

Artykuł przeglądowy • Review article**Anomalie chromosomowe w diagnostyce nowotworów jajnika**Agnieszka Gnyś¹, Małgorzata Srebnik^{1,2}, Agnieszka Tomaszewska¹

Nowotwór jajnika jest trzecim pod względem częstości występowania nowotworem dróg rodnych kobiety i stanowi najczęstszą przyczynę zgonów z powodu nowotworów złośliwych narządu rodowego. Przyczyną tego jest wykrywanie guzów będących w wysokim stopniu zaawansowania klinicznego, co jest spowodowane brakiem charakterystycznych objawów klinicznych we wczesnym stadium rozwoju choroby. Wczesna diagnoza jest szczególnie ważna, ale jak dotąd nie ma wiarygodnej metody wczesnego wykrywania tego typu nowotworu, dlatego zdobywanie informacji o biologicznym zachowaniu guzów i ich onkogenezie może znacząco pomóc w rozwoju nowych metod leczenia.

Obecnie przeprowadza się coraz więcej badań mających na celu określenie aberracji chromosomowych, a co za tym idzie zmian genetycznych, istotnych w onkogenezie, prognozowaniu i sposobie leczenia nowotworów jajnika. Dzięki wykorzystaniu cytogenetyki klasycznej wspomaganej technikami cytogenetyki molekularnej i biologii molekularnej zaobserwowano, iż najczęstszymi aberracjami chromosomowymi jest pojawienie się dodatkowych kopii chromosomów: 1, 2, 3, 6, 7, 9, 12 i 20 oraz utrata chromosomów 4, 8, 11, 13, 14, 15, 17 i 22. Spotykane w komórkach guzów strukturalne aberracje to głównie delecje lub niezrównoważone translokacje, a dotyczą one najczęściej regionów 1p, 1q, 3p, 3q, 6q, 7p, 10q, 11p, 11q i 12q. Część z wykrywanych aberracji jest już korelowana z prognozą przeżycia pacjentki, opornością na stosowane leki czy też prawdopodobieństwem nawrotu choroby. Niezbędne jest jednak przebadanie dużych grup pacjentek i objęcie ich programami monitoringu terapii, podobnie jak w przypadku programów dla białaczek i im podobnych chorób rozrostowych, aby określić, które z tych aberracji mają bezpośrednie znaczenie kliniczne, a które są następstwem zaburzeń kontroli podziałów i niestabilności chromosomowej.

Chromosomal abnormalities in diagnostics of ovarian cancer

Ovarian carcinoma is the third most common malignancy of the female genital tract and the fifth most common cause of cancer-related mortality in women. The symptoms of ovarian carcinoma are nonspecific, and in most of cases the disease is diagnosed at an advanced stage. Although early detection of ovarian cancer is of primary importance there still exist no reliable means for its early detection. Therefore a more profound knowledge of tumour biology and oncogenesis could be invaluable for development of new therapeutic concepts.

The last few years have seen an increase in the number of investigations aimed at the detection of chromosomal aberrations and genetic alterations of importance for oncogenesis, prognosis and therapeutic concepts. The application of conventional cytogenetics and molecular cytogenetics and biology has allowed to find that the most prevalent numerical changes are gains of chromosomes 1, 2, 3, 6, 7, 9, 12 and 20 and losses of chromosomes 4, 8, 11, 13, 14, 15, 17 i 22. Structural rearrangements primarily involve deletions and unbalanced translocations involving 1p, 1q, 3p, 3q, 6q, 7p, 10q, 11p, 11q i 12q. Some of these aberrations are associated with prognosis, chemotherapy-resistance and the likelihood of recurrence. Nevertheless it is further studies on larger patient groups are necessary. Such an approach has already been employed in the case of leukaemias and has helped to distinguish which chromosome aberrations have a direct clinical impact and which are the result of disturbances in cell division and chromosomal instability.

Słowa kluczowe: nowotwór jajnika, aberracje chromosomowe, cytogenetyka, klasa guza, stopień zaawansowania guza, porównawcza genomowa hybrydyzacja

Keywords: ovarian cancer, chromosome aberrations, cytogenetics, tumour grade, tumour stage, comparative genomic hybridization

¹ Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Biologii Molekularnej i Genetyki Medycznej
Śląska Akademia Medyczna, Katowice

² Department of Clinical Genetics, Erasmus Medical Centre
Rotterdam, Holandia

Wstęp

Pomimo tego, że rak jajnika jest trzecim pod względem częstości występowania nowotworem dróg rodnych kobiety, jest on najczęstszą przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych narządu rodowego. Zajmuje również piąte miejsce pod względem śmiertelności wśród wszystkich nowotworów spotykanych u kobiet [1]. Mimo leczenia chirurgicznego i stosowanej chemioterapii poziom przeżywalności utrzymuje się poniżej 50% [2-4]. Każdego roku w USA nowotwór jajnika jest wykrywany u blisko 23 000 kobiet, a około 14 000 kobiet rocznie umiera z tego powodu [5]. W Polsce w 2000 roku zarejestrowano 2859 nowych zachorowań na złośliwe nowotwory jajnika i 2033 zgony, z tej przyczyny [6]. Z pozyskiwanych danych wynika, iż zapadalność stale wzrasta, a śmiertelność nie ulega istotnemu zmniejszeniu od 30 lat [7]. Mimo intensywnych badań nad doskonaleniem metod rozpoznawczych i leczniczych w ciągu ostatnich 25 lat w Polsce udało się poprawić ogólny wskaźnik przeżywalności chorych w niewielkim stopniu z 30 do 35% [8].

W procesie leczenia i w rokowaniu pacjentek kluczową rolę odgrywa wczesne wykrycie choroby nowotworowej. W przypadku nowotworów jajnika rzadko wykrywane są guzy będące we wczesnym stadium rozwoju. W około 75% przypadków nowotwór jajnika jest rozpoznawany w wysokim stopniu zaawansowania klinicznego (III i IV stopień wg FIGO – Tabela I). Jest to spowodowane brakiem charakterystycznych objawów klinicznych we wczesnym stadium rozwoju choroby oraz śródtrzewnową lokalizacją narządu [8, 9].

Wczesna diagnoza jest szczególnie ważna, ale jak dotąd nie ma wiarygodnej metody wczesnego wykrywania tego typu nowotworu poza genetycznym badaniem rodzinnych przypadków. Dlatego prowadzenie badań genetycznych guzów litych, zdobywanie informacji o ich bio-

logicznym zachowaniu i onkogenezie może znacząco pomóc w walce z tą chorobą. Nowotwory jajnika zostały podzielone na 3 biologiczne podtypy: guzy łagodne, guzy wykazujące niski potencjał przekształcenia się w nowotwór złośliwy tzw. guzy graniczne oraz guzy złośliwe. Mimo iż wyodrębnione jednostki stanowią histologiczną ciągłość różnią się znacznie biologicznym zachowaniem. W związku z czym trudno jest ocenić czy stanowią pod względem biologicznym kolejno następujące po sobie etapy prowadzące do zezłośliwienia, czy też są odrębnymi jednostkami rozwijającymi się *de novo* [10].

