

ZYGMUNT ZDROJEWICZ, KINGA BELOWSKA-BIEŃ

## Cyklina E – nowy marker w onkologii?

### Cyclin E – a New Marker in Oncology?

Klinika Endokrynologii i Diabetologii AM we Wrocławiu

#### Streszczenie

Cyklina E jest białkowym regulatorem cyklu komórkowego. Funkcjonalnie jest związana z kinazą 2 zależną od cykliny (CDK2 – cyclin 2 dependent kinase). Prawidłowa funkcja cykliny E umożliwia komórce przejście z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Zaburzenia w wydzielaniu cykliny E mają związek z rozwojem około 15 różnych nowotworów, m.in. *rhabdomyosarcoma*, raka pęcherza moczowego, raka jajnika, gruczolakoraka jelita cienkiego, grubego, pęcherzyka żółciowego i żołądka, raka endometrium i *phaeochromocytoma*, a także raka rdzeniastego sutka, cewki moczowej i gruczołu krokowego. Cyklina E może stać się nowym markerem pomocnym w rokowaniu lub określaniu skuteczności zastosowanej terapii. Na wyjaśnienie czeka rola cykliny E w patogenezie nadciśnienia tętniczego i płucnego (Adv Clin Exp Med. 2004, 13, 6, 1023–1028).

**Słowa kluczowe:** cyklina E, karcynogeneza.

#### Abstract

Cyclin E is a protein cell cycle regulator. It is functionally bound to the cyclin 2 dependent kinase (CDK2). The proper function of cyclin E allows the cell to transit from the G1 to the S cell cycle phase. Disturbances of cyclin E secretion are associated with the development of about 15 diverse tumors, e.g. rhabdomyosarcoma, urinary bladder cancer, ovarian cancer, adenocarcinoma of the small and the large intestine, gall bladder adenocarcinoma, gastric adenocarcinoma, endometrial carcinoma, phaeochromocytoma, and also medullary breast cancer, carcinoma of the uterine cervix and the prostate cancer. Cyclin E is likely to become a new marker useful for prognosing and determining the effectiveness of the applied therapy. The role of cyclin E in pathogenesis of arterial and pulmonary hypertension is still to be determined (Adv Clin Exp Med. 2004, 13, 6, 1023–1028).

**Key words:** cyclin E, cancerogenesis.

Cykl komórkowy (cykl życiowy komórki) to regularnie powtarzające się procesy wzrostu i podziału, które zachodzą w następujących po sobie fazach: faza M – czas podziału mitotycznego i początku cytokinezy, faza G1 – czas zakończenia cytokinezy i wzrostu, faza S – czas replikacji DNA i faza G2 – czas wzmożonej syntezy i przygotowania do kolejnego podziału. Po fazie M komórka potomna może ponownie wejść w fazę G<sub>1</sub> i po przekroczeniu punktu restrykcyjnego kontynuować cykl lub wejść w piątą fazę cyklu – fazę spoczynkową G<sub>0</sub>, w której procesy wzrostu, replikacji DNA i podziałów zostają wstrzymane. Z fazy G<sub>0</sub> komórka może ponownie wejść do fazy G1 lub obumrzeć. Nad prawidłowym przebiegiem cyklu komórkowego czuwają cykliny, kinazy zależne od cyklin (CDK – cyclin dependent kinases) i ich in-

hibitory. Celem pracy jest przedstawienie współczesnej roli cyklin w organizmie człowieka.

Cykliny są niezbędne do prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego we wszystkich jego etapach. Są białkami, których stężenie zmienia się w zależności od fazy cyklu komórkowego. Kinazy zależne od cyklin są obecne w komórkach przez cały czas w postaci nieaktywnej. Ich uaktywnienie następuje przez połączenie z odpowiednimi cyklinami. Cyklina D jest funkcjonalnie związana z CDK4 i CDK6 i działa głównie we wczesnej i środkowej fazie G1. Cyklina E i jej CDK działają w późnej fazie G1 i odpowiadają za wprowadzenie komórki do fazy S. Cyklina A i CDK1 odpowiadają za „przeprowadzenie” komórki przez fazę S i G2. Kompleks cykliny B i CDK2 jest natomiast niezbędny do wprowadzenia komórki do

fazy mitozy. Cykliny są znanymi od dawna regulatorami cyklu komórkowego, a badania prowadzone w ostatnim czasie wskazują na ważną rolę, jaką związki te, a szczególnie cyklina E, mogą odgrywać w procesie karcynogenezy.

