

Cykliny jako markery chorób nowotworowych

Anna Stenzel¹, Agnieszka Żuryń¹, Aleksandra Antonina Grzanka², Alina Grzanka¹

Markery stosowane w onkologii stanowią niejednorodną grupę czynników umożliwiających diagnozę lub ocenę inwazyjności nowotworu. Wyróżnia się trzy grupy markerów prognostycznych, wśród których ważne miejsce zajmują markery biologii nowotworu. Czynniki prognostyczne należące do tej grupy obrazują między innymi zdolność komórek do przerzutowania oraz odpowiedzi na zastosowaną terapię. Do markerów biologii nowotworu zaliczane są białka regulujące progresję cyklu komórkowego, m.in. cykliny. Cykliny są kluczowymi regulatorami cyklu komórkowego, których stężenie jest zależne od fazy cyklu. Zmiany ekspresji cykliny (głównie cyklin typu A, B, D oraz E) wpływają na aktywność proliferacyjną komórek i mają związek z rozwojem różnych nowotworów. Sugeruje się, że badanie profilu ekspresji poszczególnych cyklin w komórkach nowotworowych może dostarczać cennych informacji prognostycznych oraz diagnostycznych. Praca ta przedstawia obecny stan wiedzy na temat potencjalnego wykorzystania cyklin w diagnostyce chorób nowotworowych.

Cyclins as a markers of cancer diseases

In oncology, markers are a heterogeneous group of factors, which can be used for diagnosis and evaluation of cancer invasion. The prognostic markers have been divided into three groups, among which an important place is occupied by markers of tumor biology. These prognostic factors demonstrate for example the metastatic capacity of the tumor cell and the ability to monitor the response to the applied therapy. Proteins regulating the progression of the cell cycle, such as cyclins, belong to markers of tumor biology. Cyclins are the key regulators of the cell cycle, which concentration depends on the phase of the cycle. Changes in expression of cyclins (mainly A, B, D and E type) have been known to affect the proliferative activity of cells and progression of cancers. Many investigators suggest that examination of the expression profile of cyclins in cancer cells may give valuable prognostic and diagnostic information. The present report demonstrates the current knowledge concerning the potential use of cyclins in the diagnostics of cancer disease.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2012; 62, 2: 115–122

Słowa kluczowe: cyklina A, cyklina B, cyklina D, cyklina E, markery nowotworowe

Key words: cyclin A, cyclin B, cyclin D, cyclin E, tumor markers

Wstęp

Cykliny są białkami, których stężenie zmienia się zależnie od fazy cyklu komórkowego. Regulują one aktywność kinaz cyklinozależnych (Cdk), a zatem wpływają na długość trwania poszczególnych faz cyklu komórkowego oraz decydują o tym, czy dana komórka może wejść w kolejne stadium życiowe. Prawidłowa ekspresja cyklin jest kluczowa dla nor-

malnej proliferacji komórek. Zaburzona ekspresja tych białek może prowadzić do transformacji nowotworowej, dlatego celowym wydaje się zbadanie tejże ekspresji w różnych typach nowotworów [1, 2]. Ze względu na okresowe występowanie cyklin w poszczególnych fazach cyklu komórkowego uważa się, że białka te mogą służyć jako markery proliferacji komórkowej [3]. Obecnie trwają badania nad

¹Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

²Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medium im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

zastosowaniem cyklin jako markerów chorób nowotworowych, umożliwiających diagnozowanie, prognozowanie lub ocenę postępów terapii [3–8].

Markery nowotworowe stanowią szeroką grupę macromolekuł syntetyzowanych w zwiększonej ilości przez różnego rodzaju komórki nowotworowe [9]. Substancje te należą do antygenów związanych z powierzchnią komórki, białek komórkowych, hormonów, enzymów lub lipidów. Można je oznaczać we krwi, moczu lub na powierzchni komórek nowotworowych. Umożliwiają one diagnozowanie, planowanie leczenia lub ocenę efektywności terapii. Wyróżnia się trzy grupy markerów: charakteryzujące wielkość i stadium rozwoju guza, biologię nowotworu oraz odpowiadającą organizmowi na zaistniałe zmiany patologiczne. Cykliny zaliczane są do markerów biologii nowotworu. Ekspresja ich badana jest w komórkach zarówno pierwotnej masy guza, jak i pochodzących z przerzutów. Zmiany ekspresji tych białek obrazują aktywność proliferacyjną komórek, a także umożliwiają ocenę stopnia agresywności nowotworu oraz zdolność odpowiedzi na planowane leczenie [8].

Cyklina A i jej znaczenie diagnostyczne

Cyklina A łączy się z dwiema kinazami cyklinozależnymi: z Cdk1 (zwaną również Cdc2) oraz z Cdk2. Pełni ona bardzo istotne funkcje zarówno w fazie S, jak i w mitozie [10, 11]. Wyróżniamy dwa rodzaje cykliny A: cyklinę A1 i cyklinę A2. Ekspresja genów kodujących cyklinę A1 zachodzi w mejozie oraz w bardzo wczesnych etapach rozwoju embrionalnego, natomiast ekspresja cykliny A2 ma miejsce w proliferujących komórkach somatycznych [10]. Kompleks cyklina A2/Cdk1 stymuluje przejście komórek z fazy G2 do fazy M (mitozy), natomiast kompleks cykliny A2/Cdk2 umożliwia opuszczenie przez komórkę fazy G1, wejście w fazę S oraz jej regulację [10, 11]. Nadekspresję cykliny A2 oraz A1 obserwuje się w wielu różnych chorobach rozrostowych, co pozwala przypuszczać, że białko to może być wykorzystane jako marker prognostyczny [10].

W diagnostyce znaczące mogą być zarówno zmiany w profilu ekspresji, jak i lokalizacji białka. Niektóre odmiany ostrej białaczki mieloblastycznej (AML) cechują się zwiększoną ekspresją oraz zmienioną lokalizacją cykliny A1 [12, 13]. Białko to w zdrowych komórkach hematopoetycznych zlokalizowane jest głównie w jądrze komórkowym, natomiast w komórkach transformowanych nowotworowo występuje przede wszystkim na terenie cytoplazmy [12]. Ekberg i wsp. wykazali, że komórki nowotworowe charakteryzują się zazwyczaj wyższym stężeniem tego białka. Ponadto badanie wewnątrzkomórkowej lokalizacji cykliny A1 może obrazować postępy leczenia z wykorzystaniem ATRA (kwas całkowicie trans-retinowy). ATRA użyty w terapii powoduje zmianę lokalizacji cykliny z cytoplazmatycznej na jądrową. Doniesienia te sugerują, że cyklina A1 może być brana pod uwagę jako potencjalny biomarker oceny postępów leczenia w ostrej białaczce mieloblastycznej [12].

Komórki wywodzące się z nowotworów prostaty również cechują się zwiększonym stężeniem cykliny A1, ale w przeciwieństwie do AML jądrową lokalizacją tego białka. Wegiel i wsp. zaobserwowali ponadto zależność pomiędzy poziomem cykliny A1 a zróżnicowaniem nowotworów prostaty oraz występowaniem przerzutów. Nadekspresja opisywanego białka charakteryzuje słabo zróżnicowane guzy oraz tendencję do występowania przerzutów do węzłów limfatycznych [14]. W związku z tymi obserwacjami cyklina A1 może być traktowana jako dodatkowy molekularny marker w raku stercza, który obrazuje inwazyjność nowotworu.

Cyklina A (A2), podobnie jak cyklina A1, również może stanowić potencjalny marker prognostyczny. Bahnassy i wsp. wykazali, że nadekspresja cykliny A obserwowana jest w około 80% przypadków nowotworów jelita grubego. Wzmocniona ekspresja tego białka jest niepomysłnym czynnikiem prognostycznym, związanym z dużą śmiertelnością u chorych [15]. Podobne wyniki otrzymali Handa i wsp., którzy także obserwowali zwiększoną ekspresję cykliny A w 77% przypadków raków jelita grubego [16]. Biorąc pod uwagę przytoczone wyniki badań sugeruje się, że badanie nadekspresji cykliny A może stanowić dodatkowy czynnik diagnostyczny dla tej jednostki chorobowej [15, 16]. Ponadto badania prowadzone przez Habermanna i wsp. dotyczące wrzodziejącego zapalenia okrężnicy wykazały, że wyższe stężenie cykliny A obserwowane jest w przypadku, gdy wrzodziejącemu zapaleniu okrężnicy towarzyszą gruczolakoraki niż kiedy gruczolakoraki nie występują. Badanie ekspresji cykliny A umożliwia zatem stosunkowo szybkie wykrycie pierwszych gruczolakoraków u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem okrężnicy [17].

Prognostyczne znaczenie cykliny A w zaawansowanym raku piersi badane było przez Poikonena i wsp. Wykazali oni, że wysoki poziom cykliny typu A sugeruje szybki nawrót choroby oraz krótszy czas przeżycia pacjentów cierpiących na nowotwory piersi [18].

Cyklina A pozwala też na różnicowanie gwiazdzaków i astrocytozy. Hara i wsp. wykazali, że najniższy poziom cykliny A występuje w astrocytozie, średni charakteryzuje gwiazdzaki niższych stopni histologicznych, a największe stężenie występuje w gwiazdzakach wyższych stopni histologicznych. Dodatkowo autorzy udowodnili, że wysokie stężenie cykliny A oraz starszy wiek chorych są bezpośrednio związane z gorszym rokowaniem dla pacjentów cierpiących na gwiazdzaki niższych stopni histologicznych [19].

Oprócz wyżej przedstawionych przykładów, wartości prognostyczne cykliny A wykryto również w nowotworach szyjki macicy, wątroby, niedrobnokomórkowego raka płuca czy nerek [20–23].

Cyklina B jako marker prognostyczny

Cyklinę B zalicza się do grupy cyklin mitotycznych [2]. U ludzi wyróżnia się trzy cykliny typu B: cyklinę B1, B2 oraz

B3. Cyklina B była pierwszą odkrytą cykliną. Białko to syntetyzowane jest począwszy od fazy S, następnie jego ilość wzrasta, osiągając najwyższe stężenie we wczesnej profazie fazy M (mitozy) [24]. Na początku anafazy dochodzi do degradacji cyklin typu B w cyklosomie (zwanym także APC — kompleks promujący anafazę) [25]. Cyklina B wraz z odpowiadającą jej kinazą cyklinozależną — Cdk1 jest głównym składnikiem MPF (czynnika promującego fazę M) i umożliwia przejście komórki z fazy G2 do mitozy [24, 26]. Zmieniona ekspresja cyklin z grupy B, głównie cykliny B1, obserwowana jest w nowotworach różnego pochodzenia [27].

Nadekspresja cykliny B1 jest często spotykana w nowotworach płaskonabłonkowych. Podwyższony poziom ekspresji cykliny B1 jest charakterystyczny dla płaskonabłonkowego nowotworu przełyku. Murakami i wsp. wykazali, że cyklina B1 w komórkach nowotworowych występuje przede wszystkim na terenie cytoplazmy oraz w błonie jądrowej, natomiast tkanka zdrowa charakteryzuje się głównie jądrową lokalizacją opisywanego białka. Wysoki poziom ekspresji cykliny B1 obserwowany jest w przypadkach, które charakteryzują się dużą inwazyjnością guza oraz naciekaniem nowotworu na naczynia krwionośne. Ponadto nadekspresja jest złym czynnikiem prognostycznym, związanym z wysoką śmiertelnością wśród pacjentów cierpiących na płaskonabłonkowy nowotwór przełyku [26]. Podobne wyniki otrzymały również dwa inne zespoły badawcze: Takeno i wsp. oraz Nozoe i wsp., którzy wykazali, że zwiększona ekspresja cykliny B1 związana jest ze słabo zróżnicowanymi nowotworami przełyku, krótszym czasem przeżycia oraz niepomyślnym rokowaniem [27, 28]. WzmóŜona ekspresja cykliny B1 w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi obserwowana była przez Hassana i wsp. Udowodnili oni, że nadekspresja cykliny B1 występuje głównie w guzach opornych na radioterapię, w związku z czym związana jest z występowaniem nawrotów oraz przerzutów [29]. Obserwowali ponadto również ekspresję cykliny B1 w płaskonabłonkowym nowotworze języka i stwierdzili, że wzmóŜona ekspresja cykliny B1 związana była z agresywniejszą formą choroby oraz z gorszym rokowaniem dla pacjentów (krótszy czas przeżycia bez wystąpienia przerzutów, nawrotu choroby lub śmierci) [30].

Zmieniony poziom cykliny typu B1 charakterystyczny jest również dla nowotworów płuc. Soria i wsp. wykazali, że we wczesnych stadiach niedrobnokomórkowego raka płuca nadekspresja cykliny B1 występuje średnio w 22% przypadków, głównie w obrębie cytoplazmy. Wysoka ekspresja białka charakteryzowała zwłaszcza nowotwory płaskonabłonkowe (34% przypadków nadekspresji), natomiast w przypadku innych typów histologicznych wysoki poziom tej cykliny obserwowany był znacznie rzadziej (12% przypadków nadekspresji). Z tego względu cyklina B1 może służyć jako marker prognostyczny tylko dla pacjentów z płaskonabłonkowym podtypem choroby. Wysoki poziom białka

(w przypadku nowotworów płaskonabłonkowych) ściśle koreluje z krótszym czasem przeżycia pacjentów z I stopniem zaawansowania klinicznego niedrobnokomórkowego raka płuca [31]. Yoshida i wsp. uważają, że cyklina B1 może być również czynnikiem prognostycznym w przypadku gruczolakoraków niedrobnokomórkowego raka płuca. Udowodnili oni, że nadekspresja białka jest ściśle związana ze słabo zróżnicowanymi guzami, krótszym czasem przeżycia pacjentów oraz występowaniem przerzutów drogą naczyń krwionośnych. Ponadto wykazali, że w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca nie obserwuje się amplifikacji ani delecji genu *CCNB1* (gen kodujący cyklinę B1), a nadekspresja białka regulowana jest poprzez inne mechanizmy [32]. Z kolei Kosacka i wsp. nie stwierdzili wartości prognostycznych cykliny B1 w niedrobnokomórkowym raku płuca (stadium I-IIIa), zarówno w typie płaskonabłonkowym, jak i gruczolakorakach [33]. W związku ze sprzecznymi doniesieniami na temat wartości diagnostycznych cykliny B1 w nowotworach płuc, wymagane są dalsze badania umożliwiające ocenę wartości prognostycznych tego białka.

Cyklina B1 może również stanowić potencjalny marker w nowotworach piersi w przypadku pacjentów, u których nie obserwuje się przerzutów do węzłów limfatycznych. Niméus-Malmström i wsp. wykazali, że u pacjentów posiadających niższy poziom cykliny B1 przerzuty występują później, a osoby te charakteryzują się dłuższym przeżyciem w porównaniu do chorych, u których poziom białka jest wyższy [34]. Podobne wyniki otrzymali Aaltonen i wsp. Stwierdzili oni, że wysokie stężenie cykliny B1 u pacjentów z rakiem piersi koreluje z wysokim stopniem złośliwości, dużymi guzami oraz występowaniem przerzutów do węzłów limfatycznych. Badacze zaobserwowali ponadto, że nadekspresja białka występowała głównie u młodszych pacjentek, wśród nowotworów z mutacją *BRCAT* i związana była z krótszym przeżyciem oraz szybszym nawrotem choroby [35]. Z kolei Suzuki i wsp. wykazali, że znaczenie prognostyczne u pacjentek z rakiem piersi ma tylko cyklina B1 występująca na terenie jądra komórkowego. Jądrowa cyklina B1 związana była z wielkością guza, przerzutami do węzłów limfatycznych oraz z niepomyślnym rokowaniem [36]. Wyniki te sugerują, że w nowotworach piersi nadekspresja cykliny B1 związana jest z niepomyślnym prognozowaniem choroby.

WzmóŜona ekspresja cykliny B1 może być również powiązana z pomyślnym rokowaniem. Nadekspresja cykliny B1 obserwowana jest w około połowie przypadków raka żołądka. Yasuda i wsp. zaobserwowali, że wyższa ekspresja opisywanego białka występowała w dobrze i umiarkowanie zróżnicowanych gruczolakorakach, natomiast obniżona ekspresja cykliny B1 charakteryzowała głównie słabo zróżnicowane gruczolakoraki. Niski poziom białka związany był również z występowaniem naciekania na sąsiadujące tkanki oraz z przerzutami do węzłów chłonnych. W związku z powyższymi doniesieniami można przypuszczać, że

nadekspresja cykliny B1 związana jest z mniej agresywną formą choroby, jednak białka tego nie można uznawać za niezależny biomarker dla tej jednostki chorobowej [37].

Chłoniak grudkowy także cechuje się nadekspresją cykliny B1. Björck i wsp. wykazali, że wysoki poziom mRNA cykliny B1 jest ściśle powiązany z dłuższym czasem przeżycia wśród pacjentów oraz z lepszym rokowaniem (podobnie jak w przypadku nadekspresji cykliny B1 w raku żołądka). Wyniki te wskazują, że cyklina B1 może być niezależnym markerem prognostycznym w chłoniaku grudkowym [38].

Potencjalne wartości diagnostyczne cykliny B1 sugerowane są także w przypadkach: raka nerki, szyjki macicy, prostaty oraz przy ocenie ryzyka rozwoju chłoniaka MALT [20, 39-42].

Znaczenie diagnostyczne cykliny D

U ssaków występują trzy typy cykliny D: cyklina D1, D2 oraz D3. Wszystkie zaliczane są do cyklin fazy G1. Białka te pełnią kluczową rolę w regulacji przejścia z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Ich stężenie osiąga maksymalną wartość podczas fazy syntezy, natomiast zanik obserwowany jest w czasie mitozy. Cyklina D aktywuje dwie kinazy cyklinozależne: Cdk4 oraz Cdk6. Zaktywowane kompleksy cyklina D1/Cdk4 oraz cyklina D1/Cdk6, mogą fosforylować białko retinoblastoma (pRB). Umożliwia to dysocjację czynników transkrypcyjnych E2F z kompleksu pRB, dzięki czemu możliwe jest opuszczenie fazy G1 i przejście do fazy syntezy [43, 44]. Cyklina D1 uważana jest za protoonkogen, a jej nadekspresja charakterystyczna jest dla komórek nowotworowych [43].

Amplifikacja genu *CCND1* (gen kodujący cyklinę D1) jest znacząco powiązana z niekorzystnym rokowaniem u pacjentów cierpiących na płaskonabłonkowego raka głowy i szyi. Liu i wsp. wykazali, że wśród chorych z amplifikacją genu obserwuje się występowanie przerzutów, nawroty choroby lub zgon w ciągu pięciu lat od diagnozy, w przeciwieństwie do pacjentów niewykazujących amplifikacji. Podobnych korelacji nie obserwuje się jednak w przypadku badania ekspresji cykliny D1 [45]. Mielcarek-Kuchta i wsp. badali ekspresję cykliny D1 w nowotworze krtani. Wykazali oni, że ekspresja cykliny D1 powiązana jest z histologicznym stopniem złośliwości nowotworu [44]. Zależność między ekspresją tego białka a przeżyciem pacjentów sprawdzana była również przez Vielbę i wsp. Nie wykazali oni jednak wartości prognostycznych cykliny D1 w nowotworze krtani [46]. Z kolei Rydzanicz i wsp. analizowali polimorfizm genu *CCND1* u chorych z nowotworem krtani. Wyniki, które uzyskali wskazują, że istotną rolę w patogenezie choroby odgrywa mutacja G870A (substytucja guaniny przez adeninę w pozycji 870) w egzonie 4. Mutacja ta moduluje częstość alternatywnego splicingu. Prawidłowa forma białka — cyklina D1 lub D1a (związana z allelem G) zbudowana jest z egzonów 1–5. W wyniku alternatywnego splicingu powstaje

cyklina D1b (związana z allelem A). Białko to charakteryzuje się zmienioną C-końcową domeną i składa się z egzonów 1–4 oraz intronu 4. Brak egzonu 5, w którym znajduje się domena PEST odpowiedzialna za destabilizację cykliny D1, powoduje wydłużenie okresu półtrwania białka, co skutkuje nadekspresją. Genotyp GG (cyklina D1a) występuje głównie u zdrowych osób, natomiast genotypy GA lub AA (cyklina D1b) obserwowane są częściej u pacjentów cierpiących na nowotwory krtani. Oba te genotypy zwiększają prawdopodobieństwo wystąpienia choroby głównie we wczesnym wieku. Ponadto genotyp AA (a zatem nadekspresja cykliny D1b) powiązany jest ze wzrostem ryzyka występowania przerzutów do węzłów limfatycznych [47]. Ikeguchi i wsp. badali natomiast poziom cykliny D1 w płaskonabłonkowym nowotworze przetyku. Wykazali oni, że cyklina D1 nie jest samodzielnym czynnikiem prognostycznym w tej jednostce chorobowej, jednak badanie ekspresji zarówno cykliny D1, jak i białka pRB może dostarczyć cennych informacji diagnostycznych. Wykryli oni, że wraz ze wzrostem inwazyjności guza wzrasta procentowa ilość komórek pozbawionych ekspresji pRB (pRB-) oraz wykazujących ekspresję cykliny D1 (cyklina D1+). U pacjentów z profilem ekspresji: cyklina D1+/pRB- częściej występują przerzuty do węzłów limfatycznych, nowotwory w stadium III i IV, a chorzy ci cechują się krótszą przeżywalnością. Najbardziej pomyślne rokowanie występuje u pacjentów charakteryzujących się profilem ekspresji: cyklina D1-/pRB+ [48].

Cyklina D1 jest również świetnym markerem umożliwiającym rozróżnienie chłoniaka z komórek strefy płaszcz — MCL od innych chorób rozrostowych wywodzących się z limfocytów B. Charakterystyczną cechą MCL jest obecność translokacji chromosomowej t(11;14)(q13;q32) [49]. Posiada ją 90% przypadków MCL [50]. Translokacja ta powoduje połączenie genu dla łańcucha ciężkiego immunoglobulin (*IGH*), leżącego na 14q32, z genem kodującym cyklinę D1 (*CCND1*), znajdującym się na 11q13 [51]. Nadekspresja cykliny D1 może być powodowana przez amplifikację genu cykliny D1, leżącego w pozycji 11q13, jak również przez translokację t(11;14)(q13;q32) [50]. Zgodnie z badaniami przeprowadzonymi przez Yatabe'a i wsp., wzmożona ekspresja cykliny D1 obserwowana jest w około 85% przypadków MCL. W związku z tym nadekspresja cykliny D1 jest silnym, niezależnym czynnikiem prognostycznym dla MCL [49]. Z drugiej strony obserwuje się nieliczne przypadki pacjentów chorych na MCL, u których nie wykrywa się nadekspresji cykliny D1. W tych przypadkach obserwuje się inną translokację chromosomową: t(2;12)(p12;p13) lub t(12;14)(p13;q32). Pierwsza z nich powoduje przeniesienie genu kodującego cyklinę D2 (*CCND2*) znajdującego się na chromosomie 12p13 w pobliżu *locus IGH* (gen dla łańcucha lekkiego κ immunoglobulin) leżącego na chromosomie 2p12, natomiast druga odpowiada za połączenie genu *CCND2* z genem *IGH* leżącym na chromosomie 14q32. Skut-

kuje to nadekspresją cykliny D2, zatem cyklina D2 może być używana jako marker dla MCL w przypadku pacjentów, u których nie obserwuje się ekspresji cykliny D1 [51].