Głębsza wiedza dotycząca biologii nowotworów jajnika mogłaby udzielić odpowiedzi na to pytanie i jednocześnie stanowić podstawę dla rozwoju nowych koncepcji leczenia [11]. Ujawnienie istotnych zmian w materiale genetycznym mogłoby być wykorzystane do ocenienia właściwości nowotworu, takich jak wrażliwość na leki. Charakterystyczne zmiany genetyczne mogłyby także stanowić wskaźnik prognozujący szanse przeżycia [12]. Wiadomo, że aberracje chromosomowe są związane z genezą powstawania guza oraz prognozami, a także są silnie powiązane z aktywacją onkogenów, nabywaniem odporności na leki i utratą genów supresorowych [13, 14]. Analiza kariotypów komórek nowotworów krwi dostarczyła istotnych informacji o zmianach genetycznych wywołujących białaczkę. Od 1960 roku identyfikowano powtarzające się specyficzne aberracje cytogenetyczne w różnych nowotworach krwi. Powtarzające się aberracje chromosomowe umożliwiły opisanie fuzji genów, nieprawidłowej ekspresji genów i delecji genów istotnych w patofizjologii, diagnozowaniu, prognozowaniu i terapeutycznym monitorowaniu danego typu nowotworów. Podobny postęp w wykrywaniu specyficznych zmian genetycznych nie miał miejsca w przypadku guzów litych [15, 16]. Mechanizmy leżące u podstaw chromosomowych aberracji w guzach litych są nadal niejasne, a hodowla komórkowa materiału

Tab. 1. Stopnie zaawansowania nowotworów jajnika wg FIGO [7]
Table I. Stages of clinical advancement of ovarian cancer acc. to FIGO

Stopień	Opis
I	Guz ograniczony do jajników
I a	Zajęty tylko jeden jajnik, nieprzerwana torebka, bez płynu w jamie brzusznej
I b	Zajęte oba jajniki, nieprzerwana torebka, bez płynu w jamie brzusznej
I c	Jak I a i I b oraz pęknięta torebka guza, płyn w jamie brzusznej, obecne komórki nowotworowe w wymazach z jamy otrzewnej
II	Guz obejmuje jeden lub oba jajniki oraz narządy miednicy
II a	Przechodzi na macicę i/lub jajowody
II b	Przechodzi na inne narządy miednicy
II c	Jak II a i II b guz na zewnętrznej powierzchni jajnika, płyn w jamie brzusznej, obecne komórki nowotworowe w wymazach z jamy otrzewnej
III	Nowotwór zajmuje jeden lub oba jajniki z wszczepami do otrzewnej poza miednicą i/lub z zajętymi węzłami chłonnymi zaotrzewnowymi lub pachwinowymi
III a	Guz ograniczony do miednicy bez zajęcia węzłów chłonnych
III b	Guz jednego lub obu jajników z potwierdzonymi mikroskopowo wszczepami do otrzewnej jamy brzusznej nieprzekraczające 2 cm, węzły chłonne prawidłowe
III c	Wszczepy do otrzewnej jamy brzusznej powyżej 2 cm i/lub zajęte węzły chłonne zaotrzewnowe lub pachwinowe
IV	Guz jednego lub obu jajników oraz obecne odległe przerzuty

guzów litych sprawia techniczne trudności. W dalszym ciągu zbyt mało wiadomo o genetycznych zmianach związanych z zapoczątkowaniem rozwoju guza.

Techniki cytogenetyczne wykorzystywane w analizie nowotworów jajnika

Badania cytogenetyczne nowotworów jajnika mają na celu analizę specyficznych aberracji chromosomowych (tzw. *recurrent chromosome aberrations*) i wyjaśnienie ich roli w onkogenezie oraz badanie guzów znajdujących się w stadium przed zezłośliwieniem i pierwszych pojawiających się w nich uszkodzeń, a następnie porównanie ich z aberracjami odnajdowanymi w guzach złośliwych inwazyjnych [17]. Aby osiągnąć postawione cele wykorzystuje się szereg technik cytogenetycznych, które wraz z upływem czasu i rozwojem technologii są ulepszane i dają coraz większą możliwość skupienia się na specyficznych odkryciach, które mogą mieć zastosowanie w przyszłej opiece klinicznej. Do wykorzystywanych metod cytogenetyki klasycznej i molekularnej należą:

Klasyczna analiza kariotypu, która jest pierwszym krokiem w determinacji zmian chromosomowych w komórce. Metoda ta umożliwia wykrycie nieprawidłowości objawiających się jako utrata lub pojawienie się dodatkowego chromosomu. Umożliwia ona także wykrywanie zrównoważonych i niezrównoważonych strukturalnych aberracji chromosomowych. Dzięki wstępnym badaniom z zastosowaniem metod klasycznej cytogenetyki wykazano, że guzy jajników mają bardzo złożony kariotyp, a także że obserwowane aberracje nie są przypadkowe lecz mają związek z określonymi cechami klinicznymi [14].

Istotnym przełomem w badaniu chromosomowych aberracji w komórkach nowotworowych było wykorzystanie w badaniach porównawczej genomowej hybrydyzacji (CGH – *comparative genomic hybridization*). Technika ta umożliwia analizę całego genomu bez konieczności zakładania hodowli komórkowych i pozyskiwania komórek nowotworowych będących w metafazie oraz pozwala na wykrywanie delecji regionów chromosomów lub amplifikacji (również duplikacji i trisomii). Metoda ta jest wykorzystywana do identyfikacji aberracji niezrównoważonych w celu śledzenia różnych aspektów rozwoju choroby, takich jak zmiany histologiczne, oporność na chemioterapię czy stopień złośliwości, jednak nie pozwala na wykrycie zrównoważonych aberracji, takich jak inwersje czy translokacje [14, 18, 19].

Stosunkowo nową techniką stosowaną w badaniach cytogenetycznych komórek nowotworowych jest *spectral karyotyping* (SKY). W wyniku hybrydyzacji typu SKY wyznakowane sondy malują na różne kolory całe chromosomy, które następnie analizuje się z wykorzystaniem systemu komputerowego zintegrowanego z kamerą w celu wykrycia translokacji lub innych strukturalnych nieprawidłowości [19, 14, 20].

Utrata heterozygotyczności (*loss of heterozygosity* – LOH) jest kolejnym zjawiskiem możliwym do analizy, a jej wykrycie wskazuje, że np. prawidłowy gen su-

presorowy, podobnie jak otaczające go markery polimorficzne, został utracony [21]. Stosowanymi markerami molekularnymi w tej metodzie są: polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych DNA (RFLP), mikrosatelitarnego DNA, a ostatnio także polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP). Często utrata heterozygotyczności alleli została skorelowana z klinicznymi parametrami, zatem badanie utraty heterozygotyczności stało się bardzo pomocne w charakteryzowaniu specyficznych regionów zmian [14].

