

DIAGNOSTYKA I LECZENIE NOWOTWORÓW W ŚWIETLE BADAŃ MOLEKULARNYCH I IMMUNOHISTOCHEMICZNYCH – GDZIE JESTEŚMY?

CANCER DIAGNOSTICS AND TREATMENT IN MOLECULAR AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL VIEW – WHERE ARE WE?

Patrycja SUJKA-KORDOWSKA, Maciej ZABEL

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Streszczenie: Ostatnie dziesięciolecia to czas ogromnego postępu w dziedzinie walki z chorobami nowotworowymi. Diagnostyka molekularna, cytogenetyka, techniki immunohistochemiczne to w tej chwili podstawowe narzędzia badawcze, które w znacznym stopniu usprawniają szeroko pojętą diagnostykę chorób nowotworowych, jak również są podstawą do opracowywania nowych strategii terapeutycznych. Niniejsza publikacja zawiera przegląd najnowszych doniesień dotyczących badań w zakresie diagnostyki i leczenia nowotworów.

Słowa kluczowe: nowotwory, diagnostyka, prognozowanie, leczenie

Summary: The last few decades is the time of huge progress in area of cancer treatment and diagnostics. Cytogenetics, molecular and immunohistochemical techniques are the most common and helpful tools used in cancer diagnostics, as well as in cancer therapy. This article is the review of the latest researches in the field of cancer protection and treatment.

Key words: cancer, diagnostics, prognosis, therapy

WSTĘP

Koniec XX i początek XXI wieku to czas, w którym dokonał się ogromny postęp w diagnostyce oraz leczeniu chorób nowotworowych. Rozwój nowych, potężnych narzędzi badawczych (biochemia, modele zwierzęce, biologia molekularna) przyczynił się do rozwoju odkryć, weryfikacji tez i poglądów oraz nagromadzenia informacji. Mimo tego, w ciągu ostatnich lat nowotwory stały się

pierwszą przyczyną zgonów na świecie. W chwili obecnej aż 40 mln ludzi cierpi z powodu nowotworów. Okazuje się bowiem, iż dotychczasowy stan wiedzy nie jest wystarczający, aby w odpowiedni sposób rozpoznawać, diagnozować, jak również leczyć choroby nowotworowe. Nie dziwi zatem fakt, iż znakomita większość badań i eksperymentów skupia się wokół tych zagadnień, poszukując wciąż odpowiedzi na pytanie: jak pokonać raka? Aby tego dokonać, należy poznać przyczyny powstawania nowotworów, ich biologię oraz znaleźć ich słabe punkty. Niestety, komórki nowotworowe wymykają się spod wszelkiej kontroli, znacząco różniąc się nie tylko od komórek prawidłowych, ale także między sobą. I choć zadanie jest jasno sprecyzowane, niezwykle trudno znaleźć odpowiedzi.

Wiele informacji dotyczących chorób nowotworowych uzyskano i ciągle uzyskuje się wykorzystując badania molekularne i immunohistochemiczne. Choć prym wiodą zaawansowane techniki molekularne, klasyczna immunohistochemia jest ich doskonałym uzupełnieniem w dziedzinie badań podstawowych. Wydaje się być także niezastąpiona w szeroko pojętej diagnostyce nowotworów, uwzględniającej także określanie prognozy dla pacjentów bądź przebieg terapii. Badania związane z rozpoznaniem nowotworów, diagnostyką różnicową czy rokowaniem bazują przede wszystkim na określaniu ekspresji czynników potencjalnie zaangażowanych w patogenezę tych chorób (regulatory cyklu komórkowego [27], regulatory apoptozy [11], aktywatory i inhibitory angiogenezy [41]), ale również określaniu roli procesów i zjawisk w rozwoju nowotworów, czego przykładem może być powstawanie nowych naczyń limfatycznych w obrębie guza, sprzyjające jego rozprzestrzenianiu się i sugerujące niekorzystny przebieg choroby [32]. Podobnie wygląda sytuacja w kwestii badań nad konstruowaniem i wdrażaniem nowych form leczenia. Z jednej strony poszukuje się potencjalnych czynników hamujących rozwój bądź niszczących nowotwór, z drugiej – analizuje się budowę i funkcjonowanie komórek nowotworowych, by móc określić potencjalny cel dla postępowania terapeutycznego [4, 55].

DIAGNOSTYKA NOWOTWORÓW

Diagnostyka nowotworowa jest niezwykle istotnym elementem w skutecznej walce z nowotworami. Wczesne i prawidłowe rozpoznanie nowotworu, jak również sprawne monitorowanie jego przebiegu umożliwiające określanie prognozy czy rokowania dla pacjenta, znacząco zwiększa szansę na wyleczenie bądź przeżycie pacjenta. Jednak wiele nowotworów nie daje wyraźnych objawów klinicznych, wzrastając niejednokrotnie w fazie utajonej przez wiele lat, co czyni kwestię diagnostyki niezwykle trudną. Współczesna medycyna proponuje szereg metod umożliwiających rozpoznanie nowotworu, jednak nie są one wystarczające. Zatem poszukiwanie nowych czynników, markerów czy technik usprawniających diagnostykę nowotworów jest ciągłym przedmiotem badań wielu naukowców.

Nadal podstawowym badaniem diagnostycznym w onkologii jest ocena mikroskopowa tkanki nowotworowej. Ma ona istotne znaczenie w podejmowaniu decyzji terapeutycznych i wniosków prognostycznych. Dynamiczny rozwój technik, wcześniej – immunohistochemicznych, obecnie – molekularnych, sprawił, że realne stało się ich wykorzystanie w diagnostyce klinicznej, co znacznie ją usprawniło.

Wydaje się, że użyteczne dla rozpoznania procesu kancerogenezy *in vivo* mogą być tzw. markery nowotworowe. Są to substancje obecne w płynach ustrojowych bądź wycinkach tkanek pacjenta, które produkowane są bezpośrednio przez komórki nowotworowe lub komórki zdrowe w odpowiedzi na zaistniały proces patologiczny. Bardzo często w kontekście biomarkerów rozpatruje się nieprawidłową aktywność genów odpowiedzialnych za regulację kluczowych dla komórki procesów – cyklu komórkowego, różnicowania, starzenia się i śmierci. Nadmierna aktywność tych genów bądź jej brak są podstawowymi elementami patomechanizmu chorób nowotworowych. Zjawisko to przejawia się zwiększoną lub obniżoną ekspresją genów, a także zmianą ekspresji kodowanych przez nie białek. Wykrywanie i śledzenie tychże zaburzeń jest niezwykle pomocne w diagnostyce nowotworowej.

Obecnie powszechnie oznacza się kilka markerów, które wydają się mieć znaczną wartość diagnostyczną i prognostyczną. Należą do nich antygen nowotworowy CA 19-9 oraz antygen karcinoembrionalny CEA. Pierwszy z nich wykorzystywany jest w diagnostyce trzustki, żołądka, wątroby, jelita grubego czy pęcherzyka żółciowego. Jego użyteczność potwierdzona jest głównie dla raka trzustki, ponieważ wykazuje 70-90% czułość i aż 90% specyficzność w tym typie nowotworu [17]. Wartość predykcyjna tego markera określana jest głównie po zabiegu pankreatektomii, natomiast wykazano, że może on być niezwykle użyteczny jeszcze przed zabiegiem chirurgicznym. Rudnicki i wsp. ocenili poziom surowiczego CA19-9 u pacjentów z rakiem trzustki, u których planowane było całkowite usunięcie narządu [52]. Okazało się, co jest niezwykle cenne dla diagnostyki jednego z najtrudniej wyleczalnych nowotworów, że wyższy poziom CA19-9 wiązał się z krótszym czasem 2- i 5- letniego przeżycia, sugerując, iż pomiar markera przed operacją był niezależnym czynnikiem prognostycznym. Z kolei antygen karcinoembrionalny CEA uznawany był kiedyś za wskaźnik raka jelita grubego. Obecnie bywa także wykorzystywany w diagnostyce raka jajnika, płuc, prostaty czy trzustki, gdzie obserwuje się podwyższenie jego stężenia, przy czym największą czułością charakteryzuje się w wykrywaniu wznowy raka jelita grubego. Niedawno wykazano, że również dla raka przewodowego gruczołu sutkowego CEA może mieć znaczenie prognostyczne. Zaobserwowano znacznie podwyższony poziom markera w tym typie nowotworu, nie rejestrując tego rodzaju zmian w raku zrazikowym czy cewkowym [3]. Być może zatem CEA mógłby znaleźć zastosowanie w różnicowej diagnostyce raka piersi, choć aby to potwierdzić, niezbędne są dalsze badania.

W chwili obecnej wiele czynników testowanych jest pod względem wykorzystania ich jako markery nowotworowe. Jako że komórki nowotworowe charakteryzują się wzmożoną i niekontrolowaną proliferacją, geny odpowiedzialne za ten proces są przedmiotem szczególnego zainteresowania. Zalicza się do nich protoonkogeny, czyli geny stymulujące podziały komórkowe, oraz geny supresorowe – inhibitory cyklu komórkowego. Od dawna sugeruje się, że niemały udział w kancerogenezie wielu nowotworów ma p53. Supresor ten, nazywany strażnikiem genomu, w wyniku wykrycia zmian w materiale genetycznym, zatrzymuje cykl komórkowy i uruchamia ekspresję genów naprawy DNA bądź też, jeśli uszkodzenia są zbyt duże, wprowadza komórkę na drogę apoptozy [38]. Okazuje się, że około 50% nowotworów charakteryzuje się dysfunkcją genu p53 [6]. W wielu przypadkach mutacje p53 mogą mieć charakter predykcyjny dla przebiegu choroby, m.in. raka piersi czy chłoniaka [1, 45]. Potwierdzeniem tych doniesień są badania Antosz i wsp., w których określano zależność pomiędzy poziomem ekspresji p53 w limfocytach osób chorych na przewlekłą białaczkę limfoblastyczną typu B (B-CLL) a progresją choroby [6]. U pacjentów, u których stwierdzono zwiększoną ekspresję p53, obserwowano także znacznie krótszy czas przeżycia. Również w raku endometrium typu II (charakteryzującym się niepomyślnym przebiegiem) p53 odgrywa niemałą rolę. W 80-90% przypadków mutacja p53 jest wczesnym wydarzeniem w rozwoju nowotworu. Rokowania dla pacjentek z dysfunkcją tego genu są niekorzystne [15, 16]. Bardzo interesujące obserwacje dotyczące udziału p53 w rozwoju zmian złośliwych poczynili Reszec i wsp. [51]. Wykazali, że mutacje w genie kodującym p53 prowadzą do dysplazji i rozwoju raka nabłonkowego spojówki i powieki. Podobne rezultaty uzyskano analizując ekspresję onkogeny c-Myc, który pełni kluczową rolę w indukcji proliferacji pod wpływem czynników mitogennych [46]. Wysoka ekspresja c-Myc w B-CLL, podobnie jak i w innych nowotworach, wiąże się z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, co jednocześnie czyni go czynnikiem niepomyślnej prognozy [6]. Częstoczką, której ekspresję często określa się w kontekście oceny intensywności proliferacji komórkowej w jest Ki-67. Antygen ten wykazuje ekspresję we wszystkich aktywnych fazach cyklu komórkowego [53]. Okazuje się, że wykazuje on zwiększoną ekspresję w niektórych nowotworach (szpiczak mnogi, mięśniaki, rak piersi), co z reguły wiąże się z niekorzystnym przebiegiem choroby [53]. Uważa się, że Ki-67 jest jednym z najbardziej wiarygodnych markerów biologicznych w raku prostaty, i może być traktowany jako czynnik niepomyślnej prognozy. Ponadto, może być również wykorzystywany w diagnostyce różnicowej, w celu odróżnienia łagodnych zmian hiperplastycznych prostaty od zmian nowotworowych [40]. Stwierdzono także, że Ki-67 wykazuje zwiększoną ekspresję w bardziej zaawansowanym pod względem histologicznym raku piersi, co potwierdza użyteczność antygeny jako markera rokowniczego [63]. Podobnymi właściwościami charakteryzuje się także, nie wykorzystywany do tej pory do celów klinicznych antygen MCM-2, który reguluje replikację DNA podczas podziału komórki poprzez formowanie kompleksu pre-replikacyjnego [35].

Wydaje się, że w niektórych przypadkach nowotworów, m.in. w raku piersi może wykazywać istotne znaczenie prognostyczne [62].

Cechą charakterystyczną komórek nowotworowych jest ich zdolność do blokowania procesu programowanej śmierci komórki. Najczęściej zachodzi to wskutek indukcji ekspresji cząsteczek antyapoptotycznych, takich jak Bcl-2 czy surwiwina, bądź obniżenia poziomu białek proapoptotycznych, m.in. kaspaz czy Fas. Białko Bcl-2, jako jeden z głównych regulatorów apoptozy, jest przedmiotem zainteresowania wielu grup badawczych. Zaobserwowano, że zwiększony poziom tego białka w cytoplazmie jest charakterystyczny dla guzów o większych rozmiarach w przypadku niedrobnokomórkowego raka płuc [20]. Potwierdził to Wang i wsp. w najrzadszym nowotworze narządów żeńskich – pierwotnym raku jajowodu, gdzie immunohistochemicznie stwierdzono, że poziom Bcl-2 pozytywnie koreluje ze stopniem zaawansowania nowotworu wg skali FIGO, jak również ze zwiększoną inwazją do węzłów chłonnych [61]. Podobnych obserwacji dokonano także dla innych nowotworów. Doniesienia te sugerują, że Bcl-2 może mieć znaczenie prognostyczne dla pacjentów z różnymi typami nowotworów. Innym inhibitorem apoptozy jest surwiwina. Białko to jest stosunkowo niedawno opisanym czynnikiem, który blokuje szlak mitochondrialny i zewnątrzpochodny apoptozy poprzez bezpośrednie hamowanie indukcji kaskady kaspaz. Surwiwina nie wykazuje ekspresji w dojrzałych tkankach ludzkich, jej obecność stwierdza się jedynie w czasie rozwoju embrionalnego i płodowego. Co ciekawe, komórki nowotworowe nabywają ekspresji surwiwiny, co najczęściej wiąże się z niepomyślną diagnozą. Zaobserwowano to m.in. w raku piersi, gdzie zwiększony poziom białka korelował pozytywnie ze stopniem zaawansowania nowotworu, zwiększoną inwazją do węzłów chłonnych, rozmiarem guza, jak również wiązał się z krótszym czasem przeżycia [8]. Doniesienia te sugerują, że zarówno Bcl-2, jak i surwiwina mogą być czynnikami predykcyjnymi dla pacjentów z różnymi typami nowotworów. Jak wspomniano, nowotwory bronią się przed apoptozą także poprzez obniżanie lub hamowanie ekspresji białek, które indukują proces programowanej śmierci komórki. Jednymi z częściej analizowanych czynników są receptor Fas i jego ligand (FasL). FasL po związaniu do receptora aktywuje kaskadę kaspaz w szlaku zewnątrzpochodnym apoptozy. Proces ten jest zaburzony w nowotworach piersi, przełyku czy żołądka [49]. Deregulację apoptozy indukowanej FasL/Fas obserwuje się również w raku jelita grubego. Stwierdza się słabą ekspresję białka Fas w tkance zajętej przez nowotwór, podczas gdy w prawidłowym nabłonku jelita Fas wykazuje intensywną ekspresję [49]. W niedrobnokomórkowym raku płuc (NSCLC) zaobserwowano obniżenie poziomu cytoplazmatycznego Fas, co jednocześnie wskazuje na niepomyślny przebieg choroby. Podobne wyniki uzyskano w raku żołądka, gdzie ekspresja FasL/Fas obniżała się wraz ze stopniem zaawansowania nowotworu [23]. Co ciekawe, wykazano również, że oznaczanie poziomu liganda Fas nie ma znaczenie rokowniczego, ale stwierdzono, że jednoczesna ocena ekspresji FasL i kaspazy 3 u pacjentów z NSCLC może być pomocna w określeniu przebiegu nowotworu

[20]. Interesującymi aktywatorami apoptozy są cząsteczki smac/DIABLO, uczestniczące w mitochondrialnym i zewnątrzpoходnym szlaku programowanej śmierci komórki, poprzez aktywację kaskady kaspaz w wyniku hamowania ich inhibitorów. Wykazano, że ekspresja smac/DIABLO jest w wielu nowotworach obniżona. Obserwacje takie poczyniono m.in. dla raka płuc, jelita grubego, wątroby i endometrium. W tym ostatnim przypadku znaczenie prognostyczne cząsteczek smac dla przebiegu tego nowotworu zaobserwowała Dobrzycka i wsp.[14].

Degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej jest kluczowym elementem dla progresji nowotworu – naciekania okolicznych tkanek i tworzenia przerzutów. Komórki nowotworowe syntetyzują zatem czynniki, które uczestniczą w tym procesie. Zalicza się do nich metaloproteinazy, które są endopeptydazami mającymi zdolność niszczenia poszczególnych komponentów błony podstawnej i macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Z racji wysoce istotnej funkcji w rozwoju nowotworów, wydaje się, że oznaczanie poziomu metaloproteinaz może być pomocne w diagnostyce nowotworów. Fakt ten potwierdza wiele doniesień literaturowych. Laudański i wsp. zaobserwowali istotnie zwiększony poziom metaloproteinazy 1 typu błonowego (MT1-MMP/MMP-14) w surowicy krwi u pacjentek z rakiem w porównaniu do osób zdrowych [36]. Obserwacja ta wydaje się potwierdzać zaangażowanie MMP14 w rozwój nowotworu, co przejawia się głównie poprzez zdolność do inwazji. Należy tu wspomnieć, że ekspresja metaloproteinaz kontrolowana jest przez ich endogenne inhibitory (TIMP). Często w nowotworach równowaga pomiędzy poziomem MMP a inhibitorami jest zaburzona. Postuluje się udział kompleksu metaloproteinazy/TIMP w rozwoju wielu nowotworów, takich jak rak piersi, żołądka czy trzustki. Mroczo i wsp. sugerują, że surowicze MMP2 i TIMP2 wykazują istotniejsze znaczenie prognostyczne w przebiegu raka żołądka niż klasyczne markery – CEA i CA 19-9 – zazwyczaj oznaczane w tym nowotworze [44]. Również Groblewska i wsp. potwierdzają użyteczność TIMP2 jako markera rokowniczego u pacjentów z rakiem jelita grubego [22]. Wydaje się zatem, że metaloproteinazy i ich inhibitory mogą być niezwykle pomocne w diagnostyce i określaniu przebiegu wielu chorób nowotworowych. Okazuje się, że także inne cząsteczki związane z macierzą zewnątrzkomórkową lub zjawiskami adhezji są zaangażowane w nowotworzenie, i z tego względu budzą zainteresowanie jako potencjalne markery. Ciekawym przykładem są produkowane przez komórki nowotworowe enzymy hydrolityczne, uczestniczące w niszczeniu komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej – lizosomalne egzoglikozydazy. Najpopularniejsze z nich: HEX, GAL, FUC i MAN degradują tkankę łączną poprzez odcinanie w kwaśnym środowisku oligosacharydów z glikoprotein [62]. U pacjentów z gruczolakorakiem trzustki zaobserwowano zwiększony poziom enzymów lizosomalnych, zarówno w surowicy krwi, jak i moczu, co może wskazywać na destrukcję prawidłowej tkanki trzustki przez komórki nowotworowe [58]. Podobne obserwacje poczynił Bierz i wsp. w guzach dużych gruczołów ślinowych [10].

Grupa ta wykazała, że u pacjentów z nowotworem znacznie zwiększał się poziom egzoglikozydaz w surowicy krwi w porównaniu do osób zdrowych. Fakty te implikują tezę, iż ocena profilu aktywności enzymów zaangażowanych w degradację protein ECM, a szczególności HEX, GAL, FUC i MAN, mogą być wykorzystywane w diagnostyce wielu nowotworów. Inwazyjność nowotworów i zdolność do tworzenia odległych przerzutów niejednokrotnie związana jest z dysfunkcją kompleksu E-kadheryna-katenina. E-kadheryna jest błonowym białkiem, którego rolą jest zabezpieczenie różnicowania się komórek oraz utrzymanie prawidłowej architektury tkanki nabłonkowej. Udowodniono, że wiele nowotworów pokonuje barierę połączeń międzykomórkowych tracąc bądź redukując ekspresję kadheryny E, jak również generując mutacje w genach kodujących kateninę. Czyżewska i wsp. wykazali w raku żołądka, że utrata ekspresji kadheryny E wiązała się z zajęciem przez nowotwór węzłów chłonnych [13]. Także mięsaki prążkowanokomórkowe charakteryzują się zmniejszonym poziomem kadheryny E, co ciekawe – z jednoczesnym wzrostem ekspresji metaloproteinaz [50]. W raku trzustki zaobserwowano znacznie obniżoną lub brak ekspresji E-kadheryny, jak również zmianę lokalizacji białka z błonowej na cytoplazmatyczną. Zmiana umiejscowienia cząsteczki wiąże się prawdopodobnie z jej defektem (utrata domeny zewnątrzkomórkowej lub domeny wiążącej kateniny, mutacją genu kodującego, hipermetylacją bądź utratą czynników transkrypcyjnych) [48]. Wykazano jednocześnie, że do takiej sytuacji dochodziło w nowotworach o bardziej agresywnym charakterze, wskazując tym samym na kadherynę E jako potencjalny czynnik prognostyczny. Podobny schemat obserwowany jest także w innych typach nowotworów, takich jak rak prostaty [43] czy jelita grubego [59]. Ogromna rola cząsteczek związanych z adhezją międzykomórkową czy degradacją macierzy zewnątrzkomórkowej w kancerogenezie sugeruje, iż mogą one być potencjalnymi markerami diagnostycznymi lub prognostycznymi, których wykorzystanie może usprawnić tę dziedzinę medycyny.

Rozwój nowotworu związany jest w dużej mierze z łamaniem bariery immunologicznej organizmu. Z drugiej strony, organizm, w którym dochodzi do powstania nowotworu, aktywuje komórki układu odpornościowego w celu zwalczania choroby. Niestety, jak wiadomo, naturalna ochrona nie jest wystarczająca, aby skutecznie zwalczyć nowotwór. Nie jest do końca jasne, w jaki sposób komórki nowotworowe modulują aktywność i funkcję komórek immunologicznych. Jeszcze bardziej skomplikowany obraz można zaobserwować w nowotworach limfoproliferacyjnych, gdzie komórki układu odpornościowego są jednocześnie komórkami nowotworowymi. Badania dotyczące tej tematyki skupiają się wokół wyjaśnienia oddziaływań nowotwór-układ immunologiczny, ale także wykorzystania tych zjawisk w diagnostyce i leczeniu. Niezwykle interesujące są doniesienia dotyczące komórek NKT, będących jednym z rodzajów limfocytów T pomocniczych, w których stwierdza się także ekspresję antygenów charakterystycznych dla komórek NK. Komórki NKT stanowią barierę dla

patogenów mikrobiologicznych, kontrolują rozwój chorób autoimmunologicznych, jak również pełnią kluczową rolę w odpowiedzi na powstający nowotwór. Wykazano, że w wielu nowotworach poziom komórek NKT znacznie się obniża. Stwierdzono to m.in. w czerniaku, czy raku prostaty [54, 25]. W chłoniaku B-komórkowym również zaobserwowano podobne zjawisko, przy czym dotyczyło to pacjentów w bardziej zaawansowanych stadiach choroby, u których dodatkowo stwierdzono obecność czynników niepomyślnej prognozy [25]. Fakty te, z jednej strony sugerują możliwość wykorzystania oceny poziomu komórek NKT jako czynnika o charakterze rokowniczym, z drugiej zaś wskazują na ogromny potencjał tychże komórek w terapii nowotworów. Badania eksperymentalne na myszach potwierdzają, że stymulacja komórek NKT zwiększa ich aktywność antynowotworową. Ciekawym trendem wydaje się również być poszukiwanie obiektywnych biomarkerów prognostycznych na polu zjawisk immunologicznych. Wiele badań analizuje wpływ aktywacji limfocytów T CD4+ oraz CD8+ na inwazyjność nowotworu, jak również na kliniczny przebieg choroby. Okazuje się, że pojawianie się markerów wczesnej (CD69+, CD71+) i późnej (HLA/DR+) aktywacji limfocytów T CD4+ i CD8+ koreluje z parametrami klinikomorfologicznymi w raku krtani, szczególnie z głębokością nacieku i histologicznym stopniem zaawansowania [56, 57]. Sugeruje to jednocześnie, że ekspresja wczesnych i późnych markerów limfocytów T wykazuje znaczenie prognostyczne. Oprócz komórek immunokompetentnych, również produkowane przez nie substancje mogą odgrywać rolę w nowotworzeniu. Zalicza się do nich m.in. chemokiny, które syntetyzowane są głównie przez leukocyty. Częsteczki te zaangażowane są przede wszystkim w regulację migracji krwinek białych, ale biorą także udział w procesach związanych z zapaleniem oraz rozwojem i progresją nowotworów [29]. Wykazano, że chemokiny CXCL1-CXCL4 w sposób autokryny stymulują wzrost komórek czerniaka [47]. Z kolei Mazur i wsp. zaobserwowali, że cytokiny CCL2 i CXCL10 mają znacznie podwyższony poziom w chłoniaku nieziarnicznym [42]. Ponadto, nadekspresja obydwu chemokin pozytywnie koreluje z krótszym czasem przeżycia pacjentów. Wykazują one zatem wartość predykcyjną. Innymi molekułami, które również wpływają na funkcjonowanie i aktywność komórek immunologicznych są mucyny. Substancje te produkowane są przez komórki gruczołowe oraz komórki nabłonkowe i kontrolują m.in. aktywność komórek NK [26]. Uważa się, że poprzez działanie immunosupresyjne, jak również wpływ na podstawowe funkcje życiowe komórki (wzrost, proliferacja), zaangażowana są także w proces kancerogenezy. Przemawia za tym fakt, że w wielu nowotworach zaobserwowano podwyższoną ekspresję mucyn. Dodatkowo, poziom niektórych mucyn (MUC-1) koreluje z krótszym czasem przeżycia pacjentów, ma zatem znaczenie prognostyczne [37]. Bezsporny fakt udziału układu immunologicznego w rozwoju nowotworów otwiera drogę do poszukiwania nowych czynników diagnostycznych i rokowniczych. Bez wątpienia, dotychczasowe osiągnięcia stwarzają nadzieję na poprawę skuteczności w walce z nowotworami.

TERAPIA ANTYNOWOTWOROWA

Leczenie nowotworów, mimo ogromnego postępu, jest wciąż kwestią otwartą. Współczesna medycyna nadal nie dysponuje środkami, które umożliwiłyby efektywną walkę z chorobami nowotworowymi. Sytuacja taka jest wynikiem współlistnienia kilku zmiennych, m.in. zbyt późnego wykrywania choroby, obecności krążących komórek nowotworowych mimo usunięcia guza pierwotnego czy nieskuteczności stosowanych leków, implikowanej istnieniem zjawiska oporności lekowej. W obliczu ciągłego wzrostu zachorowań na nowotwory, poszukiwania nowych metod terapii bądź doskonalenie już istniejących są niezbędne.

