cyklin; *PDGF* – platelet derived growth factor – peptydowy czynnik wzrostu; *FGF* – fibroblast growth factor – czynnik wzrostu fibroblastów; *ECM* – extracellular matrix – macierz pozakomórkowa; *APC* – adenomatous polyposis coli – gruczolakowata polipowatość jelita grubego; *NF-2* – neurofibromatous gene – gen nerwiakowłókniakowatości

mulację błędów w kolejnych pokoleniach. Jest to cecha niepożądana w biologii. Powstają wówczas warunki, aby niektóre wirusy mogły wejść do komórek ssaków jako endogenne retrowirusy, np. HERV-y u ludzi, których ilość ocenia się na 450 000, co stanowi łącznie 8% ludzkiego genomu (12).

Po inicjacji transkrypcji genu następuje jego elongacja, katalizowana przez polimerazę RNA II i zatrzymanie się tego enzymu w różnych miejscach genu. Elongację przyspiesza białko elongina, którego brak prowadzi do częstych przerw w transkrypcji, co powoduje ekspresję niektórych genów, np. genów mitogennych Myc i Fos. Równowaga między elonginą a innym białkiem VHL (zespół Hippa-Linden), które ulega mutacji, zostaje zaburzona i nie dochodzi do przerw w elongacji. Ponadto mogą rozwijać się takie nowotwory, jak: barwiczak (*pheochromocytoma*), rodzinne raki nerki, rak jasnokomórkowy nerki i raki brodawczakowate tegoż narządu, z udziałem zmutowanego genu Met (20).

U podstaw pewnych nowotworów leży zmiana stabilności RNA. Np. prawidłowy mRNA genu Myc ma okres półrozpadu trwający kilka minut, natomiast zmienionego transkryptu, powstałego w wyniku translokacji chromosomalnej 8:14 obecnego w chłoniaku Burkitta, wynosi już ok. 6 godzin (9). Niektóre herpeswirusy kodują sn RNA i tworzą się cząsteczki hybrydowego sn RNA, przy czym transkrypty wirusowe mają na końcu 5' sekwencji AUUUA i współzawodniczą z cząsteczkami mRNA gospodarza o miejsce wiązania z białkiem powodującym degradację. Wirusy te odpowiedzialne są za niektóre chłoniaki i białaczki, powodując transformację limfocytów T i hamując degradację krótko żyjących cząsteczek mRNA gospodarza, które zawierają sekwencję AUUUA. Z kolei amplifikacja genu N-Myc spotykana jest w *neuroblastoma* i skorelowana ze złośliwością guza, jak również z obecnością dwóch sekwencji 3' UTR (nieulegający translokacji region 3'), bogaty w pary AU (ARE), wiążących się z białkiem stabilizującym mRNA genu N-Myc i FOS. Podobnie mRNA Bcl 1, syntetyzowany w komórkach chłoniaków z komórek B płaszczka grudek chłonnych węzłów chłonnych (mantle cell lymphoma) i wykazujących nadekspresję cykliny D1, jest stabilizowany przez delecję sekwencji ARE (w 3' UTR) (9).

### **Cząsteczki adhezyjne i macierz pozakomórkowa (ECM)**

Cząsteczki adhezyjne dzieli się na cztery grupy, tj. kadheryny, selektyny, integryny i cząsteczki adhezyjne z domenami przypominającymi immunoglobuliny (immunoglobulinopodobne) – immunoglobulin-like domain – CAM – (10). Przykładem tych ostatnich jest antygen karcinoembrionalny – CEA, jako cząsteczka glikozydowa w surowicy krwi, poziom którego to antygeny jest markerem progresji lub nawrotu nowotworu.