Znaczenie prognostyczne cykliny D1 w nowotworze płuc opisali Caputi i wsp. Wykazali oni, że białko to jest negatywnym czynnikiem prognostycznym, którego ekspresja związana jest z krótszym czasem przeżycia pacjentów [52]. Ayed i wsp. również wykryli istotne statystycznie znaczenie cykliny D1 w nowotworach płuc (w I i II stadium choroby). Wyższa ekspresja cykliny D1 obserwowana była u pacjentów chorujących na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc, w słabo zróżnicowanych nowotworach, w przypadku występowania przerzutów drogą naczyń krwionośnych oraz wewnętrznego naciekania na opłucną. Ponadto badacze zaobserwowali zależność pomiędzy nadekspresją cykliny D1 a krótszym przeżyciem pacjentów cierpiących na płaskonabłonkowy podtyp nowotworu. W przypadku gruczolakoraków nie odkryto takiej zależności [53]. Z kolei Dworakowska i wsp. nie odnotowali wartości prognostycznej cykliny D1 w niedrobnokomórkowym nowotworze płuca [54]. Sprzeczne doniesienia dotyczące wartości diagnostycznej cykliny D1 w raku płuca sugerują potrzebę dalszych badań nad ekspresją i amplifikacją genu *CCND1* w komórkach raka płuc.

Przeciwstawne informacje dotyczące ekspresji cykliny D1 i jej znaczenia prognostycznego odnotowano również w przypadku raka piersi. Bukholm i wsp. wykazali, że ekspresja cykliny D1 koreluje z histologicznym stopniem zróżnicowania nowotworu, a dokładniej z wyższymi stopniami zróżnicowania (guzy średnio i słabo zróżnicowane). Ponadto autorzy dowiedli, że amplifikacja genu *CCND1* nie jest powiązana z nadekspresją badanego białka [55]. Sprzeczne wyniki otrzymali Barnes i wsp. Stwierdzili oni, że pacjenci z silną ekspresją cykliny D1 charakteryzują się głównie dobrze zróżnicowanymi nowotworami oraz pomyślnym rokowaniem w porównaniu z chorymi, u których obserwuje się niski poziom białka [56]. Odmiennie rezultaty przytoczonych badań uniemożliwiają jednoznaczne określenie roli, jaką cyklina D1 odgrywa w nowotworach piersi i sugerują konieczność prowadzenia dalszych badań nad ekspresją tego białka w rakowych komórkach piersi.

Cyklina D1 może być również potencjalnym markerem choroby resztkowej u pacjentów znajdujących się w IV stadium nerwiaka płodowego nowotworów umiejscowionych w brodawce Vatera, płaskonabłonkowym nowotworze części ustnej gardła, szpiczaku mnogim oraz w mięsakach tkanek miękkich [57-61].

Cyklina E jako marker prognostyczny

Cykliny E (E1 oraz E2) łączą się i aktywują kinazę cyklinozależną 2 (Cdk2). Aktywność kompleksu cyklina E/Cdk2 zapoczątkowuje kaskadę reakcji, które prowadzą do ekspresji genów specyficznych dla fazy syntezy. Kompleks cyklina

E/Cdk2 umożliwia przejście cyklu komórkowego z fazy G1 do fazy S. Cyklina E, której maksymalne stężenie obserwowane jest w fazie G1, pełni też bardzo ważną funkcję w bezpośredniej inicjacji replikacji DNA, kontroluje duplikację centrosomów oraz stabilność genomową. W przeciwieństwie do komórek prawidłowych, w komórkach nowotworowych cyklina typu E obserwowana jest również w fazie G2. Uważa się, że wysoki poziom ekspresji tego białka związany jest z inicjacją lub progresją różnych typów nowotworów [62, 63].

Cyklina E może być stosowana jako marker prognostyczny w nowotworach piersi. He i wsp. obserwowali większą ekspresję cykliny E w nowotworach złośliwych niż w przypadku niezłośliwych guzów. Autorzy sugerowali również, że wzmożona ekspresja białka może w pewnym stopniu odzwierciedlać prawdopodobieństwo występowania przerzutów. Wykryli ponadto, że ekspresja cykliny E wzrasta (z 33,33% do 80,0%) wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby (od I do IV stadium) [64]. Podobne wyniki otrzymali Kühling i wsp. Uważają oni, że podwyższona ekspresja cykliny E jest związana z czasem przeżycia pacjentów [65]. Z kolei Keyomarsi i wsp. udowodnili, że podwyższony poziom niskocząsteczkowej cykliny E (34-49 kD) ściśle korelował z wyższymi, bardziej zaawansowanymi stadiami choroby oraz z większą śmiertelnością wśród pacjentów. Znaczenie prognostyczne miała również całkowita ilość cykliny E (łączna ilość cykliny E wysoko- i niskocząsteczkowej), której wysokie stężenie związane było z niepomyślnym rokowaniem, natomiast ilość cykliny E o pełnej długości (50 kD) nie była powiązana z przeżywalnością pacjentów. Spowodowane jest to faktem, iż niskocząsteczkowa forma białka wykazuje konstytutywną ekspresję, przez co efektywniej niż cyklina E o pełnej długości promuje przejście komórki z fazy G1 do fazy S [66]. Badania te pozwalają przypuszczać, że cyklina E, a głównie jej niskocząsteczkowa odmiana, może być stosowana jako marker prognostyczny dla nowotworów piersi.

Nadekspresja cykliny E obserwowana jest również w przypadku niedrobnokomórkowego raka płuca. Fukuse i wsp. wykazali, że wzmożona ekspresja tego białka obserwowana była znacznie częściej w guzach, które charakteryzowały się dużą inwazyjnością. W związku z tymi doniesieniami nadekspresja cykliny E traktowana może być jako marker prognostyczny, związany z niepomyślnym rokowaniem u pacjentów chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [67].