Jednym ze stosowanych środków, obok leczenia chirurgicznego i radioterapii, jest leczenie lekami cytostatycznymi, tzw. chemioterapia. Niestety, dotychczas poznane i stosowane leki nie zawsze przynoszą pozytywny efekt. W świetle tym interesujące wydają się być badania nad oznaczaniem efektywności antynowotworowej różnego rodzaju substancji, zupełnie nowych bądź pochodnych wykorzystywanych już w leczeniu. Jedną z nich jest grupa popularnych związków roślinnych, flawonoidów. Od wielu lat znane są ich właściwości antynowotworowe [19]. Ciekawym przykładem wśród nich jest kwercetyna. Substancja ta hamuje proliferację komórek wielu nowotworów *in vitro*, takich jak: rak piersi, płuc, jelita grubego czy glejaki. Ponadto wykazano, że może indukować proces programowanej śmierci komórki [21]. Uważa się także, że kwercetyna i inne flawonoidy mają zdolność hamowania mutagenezy w prawidłowych tkankach, co, ze względu na ich stosunkowo łatwą dostępność, jest niezwykle cenne w aspekcie zapobiegania powstawaniu nowotworów [21]. Co ciekawe, zastosowanie kwercetyny rozpatruje się również w przełamywaniu oporności wielolekowej komórek nowotworowych. Problem ten jest niezwykle istotny z punktu widzenia powodzenia leczenia cytostatykami. Wiele nowotworów wykazuje pierwotną bądź nabytą oporność na stosowane chemioterapeutyki, z tego też względu ten sposób leczenia bywa nieskuteczny. Okazuje się jednak, że kwercetyna prawdopodobnie uwrażliwia komórki raka trzustki na daunorubicynę. Jednocześnie oddziałuje synergistycznie z cytostatykami na komórki nowotworowe [12]. Wyniki te zdają się sugerować, że kwercetyna może niwelować zjawisko oporności wielolekowej. Ponadto, zastosowanie flawonoidu wraz z lekami cytostatycznymi pozwala na redukcję dawki chemioterapeutyku, a tym samym zmniejsza ryzyko wystąpienia efektów ubocznych. Innymi ciekawymi substancjami w aspekcie leczenia nowotworów są aminotiadialoze. Ich właściwości antynowotworowe są znane od wielu lat. Lata 80-te ubiegłego wieku były okresem, w którym niektóre pochodne aminotiadiazoli zakwalifikowano do badań klinicznych [7, 39]. Wykazywały one jednak słabe działanie hamujące na wzrost komórek guza oraz niosły ze sobą wiele efektów ubocznych. Jednakże lata badań nad tymi substancjami zaowocowały opracowaniem pochodnych, które charakteryzują się silnie antyproliferycyjną

aktywnością oraz relatywnie niską toksycznością. Jedną z nich jest 2-(3-chlorofenyloamino)-5-(2,4-dihydroksyfenylo)-1,3,4-tiadiazol – 4ClABT [28]. Badania przeprowadzone na szerokiej grupie nowotworów (rak piersi, jelita grubego, tarczycy, białaczka T-komórkowa, nowotwory układu nerwowego – rdzeniaki, gwiaździaki, glejaki) potwierdziły, że 4ClABT hamuje syntezę DNA komórek nowotworowych, inicjuje ich zmiany morfologiczne, jak również redukuje ich ruchliwość. Nie obserwowano natomiast takiego wpływu pochodnej aminotiadiazoli na prawidłowe fibroblasty. Daje to podstawy by sądzić, że 4ClABT, jak i być może inne pochodne aminotiadiazoli, mogą być alternatywą dla obecnie stosowanych leków antynowotworowych.

Warte zainteresowania są zagadnienia dotyczące peptydaz cysteinowych – katepsyn. Enzymy te pełnią w organizmie szereg fizjologicznych funkcji, przede wszystkim odpowiedzialne są za degradację białek w lizosomach, ale także za funkcjonowanie mięśnia sercowego – katepsyna L, przebudowę kości – katepsyna K, czy prezentację antygenów związaną z MHC klasy II – katepsyna S [33]. Jednak największe zainteresowanie budzi udział katepsyn w rozwoju i przerzutowaniu nowotworów. Ulegają one nadmiernej ekspresji w wielu nowotworach (m.in. w czerniaku, raku płuc, piersi, jelita grubego czy prostaty), a sprzyjają progresji choroby poprzez stymulację uwalniania zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów i degradacją wielu białek, głównie białek macierzy zewnątrzkomórkowej [60]. Aktywność katepsyn kontrolowana jest przez autogenne inhibitory – cystatyny, jednak w nowotworach proces ten ulega rozregulowaniu [31]. Fakty te stały się inspiracją do poszukiwania egzogennych inhibitorów katepsyn, które będą efektywne w terapii antynowotworowej, a jednocześnie nie będą toksyczne dla prawidłowych tkanek organizmu. Okazuje się, że inhibitory wyizolowane z białka jaja kurzego wykazują znaczną homologię z naturalnie występującymi ludzkimi cystatynami SN i C [65]. Hap i wsp. przetestowali blokujące działanie inhibitorów pochodzących z jaj kurzych na aktywność katepsyny B i L, oznaczanych w materiale pochodzącym od 60 pacjentów z rakiem jelita grubego [24]. Wyniki są obiecujące – czynniki te, w dawko-zależny sposób hamują działanie peptydaz. Znaczne podobieństwo cystatyn kurzych do ludzkich ogranicza ich potencjalną toksyczność oraz redukuje odpowiedź immunologiczną organizmu na podane leki. Wydaje się, że również w leczeniu innych nowotworów, takich jak rak piersi, jajnika czy trzustki, cystatyny wykazują działanie antynowotworowe [4, 5]. Co ciekawe, podanie dootrzewnowe cystatyn pochodzących z jaj kurzych o dużej masie cząsteczkowej zmniejsza możliwość przedostawania się cząsteczek leku do krwi obwodowej, ograniczając tym samym ich potencjalny toksyczny wpływ na resztę ustroju [5]. Wykorzystanie czynników hamujących w walce z chorobami nowotworowymi, wydaje się być odzwierciedleniem obiecującego trendu w ich leczeniu – terapii inhibitorami.

Podawanie leków cytostatycznych niezwykle często wykazuje ogólnosystemową toksyczność, prowadząc do m.in. supresji szpiku kostnego,

neurotoksyczności czy kardiomiopatii [2]. Ten stan rzeczy jest wynikiem nie dość efektywnej bądź nawet braku selekcji komórek prawidłowych i nowotworowych. Z pomocą przychodzi intensywnie rozwijająca się dziedzina nauki – nanomedycyna, która próbuje zastosować rozwiązania nanotechnologii w odniesieniu do zagadnień natury medycznej [34]. Nanotechnologia i nanomedycyna dają szansę na stworzenie terapii celowanej, która swój toksyczny efekt będzie wywierać jedynie na komórki nowotworowe. Do tej pory przetestowano wiele nanocząsteczek w aspekcie potencjalnego zastosowania w medycynie, a szczególnie w leczeniu antynowotworowym (m.in. w raku piersi, szpiczaku mnogim) [9, 64]. Na szczególną uwagę zasługują nanocząsteczki tlenków metali, których niewielkie rozmiary i stosunkowo duża powierzchnia idą w parze z wysoką reaktywnością chemiczną i toksycznością. Udowodniono, że nanocząsteczki tlenku niklu (NiO) powodują powstawanie reaktywnych form tlenu, które mogą uszkadzać DNA [30]. Ponadto sam nikiel, uwalniany po związaniu tlenku niklu do otoczki jądrowej, może mieć szkodliwy wpływ na materiał genetyczny [8]. Wydaje się, że potencjalna toksyczność NiO, jak i innych nanocząsteczek, może być wykorzystana w walce z nowotworami. Ada i wsp. ocenili efektywność indukcji apoptozy oraz cytotoksyczne działanie tlenku niklu na komórki raka szyjki macicy HeLa [2]. Wykazali, że nanocząsteczki w sposób zależny od dawki i czasu, znacząco zmniejszają żywotność komórek nowotworowych. Dodatkowo, immunohistocjemicznie i immunofluorescencyjnie potwierdzili wzrost ilości komórek wchodzących na drogę programowanej śmierci przy zastosowaniu NiO. Okazuje się także, że nanocząsteczki działają w sposób wybiórczy – w przypadku komórek prawidłowych nie zaobserwowano toksycznego efektu wywieranego przez nanomolekuły [9]. Wydaje się, że nanotechnologia może być niezwykle pomocna w dziedzinie badań nad leczeniem antynowotworowym, stwarzając nowe perspektywy i możliwości.

Diagnostyka i leczenie nowotworów są zagadnieniami o niezwykle szerokim spektrum. Wynika to ze złożoności choroby, jaką jest nowotwór. Zmiana metabolizmu komórkowego, utrata bądź nadmierna ekspresja cząsteczek odpowiedzialnych za regulację podstawowych czynności życiowych komórki czy też wytwarzanie różnego rodzaju mechanizmów obronnych przez komórki nowotworowe powoduje, że jest to problem niezmiernie złożony. Intensywny rozwój technik badawczych w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat sprawił, iż możliwe stało się bliższe poznanie biologii nowotworów, co rzuciło również światło na zagadnienia związane z ich diagnozowaniem i leczeniem. Mimo, że nasza wiedza nadal nie jest wystarczająca, by móc w pełni efektywnie walczyć z tą chorobą, postęp w tej dziedzinie jest ogromny i pozwala optymistycznie patrzeć w przyszłość.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z projektu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, numer umowy NR13 0006 06/2009.

LITERATURA

- [1] AAS T, BØRRESEN AL, GEISLER S, SMITH-SØRENSEN B, JOHNSEN H, VARHAUG JE, AKSLEN LA, LØNNING PE. Specific P53 mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat Med* 1996; **2**: 811–814
- [2] ADA K, TURK M, OGUZTUZUN S, KILIC M, DEMIREL M, TANDOGAN N, ERSAYAR E, LATIF O. Cytotoxicity and apoptotic effects of nickel oxide nanoparticles in cultured HeLa cells. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 524-9.
- [3] AGRAWAL AK, JELEN M, RUDNICKI J, GRZEBIENIAK Z, ZYŚKO D, KIELAN W, SŁONINA J, MAREK G. The importance of preoperative elevated serum levels of CEA and CA15-3 in patients with breast cancer in predicting its histological type. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(1)**: 26-29.
- [4] AGRAWAL AK, EKONJO GB, TETERYCZ E, ZYOEKO D, GRZEBIENIAK Z, MILAN M, MAREK G, SIEWIŃSKI M. Cysteine peptidases and their inhibitors in breast and genital cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 323-327.
- [5] AGRAWAL AK, KIELAN W, KATIB A, GRZEBIENIAK Z, SKALSKI A, GRZEBIENIAK T, DUDA-BARCIK L, JANOCHA A, SIEWIŃSKI M. Inhibition of cysteine peptidase activity in ascitic fluid in pancreatic cancer patients. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 513-517.
- [6] ANTOSZ H, PATERSKI A, MARZEC-KOTARSKA B, SAJEWICZ J, DMOSZYŃSKA A. Alterations in TP53, cyclin D2, c-Myc, p21WAF1/CIP1 and p27KIP1 expression associated with progression in B-CLL. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 534-541.
- [7] ASBURY RF, WILSON J, BLESSING JA, BUCHSBAUM HJ, DISAIA PJ. Aminothiadiazole (NSC4728) in patient with advanced ovarian carcinoma. A phase II study of the Gynecologic Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1986; **9**: 334–336.
- [8] ATHANASSIADOU AM, PATSOURIS E, TSIPIS A, GONIDI M, ATHANASSIADOU P. The significance of Survivin and Nectin-4 expression in the prognosis of breast carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 26-33.
- [9] BHATTACHARYYA R, PATRA CR, VERNA R, KUMAR S, GREIPP PR, MUKHERJEE P. Gold nanoparticles inhibit the proliferation of multiple myeloma cells. *Advanced Materials.* 2007; **19**: 711-716.
- [10] BIERC M, MINAROWSKI L, WOŹNIAK L, CHOJNOWSKA S, KNAS M, SZAJDA S, ZWIERZ K. The activity of selected glycosidases in salivary gland tumors. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 471-474.
- [11] BOJARSKA-JUNAK A, SIEKLUCKA M, HUS I, WĄSIK-SZCZEPANEK E, KUSZ ML, SURDACKA A, CHOCHOLSKA S, DMOSZYŃSKA A, ROLIŃSKI J. Assessment of the pathway of apoptosis involving PAR-4, DAXX and ZIPK proteins in CLL patients and its relationship with the principal prognostic factors. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 98-103.
- [12] BORSKA S, DRAG-ZALESINSKA M, WYŚOCKA T, SOPEL M, DUMANSKA M, ZABEL M, DZIEGIEL P. Antiproliferative and pro-apoptotic effects of quercetin on human pancreatic carcinoma cell lines EPP85-181P and EPP85-181RDB. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(2)**: 222-229.
- [13] CZYZEWSKA J, GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, USTYMOWICZ M, PRYCYNICZ A, KEMONA A. The expression of E-cadherin-catenin complex in patients with advanced gastric cancer: role in formation of metastasis. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(1)**: 37-45.
- [14] DOBRZYCKA B, TERLIKOWSKI SJ, BERNACZYK PS, GARBOWICZ M, NIKLINSKI J, CHYCZEWSKI L, KULIKOWSKI M. Prognostic significance of smac/DIABLO in endometrioid endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 678-681.