Kadheryny (E, N i P) uczestniczą w metastazie nowotworowej, np. w raku sutka u ludzi i zwierząt przerzuty związane są z brakiem ekspresji kadheryny E, wynikającej z delecji genu; przeciwnie w raku prostaty następuje zmniejszenie ekspresji kadheryny E i w efek-

cie zwiększenie ekspresji kadheryny N (1, 9). Z kolei zmiana ekspresji kadheryny E na ekspresję kadheryny N prowadzi do progresji czerniaka złośliwego. U myszy transgenicznym pozbawionych kadheryny E (knock-out) obserwuje się przerzuty nowotworowe, natomiast u zwierząt z zachowanym genem tej cząsteczki adhezyjnej (Wild-type) nowotwór zatrzymuje się na etapie rozwoju gruczolaka (14). To świadczy o tym, że kadheryna E hamuje naciekanie nowotworu.

Kadheryny mają wewnątrzkomórkowe domeny obecne w błonie komórkowej przez zespół białek określanym mianem katenin (alfa, beta, gamma). Beta-kateniny i gamma-kateniny współzawodniczą o wiązanie z E-kadheryną, zaś alfa-katenina wiąże beta-kateninę i białka cytoszkieletu – aktynę F i alfa-aktynę. Białko wiążące kateninę (300 KDa) kodowane jest przez gen APC. Mutacja tego genu prowadzi często do powstania raka jelita grubego (kodon 1309) lub gruczolaka (kodon 157). W prawidłowych warunkach kompleks APC – beta-katenina może opuścić jądro, ale mutacje onkogenne APC uniemożliwiają to zjawisko i następuje kumulacja beta-kateniny w jądrze komórki (6). Ponadto wykazano, że lokalizacja mutacji warunkuje powstanie nowotworów pozajelitowych. Np. kostniaki żuchwy (zespół Gardnera u ludzi) to efekt skrócenia białka między kodonami 1403 i 1578.

Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej – MMP (matrix metalloproteinases) to rodzina ok. 20 zależnych od cynku enzymów, które degradują składniki ECM, tj. kolagen, elastynę czy proteoglikany. Do enzymów tych zalicza się: kolagenazy (MMP 1, 8, 13, 18), żelatynazy (MMP 2, 9), stromielizyny (MMP 3, 10, 11) i MMP typu błonowego (MMP 14, 15, 16, MT – MMPs) – (18). Metaloproteiny uczestniczą w nowotworzeniu, np. w kostniakomięśaku MMP 1 ulega indukcji przez witronektynę alfa 3 beta 1, a w mięśniakomięśaku prążkowanokomórkowym i glejaku wielopostaciowym MMP 2 indukowana jest przez lamininę alfa 3 beta 1. Podobnie nadekspresja MMP 9 ułatwia przerzuty raka poprzez zwiększenie dostępności czynników wzrostu i/lub zmniejszenia adhezji komórkowej.

### **Przewodzenie sygnałów (w tym hormonalnych)**

Do białek, które łączą jądro komórkowe z sygnałami płynącymi z błony komórkowej zalicza się: białka mitogenne H-Ras, K-Ras i N-Ras, białka wiążące GTP powiązane z cytoszkieletem (Rho, Rac) oraz białka wewnątrzkomórkowego transportu wiążącego GTP (rodzina Rob, rodzina Ran). W przypadku substytucji waliny przez glicynę w kodonie 12 K-Ras następuje mutacja Ras, co ma miejsce w rakach jelita grubego, raku trzustki i raku płuc. Z mutacją H-Ras związany jest rak pęcherza moczowego, a z mutacją N-Ras – ostra białaczka szpikowa. Z kolei zmutowane białko Rho przyczynia się do przerzutowania czerniaka, raka sutka i raka gruczołu krokowego (17).

Receptory estrogenowe mają izoformy alfa (ER alfa) lub beta (ER beta), co zwiększa ich swoistość. Ilość tej drugiej izoformy spada w raku okrężnicy, raku sutka i raku stercza (5, 7, 10). Reakcje między oboma izoform-

mami może zatem charakteryzować rozwój tych nowotworów estrogenozależnych. Podobnie receptor kwasu retinowego – RAR (retinoic acid receptor) ma trzy izoformy (alfa, beta, gamma) kodowane przez różne chromosomy. W ostrej białaczce promielocytowej (PML) wskutek translokacji chromosomów następuje fuzja genu RAR alfa z jednym z dwóch genów palca cynkowego i zależne od kwasu retinolowego, co powoduje, że neutrofile nie dojrzewają (16, 21).