Cyklina E jest przede wszystkim regulatorem procesu przejścia komórki z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Faza G1 jest tą fazą cyklu komórkowego, w której czynniki regulujące wzrost i podział komórki mają zasadnicze znaczenie. Zaburzenia cyklu w tej fazie wywołane dysregulacją w układzie cyklina/aktywność kinazy zależnej od cykliny najłatwiej prowadzą do inicjacji karcynogenezy. Cyklina E, związana funkcjonalnie z CDK2, jest uważana za niezbędny regulator fazy G1 [1]. Zawartość cykliny E w zdrowych komórkach zmienia się wraz z ich wiekiem – w pierwszych trzech godzinach życia komórki pozostaje mała, następnie stopniowo się zwiększa, by pod koniec fazy G1 osiągnąć stężenie sześciokrotnie wyższe od wyjściowego [2]. Autofosforylacja cykliny E w pozycji T380 przez CDK2 jest warunkiem wiązania cykliny E z podjednostką Fbw7 receptora cykliny E – SCFFbw7 [3]. Cyklina E jako główny czynnik regulujący przejście komórki z fazy G1 do fazy S, kontroluje m.in. proces replikacji DNA, duplikacji centrosomów i aktywacji transkrypcji [4]. W warunkach prawidłowych liczba komórek, które wykazują ekspresję cykliny E, gwałtownie się zmniejsza po wejściu komórek do fazy S cyklu komórkowego [5]. Zjawiska tego nie obserwuje się w komórkach linii nowotworowych: liczba komórek, w których cyklina E ulega ekspresji pozostaje duża przez całą długość trwania fazy S, a w wielu rodzajach nowotworów jeszcze dłużej – nawet w fazie G2.

Zaburzenia wydzielania cykliny E występują w około 15 rodzajach różnych nowotworów, m.in. w: *rhabdomyosarcoma*, raku pęcherza moczowego, jajnika, gruczolakoraku jelita cienkiego, grubego, pęcherzyka żółciowego i żołądka, raku endometrium i *phaeochromocytoma*, a także w raku rdzeniastym sutka, cewki moczowej i gruczołu krokowego [6].

Najwięcej badań poświęcono roli cykliny E w powstawaniu raka piersi. Cyklina E występuje w zdrowym nabłonku gruczołu piersiowego w stężeniu podstawowym, a wzmożona ekspresja następuje w komórkach zmienionych nowotworowo [7]. Zwiększona ekspresja cykliny E ma związek z nasiloną proliferacją komórkową, niestabilnością chromosomów obserwowaną *in vitro* oraz z nieprawidłowymi stężeniami innych substancji regulatorowych cyklu komórkowego i dysregulacją ich genów, m.in. genu białka p53 [8]. Lindahl et al. badali zależność, jaka występuje między stężeniem cykliny E a ekspresją genu białka p53