- [15] DOBRZYCKA B, TERLIKOWSKI SJ, GARBOWICZ M, NIKLIŃSKI J, CHYCZEWSKI L, KULIKOWSKI M. The prognostic significance of the immunohistochemical expression of P53 and BCL-2 in endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(4)**: 631-635.
- [16] DOBRZYCKA B, TERLIKOWSKI SJ. Biomarkers as prognostic factors in endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 319-322.
- [17] DUFFY MJ, STURGEON C, LAMERZ R, HAGLUND C, HOLUBEC VL, KLAPDOR R, NICOLINI A, TOPOLCAN O, HEINEMANN V. Tumor markers in pancreatic cancer: a European Group on Tumor Markers (EGTM) status report. *Ann Oncol.* 2010; **21(3)**: 441-447.
- [18] DUNNICK JK, ELWELL MR, RADOVSKY AE, BENSON JM, HAHN FF, NIKULA KJ, BARR EB, HOBBS CH. Comparative carcinogenic effects of Nickel subsulfide, nickel oxide, or Nickel sulfate hexahydrate chronic exposures in the lung. *Cancer Research.* 1995; **55**: 5251-5256.
- [19] ERLUND I. Review of flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res.* 2004; **24**: 551-874.
- [20] FAN CF, XU HT, LIN XY, YU JH, WANG EH. A multiple marker analysis of apoptosis-associated protein expression in non-small cell lung cancer in a Chinese population. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(2)**: 231-239.
- [21] FORMICA JV, REGELSON W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol.* 1995; **33**: 1061-1080.
- [22] GROBLEWSKA M, MROCZKO B, GRYKO M, KĘDRA B, SZMITKOWSKI M. Matrix metalloproteinase 2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2 in the diagnosis of colorectal adenoma and cancer patients. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 564-571.
- [23] GRYKO M, GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, PRYCYNYCZ A, CEPOWICZ D, KUKLIŃSKI A, CZYŻEWSKA J, KEMONA A, KĘDRA B. Correlation between Fas and FasL proteins expression in normal gastric mucosa and gastric cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 142-147.
- [24] HAP A, KIELAN W, GRZEBIENIAK Z, SIEWINSKI M, RUDNICKI J, TARNAWA R, RUDNO-RUDZINSKA J, AGRAWAL AK. Control of active B and L cathepsins in tissues of colorectal cancer using cystatins isolated from chicken egg proteins: in vitro studies. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(4)**: 670-676.
- [25] HUS I, TABARKIEWICZ J, LEWANDOWSKA M, WASIAK M, WDOWIAK P, KUSZ M, LEGIEĆ M, DMOSZYŃSKA A, ROLIŃSKI J. Evaluation of monocyte-derived dendritic cells, T regulatory and Th17 cells in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 153-160.
- [26] IRIMURA T, MCISAAC AM, CARLSON DA, YAGITA M, GRIMM EA, MENTER DG, OTA DM, CLARY KR. Soluble factor in normal tissues that stimulates high-molecular-weight sialoglycoprotein production by human colon carcinoma cells. *Cancer Res.* 1990; **50**: 3331-3338.
- [27] JI M, GUAN H, SHI B, HOU P. Concomitant hypermethylation of multiple genes in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 132-141.
- [28] JUSZCZAK M, MATYSIAK J, NIEWIADOMY A, RZESKI W. The activity of a new 2-amino-1,3,4-thiadiazole derivative 4CIABT in cancer and normal cells. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(3)**: 436-444.
- [29] KAKINUMA T, HWANG ST. Chemokines, chemokine receptors and cancer metastasis. *J Leukocyt Biol.* 2006; **79**: 639-651.
- [30] KAWANISHI S, OIKAWA S, INOUE S, NISHINO K. Distinct mechanisms of oxidative DNA damage induced by carcinogenic nickel subsulfide and nickel oxides. *Environmental Health Perspectives.* 2002; **110(suppl 5)**: 789-791.
- [31] KOS J, LAH TT. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer (review). *Oncol.* 1998; **5**: 1349-1361.
- [32] KOZŁOWSKI M, NAUMNIK W, NIKLIŃSKI J, MILEWSKI R, LAPUĆ G, LAUDAŃSKI J. Lymphatic vessel invasion detected by the endothelial lymphatic marker D2-40 (podoplanin) is predictive of regional lymph node status and an independent prognostic factor in patients with resected esophageal cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 90-97.
- [33] KUESTER D, LIPPERT H, ROESSNER A, KRUEGER S. The cathepsin family and their role in colorectal cancer. *Pathol Res Pract.* 2008; **204**: 491-500.
- [34] LANONE S, BOCZKOWSKI J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Curr Mol Med.* 2006; **6**: 651-663.