Zdolność do pobudzania lub hamowania procesów wzrostowych komórek ma m.in. transformujący czynnik wzrostu beta (TGF beta). Na początku rozwoju nowotworów złośliwych TGF beta hamuje ich wzrost, ale w pewnych guzach, np. w raku prostaty, przyspiesza jego rozwój w późniejszych okresach wzrostu. Czynniki te przekazują informację przy pomocy kompleksu kinaz serynowo-treoninowych receptorów typu I i II, a następnie powoduje fosforylację efektów docelowych, które po osiągnięciu jądra komórkowego łączą się z DNA. Mutacje receptora typu II TGF beta spotyka się m.in. w raku jelita grubego (9).

### Rola cyklu komórkowego

W transformacji nowotworowej uczestniczą cykliny, np. wzrost ekspresji cykliny D1 obserwuje się w gruczolakach przytarczyc, które to zjawisko polega na translokacji chromosomowej i na przeniesieniu genu cykliny pod kontrolę genu parathormonu. Z kolei inercyjna mutagenesa genu cykliny D1 przez wirus typu B zapalenia wątroby to powód pojawienia się raka wątroby (24). W 50% raka sutka komórki wytwarzają w nadmiarze cyklinę D1, która może powodować transformację nowotworową nabłonka sutka dwoma drogami, tj. jest aktywatorem CDK 4/6, które biorą udział w pokonywaniu punktu restrykcyjnego fazy G<sub>1</sub>, a także cyklina D 1 współdziała z receptorem dla estrogenów, wzmacniając ich właściwości transkrypcyjne.

Spotyka się także uszkodzenia drugiego eksonu genu CDKN 2 A, który koduje białko p16<sup>INK4A</sup>, a mutacje w tej strukturze są obserwowane w rakach trzustki, wątroby, sutka oraz w czerniaku, glejaku wielopostaciowym i międzybłoniaku. Należy przy tym zaznaczyć, że mutacje punktowe p 16<sup>INK4A</sup> związane są z czerniakiem złośliwym, natomiast w glejaku mamy do czynienia z delecją w obu genach, tj. w p 16<sup>INK4A</sup> i p 15<sup>INK4B</sup> (9, 12).

W regulacji cyklu mitotycznego uczestniczą kinazy serynowo-treoninowe, czyli kinazy zależne od cyklin, a więc kinazy histonu H<sub>1</sub>, a także kinazy tyrozynowe (23). Te drugie dokonują fosforylacji seryny, treoniny i tyrozyny, co jest nieodzowne do wytwarzania białek wzrostowych. Jednocześnie należy podkreślić, że wiele białek strukturalnych podobnych do kinazy tyrozynowej jest produkowanych przez onkogeny wirusowe, np. v-src, co świadczy o związku między polipeptydowymi czynnikami wzrostu, onkogenami i kancerogenezą (12).

### Diagnostyka molekularna

Oprócz klasycznych metod diagnostycznych, takich jak: badania histopatologiczne i immunocytochemiczne wycinków guza nowotworowego, oligobiopsji, aspi-

ratu cienkoigłowego czy wymazu cytologicznego, coraz częściej stosuje się techniki biologii molekularnej (15, 22). I tak technika PCR (polymerase chain reaction – reakcja łańcuchowa polimerazy) pozwala na różnicowanie monoklonalnych, czyli nowotworowych i poliklonalnych, czyli nienowotworowych proliferacji limfocytów T i B, np. wykrycie transkryptu BCR – ABL typowego dla białaczki szpikowej przewlekłej. Z kolei fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH – fluorescence *in situ* hybridization) pozwala na wykrycie translokacji charakterystycznych dla białaczek i chłoniaków. Obie, ww. metody służą także w ujawnieniu amplifikacji takich onkogenów, jak HER-2 i N-MYC, np. w raku sutka. Istnieje również technika mikromacierzy, pozwalająca na pomiar poziomu ekspresji kilku tysięcy genów (technologia „chipów” – gene chip), co pozwala m.in. udowodnić, że fenotypowo identyczne chłoniaki typu B, pochodzące od różnych chorych, są zróżnicowane pod względem ekspresji ich genów (20). Ma to ułatwić terapię poprzez indywidualne dopasowanie leków do specyficznych deregulacji genów u pacjenta.