W ostatnim czasie naprzeciw analizom dokonywanym z zastosowaniem molekularnej cytogenetyki wyszła technika *array CGH*. Zasada działania jest taka sama, jak w konwencjonalnej porównawczej genomowej hybrydyzacji. Różnica polega na tym, że hybrydyzację przeprowadza się nie na chromosomach komórek znajdujących się w metafazie, lecz z tzw. mikromacierzą DNA, czyli uporządkowanym zbiorem fragmentów genów (sond molekularnych) w postaci jednoniciowego DNA lub oligonukleotydów unieruchomionym na nylonowych membranach albo szklanych lub plastikowych płytkach w ściśle określonym szyku. Do tej pory niewielka ilość badań z wykorzystaniem tej metody została przeprowadzona na nowotworach jajnika [14, 19].

Klasyfikacje nowotworów jajnika

Nowotwory jajnika zostały podzielone wg Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) na 5 głównych kategorii:

1. guzy nabłonkowe (*epithelial tumors*) – stanowią około 75% wszystkich nowotworów jajnika oraz 90-95% guzów złośliwych,
2. guzy gonadalne, ze sznurów płciowych i zrębów jajnika (*sex cord-stromal tumors*) – stanowią 5-10% wszystkich nowotworów jajnika,
3. guzy zarodkowe, z pierwotnej komórki rozrodczej (*germ cell tumors*) – stanowią około 15-20% wszystkich nowotworów jajnika,
4. guzy przerzutowe – powstają zwykle jako przerzuty nowotworów piersi, okrężnicy, endometrium i żołądka,
5. inne [22].

Guzy jajnika zostały także podzielone według stopnia zaawansowania nowotworu (*stage*). Klasyfikacja ta opiera się na ocenie wielkości guza, jego pierwotnej lokalizacji, obszarze rozprzestrzenienia się guza na inne tkanki, uwzględnia zajęcie węzłów chłonnych i pojawianie się nowotworu w innych obszarach ciała. Poszczególne stopnie zaawansowania i ich charakterystykę przedstawia Tabela I. Klasyfikacji określającej stopień zaawansowania nowotworu nie należy mylić z histologicznym podziałem guzów na tzw. klasy (*grade*). Podział ten dokonywany jest na podstawie wyglądu komórek nowotworowych pod mikroskopem oraz tempa wzrostu i rozprzestrzeniania się guza. Na tej podstawie guzy jajnika mogą być zaklasyfikowane do jednej z poniższych klas:

- klasa 1 (G1) – nowotwór dobrze zróżnicowany (*well differentiated – low grade*)
- klasa 2 (G2) – nowotwór umiarkowanie zróżnicowany (*moderately differentiated – intermediate grade*)

- klasa 3 (G3) – nowotwór słabo zróżnicowany (*poorly differentiated – high grade*)
- klasa 4 (G4) – nowotwór niezróżnicowany (*undifferentiated – high grade*)

Guzy klasy 3 i 4 nie mają prawidłowych komórek, wykazują tendencję do gwałtownego wzrostu i rozprzestrzeniania się, granice między zdrową a nowotworową tkanką są słabo widoczne (klasa 3) lub nie ma ich w ogóle (klasa 4) [23, 24]. Histologiczne klasy guzów (*grade*) i stopień zaawansowania rozwoju nowotworu (*stage*) są luźno ze sobą związane. Guzy należące do klasy 3 i 4 mogą być spotykane w niezaawansowanym I stadium rozwoju nowotworu, natomiast guzy zróżnicowane należące do klasy 1 i 2 mogą być spotykane w zaawansowanym stadium choroby. Prognozy z reguły nie są dobre dla pacjentek z guzami klasy 3 i 4 (G3 i G4) będącymi w I stadium rozwoju oraz dla tych z nowotworem będącym w zaawansowanym stadium (III i IV). Nie jest to jednak regułą, ponieważ zdarza się, że pacjentki z guzem klasy 1 i I stopniem zaawansowania choroby nie przeżywają, natomiast statystyki wskazują, że 10-20% kobiet z zaawansowanym rozwojem guza zostaje wyleczona [9]. Dlatego tak ważne jest określenie dodatkowych wskaźników prognozujących szanse przeżycia takich jak molekularne, genetyczne markery, które tłumaczyłyby różnorodność biologicznych zachowań guzów i determinowałyby wybór najbardziej optymalnego indywidualnego leczenia [4].

Guzy nabłonkowe (*epithelial tumors*)

Największą grupę wśród nowotworów jajnika stanowią guzy nabłonkowe, rozwijające się z nabłonka pokrywającego powierzchnię jajnika. Można wśród nich wyróżnić kilka podtypów histologicznych, których klasyfikacja jest oparta na rodzaju komórek przeważających w guzie, są to: guzy surowicze (*serous*), guzy śluzowe (*mucinous*), guzy endometrioidalne (*endometrioid*), guzy jasnokomórkowe (*clear cell*), guzy z komórek przejściowych Brennera (Brenner), raki niezróżnicowane, raki drobnokomórkowe. Każdy z podtypów jest ponadto klasyfikowany jako guz łagodny, graniczny lub złośliwy (rak), a także może być określona jego klasa (*grade*) i stopień zaawansowania (*stage*) [7, 4, 25].

Badania epidemiologiczne wykazują, że ryzyko pojawienia się nowotworu wzrasta wraz ze wzrostem ilości cykli owulacyjnych. Istnieją dwie teorie tłumaczące tę zależność. Pierwsza teoria – „teoria bezustannej owulacji” – sugeruje, że pęknięcie pęcherzyka prowadzące do uszkodzenia powierzchni jajnika i następująca po nim naprawa przyczyniają się do wzrostu prawdopodobieństwa pojawienia się zmian genetycznych w komórkach nabłonka jajnika. Druga teoria – „teoria gonadotropin” – zakłada, że bezustanna stymulacja jajników przez gonadotropiny wraz z miejscowym wpływem hormonów endogennych skutkuje wzrostem proliferacji i mitotyczną aktywnością komórek nabłonka powierzchniowego. Konsekwencją jest częstsze pojawienie się nowotworu w stanach wysokiego poziomu gonadotropin, takich jak menopauza i rzadszym

występowaniem nowotworów w okresach niskiego poziomu gonadotropin, tak jak ma to miejsce np. w przypadku przyjmowania doustnych środków antykoncepcyjnych [26]. Uważa się, że najistotniejszymi czynnikami wpływającymi na częstość występowania tego typu nowotworów są czynniki dziedziczne. Rak jajnika może być dziedziczony jako rodzinnie występujący rak jajnika, tj. gdy 2 lub więcej osób w pierwszym stopniu pokrewieństwa (matka, siostra, córka) lub w pierwszym i drugim stopniu pokrewieństwa (babka, ciotka) mają raka jajnika. Może być dziedziczony także jako zespół raka sutka i jajnika (OMIM #114480) lub jako zespół Lynch II (OMIM #114400), na który składają się niepolipowaty rak odbytnicy i okrężnicy występujący razem z rakiem błony śluzowej trzonu macicy, ale także z rakiem jajnika oraz rakami gruczołowymi innych narządów [25]. Oprócz tego za czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia raka jajnika uważa się stosowanie talku (krzemianu magnezu) na okolicę krocza, niepłodność, dietę wysokotłuszczową, rodzenie dzieci w późnym wieku, stosowanie leków wspomagających płodność oraz późną menopauzę [25, 26]. Natomiast czynnikami zmniejszającymi ryzyko wystąpienia choroby są czynniki, które w znaczącej mierze zmniejszają ilość cykli owulacyjnych np. ciąża, karmienie piersią czy też stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych [25, 26].

Guzy typu nabłonkowego mogą pojawić się u bardzo młodych kobiet, nawet w wieku 15 lat. Jednak średnia wieku, w którym stwierdza się chorobę wynosi 56 lat. Ryzyko zachorowania w przypadku guza nabłonkowego jajnika wzrasta wraz z wiekiem. Nowotwory złośliwe występują częściej u starszych kobiet (60-65 lat), natomiast niezłośliwe u młodszych [26, 27]. Większość nowotworów nabłonkowych jajnika we wczesnym stadium rozwoju jest bezobjawowa. Objawy pojawiają się dopiero w chwili naciekania innych narządów trzewnych lub rozprzestrzeniania się w obrębie jamy brzusznej [8, 25]. Podstawowe leczenie jest chirurgiczne, dalsze leczenie polega na stosowaniu cytostatyków, np. programem łączącym taksol z cisplatyną lub cyklofosamid z cisplatyną [7, 9, 25, 26]. Rokowanie u chorych z nowotworem we wczesnym stadium jest znacznie lepsze, 5-letnie przeżycia uzyskuje się w ponad 90%; odsetek ten spada do 25% w nowotworach zaawansowanym [26].

Aberracje cytogenetyczne

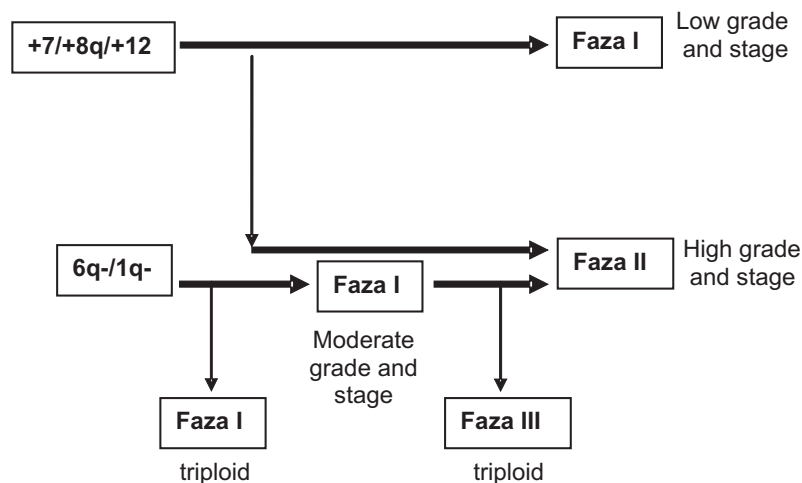
Najwięcej badań cytogenetycznych zostało przeprowadzonych na guzach nabłonkowych jajnika, znacznie więcej niż na dwóch pozostałych typach – germinalnym i gonadalnym. Obecnie jest opublikowanych ponad 400 kariotypów nowotworów jajnika. W większości z nich cytogenetyczne aberracje są nieprzypadkowe i złożone. Jednak patognomiczne aberracje nie zostały do tej pory zidentyfikowane [26, 17, 27]. Komórki nowotworowe często są aneuploidalne z hypodiploidalną lub bliską triploidalną liczbą chromosomów. Najbardziej powszechnymi zmianami numerycznymi są dodatkowe chromosomy: 1, 2, 3, 6, 7, 9, 12 i 20 oraz utrata chromosomów 4, 8, 11, 13, 14, 15, 17 i 22. Strukturalne aberracje to z reguły delecje lub nie-

zrównoważone translokacje i dotyczą najczęściej regionów 1p, 1q, 3p, 3q, 6q, 7p, 10q, 11p, 11q i 12q. Poszczególne podtypy nabłonkowego nowotworu jajnika nie wykazują charakterystycznych, typowych tylko dla nich, aberracji chromosomowych [26]. Zazwyczaj prawidłowe kariotypy lub z prostymi aberracjami cytogenetycznymi są obserwowane w guzach dobrze zróżnicowanych (klasa 1). Natomiast złożone aberracje chromosomowe występują w guzach złośliwych, nie obserwuje się ich w guzach granicznych i łagodnych. [26]. Hauptman i wsp. [11] w swoich badaniach stwierdzili, że surowicze guzy niezróżnicowane (klasa 4) mają około dwa razy więcej aberracji chromosomowych niż zróżnicowane guzy surowicze (klasa 1). Badania przeprowadzone przez Suzuki i wsp. [9] wykazały, że klasa guza (*grade*) jest lepszym wskaźnikiem postępujących zmian genetycznych niż stopień zaawansowania nowotworu (*stage*). Wykazały również, że utrata chromosomu 4 pojawia się w niezróżnicowanych guzach (G4), natomiast w guzach zróżnicowanych w początkowym stadium klinicznym choroby często obserwuje się dodatkowy materiał genetyczny w regionie: 3q26-qter, 8q24-qter i 20q13-qter, co może wskazywać, iż te właśnie aberracje są wczesnymi wydarzeniami w rozwoju nowotworu. W innych badaniach przeprowadzonych na tkankach guza jajnika zaobserwowano wyłącznie trisomię 21 chromosomu. Zmiana ta występowała w złośliwych guzach niezróżnicowanych. Pojawienie się trisomii 21 chromosomu może wskazywać zatem na agresywną postać guza i mieć istotną rolę w procesie zezłośliwienia [28].

Przypuszcza się również, że szanse pacjentek na przeżycie mogą być związane z rodzajem aberracji chromosomowych powstających w komórkach guza. W badaniach przeprowadzonych na 98 nowotworach jajnika zaobserwowano grupę zmian chromosomowych, które występowały częściej w guzach pacjentek, które zmarły, niż w guzach pacjentek, które przeżyły. Źle rokujące aberracje dotyczyły amplifikacji DNA w obszarze 1q24-qter i utraty DNA regionów 4p, 4q31.1-qter, 5q12-q22, 8p, 16q oraz utratę chromosomu X [4]. Z wcześniejszymi zgonami pacjentek może być także związane 9 odrębnych regionów

(1p1, 1q2, 1p3, 3p1, 6p2, 11p1, 11q1, 12q2, i 13p1), w których często dochodzi do pęknięcia chromosomów w komórkach guza [26], a także pojawienie się dodatkowego materiału genetycznego w rejonie 17q21-q24 [29]. Zaobserwowano również zależność między okresem przeżywalności, a liczbą chromosomowych aberracji wykrywanych w guzach. Pacjentki z guzami zawierającymi mniej niż 7 zmian chromosomowych żyły dłużej [12].

Bardzo mało wiadomo o cytogenetycznych i genetycznych zdarzeniach towarzyszących postępowi choroby. Høglund i wsp. [27] przeprowadzili dokładną analizę 387 nowotworów jajnika pod względem liczby aberracji przypadających na guz i stwierdzili, że rozwój nowotworów jajnika przebiega w 3 fazach. W fazie I występuje od 1-7 aberracji, w fazie II – 8-15 aberracji, a w fazie III aberracji jest więcej niż 15. Faza I wykazuje geometryczny rozkład nabywanych zaburzeń. Podobny rozkład zaburzeń obserwowano w guzach piersi, pęcherza moczowego, nerki i odbytnicy. Odkrycie to sugeruje, że nowotwory jajnika fazy I powstają na drodze mechanizmów podobnych do tych działających w mniej złożonych typach guzów. Natomiast w guzach fazy II i III zmiany w kariotypie powodowane są przez inne mechanizmy. Przeprowadzone analizy sugerują, że czasowa kolejność występowania zaburzeń jest następująca: aberracje 1q-, 6q-, +7 i +8q pojawiają się najwcześniej, aberracje -4, -8, +1q, +12 i +20 są zaburzeniami pojawiającymi się w następnej kolejności, dopiero później pojawiają się pozostałe aberracje. Wynioskowano, że ewolucja nowotworów jajnika przebiega dwiema drogami. Pierwsza obejmuje pojawienie się dodatkowego materiału genetycznego regionów +7/+8q/+12 i jest związana z guzami w I stadium zaawansowania i należącymi do klasy 1. Druga obejmuje utratę chromosomów 6q-/1q-, którą stwierdzano w średnich stadiach zaawansowania choroby i guzach należących do klasy 2. Druga droga (6q-/1q-) jest tą, w wyniku której postępuje rozwój nowotworu. Proponowane drogi zmian kariotypu w nowotworach jajnika przedstawia rycina 1. Również Tibiletti i wsp. [30] w swoich badaniach stwierdzili, że najczęstszą delecją jest utrata długiego ra-



Ryc. 1. Cytogenetyczne drogi rozwoju nowotworu jajnika wg [7]

Figure 1. Cytogenetic router of ovarian cancer development (adapter from [7])

mienia chromosomu 6, a dokładniej – regionu 6q24-27. Była to szczególnie częsta zmiana odnotowywana w zaawansowanych nowotworach jajnika, niemniej jednak spotykano ją także w guzach łagodnych. Autorzy sugerują, że guzy graniczne mogą rozwijać się z guzów łagodnych, natomiast złośliwe mogą powstawać z guzów granicznych. Geny zlokalizowane w obszarze 6q27 wydają się być decydujące dla mechanizmów uczestniczących we wczesnych etapach rozwoju guza. Z innych badań mających na celu identyfikację genów zaangażowanych w nieśmiertelność komórek nowotworów jajnika, które mogłyby być istotne w kolejnych etapach rozwoju nowotworu wynika, że utrata chromosomu 13 i amplifikacja chromosomu 20 mogą być wczesnymi genetycznymi wydarzeniami związanymi z nieśmiertelnością komórek nowotworowych [17]. W badaniach nad grupą 114 łagodnych, granicznych i złośliwych nowotworów jajnika zidentyfikowano 3 grupy zaburzeń chromosomowych:

- grupa 1: aberracje odnajdywane we wszystkich podtypach – utrata chromosomów: 6, 8, 10, 11, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 i chromosomu X łącznie z delecją regionu 6q24-qter, a także dodatkowy materiał genetyczny chromosomów 1, 3, 5 i 12.
- grupa 2: aberracje występujące w guzach złośliwych, których nie odnotowywano w guzach łagodnych: utrata chromosomów 2, 7, 13 i 14, oraz dodatkowy DNA chromosomu 4 i chromosomy markerowe.
- grupa 3: zaburzenie występujące tylko w inwazyjnych nowotworach: utrata chromosomu 4 i regionu 6q16-q24, dodatkowe chromosomy 2, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20 i 21 oraz strukturalne rearanżacje regionów 3p, 3q, 13q i 21q [10].

Przeprowadzono również badania mające na celu stwierdzenie, czy aberracje występujące w pierwotnych guzach różnią się od spotykanych w guzach nawrotowych. Otrzymane wyniki sugerują, że guzy z dodatkowym DNA regionów 2p22p25, 19p12q13.1 i 20q12q13 oraz utratą regionu 5q14q22 mogą wykazywać większe skłonności do nawrotu [12].

Próbowano także znaleźć charakterystyczne zmiany w materiale genetycznym nowotworów opornych na działanie leków. Porównując aberracje chromosomowe komórek guzów opornych i wrażliwych na działanie cisplatyny zaobserwowano, że amplifikacja regionów 1q21-q22 i 13q12-q14 jest związana z fenotypem guza opornego na leczenie. Odkrycie to sugeruje, że wymienione aberracje mogą być potencjalnym wskaźnikiem oporności na chemioterapię z użyciem cisplatyny [31].

Sporą grupę stanowią badania mające na celu stwierdzenie charakterystycznych cytogenetycznych różnic między dziedzicznymi nowotworami jajnika, a pojawiającymi się sporadycznie u kobiet bez predyspozycji genetycznych. Dotychczas zaobserwowano, że:

- średnia liczba zmian genetycznych jest znacząco wyższa w rodzinnych nowotworach jajnika, również zaburzenia równowagi genetycznej są w tych guzach większe, wy-

stępują nieprzypadkowe zmiany genetyczne w grupie genów *BRCA1* i *BRCA2* [32].

- amplifikacja regionu 20q12-q13, która jest częstą aberracją spotykaną w nowotworach piersi, występuje we wszystkich guzach rodzinnie występującego raka jajnika i tylko w około połowie (54%) guzów pacjentek nieobciążonych genetycznie [33].
- nowotwory jajnika u kobiet bez predyspozycji genetycznych mogą powstawać w wyniku pojawienia się nabytych mutacji genów *BRCA1* i *BRCA2* [34].

Przypuszcza się, że u podstaw zaburzeń cytogenetycznych nowotworów jajnika mogą leżeć nieprawidłowości związane z centromerami. Za zaburzenia cytogenetyczne związane z centromerami uważa się nieprawidłowy rozmiar i kształt oraz liczbę centromerów. Wadliwe centromery obserwowano w 60% nowotworów w I stadium zaawansowania, w 80% nowotworów w II stadium zaawansowania i we wszystkich guzach będących w III stadium zaawansowania. Dodatkowo zaburzenia związane z centromerami występowały częściej w guzach niezróżnicowanych i w agresywnych formach surowicznych guzów jajnika. Zaburzenia związane z centromerami mogą być wydarzeniami pojawiającymi się wcześniej i mogą być związane z postępowaniem choroby, bowiem nieprawidłowa segregacja podczas mitozy może stanowić potencjalny mechanizm genetycznych rearanżacji prowadzących do utraty lub pojawienia się dodatkowego materiału genetycznego [35, 36]. Przyczyną tych nieprawidłowości jest powstawanie w anafazie mostów, tworzących się z chromosomów kolistych i dicentrycznych. Takie chromosomowe figury mogą powstawać w wyniku pęknięć chromosomów lub w wyniku łączenia się telomerów, w których nieliczne powtórzenia sekwencji telomerowych nie były wystarczające, aby zapobiec łączeniu się chromosomów ze sobą. Sugeruje to, że znaczna część strukturalnych zmian chromosomowych i utrata materiału genetycznego w nowotworach jajnika jest powodowana przez specyficzne mitotyczne zaburzenia wywoływane przez skrócenie telomerów do krytycznej długości i zaburzenia związane z centromerami [35, 36].

Guzy gonadalne, ze sznurów płciowych i zrębów jajnika (*sex cord stromal tumors*)

Stanowią 5-10% wszystkich nowotworów jajnika i rozwijają się ze sznurów płciowych różnicujących się w gonadę męską (komórki Sertoliego), żeńską (komórki ziarniste) lub wywodzących się z podścieliska gonady żeńskiej (komórki tekalne) lub męskiej (komórki Leydiga). Guzy gonadalne produkują i wydzielają hormony (estrogeny i androgeny), dlatego mogą to być guzy maskulinizujące lub feminizujące [7]. Nowotwór typu gonadalnego może pojawić się w każdym wieku, ale najczęściej spotykany jest u kobiet między 40 a 50 rokiem życia. Częstość jego występowania jest podobna na całym świecie. Zwiększone ryzyko pojawienia się nowotworu występuje w zespole Peutza-Jeghersa (OMIM #175200). Prognozy dla kobiet z guzami gonadalnymi są w większości przypadków dobre, guzy dotyczą z reguły jednego jajnika i są

wrażliwe na chemioterapię. Wyróżnia się kilka typów histologicznych nowotworów gonadalnych: ziarniszczaak (*granulosa cell tumour*), otoczkowiak (*thecoma*), włókniak (*fibroma*), jądrzak (*sertoli-leydig cell tumour*), guz z komórek lipidowych (*lipid cell tumour*), *gynadroblastoma* [25, 37].

Ziarniszczaak

Jest najczęstszym przedstawicielem w grupie nowotworów gonadalnych, stanowi 70% przypadków. Charakteryzuje się powolnym wzrostem, minimalną nawrotowością i produkcją estrogenów. Ziarniszczaaki dzielą się na dojrzałe i te stanowią 95% oraz młodzieńcze stanowiące 5%. Oba podtypy produkują estrogen, dlatego guzowi może towarzyszyć znaczny rozrost endometrium. Dojrzałe ziarniszczaaki pojawiają się zwykle u kobiet po menopauzie i mają późne nawroty. Natomiast drugi podtyp rozwija się u kobiet poniżej 30 roku życia i nawroty choroby najczęściej obserwuje się w przeciągu 3 lat. Rozpoznanie symptomów związanych z nieprawidłową produkcją hormonów umożliwia wczesną diagnozę i skierowanie na zabieg chirurgiczny w odpowiednim czasie. Dzięki temu okres przeżywalności 5 lat dotyczy 90-95% pacjentek, u których nowotwór wykryto w I stadium. Natomiast szanse pacjentek na przeżycie 5 lat w stadium zaawansowanym maleją do 25-50% [7, 37].

Aberracje cytogenetyczne. Charakterystycznymi, powtarzającymi się aberracjami chromosomowymi w tym typie nowotworów jest trisomia chromosomu 12 i 14 oraz monosomia chromosomu 22. Przypuszcza się, że monosomia 22 i trisomia 14 chromosomu pojawiają się wcześniej w patogenezie dojrzałych ziarniszczaaków [37, 38]. W tego typu nowotworach obserwowano także niestabilność mikrosatelitów i utratę heterozygotyczności [38] oraz strukturalne aberracje dotyczące chromosomu 6 prowadzące do utraty materiału genetycznego długiego ramienia tego chromosomu [39].

Otoczkowiaki

Stanowią 1% nowotworów jajnika. Zawierają wyłącznie komórki osłonki pęcherzyka Graafa. Są litymi guzami wydzielającymi estrogen, z których mniej niż 5% jest złośliwych. Średnia wieku kobiet, u których diagnozowane są otoczkowiaki wynosi 53 lata. Rzadko ten typ nowotworu jest diagnozowany u kobiet poniżej 30 roku życia. Pacjentki mają doskonałe prognozy, ponieważ okres przeżycia 5 lat wynosi 100% [37, 25].

Aberracje cytogenetyczne. Jedynymi odnotowanymi aberracjami cytogenetycznymi jest trisomia 12 i 4 chromosomu [40].

Włókniaki

Są z reguły łagodnymi nowotworami. Mniej niż 5% włókniaków jest złośliwych; są to włókniakomięsaki. Są diagnozowane głównie u kobiet powyżej 30 roku życia. Ten typ nowotworu związany jest z zespołem Meigsa. Pojawia się również u 75% pacjentek z zespołem Gorlina (OMIM #109400) [25, 37].

Aberracje cytogenetyczne. Trisomia 12 chromosomu jest stałą aberracją spotykaną w guzach łagodnych. Trisomia 8 chromosomu jest wykrywana w złośliwych włókniakomięsakiach [37].

Jądrzaki

Są niezwykle rzadkim typem nowotworów jajnika. Stanowią zaledwie 1% nowotworów gonadalnych i 0,1-0,5% wszystkich nowotworów jajnika. Są wykrywane najczęściej w trzeciej dekadzie życia. Większość pacjentek z jądrzakami wykazuje wirylizację co jest spowodowane produkcją androgenów przez komórki Leydiga. U części pacjentek produkowany jest także estrogen. Prognozy w przypadku tego typu nowotworów są uzależnione od stadium i stopnia zróżnicowania guza. 97,5% guzów jest wykrywana w stadium I, pozostałe w wyższym stadium zaawansowania [25, 37].

Aberracje cytogenetyczne. Analiza CGH i FISH w przypadku jądrzaków złośliwych wykazała trisomię 8 chromosomu jako jedyną anomalię, co sugeruje, że molekularna patogeneza jądrzaków różni się od innych podtypów należących do grupy nowotworów gonadalnych [37].

Guzy zarodkowe (germinalne), z pierwotnej komórki rozrodczej (*germ cell tumors*)

Germinalne nowotwory stanowią od 15 do 20% wszystkich nowotworów jajnika. Powstają z pierwotnej komórki rozrodczej embrionalnej gonady. W głównej mierze dotyczą młodych kobiet, są jednak czasami wykrywane u noworodków i kobiet starszych. Guzy germinalne stanowią około 70% nowotworów jajnika wykrywanych u dzieci. Czynnikiem ryzyka nowotworów germinalnych są: dysgenезja gonad z kariotypem 46XY i genem SRY(+), zespół braku wrażliwości na androgeny, czysta postać gonadoblastoma [6, 41].

Większość nowotworów germinalnych jest łagodna i dotyczy tylko jednego jajnika. Wykrywane są zazwyczaj we wczesnym stadium (u blisko 70% chorych w I stopniu zaawansowania). Rokowanie jest bardzo dobre. W bardziej zaawansowanych stadiach choroby przeżycia 5-letnie nie przekraczają 30%. Wyróżnia się następujące typy histologiczne: potworniak (*teratoma*), rozrodczak (*dysgerminoma*), guz pęcherza żółtkowego (*endodermal sinus tumor*), rak zarodkowy (*embryonal carcinoma*), nabłoniak kosmówkowy (*choriocarcinoma*), *polyembrioma*.

Potworniak

Nowotwór wywodzący się z wielopotencjalnych komórek zarodkowych. Dochodzi w nim do rozrostu i różnicowania się komórek w linie zawierające cechy wszystkich listków zarodkowych, czyli ektodermy, endodermy i mezodermy. Guzy te stanowią 20% złośliwych nowotworów germinalnych. Nie mają jednorodnej budowy histologicznej, są zbudowane z beładnie przemieszanych, rozmaitych tkanek. Są z reguły diagnozowane u kobiet przed menopauzą. Dzielą się na:

- dojrzałe (inaczej zwane torbielami skórzastymi) – zawierają w pełni zróżnicowane tkanki endodermalne, mezodermalne i entodermalne; mogą zawierać w pełni wykształcone włosy, zęby, gruczoły łojowe, ogniska chrzęstne, komórki mięśni gładkich, są łagodne i dają długie okresy przeżycia
- niedojrzałe zawierają tkanki nie w pełni dojrzałe pod względem histologicznym, ze wszystkich trzech listków zarodkowych; stanowią grupę nowotworów złośliwych, prognozy dla osób z niedojrzałymi potworniakami zależą od stopnia zaawansowania (stopień I – 100%, III – 50%) [25, 41].

Aberracje cytogenetyczne. W 80% potworniaków zaobserwowano izochromosom i(12p). W przypadku niedojrzałych potworniaków częstotliwość występowania chromosomowych aberracji wynosi 63%. Najczęściej odnotowanymi nieprawidłowościami jest dodatkowy materiał genetyczny chromosomu 3, 8, 12 i 14, utrata chromosomów 4 i 13 oraz kilka strukturalnych aberracji z których najczęstszą jest i(12p).

W przypadku potworniaków dojrzałych obserwuje się nieliczne aberracje (spośród 300 przypadków tylko 4% miały nieprawidłowy kariotyp). W badaniach na tego typu guzach odnotowano trisomię chromosomu: 8, 13, 15, 20; utratę chromosomu: 3, 6, 7, 11, 16, 17, 21, i 22 oraz następujące rearanżacje strukturalne: add(1)(q11), der(6)t(1;6)(q11q22), i(12)(p10), +del(20)(q11). Z kolei dojrzałe potworniki, które przekształciły się w nowotwory złośliwe wykazywały liczne numeryczne i strukturalne rearanżacje kariotypu. W głównej mierze rearanżacje dotyczyły chromosomu X, 1, 3, 4, 5, 9, 10 i 11 [41].

Rozrodczaki

Mają postać litych guzów o gładkiej powierzchni. Są zbudowane z komórek podobnych do pierwotnych komórek rozrodczych. Stanowią około połowy nowotworów germinalnych. Są to nowotwory złośliwe, ale tylko 1/3 z nich jest agresywna. Przerzuty obserwuje się do układu chłonnego. W odróżnieniu od innych nowotworów germinalnych występują obustronnie u 10-15% chorych. Guzy rozpoznaje się najczęściej u pacjentek między 20 a 30 rokiem życia w I stadium zaawansowania. Większość z nich wydziela ludzką gonadotropinę kosmówkową i dehydrogenazę mleczanową. Szanse przeżycia pacjentek z rozrodczakami we wczesnych i zaawansowanych stadiach wynoszą odpowiednio 95% i >80% [41, 25].

Aberracje cytogenetyczne. Ok. 95% kobiet z rozrodczakami nie wykazuje nieprawidłowości cytogenetycznych. Natomiast u 5% odnotowuje się konstytutywne cytogenetyczne nieprawidłowości dotyczące części lub całego chromosomu Y, kariotyp 46,XY (feminizacja jąder), zaburzony rozwój gonad oraz mieszaną dysgenezę gonad (45,X/46,XY) [41]. We wszystkich analizowanych rozrodczakach obserwowano aberracje chromosomowe. Nabycie dodatkowego materiału genetycznego było odnotowywane częściej, niż utrata. Najczęstszymi nieprawidłowościami były: dodatkowy materiał genetyczny regionów 12p, 12q, 21q, 22q, 20q, 15q, 1p i 6p oraz trisomia

chromosomu 19, 7, 8 i 17, a także monosomia chromosomu 13 [41].

Guz pęcherzyka żółtkowego

Wywodzi się z pierwotnych komórek zarodkowych różnicujących się w kierunku pęcherzyka żółtkowego. Stanowi 20% złośliwych nowotworów germinalnych. Rozwijają się zazwyczaj jednostronnie. Wskaźnik przeżywalności dla pacjentek z nowotworem w I i II stadium zaawansowania wynosi od 60-100%, a w III i IV stadium – 50-75%. Wszystkie chore wymagają uzupełniającej chemioterapii [41].

Aberracje cytogenetyczne. Analizowane guzy pęcherzyka żółtkowego wykazywały amplifikację regionu 12p, 1q, 3p, 11q, Xp, i utratę obszaru 18q. Najczęściej obserwowanymi zmianami była amplifikacja całego chromosomu 12 lub regionu 12p11-p12 [41].

Większość typów nowotworów jajnika posiada bardzo złożony kariotyp, co utrudnia jego analizę. Część z wykrywanych aberracji jest już korelowana z prognozą przeżycia pacjentki, ale większość z nich wymaga dalszej obserwacji. Niezbędne jest przebadanie dużych grup pacjentek i objęcie ich programami monitoringu terapii podobnie jak w przypadku programów dla nowotworów tkanki krwiotwórczej. Niezbędne jest określenie, które z tych aberracji mają bezpośrednie znaczenie kliniczne, a które są następstwem zaburzeń kontroli podziałów i niestabilności chromosomowej. Cytogenetyka klasyczna guzów litych jest szczególnie trudna, niemniej jednak obecnie wspomagana technikami cytogenetyki molekularnej i biologii molekularnej może być szeroko stosowana do badania guzów litych. Swoistą trudnością w prowadzeniu tego typu badań jest tworzenie informatycznych baz danych obejmujących zarówno badania genetyczne (identyfikowanie rodzin obciążonych mutacjami *BRCA1*, *BRCA2*, *p53*), cytogenetyczne badania tkanek nowotworowych oraz szczegółową historię choroby pacjenta wraz z dokładnymi danymi dotyczącymi prowadzonego leczenia, jak i jego efektów. Wymaga to bliskiej współpracy i wzajemnego zrozumienia genetyków, cytogenetyków oraz specjalistów z dziedziny ginekologii onkologicznej oraz onkologów. Należy jednak pamiętać, że pierwsze ogniwo stanowią lekarze rodzinni i ginekolodzy pacjentek. Tylko stworzenie szeroko zakrojonej współpracy wieloosrodkowej oraz monitoring ogromnej liczby przypadków, przy udziale bioinformatyków, przyniesie w przyszłości odpowiedź na postawione pytania. Bioinformatyka stanie się wkrótce podstawowym narzędziem pozwalającym na korelację danych genetycznych oraz klinicznych.

Dr n. med. Małgorzata Srebnik
Clinical Genetics Ee2471
Erasmus Medical Centre
Dr Molewaterplein 50
3015 GE Rotterdam
Holandia
e-mail: srebnia@poczta.onet.pl

Piśmiennictwo

1. Kiechle M, Jacobsen A, Schwarz-Boeger U i wsp. Comparative genomic hybridization detects genetic imbalances in primary ovarian carcinomas as correlated with grade of differentiation. *Cancer* 2001; 91: 534-40.
2. Dhillon VS, Aslam M, Husain SA. The contribution of genetic and epigenetic changes in granulosa cell tumors of ovarian origin. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5537-45.
3. Gisselsson D, Lv M, Tsao S i wsp. Telomere-mediated mitotic disturbances in immortalized ovarian epithelial cells reproduce chromosomal losses and breakpoints from ovarian carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 42: 22-33.
4. Partheen K, Levan K, Osterberg L i wsp. Analysis of cytogenetic alterations in stage III serous ovarian adenocarcinoma reveals a heterogeneous group regarding survival, surgical outcome, and substage. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 40: 342-8.
5. Gray JW, Suzuki S, Kuo W i wsp. Specific keynote: genome copy number abnormalities in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 88: S16-21; dyskusja S22-4.
6. Kornafel J. Ginekologia onkologiczna, <http://www.puo.pl/pdf/ginekologia.pdf>.
7. Kozakiewicz B. Nowotwory złośliwe narządu rodowego, http://www.borgis.pl/czytelnia/nm_onkol/29.php
8. Gadomska H. Rak jajnika – diagnostyka. http://www.borgis.pl/czytelnia/nm_ginekolo/32.php
9. Suzuki S, Moore DH, Ginzinger DG i wsp. An approach to analysis of large-scale correlations between genome changes and clinical endpoints in ovarian cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 5382-5.
10. Tibiletti MG, Bernasconi B, Taborelli M i wsp., Genetic and cytogenetic observations among different types of ovarian tumors are compatible with a progression model underlying ovarian tumorigenesis. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 146: 145-53.
11. Hauptmann S, Denkert C, Koch I i wsp., Genetic alterations in epithelial ovarian tumors analyzed by comparative genomic hybridization. *Hum Pathol* 2002; 33: 632-41.
12. Hu J, Khanna V, Jones MW i wsp. Comparative study of primary and recurrent ovarian serous carcinomas: comparative genomic hybridization analysis with a potential application for prognosis. *Gynecol Oncol* 2003; 89: 369-75.
13. Engel H, Friedrich J, Kleespies C i wsp. Detection of chromosomal aberrations in tumor cells and tumor infiltrating lymphocytes by molecular cytogenetics in patients with gynecological cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 106: 159-65.
14. Bernardini M, Weberpals J, Squire JA. The use of cytogenetics in understanding ovarian cancer. *Biomed Pharmacother* 2004; 58: 17-23.
15. Deger RB, Faruqi SA, Noumoff JS. Karyotypic analysis of 32 malignant epithelial ovarian tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 96: 166-73.
16. Taetle R, Aickin M, Yang J i wsp. Chromosome abnormalities in ovarian adenocarcinoma: I. Nonrandom chromosome abnormalities from 244 cases. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 25: 290-300.
17. Jin Y, Zhang H, Tsao SW i wsp. Cytogenetic and molecular genetic characterization of immortalized human ovarian surface epithelial cell lines: consistent loss of chromosome 13 and amplification of chromosome 20. *Gynecol Oncol* 2004; 92: 183-91.
18. Fishman A, Shalom-Paz E, Fejgin M i wsp. Comparing the genetic changes detected in the primary and secondary tumor sites of ovarian cancer using comparative genomic hybridization. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 261-6.
19. <http://www.genome.gov/10000208>.
20. Bayani J, Brenton JD, Macgregor PF i wsp. Parallel analysis of sporadic primary ovarian carcinomas by spectral karyotyping, comparative genomic hybridization, and expression microarrays. *Cancer Res* 2002; 62: 3466-76.
21. Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. W: *Genetyka medyczna*. Wyd 1. Lublin: Czelej; 2000, s. 260-80.
22. <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Tumors/OvarianTumOverviewID5231.html>.
23. http://www.mydna.com/health/ovarian_cancer/library/tumorqa.html.
24. <http://health.yahoo.com/ency/healthwise/tw9761>.
25. Piver MS. W: Piver MS (red.) *Podręcznik Onkologii Ginekologicznej*. Wyd. 1 Warszawa: PZWL; 1999, s. 12-116.
26. <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Tumors/OvaryEpithTumID5230.html>.
27. Hoglund M, Gisselsson D, Hansen GB i wsp. Ovarian carcinoma develops through multiple modes of chromosomal evolution. *Cancer Res* 2003; 63: 3378-85.
28. Faruqi SA, Noumoff MJ, Deger RB i wsp. Trisomy 21 as the only recurrent chromosomal anomaly in a clinically aggressive ovarian carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 138: 165-8.
29. Tibiletti MG, Bernasconi B, Furlan D i wsp. Chromosome 6 abnormalities in ovarian surface epithelial tumors of borderline malignancy suggest a genetic continuum in the progression model of ovarian neoplasms. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3404-9.
30. Hirasawa A, Saito-Ohara F, Inoue J i wsp. Association of 17q21-q24 gain in ovarian clear cell adenocarcinomas with poor prognosis and identification of PPM1D and APPBP2 as likely amplification targets. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1995-2004.
31. Kudoh K, Takano M, Koshikawa T i wsp. Gains of 1q21-q22 and 13q12-q14 are potential indicators for resistance to cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2526-31.
32. Israeli O, Gotlieb WH, Friedman E i wsp. Familial vs sporadic ovarian tumors: characteristic genomic alterations analyzed by CGH. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 629-36.
33. Tanner MM, Grenman S, Koul A i wsp. Frequent amplification of chromosomal region 20q12-q13 in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1833-9.
34. Jazaeri AA, Yee CJ, Sotiriou C i wsp. Gene expression profiles of BRCA1-linked, BRCA2-linked, and sporadic ovarian cancers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 990-1000.
35. Hsu LC, Kapali M, DeLoia JA i wsp. Centrosome abnormalities in ovarian cancer. *Int J Cancer* 2005; 113: 746-51.
36. Gisselsson D, Lv M, Tsao S i wsp. Telomere-mediated mitotic disturbances in immortalized ovarian epithelial cells reproduce chromosomal losses and breakpoints from ovarian carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 42: 22-33.
37. <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Tumors/OvarSexCordStromID5223.html>
38. Dhillon VS, Aslam M, Husain SA. The contribution of genetic and epigenetic changes in granulosa cell tumors of ovarian origin. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5537-45.
39. Verhest A, Nedoszytko B, Noel JC i wsp. Translocation (6;16) in a case of granulosa cell tumor of the ovary. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 60: 41-4.
40. Mrozek K, Limon J, Debniak J i wsp. Trisomy 12 and 4 in a thecoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 1992; 45: 66-8.
41. <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Tumors/OvarianGermCellID5067.htm>.

Otrzymano: 27 grudnia 2005 r.

Przyjęto do druku: 23 lutego 2006 r.