- [35] LASKEY RA, MADINE MA. Rotary pumping model for helicase function of MCM proteins at a distance from replication forks. *EMBO Rep.* 2003; **4**: 26-30.
- [36] LAUDAŃSKI P, SWIATECKA J, KOZŁOWSKI L, LEŚNIEWSKA M, WOJTUKIEWICZ M, WOŁCZYŃSKI S. Increased serum level of membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP/MMP-14) in patients with breast cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(1)**: 101-103.
- [37] LEMANCEWICZ D, BOLKUN L, POROWSKA H, GALAR M, SEMENIUK J, KLOCZKO J, DZIECIOŁ J. The levels of sMUC-1 in patients with multiple myeloma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(4)**: 654-658.
- [38] LEVINE AJ, OREN M. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nat Rev Cancer.* 2009; **9(10)**: 749-758.
- [39] LOCKER GY, KHANDEKAR J, KRAUSS S, REISEL H, HOELTGEN T, WOLTER J, HAID M, HOFFMAN R, BLOUGH R, JOHNSON C. Phase II trial of aminothiadiazole in previously treated and untreated patients with advanced colorectal carcinoma: an Illinois Cancer Council Trial. *Cancer Treat Rep.* 1987; **71**: 649-650.
- [40] MAKAREWICZ R, ZYROMSKA A, ANDRUSEWICZ H. Comparative analysis of biological profiles of benign prostate hyperplasia and prostate cancer as potential diagnostic, prognostic and predictive indicators. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(3)**: 452-457.
- [41] MAURO A, LIPARI L, LEONE A, TORTORICI S, BURRUANO F, PROVENZANO S, GERBINO A, BUSCEMI M. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in normal and pathological human oral mucosa. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 555-563.
- [42] MAZUR G, JASKUŁA E, KRYCZEK I, DŁUBEK D, BUTRYM A, WRÓBEL T, LANGE A, KULICZKOWSKI K. Proinflammatory chemokine gene expression influences survival of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(2)**: 240-247.
- [43] MORTON RA, EWING CM, NAGAFUCHI A, TSUKITA S, ISAACS WB. Reduction of E-cadherin levels and deletion of the Ralphacatenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res.* 1993; **53**: 3585-3590.
- [44] MROCZKO B, LUKASZEWICZ-ZAJĄC M, GRYKO M, KĘDRA B, SZMITKOWSKI M. Clinical significance of serum levels of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and its tissue inhibitor (TIMP-2) in gastric cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(1)**: 125-131.
- [45] O'SHEA D, O'RIAIN C, TAYLOR C, WATERS R, CARLOTTI E, MACDOUGALL F, GRIBBEN J, ROSENWALD A, OTT G, RIMSZA LM, SMELAND EB, JOHNSON N, CAMPO E, GREINER TC, CHAN WC, GASCOYNE RD, WRIGHT G, STAUDT LM, LISTER TA, FITZGIBBON J. The presence of TP53 mutation at diagnosis of follicular lymphoma identifies a high-risk group of patients with shortened time to disease progression and poorer overall survival. *Blood* 2008; **112**: 3126-3129.
- [46] PAJIC A, SPITKOVSKY D, CHRISTOPH B, KEMPES B, SCHUHMACHER M, STAEGE MS, BRIELMEIER M, ELLWART J, KOHLHUBER F, BORNKAMM GW, POLACK A, EICK D. Cell cycle activation by c-myc in a burkitt lymphoma model cell line. *Int J Cancer.* 2000; **87**: 787-793.
- [47] PAYNE AS, CORNELIUS LA. The role of chemokines in melanoma tumor growth and metastasis. *J Invest Dermatol.* 2002; **118**: 915-922.
- [48] PRYZYNYCZ A, GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, KEMONA A, CZYZEWSKA J. Expression of the E-cadherin-catenin complex in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(1)**: 128-133.
- [49] PRYZYNYCZ A, GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, KEMONA A. Fas/FasL expression in colorectal cancer. An immunohistochemical study. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 425-429.
- [50] PÜSKÜLLÜOĞLU M, LUKASIEWICZ E, MIEKUS K, JAROCHA D, MAJKA M. Differential expression of Snail1 transcription factor and Snail1-related genes in alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma subtypes. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 671-677.
- [51] RESZEC J, ZALEWSKA R, PEPIŃSKI W, SKAWRONSKA M, BERNACZYK P, CHYCZEWSKI L. The evaluation of human papillomavirus and p53 gene mutation in benign and malignant conjunctiva and eyelid lesions. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 53530-3.
- [52] RUDNICKI J, AGRAWAL AK, GRZEBIENIAK Z, ZUKROWSKI P, ZYŚKO D, JELEN M, KIELAN W, SEBASTIAN M, SŁONINA J, MAREK G, DUDA-BARCIK Ł. Prognostic value of CA 19-9 level in resectable pancreatic adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(2)**: 249-261.
- [53] SCHOLZEN T, GERDES J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000; **182(3)**: 311-322.

- [54] SCHWEMMER B. Natural killer T cells in patients with prostatic carcinoma. *Urol Int.* 2003; **71**: 146–149.
- [55] SIKORA J, FRYDRYCHOWICZ M, KACZMAREK M, BRZEZICHA B, MOZER-LISEWSKA I, SZCZEPAŃSKI M, ZEROMSKI J. TLR receptors in laryngeal carcinoma - immunophenotypic, molecular and functional studies. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(4)**: 624-631.
- [56] STARSKA K, GŁOWACKA E, KULIG A, LEWY-TRENDI I, BRYŚ M, LEWKOWICZ P. The role of tumor cells in the modification of T lymphocytes activity - the expression of the early CD69(+), CD71(+) and the late CD25(+), CD26(+), HLA/DR(+) activation markers on T CD4(+) and CD8(+) cells in squamous cell laryngeal carcinoma. Part I. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(4)**: 579-592.
- [57] STARSKA K, GŁOWACKA E, KULIG A, LEWY-TRENDI I, BRYŚ M, LEWKOWICZ P. Prognostic value of the immunological phenomena and relationship with clinicopathological characteristics of the tumor - the expression of the early CD69(+), CD71(+) and the late CD25(+), CD26(+), HLA/DR(+) activation markers on T CD4(+) and CD8(+) lymphocytes in squamous cell laryngeal carcinoma. Part II. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(4)**: 593-603.
- [58] SZAJDA SD, WASZKIEWICZ N, STYPUŁKOWSKA A, DADAN J, ZWIERZ K. Lysosomal exoglycosidases in serum and urine of patients with pancreatic adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 351-357.
- [59] VAN AKEN J, CUVELIER CA, DE WEVER N, ROELS J, GAO Y, MAREEL MM. Immunohistochemical analysis of E-cadherin expression in human colorectal tumours. *Pathol Res Pract.* 1993; **189(9)**: 975-978.
- [60] VASILJEVA O, REINHECKEL T, PETERS C, TURK D, TURK V, TURK B. Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets, *Curr. Pharm. Des.* 2007; **16(4)**: 387–403.
- [61] WANG F, SUN GP, ZOU YF, WU Q, WU HY, WU JF, ZHOU JD, CHEN K, ZHANG XS. Expression of COX-2 and Bcl-2 in primary fallopian tube carcinoma: correlations with clinicopathologic features. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011; **49(3)**: 389-397.
- [62] WINCHESTER B. Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiology.* 2005; **15(6)**: 1R-15R.
- [63] WOJNAR A, KOBIERZYCKI C, KROLICKA A, PULA B, PODHORSKA-OKOŁOW M, DZIEGIEL P. Correlation of Ki-67 and MCM-2 proliferative marker expression with grade of histological malignancy (G) in ductal breast cancers. *Folia Histochem Cytobiol.* 2010; **48(3)**: 442-446.
- [64] YEZHELIEV MV, GAO X, XING Y, AL-HAJ A, NIE S, O'REGAN R. Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *Lancet Oncol.* 2006; **7**: 657-667.
- [65] YONEDA K, IIDA H, ENDO H, HOSONO K, AKIYAMA T, TAKAHASHI H, INAMORI M, ABE Y, YONEDA M, FUJITA K, KATO S, NOZAKI Y, ICHIKAWA Y, UOZAKI H, FUKAYAMA M, SHIMAMURA T, KODAMA T, ABURATANI H, MIYAZAWA C, ISHII K, HOSOMI N, SAGARA M, TAKAHASHI M, IKE H, SAITO H, KUSAKABE A, NAKAJIMA A. Identification of cystatin SN as a novel tumor marker for colorectal cancer. *Int J Oncol.* 2009; **35**: 33–40.

Redaktor prowadzący – M. Nowicki

Otrzymano: 11.05.2012

Przyjęto: 01.06.2012

Patrycja Sujka-Kordowska

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

tel.: (61) 854-64-55

fax. (61) 854-64-40

e-mail: psujka@ump.edu.pl