u 270 kobiet z rozpoznaniem rakiem piersi. Badane kobiety zostały podzielone na trzy grupy: z małym stężeniem cykliny E (171 kobiet – 63%), ze średnim stężeniem cykliny E (72 kobiety – 27%) i z dużym stężeniem cykliny E (27 kobiet – 10%). U 56% kobiet z grupy trzeciej, z dużym stężeniem cykliny E, wykazano obecność mutacji genu *p53*, podczas gdy mutację tę wykazano jedynie u 14% kobiet z grupy pierwszej. Wysokie stężenie cykliny E u kobiet z trzeciej grupy był związane z dużą liczbą mutacji typu insercje, delecje i punktowe mutacje nonsensowne w obrębie genu *p53*. U kobiet z grupy pierwszej wykazano przede wszystkim obecność mutacji typu missens. Na podstawie analizy dodatkowych czynników (obecność przerzutów do węzłów chłonnych pachowych, wielkość guza, brak receptorów estrogenowych) można wnioskować, że wzmożona ekspresja cykliny E jest związana z określonym rodzajem mutacji genu *p53* i bardziej złośliwym fenotypem nowotworu. Pacjentki, u których rozpoznaje się raka piersi, z małymi stężeniami cykliny E, jakie stwierdza się w zdrowym nabłonku sutka, mają zdecydowanie dłuższy okres przeżycia, niezależnie od zajęcia węzłów chłonnych. Stężenie cykliny E okazało się najwartościowszym wskaźnikiem prognostycznym, jaki w swojej pracy oceniali Keyomarsi et al. [9]. Span et al. uważają jednak, że takie twierdzenie jest zbyt optymistyczne i że stężenie cykliny E w komórkach nie powinno być rozpatrywane jako czynnik prognostyczny, ale raczej określający skuteczność terapii hormonalnej [10]. Teorię tę zdają się potwierdzać badania Christova et al., którzy indukowali raka piersi u szczurów, a następnie poddawali zwierzęta terapii tamoksyfenem [11]. Terapia trwała przez 5, 10 lub 20 dni, a lek podawano w dawce 1,0 mg/kg masy ciała. Obserwowano zależny od czasu spadek tempa proliferacji komórkowej i zatrzymanie komórek na etapie fazy G1/G0. Jednocześnie obserwowano zmniejszenie ilości cykliny E i D1, zarówno na poziomie mRNA, jak i białkowego produktu. Ilość cykliny E może być pośrednim wskaźnikiem biochemicznym odpowiedzi guza na leczenie tamoksyfenem, a możliwe, że także na leczenie innymi selektywnymi modulatorami receptorów estrogenowych (SERM). Zwiększona ekspresja cykliny E wpływa na wrażliwość zwierzęcych komórek nowotworowych na chemioterapeutyki, m.in. na doksorubicynę, ale nie na winkrystynę, etopozyd i metotreksat [12]. Fibroblasty szczurów, które zostały wykorzystane w badaniach Sgambato et al., wykazywały także znaczne zmniejszenie ilości reaktywnych form tlenu (ROS – reactive oxygen species) oraz zwiększenie aktywności manganowej dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD). Sugeruje to, że cyklina E może obniżać wrażliwość komórek nowo-

tworowych na doksorubicynę przez wpływ na aktywność MnSOD. Zaobserwowano także, że duża ekspresja cykliny E jest często związana ze zwiększoną aktywnością cykliny D1 i występuje przede wszystkim u pacjentek młodych, z nisko zróżnicowanymi typami nowotworu [13]. Poszukując odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób cyklina E promuje rozwój nowotworu, Yue et al. badali ekspresję cykliny E w dwóch liniach komórek nowotworowych: MCF7 i T47D [14]. Komórki z dużą ekspresją cykliny E charakteryzowały się znaczącym zmniejszeniem ekspresji białka Bcl-2 (o działaniu antyapoptotycznym) i zwiększonym stężeniem proapoptotycznych białek Bad i Bax. Zaburzenia homeostazy białek promujących i zapobiegających apoptozie wpływają także na wrażliwość komórek na działanie cytokin. Komórki linii MCF7 wykazujące duże stężenie cykliny E były znamienne wrażliwe na działanie substancji indukujących apoptozę, m.in. TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ).

Prawdopodobnie większą uwagę należy poświęcić cząsteczkom cykliny E o małej masie (LMW – low molecular weight) [15]. Są to cząsteczki cykliny E, które w wyniku proteolizy zostały skrócone od końca aminokwasowego. LMW mają wzmoczoną aktywność kompleksu cyklina E-CDK2, co *in vivo* dodatnio koreluje z szybkością wprowadzania komórki do fazy S cyklu komórkowego. Istnieją dwa rodzaje LMW – T1 i T2 [16, 17]. Izoformy te zidentyfikowano w komórkach nowotworowych raka piersi, a ich obecność korelowała ze złym rokowaniem klinicznym. T1 i T2 są biologicznie aktywne, ich obecność dwukrotnie, w porównaniu z „długą” cyklina E, zwiększa zdolność komórek do przechodzenia przez kolejne fazy cyklu komórkowego (fazę S i G1/M). LMW wykazują także czterokrotnie większą aktywność w procesie fosforylacji histonu H1 niż cyklina E.

Obecność cykliny E wykazano także w komórkach endometrium. Dubovy et al. wykazali, że stężenie cykliny E zmienia się w komórkach endometrium w czasie cyklu miesięcznego [18]. W badaniach brały udział 43 zdrowe, płodne ochotniczki, 83 kobiety poszukujące pomocy medycznej z powodu bezpłodności oraz 23 kobiety z indukowanym cyklem miesięcznym. Materiał do badania pobierano w drodze biopsji endometrium w różnych dniach cyklu miesięcznego. Wykazano, że w komórkach materiału pobieranego w pierwszej grupie cząsteczki cykliny E „wędrowały” przez cytoplazmę (w środkowej fazie proliferacyjnej) w kierunku jądra komórkowego (w 18., 19. dniu cyklu) i zanikały całkowicie po 20. dniu cyklu. W materiale pobieranym od kobiet z grupy drugiej wykazano obecność cząsteczek cykliny E jeszcze po 20. dniu cyklu. W trzeciej grupie badanych

zmiany te były jeszcze bardziej nasilone niż u kobiet zdrowych. Autorzy doświadczenia wnioskuje, że cyklina E może być dobrym czynnikiem pomocnym w ocenie rozwoju komórek endometrium. Cyklina E prawdopodobnie bierze udział w rozwoju gruczolakoraka endometrium i może być wskaźnikiem prognostycznym tej choroby [19]. Na podstawie porównania wycinków endometrium zdrowego, hiperplastycznego i z rozpoznaniem gruczolakorakiem stwierdzono, że cyklina E występowała w komórkach z wszystkich próbek i że nie było istotnych różnic między komórkami zdrowego i hiperplastycznego endometrium. Jednocześnie wykazano, że ekspresja cykliny E w komórkach zmienionych nowotworowo była znacząco większa. Odsetek prawidłowych jąder komórkowych w guzie (LI – labeling index) dla wysoko-, średnio- i niskozróżnicowanych gruczolakoraków endometrium wynosił odpowiednio:  $31,5 \pm 33,3\%$ ;  $37,8 \pm 31,9\%$  i  $51,1 \pm 30,8\%$ . Wykazano dodatnią korelację między ilością cykliny E a stopniem zaawansowania histologicznego guza i zajęciem miometrium, nie wykazano natomiast związku między ilością cykliny E a stopniem zaawansowania choroby według FIGO.

Zaburzenia regulacji wydzielania cykliny E obserwowano w przebiegu raka jajnika u szczurów [20]. Wykazano znacząco większą aktywność cykliny E w komórkach nowotworowych niż zdrowych, a także dodatnią korelację między ilością cykliny E a ilością białka p21 oraz ujemną korelację między cyklina E i białkiem p21 a białkiem p27. Taka konstelacja analizowanych wskaźników może wskazywać na szybką progresję procesu nowotworowego. Milde-Langosch et al. badali zmiany w układzie promotorów (cyklina E, cyklina D2) i inhibitorów cyklu komórkowego (białka Rb, p16, p21 i p27) w 93 przypadkach rozpoznanego raka jajnika. Wykazano słaby związek między wysoką reaktywnością Rb i umiarkowanie wysoką aktywnością cykliny E a dużą ekspresją markera proliferacji Ki67. Wysoka aktywność białka Rb paradoksalnie okazała się niezależnym złym czynnikiem prognostycznym w tym nowotworze. Na złe rokowanie wskazywało także duże stężenie cykliny E, starszy wiek i stopień zaawansowania choroby. Duże stężenie cykliny E, będące wynikiem amplifikacji genu cykliny, było związane z krótszym czasem przeżycia także u pacjentek badanych przez Farleya et al. [21]. Wykazano krótszą średnią długość przeżycia ( $29 \pm 2$  miesiące) i krótszą całkowitą długość przeżycia ( $35 \pm 3$  miesiące). Duże stężenie cykliny E było także związane z 40–50% wzrostem ryzyka zgonu. Potwierdzono także wcześniejsze doniesienia o roli cykliny E w rozwoju guza z komórek germinalnych jądra [22].

Istnieją dowody, że wzmożona ekspresja cykliny E może mieć udział w patogenezie nowotworów narządów przewodu pokarmowego. W komórkach *carcinoma hepatocellulare* wykazano wzmożoną aktywność cykliny E i A, która korelowała ze stopniem zaawansowania choroby [23]. Wydaje się, że oznaczanie aktywności cykliny E może być pomocne w prognozowaniu postępu także tej choroby. Wysoką aktywność cykliny E i CDK2 wykazano również w preparatach pobranych z żołądka pacjentów z rozpoznaniem rakiem tego narządu [24]. Ilość cykliny E i aktywność CDK2 były statystycznie większe w tkankach chorych niż osób zdrowych i dodatnio korelowały z zajęciem błony surowiczej i okolicznych węzłów chłonnych, w których także stwierdzono większą ekspresję cykliny E. Ze względu na brak jednoznacznych wyników badań z innych ośrodków, wydaje się, że na razie cyklina E nie jest charakterystycznym czynnikiem biochemicznym, który może być brany pod uwagę przy ocenie zaawansowania i prognozowaniu przebiegu raka żołądka [25]. Niejednoznaczne dane dotyczą roli cykliny E w patogenezie raka pęcherzyka żółciowego. Choć wykazano zmiany ekspresji cykliny D1 i białka p27, to nie stwierdzono wzrostu ilości cykliny E [26]. W wyniku analizy ilości cykliny E i białka p27 w wycinkach z jelita grubego (23 wycinki z tkanki zdrowej, 28 z polipów, w tym z 13 polipów zapalnych i 15 gruczolakowatych oraz 18 wycinków ze zmian typu *adenocarcinoma*) okazało się, że w tkankach zmienionych nowotworowo ilość cykliny E jest mniejsza niż w tkankach zdrowych [27]. Zwiększoną aktywność cykliny E, dodatnio korelującą z zajęciem węzłów chłonnych, wykazano w raku trzustki [28].

Nie można wykluczyć udziału cyklin w patomechanizmie rozwoju gruczolakoraka płuc [29]. Materiał pobrany od 72 pacjentów (29 mężczyzn i 43 kobiet w wieku 26–83 lat, średnio 64 lata), którzy byli operowani z powodu rozpoznania *adenocarcinoma* płuc o średnicy nieprzekraczającej 2 cm i I stopniu zaawansowania, badano na obecność cykliny E i D1. Obecność cykliny D1 w ponad 20% komórek wykazano u 26 pacjentów, a obecność cykliny E w ponad 20% komórek – tylko u jednego chorego. Kiedy porównano czas przeżycia chorych z ekspresją onkogenów, okazało się, że ekspresja cykliny D1, a nie cykliny E, korelowała dodatnio ze złym rokowaniem co do długości przeżycia.

Prawdopodobnie cyklina E może oddziaływać z protoonkogenami i zmieniać przebieg cyklu komórkowego limfocytów [30]. Kontrola procesu proliferacji limfocytów przez działanie onkogenu *c-rel* jest związana z działaniem układu cykliny E–CDK2, a *c-rel* nie tylko aktywuje czynniki an-

tyapoptotyczne, ale także kontroluje przebieg cyklu komórkowego. Duże stężenie cykliny E przy jednoczesnym braku białka p27 jest silnym czynnikiem predysponującym do rozwoju chorób rozrostowych układu białokrwinkowego u myszy [31], a także chłoniaków [32] i zespołów mielodysplastycznych u ludzi [33]. Układ małe stężenie białka p27 i duże stężenie cykliny E był także obserwowany w mięsakach tkanek miękkich [34].

Cykliny są nowym czynnikiem, który należy brać pod uwagę w patomechanizmie innych, poza nowotworowymi, schorzeń, np. nadciśnienia tętniczego. Komórki mięśni gładkich naczyń szczurów cierpiących na samoistne nadciśnienie tętnicze proliferują szybciej niż te same komórki zdrowych szczurów odmiany Wistar-Kyoto [35]. Wykazano, że faza G1 komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych przebiega szybciej w komórkach zwierząt chorujących na nadciśnienie tętnicze:  $59 \pm 6\%$  tych komórek i tylko  $14 \pm 10\%$  komórek pobranych od szczurów odmiany Wistar opuściło fazę G1 przed upływem 24 godzin, ponadto  $15 \pm 2\%$  komórek „nadciśnieniowych” zakończyło w tym czasie cały cykl komórkowy. Za pomocą analizy Western blot wykazano, że stężenie cykliny D, A i E było znacząco wyższe w tych komórkach, podczas gdy ekspresja CDK2 i inhibitorów CDK – p21 i p27, była zbliżona w obu grupach. Podobny patomechanizm związany z proliferacją komórek mięśni gładkich naczyń płucnych odgrywa podstawową rolę w rozwoju nadciśnienia płucnego [36]. Inhibitory cyklu komórkowego wydają się obiecującymi czynnikami zapobiegającymi powstawaniu zwężeń w stentach naczyń wieńcowych [37]. Nie został dokładnie wyjaśniony związek między działaniem interleukiny 4 (IL-4) a cyklinami, w tym cykliną E, ale wydaje się, że może mieć znaczenie w zapobieganiu i leczeniu chorób zapalnych i autoimmunologicznych [38].

Po raz kolejny okazało się, że znany czynnik o określonej funkcji biologicznej, taki jak cyklina E, może brać udział w patomechanizmie różnych, złożonych procesów biochemicznych w komórkach. Badania nad rolą cykliny E w procesach karcynogenezy są obiecujące i dają nadzieję na nowe rozwiązania diagnostyczne i terapeutyczne, tym bardziej że techniki oznaczania ilości cykliny E opierają się na znanych metodach (Western blot, immunohistochemia). Największe znaczenie kliniczne mają prawdopodobnie doniesienia na temat wartości oznaczania ilości cykliny E i rokowania co do przeżycia u pacjentek z rozpoznaniem rakiem sutka, a także co do określania skuteczności prowadzonej terapii. Wydaje się, że oznaczanie ilości cykliny E może znaleźć praktyczne zastosowanie w diagnostyce ginekologii onkologicznej. Dalszych badań wymaga rola cykliny E w patome-



chanizmie powstawania nowotworów narządów przewodu pokarmowego – wątroby, pęcherzyka żółciowego, trzustki; a także gruczolakoraka płuc. O ile stosunkowo łatwo zrozumieć związek między dysregulacją procesu podziałów komórkowych a nowotworzeniem, o tyle trudniej będzie wytłumaczyć znaczenie cykliny E w patomechani-

zmie nadciśnienia tętniczego lub płucnego. Należy kontynuować szczegółowe badania nad cykliną E i dokładnie analizować wyniki. Na razie są bardzo obiecujące i nie można wykluczyć, że oznaczanie cykliny E stanie się wkrótce jednym z rutynowych badań biochemicznych.

## Piśmiennictwo

- [1] **Gladden AB, Diehl JA:** Cell cycle progression without cyclin E/CDK2: breaking down the walls of dogma. *Cancer Cell* 2003; 4, 3, 160–162.
- [2] **Tomasoni D, Lupi M, Briki FB, Ubezio P:** Timing the changes of cyclin E cell content in G1 in exponentially growing cells. *Exp Cell Res* 2003, 1, 288, 1, 158–167.
- [3] **Welcker M, Singer J, Loeb KR, Grim J, Bloecher A, Gurien-West M, Clurman BE, Roberts JM:** Multisite phosphorylation by Cdk2 and GSK3 controls cyclin E degradation. *Mol Cell* 2003, 12, 2, 381–392.
- [4] **Ye X, Wei Y, Nalepa G, Harper JW:** The cyclin E/Cdk2 substrate p220(NPAT) is required for S-phase entry, histone gene expression, and Cajal body maintenance in human somatic cells. *Mol Cell Biol* 2003, 23, 23, 8586–8600.
- [5] **Erlandsson F, Wahlby C, Ekholm-Reed S, Hellstrom AC, Bengtsson E, Zetterberg A:** Abnormal expression pattern of cyclin E in tumour cells. *Int J Cancer* 2003, 10, 104, 3, 369–375.
- [6] **Schraml P, Bucher C, Bissig H, Nocito A, Haas P, Wilber K, Seelig S, Kononen J, Mihatsch MJ, Dirnhofer S, Sauter G:** Cyclin E overexpression and amplification in human tumours. *J Pathol* 2003, 200, 3, 375–382.
- [7] **Rabinowitz I:** Cyclin E in breast cancer. *N Engl J Med.* 2003, 13, 348, 11, 1063–1064.
- [8] **Lindahl T, Landberg G, Ahlgren J, Nordgren H, Norberg T, Klaar S, Holmberg L, Bergh J:** Overexpression of cyclin E protein is associated with specific mutation types in the p53 gene and poor survival in human breast cancer. *Carcinogenesis* 2003, 21, 74–80.
- [9] **Keyomarsi K, Tucker SL, Bedrosian I:** Cyclin E is a more powerful predictor of breast cancer outcome than proliferation. *Nat Med* 2003, 9, 2, 152.
- [10] **Span PN, Tjan-Heijnen VC, Manders P, Beex LV, Sweep CG:** Cyclin-E is a strong predictor of endocrine therapy failure in human breast cancer. *Oncogene* 2003, 31, 22, 31, 4898–4904.
- [11] **Christov K, Ikui A, Shilkaitis A, Green A, Yao R, You M, Grubbs C, Steele V, Lubet R, Weinstein IB:** Cell proliferation, apoptosis, and expression of cyclin D1 and cyclin E as potential biomarkers in tamoxifen-treated mammary tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2003, 77, 3, 253–264.
- [12] **Sgambato A, Camerini A, Pani G, Cangiano R, Faraglia B, Bianchino G, De Bari B, Galeotti T, Cittadini A:** Increased expression of cyclin E is associated with an increased resistance to doxorubicin in rat fibroblasts. *Br J Cancer* 2003, 16, 88, 12, 1956–1962.
- [13] **Han S, Park K, Bae BN, Kim KH, Kim HJ, Kim YD, Kim HY:** Prognostic implication of cyclin E expression and its relationship with cyclin D1 and p27Kip1 expression on tissue microarrays of node negative breast cancer. *J Surg Oncol* 2003, 83, 4, 241–247.
- [14] **Dhillon NK, Mudryj M:** Cyclin E overexpression enhances cytokine-mediated apoptosis in MCF7 breast cancer cells. *Genes Immun* 2003, 4, 5, 336–342.
- [15] **Akli S, Keyomarsi K:** Cyclin E and its low molecular weight forms in human cancer and as targets for cancer therapy. *Cancer Biol Ther* 2003, 2, 4, Suppl 1, 38–47.
- [16] **Wingate H, Bedrosian I, Akli S, Keyomarsi K:** The low molecular weight (LMW) isoforms of cyclin E deregulate the cell cycle of mammary epithelial cells. *Cell Cycle* 2003, 2, 5, 461–466.
- [17] **Stighall M, Berglund P, Landberg G:** Lower molecular weight forms of cyclin E – super activators of the cell cycle? *Cell Cycle* 2003, 2, 5, 458–460.
- [18] **Dubowy RL, Feinberg RF, Keefe DL, Doncel GF, Williams SC, McSweet JC, Kliman HJ:** Improved endometrial assessment using cyclin E and p27. *Fertil Steril* 2003, 80, 1, 146–156.
- [19] **Kato N, Watanabe J, Jobo T, Nishimura Y, Fujisawa T, Kamata Y, Kuramoto H:** Immunohistochemical expression of cyclin E in endometrial adenocarcinoma (endometrioid type) and its clinicopathological significance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003, 129, 4, 222–226.
- [20] **Kim KK, Shim JC, Kim JR:** Overexpression of p21, cyclin E and decreased expression of p27 in DMBA (7, 12-dimethylbenzanthracene)-induced rat ovarian carcinogenesis. *Pathol Int* 2003, 53, 5, 291–296.
- [21] **Farley J, Smith LM, Darcy KM, Sobel E, O'Connor D, Henderson B, Morrison LE, Birrer MJ:** Cyclin E expression is a significant predictor of survival in advanced, suboptimally debulked ovarian epithelial cancers: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer Res* 2003, 15, 63, 6, 1235–1241.
- [22] **Kukoski R, Blonigen B, Macri E, Renshaw AA, Hoffman M, Loda M, Datta MW:** p27 and cyclin E/D2 associations in testicular germ cell tumors: implications for tumorigenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003, 11, 2, 138–143.
- [23] **Zhou Q, He Q, Liang LJ:** Expression of p27, cyclin E and cyclin A in hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2003, 9, 11, 2450–2454.

- [24] **Liang B, Wang S, Yang X, Ye Y, Yu Y, Cui Z:** Expressions of cyclin E, cyclin dependent kinase 2 and p57(KIP2) in human gastric cancer. *Chin Med J (Engl)* 2003, 116, 1, 20–23.
- [25] **Chetty R, Sitti CW:** Cyclin E immunoexpression in gastric cancer does not correlate with clinicopathological parameters. *Histopathology* 2003, 42, 1, 66–69.
- [26] **Khan AA, Abel PD, Chaudhary KS, Gulzar Z, Stamp GW, Lalani EN:** Inverse correlation between high level expression of cyclin E and proliferation index in transitional cell carcinoma of the bladder. *Mol Pathol* 2003, 56, 6, 353–361.
- [27] **Dai JY, Liang XP, Wen JL, Li CY, Deng CZ, Zhang ZH:** Expression of P27 protein and cyclin E in colon cancer. *Ai Zheng* 2003, 10, 1093–1095.
- [28] **Yue H, Zhang N, Feng XL, Ma SR, Song FL, Yang M, Tang YH:** Relationship between expression of p57(kip2), cyclin E protein, PCNA, and clinicopathological factors in human pancreatic cancer. *Ai Zheng* 2003, 22, 7, 705–709.
- [29] **Ikehara M, Oshita F, Ito H, Ohgane N, Suzuki R, Saito H, Yamada K, Noda K, Mitsuda A, Kameda Y:** Expression of cyclin D1 but not of cyclin E is an indicator of poor prognosis in small adenocarcinomas of the lung. *Oncol Rep* 2003, 10, 1, 137–139.
- [30] **Cheng S, Hsia CY, Leone G, Liou HC:** Cyclin E and Bcl-xL cooperatively induce cell cycle progression in c-Rel-/- B cells. *Oncogene* 2003, 20, 22, 52, 8472–8486.
- [31] **Geisen C, Karsunky H, Yucel R, Moroy T:** Loss of p27(Kip1) cooperates with cyclin E in T-cell lymphomagenesis. *Oncogene* 2003, 20, 22, 11, 1724–1729.
- [32] **Bai M., Tsanou E., Agnantis N.J.:** Expression of cyclin D3 and cyclin E and identification of distinct clusters of proliferation and apoptosis in diffuse large B-cell lymphomas. *Histol Histopathol* 2003, 18, 2, 449–457.
- [33] **Pruneri G, Fracchiolla N, Cortelezzi A, Ponzoni M, Maisonneuve P, Lambertenghi-Delilieri G:** The prevalence and clinical relevance of p27 and cyclin E immunoreactivity in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2003, 88, 1, 109–110.
- [34] **Goto Y, Kawauchi S, Ihara K, Ikemoto K, Ohi R, Kawai S, Sasaki K:** The prognosis in spindle-cell sarcoma depends on the expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) and cyclin E. *Cancer Sci* 2003, 94, 5, 412–417.
- [35] **Tanner FC, Greutert H, Barandier C, Frischknecht K, Luscher TF:** Different cell cycle regulation of vascular smooth muscle in genetic hypertension. *Hypertension*. 2003, 42, 2, 184–188.
- [36] **Fouty BW, Grimison B, Fagan KA, Le Cras TD, Harral JW, Hoedt-Miller M, Sclafani RA, Rodman DM:** p27(Kip1) is important in modulating pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001, 25, 5, 652–658.
- [37] **O'Sullivan M, Scott SD, McCarthy N, Figg N, Shapiro LM, Kirkpatrick P, Bennett MR:** Differential cyclin E expression in human in-stent stenosis smooth muscle cells identifies targets for selective anti-restenosis therapy. *Cardiovasc Res* 2003, 1, 60, 3, 673–683.
- [38] **Kim J, Cheon IS, Won YJ, Na HJ, Kim YM, Choe J:** IL-4 inhibits cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cells by affecting p53, p21(Waf1), cyclin D1, and cyclin E expression. *Mol Cells* 2003, 31, 16, 1, 92–96.

### Adres do korespondencji:

Zygmunt Zdrojewicz  
Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii AM  
Wybrzeże L. Pasteura 4  
50-368 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 5.01.2004 r.

Po recenzji: 30.01.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 30.01.2004 r.

Received: 5.01.2004

Revised: 30.01.2004

Accepted: 30.01.2004