Ekspresja cykliny E ma duże znaczenie prognostyczne w nowotworze żołądka. Jiaqing i wsp. wykryli, że guzy wykazujące ekspresję cykliny E są bardziej inwazyjne, częściej naciekają na naczynia krwionośne oraz są bardziej zróżnicowane niż guzy niewykazujące ekspresji białka. W komórkach raka żołądka cyklina E występowała głównie na terenie jądra komórkowego, a komórki wykazujące ekspresję białka zlokalizowane były przede wszystkim w inwazyjnej części guza. Ponadto komórki z ekspresją cykliny E częściej nacie-

kały na naczynia krwionośne oraz warstwę podśluzówkową. Zaobserwowano również, że guzy zlokalizowane w ujściu odźwiernikowym żołądka znacznie częściej wykazywały ekspresję cyklin typu E niż nowotwory umiejscowione w innych częściach narządu. Jiaqing i wsp. zasugerowali także, że komórki raka żołądka charakteryzujące się nadekspresją cykliny E szybciej proliferują i występują głównie w złośliwych nowotworach żołądka [68].

Oceny wartości prognostycznych cykliny E w rakach jajnika dokonali Sobańska i wsp. Wykazali oni, że cyklina E występowała w około 46% przypadków raka jajnika, natomiast tylko w 20% przypadków nowotworów łagodnych jajnika. Badanie ekspresji cykliny E może stanowić podstawę do oceny biologicznego zachowania nowotworów jajnika. Wyższy poziom ekspresji białka został stwierdzony w III i IV stadium klinicznego zaawansowania choroby, a niższy cechował I i II stadium. Ponadto u chorych z ekspresją cykliny E częściej obserwowana była progresja choroby. Jednakże cyklina E nie może być traktowana jako niezależny czynnik prognostyczny dla raka jajnika, pomimo wpływu, jaki wywiera ona na biologię tego nowotworu [69].

Nie tylko podwyższony, ale również obniżony poziom ekspresji cyklin typu E może być powiązany z niepomyślnym rokowaniem. Shariat i wsp. wykazali, że niska ekspresja cykliny E1 w przypadku raka pęcherza moczowego powiązana była głównie z bardziej zaawansowanymi stadiami choroby, naciekaniami na naczynia limfatyczne oraz przerzutami do węzłów chłonnych [70]. Ponadto autorzy zaobserwowali, że niski poziom ekspresji cykliny E1 występował u chorych na raka pęcherza moczowego, charakteryzującego się wysokim odsetkiem śmiertelności oraz zwiększonym prawdopodobieństwem nawrotu choroby [71].

Zmieniona ekspresja cykliny E występuje również w przypadku raka pęcherzyka żółciowego, krtani czy trzustki, zatem białko to może stanowić potencjalny marker dla tych jednostek chorobowych [63, 72, 73].

Podsumowanie

Nieprawidłowa ekspresja białek regulujących aktywność kinaz cyklicznych, a zatem cyklin oraz inhibitorów kinaz cyklicznych, jest jednym z ważniejszych zaburzeń prowadzących do rozwoju choroby nowotworowej [69]. Wzmocniona ekspresja cyklin obserwowana jest w różnych rodzajach nowotworów. Wielu autorów potwierdziło prognostyczne znaczenie cyklin oraz ich izoform (np. niskocząsteczkowej formy cykliny E). Sugeruje się, że monitorowanie ekspresji cyklin pozwala na oszacowanie ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej oraz szybkie jej zdiagnozowanie. Ponadto cykliny w przyszłości mogą znaleźć zastosowanie jako markery różnicujące poszczególne rodzaje nowotworów. Przypisuje się im również rolę w doborze odpowiedniej strategii leczenia oraz w ocenie postępów terapii. Badania nad znaczeniem cyklin w procesach nowotworzenia mogą

więc przynieść istotne klinicznie rozwiązania prognostyczne i diagnostyczne. Białka te w przyszłości mogą służyć jako markery chorób nowotworowych zwłaszcza, że ich ekspresja może być oznaczana za pomocą standardowo stosowanych metod (immunohistochemia, techniki molekularne, np. Western blot). Niezbędne jest jednak prowadzenie dalszych badań, które potwierdzą lub zakwestionują prognostyczne właściwości poszczególnych cyklin w chorobach nowotworowych.

Dr Agnieszka Żuryń

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medium im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz
e-mail: azuryrn@cm.umk.pl

Otrzymano: 19 lipca 2011 r.

Przyjęto do druku: 4 października 2011 r.

Piśmiennictwo

1. Grzelakowska-Sztabert B. Cykliny fazy G1 cyklu komórkowego, ich funkcje i udział w nowotworzeniu. *Post Biochem* 1996; 42: 99–105.
2. Wołowicz D, Ekspresja cyklin i kinaz cyklicznych w patologii układu chłonnego, 1997, Wrocław, Akademia Medyczna we Wrocławiu
3. Dutta A, Chandra R, Leiter LM i wsp. Cyclins as markers of tumor proliferation: immunocytochemical studies in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5386–5390.
4. Paduch R, Klatka J. Markery nowotworowe. *Onkol Pol* 2003; 6: 77–82.
5. Koliadi A, Nilsson C, Holmqvist M i wsp. Cyclin B is an immunohistochemical proliferation marker which can predict for breast cancer death in low-risk node negative breast cancer. *Acta Oncologica* 2010; 49: 816–820.
6. Ahlin C, Zhou W, Holmqvist M i wsp. Cyclin A is a proliferative marker with good prognostic value in node — negative breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2501–2506.
7. Shenoy AM. Cyclin D1 over expression as a prognostic factor in patients tobacco-related intraoral squamous cell carcinoma. *Indian J Med Res* 2011; 133: 364–365.
8. Nar A, Ozen O, Tutuncu NB i wsp. Cyclin A and cyclin B1 overexpression in differentiated thyroid carcinoma. *Med Oncol* 2011; DOI 10.1007/s12032-010-9800-0.
9. Malati T. Tumour markers: an overview. *Indian J of Clin Biochem* 2007; 22: 17–31.
10. Yam CH, Fung TK, Poon RYC. Cyclin A in cell cycle control and cancer. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1317–1326.
11. Pagano M, Pepperkok R, Verde F i wsp. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *EMBO J* 1992; 11: 961–971.
12. Ekberg J, Landberg G, Holm C i wsp. Regulation of the cyclin A1 protein is associated with its differential subcellular localization in hematopoietic and leukemic cells. *Oncogene* 2004; 23: 9082–9089.
13. Rivera A, Mavila A, Bayless KJ i wsp. Cyclin A1 is a p-53 induced gene that mediates apoptosis, G2/M arrest, an mitotic catastrophe in renal, ovarian, and lung carcinoma cells. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 1425–1439.
14. Wegiel B, Bjartell A, Ekberg J i wsp. A role of cyclin A in mediating the autocrine expression of vascular endothelial growth factor in prostate cancer. *Oncogene* 2005; 24: 6385–6393.
15. Bahnassy AA, Zerki AR, El-Houssini S i wsp. Cyclin A and cyclin D1 as significant prognostic markers in colorectal cancer patients. *BMC Gastroenterol* 2004; 4: 22.
16. Handa K, Yamakawa M, Takeda H i wsp. Expression of the cell cycle markers in colorectal carcinoma: Superiority of cyclin A as an indicator of poor prognosis. *Int J Cancer* 1999; 84: 225–233.
17. Habermann J, Lenander C, Roblick UJ i wsp. Ulcerative colitis and colorectal carcinoma: DNA profile, laminin-5 gamma 2 chain and cyclin A expression as early markers for risk assessment. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 751–758.
18. Poikonen P, Sjostrom J, Amini RM i wsp. Cyclin A as a marker for prognosis and chemotherapy response in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 2005; 93: 515–519.

19. Hara A, Saegusa M, Ichinoe M i wsp. Diagnostic and prognostic significance of cyclin A expression in low-grade astrocytomas: comparison with astroliosis and high-grade tumours. *J Clin Pathol* 2008; 61: 287–292.
20. El-Ghobashy AA, Shaaban AM, Herod J i wsp. Overexpression of cyclins A and B as markers of neoplastic glandular of the cervix. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 628–634.
21. Chao Y, Shih YL, Chiu JH i wsp. Overexpression of cyclin A but not Skp2 correlates with the tumor relapse of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58: 385–390.
22. Volm M, Koomägi R, Mattern J i wsp. Cyclin A is associated with an unfavourable outcome in patients with non-small-cell lung carcinomas. *Br J Cancer* 1997; 75: 1774–1778.
23. Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M i wsp. Expression of cyclins A and D and p21^{waf1/cip1} proteins in renal cell cancer and their relation to clinicopathological variables and patient survival. *Br J Cancer* 1999; 80: 2001–2007.
24. Porter LA, Donoghue DJ. Cyclin B1 and CDK1: nuclear localization and upstream regulators. *Prog Cell Cycle Res* 2003; 5: 335–347.
25. Hershko A. Mechanisms and regulation of the degradation of cyclin B. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354: 1571–1576.
26. Murakami H, Furihata M, Ohtsuki Y i wsp. Determination of the prognostic significance of cyclin B1 overexpression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch* 1999; 434: 153–158.
27. Nozoe T, Korenaga D, Kabashima A i wsp. Significance of cyclin B1 expression as an independent prognostic indicator of patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 817–822.
28. Takeno S, Noguchi T, Kikuchi R i wsp. Prognostic value of cyclin B1 in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 2874–2881.
29. Hassan KA, Ang KK, El-Naggar AK i wsp. Cyclin B1 overexpression and resistance to radiotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6414–6417.
30. Hassan KA, El-Naggar AK, Soria JC i wsp. Clinical significance of cyclin B1 protein expression in squamous cell carcinoma of the tongue. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2458–2462.
31. Soria JC, Jang SJ, Khuri FR i wsp. Overexpression of cyclin B1 in early-stage non-small cell lung cancer and its clinical implication. *Cancer Res* 2000; 60: 4000–4004.
32. Yoshida T, Tanaka S, Mogi A i wsp. The clinical significance of Cyclin B1 and wee1 expression in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 252–256.
33. Kosacka M, Korzeniewska A, Jankowska R. Próba oceny prognostycznego znaczenia ekspresji cykliny B1 u chorych operowanych z powodu niedrobnokomórkowego raka płuc stadia I-IIIa — doniesienia wstępne. *Pol Merk Lek* 2010; 28: 117–121.
34. Niméus-Malmström E, Koliadi A, Ahlin C i wsp. Cyclin B1 is a prognostic proliferation marker with a high reproducibility in a population-based lymph node negative breast cancer cohort. *Int J Cancer* 2010; 127: 961–967.
35. Aaltonen K, Amini RM, Heikkilä P i wsp. High cyclin B1 expression is associated with poor survival in breast cancer. *Br J Cancer* 2009; 100: 1055–1060.
36. Suzuki T, Urano T, Miki Y i wsp. Nuclear cyclin B1 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. *Cancer Sci* 2007; 98: 644–651.
37. Yasuda M, Takesue F, Inutsuka S i wsp. Overexpression of cyclin B1 in gastric cancer and its clinicopathological significance: an immunohistological study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 412–416.
38. Björck E, Ek S, Landgern O i wsp. High expression of cyclin B1 predicts a favorable outcome in patients with follicular lymphoma. *Blood* 2005; 105: 2908–2915.
39. Ikuerowo SO, Kuczyk MA, Mengel M i wsp. Alteration of subcellular and cellular expression patterns of cyclin B1 in renal cell carcinoma is significantly related to clinical progression and survival of patients. *Int J Cancer* 2006; 119: 867–874.
40. Long H, Gao X, Chen X i wsp. The significance of cyclin B1 expression in colorectal cancers. *Chin Ger J Clin Oncol* 2006; 5: 399–401.
41. Gomez LA, de Las Pozas A, Reiner A i wsp. Increased expression of cyclin B1 sensitizes prostate cancer cells to apoptosis induced by chemotherapy. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1534–1543.
42. Banerjee SK, Weston AP, Zoubine MN i wsp. Expression of Cdc2 and cyclin B1 in *Helicobacter pylori*-associated gastric MALT and MALT lymphoma: relationship to cell death, proliferation and transformation. *Am J Pathol* 2000; 156: 217–225.
43. Brudnik U, Wojas-Pelc A, Alekseenko A. Przydatność kliniczna badania cykliny D1 w guzach nowotworowych – przegląd piśmiennictwa. *Post Dermatol Alergol* 2007; 24: 48–51.
44. Mielcarek-Kuchta D, Olofsson J, Golusiński W. p53, Ki67 and cyclin D1 as prognosticators of lymph node metastases in laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003; 260: 549–554.
45. Liu SC, Zhang SY, Babb JS i wsp. Image cytometry of cyclin D1: a prognostic marker for head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 455–459.
46. Vielba R, Bilbao J, Ispizua A i wsp. p53 and cyclin D1 as prognostic factors in squamous cell carcinoma of the larynx. *Laryngoscope* 2003; 113: 167–172.
47. Rydzanicz M, Golusiński P, Mielcarek-Kuchta D i wsp. Cyclin D1 gene (CCND1) polymorphism and the risk of squamous cell carcinoma of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006; 263: 43–38.
48. Ikeguchi M, Sakatani T, Ueta T i wsp. Cyclin D1 expression and retinoblastoma gene protein (pRB) expression in esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 531–536.
49. Yatabe Y, Suzuki R, Tobinai K i wsp. Significance of cyclin D1 overexpression for the diagnosis of mantle cell lymphoma: a clinicopathologic comparison of cyclin D1-positive MCL and cyclin D1-negative MCL-like B-cell lymphoma. *Blood* 2000; 95: 2253–2261.
50. Elnenaï MO, Jadayel DM, Matutes E i wsp. Cyclin D1 by flow cytometry as a useful tool in the diagnosis of B-cell malignancies. *Leuk Res* 2001; 25: 115–123.
51. Quintanilla-Martinez L, Slotta-Huspenina J, Koch I i wsp. Differential diagnosis of cyclin D2⁺ mantle cell lymphoma based on fluorescence in situ hybridization and quantitative real-time PCR. *Haematologica* 2009; 94: 1595–1598.
52. Caputi M, Groeger AM, Esposito V i wsp. Prognostic role of cyclin D1 in lung cancer. Relationship to proliferating cell nuclear antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 746–750.
53. Ayed AK, Adesina A. Prognostic significance of cyclin D1 expression in resected stage I, II non-small cell lung cancer in Arabs. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2006; 5: 47–51.
54. Dworakowska D, Jassem J, Jassem J i wsp. Prognostic value of cyclin D1 overexpression in correlation with pRb and p53 status in non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 479–485.
55. Bukholm IK, Berner JM, Nesland JM i wsp. Expression of cyclin Ds in relation to p53 status in human breast carcinomas. *Virchows Arch* 1998; 433: 233–228.
56. Barnes DM, Gillett CE. Cyclin D1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 52: 1–15.
57. Cheung LY, Feng Y, Vickers A i wsp. Cyclin D1, a novel molecular marker of minimal residual disease, in metastatic neuroblastoma. *J Mol Diagn* 2007; 9: 237–241.
58. Chang MC, Chang YT, Sun CT i wsp. Differential expression of cyclin D1 associated with better prognosis of cancers of ampulla of Vater. *World J Surg* 2007; 31: 1135–1141.
59. Yu Z, Weinberger PM, Haffty BG i wsp. Cyclin D1 is a valuable prognostic marker in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1160–1166.
60. Soverini S, Cavo M, Cellini C i wsp. Cyclin D1 overexpression is a favorable prognostic variable for newly diagnosed multiple myeloma patients treated with high-dose chemotherapy and single or double autologous transplantation. *Blood* 2003; 102: 1588–1594.
61. Mussela M, Fazioli F, Lombardi S i wsp. Assessment of cyclin D1 overexpression as a prognostic factor in soft tissue sarcomas. Role of laparoscopy and core needle biopsy. *Surg Endosc* 2005; 19: 1120–1124.
62. Möröy T, Geisen C. Cyclin E. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1424–1439.
63. Zdrojewicz Z, Belowska-Bień K. Cyklina E — nowy marker w onkologii? *Adv Clin Ex Med* 2004; 13: 1023–1028.
64. He W, Huang T, Wang H. Expression of cyclin E and its relationship with the prognosis of patients with breast cancer. *The Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2006; 5: 275–278.
65. Kühling H, Alm P, Olsson H i wsp. Expression of cyclins E, A and B, and prognosis in lymph node-negative breast cancer. *J Pathol* 2003; 199: 424–431.
66. Keyomarsi K, Tucker SL, Buchholz TA i wsp. Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1566–1575.
67. Fukuse T, Hirata T, Naiki H i wsp. Prognostic significance of cyclin E overexpression in resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 242–244.

68. Jiaqing L, Hokita S, Xiangming C i wsp. Role of cyclin E and p53 expression in progression of early gastric cancer. *Gastric Cancer* 1998; 1: 160–165.
69. Sobańska E, Bar JK, Gryboś M i wsp. Ocena wartości prognostycznej cykliny D1, cykliny E, białka p27 i aktywności proliferacyjnej PCNA w rakach jajnika. *Onkol Pol* 2007; 10: 97–104.
70. Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI i wsp. Correlation of cyclin D1 and E1 expression with bladder cancer presence, invasion, progression, and metastasis. *Hum Pathol* 2006; 37: 1568–1576.
71. Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI i wsp. Association of cyclin D1 and E1 expression with disease progression and biomarkers in patients with nonmuscle-invasive urothelial cell carcinoma of the bladder. *Urol Oncol* 2007; 25: 468–475.
72. Dong Y, Sui L, Tai Y i wsp. Prognostic significance of cyclin E overexpression in laryngeal squamous cell carcinomas. *Clin Cell Res* 2000; 6: 4253–4258.
73. Skalicky DA, Kench JG, Segara D i wsp. Cyclin E expression and outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1941–1947.