### Piśmiennictwo

1. Asgeirsson L. S., Jonasson J. C., Tryggvadottir L.: Altered expression of E-cadherin in breast cancer: patterns, mechanisms and clinical significance. *Eur. J. Cancer* 2000, 36, 1098-1106.
2. Bartolo C., Viswanatha D. S.: Molecular diagnosis in pediatric acute leukemia. *Clin. Lab. Med.* 2000, 20, 139-145.
3. Bertram J. S.: The molecular biology of cancer. *Mol. Aspects Med.* 2001, 21, 167-173.
4. Brown T. A.: Genomes. Wiley – Liss, New York 1999.
5. Brzozowski A. K., Pile A. C., Dauter Z.: Molecular basis of agonism and antagonism in the estrogen receptor. *Nature* 1997, 389, 753-758.
6. Chung-Faye G. A., Kerr D. J., Young L. S., Searke P. F.: Gene therapy strategies for colon cancer. *Mol. Med. Today* 2000, 6, 82-87.
7. Clemons M., Goss P.: Estrogen and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2001, 344, 276-281.
8. Eichhorst S. T., Kramer P. H.: Derangement of apoptosis in cancer. *Lancet* 2001, 358, 345-355.
9. Epstein R. J.: Biologia molekularna człowieka. Czekaj, Lublin 2005.
10. Gustafsson J. A.: New insight in estrogen receptor (ER) research – the ER receptor. *Eur. J. Cancer* 2000, 36 (suppl), 16-21.
11. Haber D.: Roads leading to breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 1566-1570.
12. Hanahan D., Weinberg R. A.: The hallmarks of cancer. *Cell* 2000, 100, 57-62.
13. Little J. B.: Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000, 21, 397-404.
14. Matos A. J., Lopes C., Carvalho J. A., Santos M., Rutteman G. R., Gartner E. F.: E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables. *J. Comp. Pathol.* 2006, 134, 182-189.
15. MSD Manual (podręcznik diagnostyki i terapii). Berkow R. (red.): Urban&Partner, Wrocław 1995.
16. Muntoni A., Reddel R. R.: The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Hum. Mol. Genet.* 2005, 2, 191-196.
17. Murphy P. M.: Chemokines and the molecular basis of metastasis. *N. Engl. J. Med.* 2001, 345, 833-839.
18. Nakopoulou L., Giannopoulou J., Stefanaki K.: Enhanced mRNA expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in breast carcinoma is correlated with adverse prognosis. *J. Pathol.* 2002, 197, 307-313.
19. Pellikainen M. J., Pekola T. T., Ropponen K. M.: p21 WAF 1 expression in invasive breast cancer and its associated with p53, AP-2, cell proliferation, and prognosis. *J. Clin. Pathol.* 2003, 56, 214-220.
20. Robbins: Patologia. Elsevier, Urban i Partner, Wrocław 2007.
21. Rumsby G., Farrow S. M.: Molecular Endocrinology: Genetic Analysis of Hormones and their Receptors. Academic Press, New York 1999.
22. Siedlecki J. A.: Zastosowanie diagnostyki genetycznej w chorobach nowotworowych. *Post. Biol. Kom. Supl.* 2000, 15, 27-37.
23. Umckita Y., Ohi Y., Sagara Y.: Overexpression of cyclin D1 predicts for poor prognosis in estrogen receptor – negative breast cancer patients. *Inst. J. Cancer* 2005, 19, 574-587.
24. Webb C. P., van de Woude G. F.: Genes that regulate metastases and angiogenesis. *J. Neurooncol.* 2000, 50, 71-78.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław