

# Niestabilność mikrosatelitarna i ekspresja genów hMLH1 i hMSH2 u kobiet w wieku pomenopauzalnym z rakiem endometrium

## *Microsatellite instability and hMLH1 and hMSH2 gene expression in postmenopausal women with endometrial cancer*

Hanna Romanowicz-Makowska<sup>1</sup>, Beata Smolarz<sup>1</sup>, Grażyna Dec<sup>2</sup>, Elżbieta Kozłowska<sup>1</sup>, Tomasz Stetkiewicz<sup>3</sup>, Andrzej Kulig<sup>1</sup>, Tomasz Pertyński<sup>3</sup>

*Cel:* Rak endometrium należy do najczęstszych nowotworów złośliwych rozwijających się w trzonie macicy. Rozwój raka endometrium jest ciągle słabo poznany. W artykule przedstawiono przegląd badań, które wskazują, że w genomie komórek raka endometrium dochodzi często do zjawiska niestabilności mikrosatelitarnej pod wpływem uszkodzeń w genach mutatorowych hMLH1 i hMSH2.

*Materiały i metody:* Przebadano pacjentki, u których stwierdzono raka endometrium. Niestabilność mikrosatelitarna była wykrywana z zastosowaniem reakcji PCR-SSCP.

*Wyniki i wnioski:* Niestabilność mikrosatelitarna wydaje się być istotna w rozwoju różnych nowotworów, włączając raka endometrium.

*Słowa kluczowe:* rak endometrium, geny hMLH1 i hMSH2, niestabilność mikrosatelitarna

(Przegląd Menopauzalny 2004; 2: 51–58)

## Wstęp

Rak endometrium należy do najczęstszych nowotworów złośliwych rozwijających się w trzonie macicy. Rak błony śluzowej trzonu macicy występuje w 80% w okresie pomenopauzalnym [1]. Tylko 5% zachoro-

wań na ten nowotwór notuje się przed 40. rokiem życia. Nowotwór ten zajmuje 4. miejsce wśród zachorowań na raka u kobiet [2]. Rocznie odnotowuje się na całym świecie ok. 150 tys. nowych zachorowań na raka endometrium. Według danych Instytutu Onkologii w Warszawie z 1990 r. rak endometrium zajmuje w Polsce

<sup>1</sup>Pracownia Biologii Molekularnej, Zakład Patomorfologii Klinicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi; kierownik: prof. dr hab. med. Andrzej Kulig

<sup>2</sup>Katedra Ginekologii i Położnictwa, Uniwersytet Medyczny w Łodzi; kierownik: prof. dr hab. med. Jacek Suzin

<sup>3</sup>Klinika Ginekologii i Chorób Menopauzy, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi; kierownik: prof. dr hab. med. Tomasz Pertyński



5. miejsce wśród wszystkich nowotworów złośliwych pod względem zachorowalności (11,8%), a jako przyczyna zgonu występuje na 14. miejscu [2].

Zidentyfikowano wiele czynników ryzyka rozwoju raka endometrium. W znacznej liczbie badań epidemiologicznych zapadalność na raka endometrium dotyczy kobiet żyjących w lepszych warunkach ekonomicznych. Stwierdzono, że kobiety rasy białej 2-krotnie częściej zapadają na ten nowotwór niż kobiety rasy czarnej. Ważnym czynnikiem ryzyka jest wspomniany już wyżej wiek [1, 3].

Wielu autorów uważa, że ryzyko zachorowania na raka endometrium obniża się wraz ze wzrostem wieku *menarche*, a wzrasta u kobiet z późno występującą menopauzą. U kobiet, u których menopauza wystąpiła po 52. roku życia stwierdzono 1,7 razy większe ryzyko zachorowania na raka endometrium niż u tych, u których menopauza wystąpiła przed 49. rokiem życia [3].

Większość danych wykazuje znacznie częstsze występowanie nowych zachorowań w grupie nieródek niż u kobiet, które rodziły [1–3].

Zaburzenia miesiączkowania, a szczególnie nieregularne, długie cykle miesiączkowe kojarzone z brakiem jajeczkowania zwiększają ryzyko raka błony śluzowej macicy, natomiast liczne ciążę obniżają je [1, 3].

Opisywany jest również związek zapadalności na ten nowotwór u kobiet z zespołem PCO. U kobiet z rakiem endometrium częściej stwierdza się otyłość, cukrzycę i nadciśnienie tętnicze. Wzrost ryzyka u kobiet z otyłością, a zwłaszcza z otyłością typu androidalnego tłumaczy się, podobnie jak w przypadku raka sutka, obwodową konwersją androstendionu do estronu w komórkach tkanki tłuszczowej. Jednocześnie uważa się, że w wyniku niskich stężeń białek wiążących estrogeny u tych kobiet, większa ilość estrogenów jest niezwiązana [1–3].

Szereg wspomnianych wyżej czynników ryzyka raka endometrium ma związek z wysokimi poziomami endogennych estrogenów. Zarówno estrogeny endogenne, jak i egzogenne stymulują proliferację endometrium, uniemożliwiając czynność sekrecyjną komórek. Długotrwała stymulacja nabłonka gruczołowego powoduje jego rozrost, a w końcowej fazie może doprowadzić do rozwoju raka. Podobny proces może zachodzić, gdy związki estrogenne działają w tkankach o zwiększonej wrażliwości, lub gdy zaburzone zostaje ich unieczynnienie (np. w niewydolności wątroby). Hiperestrogenizm endogeny występuje we wszystkich zaburzeniach hormonalnych, powodujących wspomniane już cykle bezowulacyjne oraz w przypadku nowotworów hormonalnie czynnych (np. ziarniszczyk, otoczkowiak) [1, 3].

Istnieją doniesienia, że chore na raka endometrium częściej niż ogół populacji pochodzą z rodzin obciążonych nowotworem. Przypuszcza się także, że typ metabolizmu estrogenów jest uwarunkowany genetycznie.

Wartość stosunku: estriol/estradiol + estron, ujemnie koreluje z zachorowalnością na raka endometrium [1, 3].

Głównym objawem raka endometrium jest nieprawidłowe krwawienie z jamy macicy, charakterystyczne zwłaszcza, gdy pojawia się w okresie pomenopauzalnym. Innymi objawami mogą być hematometra, pyometra, lub upławy o wyglądzie popłuczyn mięsnych. Jednak szacuje się, że aż 17% przypadków tego nowotworu przebiega bezobjawowo [4].

Podstawą rozpoznania raka endometrium jest rozpoznanie histopatologiczne. Ostatecznym i weryfikującym postępowaniem diagnostycznym jest frakcjonowana abrazja kanału i jamy macicy. Doskonalszą metodą diagnostyki jest celowana biopsja endometrium dokonywana w histeroskopii. Oprócz oceny rozległości i umiejscowienia procesu nowotworowego, pozwala ona na pobranie materiału pod kontrolą wzroku. Metodami pomocniczymi w diagnostyce nowotworu są: ultrasonografia przezpochwowa z wykorzystaniem kolorowego dopplera, tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, ocena markerów nowotworowych, stanu receptorowego, analiza ploidii DNA i onkogenów [1, 2].

W raku endometrium nie dysponujemy, niestety, badaniem skryningowym, takim jak powszechne kontrolne badanie mammograficzne w diagnostyce wczesnych postaci raka sutka, czy cytologiczne badanie tarczy części pochwowej szyjki macicy. Objawy kliniczne tego nowotworu są mało charakterystyczne i pojawiają się stosunkowo późno. Leczenie raka endometrium jest leczeniem radykalnym, okaleczającym kobietę, a stosowana wcześniej bądź następowo radioterapia powoduje szereg objawów ubocznych. Dlatego w pełni uzasadnione są badania dotyczące etiologii raka endometrium, mogące się przyczynić do udoskonalenia jego diagnostyki, szczególnie wczesnej i leczenia.

Kancerogeneza raka endometrium jest procesem nie w pełni wyjaśnionym, ze względu na różnorodność wymienionych już wcześniej czynników, mogących jej sprzyjać.

Powstanie nowotworu jest procesem wieloetapowym. Czynniki rakotwórcze oddziałujące na nasz organizm przeważnie nie wywołują bezpośrednio rozwoju nowotworu, ale indukują powstanie endogennych czynników pośrednich, którymi są często wolne rodniki tlenowe lub utlenowane przez nie związki. Dopiero one mogą uszkadzać DNA i wywoływać mutacje punktowe lub chromosomowe. Niektóre spośród tych mutacji prowadzą do transformacji nowotworowej dotkniętej nimi komórki i w efekcie do powstania nowotworu. Na każdym z tych etapów działają naturalne czynniki antykancerogenne endogenne lub egzogenne (np. witaminy A, C, E, glutation, enzymy wymiatające wolne rodniki i naprawcze struktury DNA).



## Niestabilność mikrosatelitarna

Badania wskazują, że niestabilność mikrosatelitarna (MSI) jest istotna dla rozwoju różnych nowotworów, w tym raka endometrium. MSI w raku endometrium jest wynikiem zmian w genach naprawy DNA jak *hMLH1* i *hMSH2*.

Sekwencje mikrosatelitarne są to krótkie, powtarzające się sekwencje nukleotydów, rozsiane w warunkach prawidłowych w całym genomie. W genomie Eukaryota występują powtórzenia 1-, 2-, 3- i 4-nukleotydowe. Ponad 90% przebadanych dotychczas sekwencji mikrosatelitarnych od mononukleotydów do tetranukleotydów wykazuje polimorfizm. W genomie człowieka najczęściej występuje 5 grup powtórzeń, przy czym A>AC>AAAB> AAB>AG (B oznacza cytozynę, guaninę lub tymidynę). Te 5 grup stanowi 76% wszystkich sekwencji mikrosatelitarnych. Około 12% tych sekwencji stanowią tandemy długości równej lub większej niż 40 nukleotydów. Najczęściej w genomie człowieka występuje powtórzenie dwunukleotydu (CA)<sub>n</sub>/(GT)<sub>n</sub>, potocznie nazywane powtórzeniem CA. W genomie człowieka występuje ok. 50–100 tys. sekwencji powtórzonych CA i pojawiają się one średnio co 30 kbp w euchromatinie. Powtórzenia CA mogą być wyszukane w znanych sekwencjach genomu dzięki przeszukaniu bibliotek krótkich sekwencji sondami poli(dC:dA)/poli(dG:dT).

W genomie komórek rakowych, w tym raka trzonu macicy wykryto zaburzenia w sekwencjach mikrosatelitarnych [5, 6]. Za zmiany te, określane mianem niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych (MSI – *microsatellite instability*) jest odpowiedzialny uogólniony defekt mechanizmów odpowiadających za wierność replikacji DNA lub za poreplikacyjną naprawę DNA [5]. Defekty tego typu pojawiają się w wyniku mutacji genów mutatorowych MMR (*Mismatch Repair*), biorących udział w naprawie nieprawidłowo sparowanych zasad DNA oraz zasad niesparowanych powstających wskutek insercji lub delecji.

## Geny *hMLH1* i *hMSH2*

Sekwencje mikrosatelitarne są szczególnie podatne na błędy w replikacji i wykryte zaburzenia w ich obrębie są markerem zahamowania czynności genów mutatorowych. Do tej pory wykryto mutacje w następujących genach: *hMSH2*, *hMLH1*, *hPMS1* i *hPMS2*. Najczęściej występują one w genie *hMLH1*.

Gen *hMLH1* (ang. *Human mutL E. Coli MLH1 S. Cerevisiae homologue*) został zlokalizowany na chromosomie 3p21. Jest on homologiczny do genu *mutL* bakterii, który koduje białko o długości 756 aminokwasów, wykazujące 41% homologii z produktem genu *yMLH1* drożdży (13 aminokwasów C-końcowych

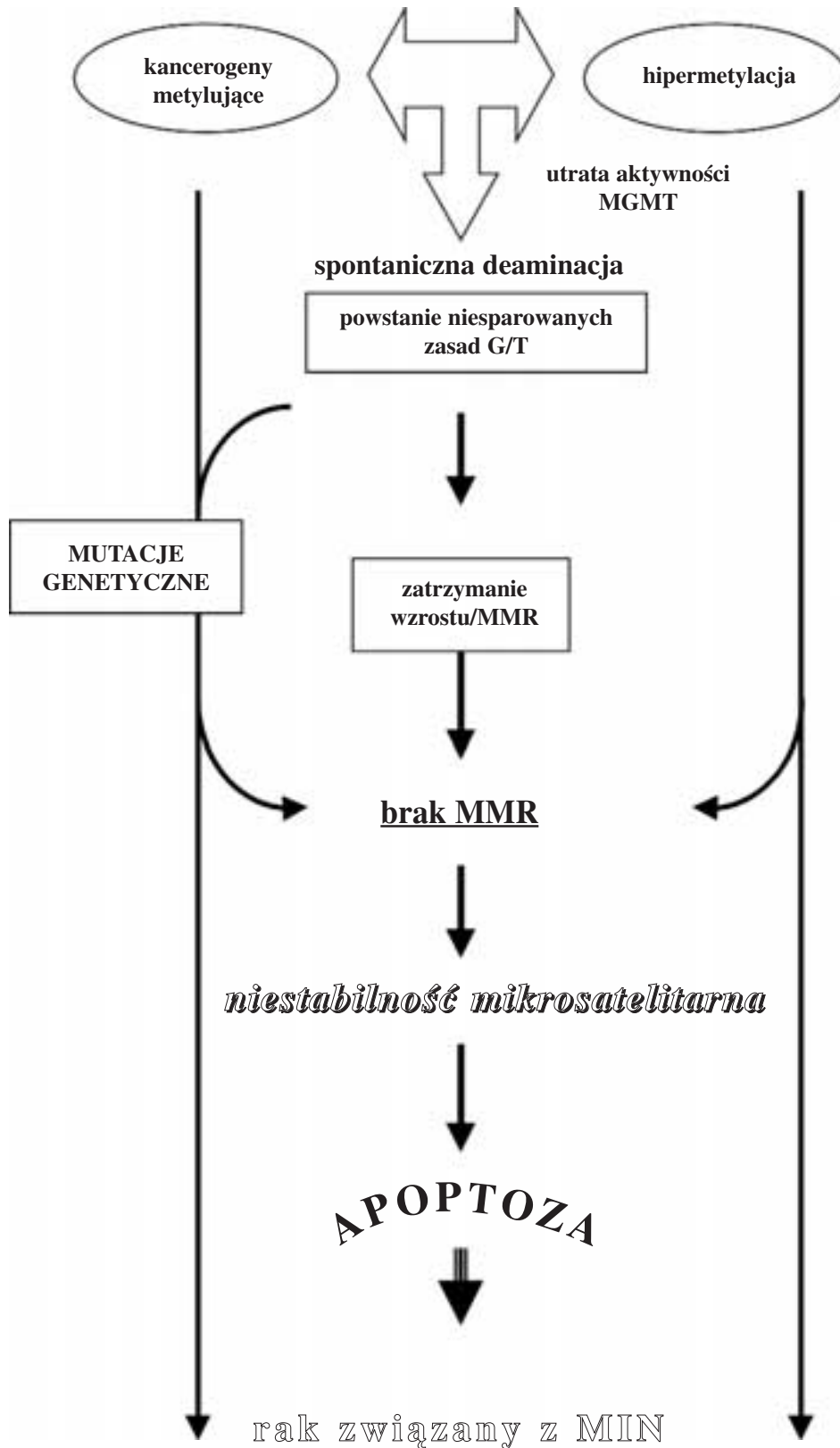
jest identycznych). Gen *hMLH1* składa się z 19 eksonów i obejmuje bez regionu promotora około 58 kbp (długość cDNA 2484 pz). W naprawie poreplikacyjnej błędnie sparowanych zasad białko *MLH1* oddziałuje wspólnie z produktem genu *hMSH2*.

W wyniku mutacji germinalnych dochodzi do uszkodzenia jednego allelu odpowiedniego genu mutatorowego. Jeden prawidłowy allel może spełniać funkcje naprawcze. Osoby, u których doszło do mutacji jednego allelu odpowiedniego genu mutatorowego są heterozygotami i nie chorują na raka. Dopiero kiedy druga mutacja somatyczna doprowadzi do inaktywacji jedynego prawidłowo funkcjonującego allelu, komórka, która wcześniej skumulowała mutacje innych onkogenów i antyonkogenów staje się komórką nowotworową. Raki z mutacjami genów mutatorowych mają podobne cechy biologiczne. Stwierdza się w nich nieliczne aberracje chromosomowe i posiadają zwykle diploidalną ilość DNA. Rzadko towarzyszą im mutacje genów *p53* czy *K-ras*.

Obecność mutacji w rozsianych po całym genomie w liczbie ok. 100 tys. kopii sekwencjach typu mikrosatelit sugeruje uogólniony defekt w mechanizmach odpowiadających za wierność replikacji DNA lub poreplikacyjną naprawę DNA. Dlatego też guzy z takimi zmianami określono mianem RER+ (*Replication Errors*). Mutacje somatyczne w genie *hMSH2* okazały się odpowiedzialne za fenotyp RER+ w raku jelita grubego oraz w raku endometrium w koincydencji z rakiem jelita grubego [7–11]. W raku trzonu macicy wykryto także zaburzenia w genach *hMLH1* i *hMSH6* [7, 11]. W guzach RER+ obserwuje się ekspansję sekwencji mikrosatelitarnej, zlokalizowanej w sekwencji kodującej genu receptora typu II transformującego czynnika wzrostowego (TGFβRII). Mutacja ta powoduje inaktywację receptora. Ponieważ TGFβ jest inhibitorem proliferacji komórek nabłonkowych, utrata receptora TGFβRII czyni komórki nowotworowe niewrażliwymi na hamujące działanie TGFβ. A zatem mutacje w genie receptora TGFβ, a więc w genie o znanej funkcji w regulacji proliferacji, wiążą się z niestabilnością sekwencji mikrosatelitarnych.

Defekty w systemie naprawczym MMR i powstanie niestabilności mikrosatelitarnej MSI są wynikiem wzrostu tolerancji komórkowej na czynniki metylujące jak N-metylo-N-nitrozomocznik (MNU) czy N-metylo-N'-nitro-N-nitrozoguanina (MNNG). Zarówno MNU i MNNG powodują metylację w pozycji O<sup>6</sup> guaniny w cząsteczce DNA. Enzym O<sup>6</sup>-metyloguanina-DNA metylotransferaza (MGMT), która przenosi grupy metylowe na cysteinę odwraca uszkodzenia DNA. Jednakże MGMT jest skutecznie hamowana przez powstającą hipermetylację, a jej ekspresja w tkance nowotworowej staje się niższa w porównaniu do innych tkanek. Niski poziom MGMT powoduje akumulację O<sup>6</sup>-metyloguaniny w tkance rakowej. O<sup>6</sup>-mG promuje





Ryc. 1. Model kancerogenezy związany z niestabilnością mikrosatelitarną (MIN)



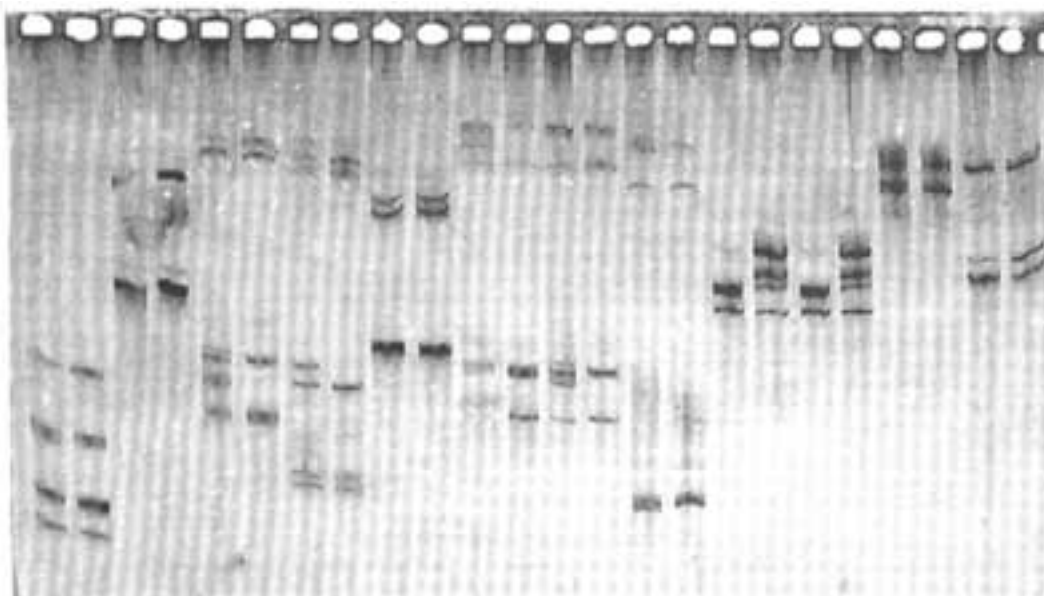
formowanie się hybryd O<sup>6</sup>-mG/T, które są rozpoznawane przez system MMR (ryc. 1.). Jednakże mechanizm ten zwraca się tylko w kierunku nowo powstałych nici, natomiast nie naprawia uszkodzeń na niciach starych. W związku z tym następuje akumulacja błędów prowadzących do powstania mutacji, a następnie utrata lub zahamowanie funkcji genów uczestniczących w systemie MMR. Podsumowując, mutageny metylujące będące przyczyną uszkodzeń DNA wywołują zahamowanie syntezy i naprawę DNA, a następnie w dalszym toku działania niszczą ten mechanizm kontrolny.

### Niestabilność mikrosatelitarna a rak trzonu macicy

Niestabilność mikrosatelitarna (MSI) po raz pierwszy została wykryta u rodzin z zespołem HNPCC (ang. *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*) [12]. Za jej powstawanie odpowiedzialny jest defekt w genach naprawczych. W 90% przypadków HNPCC mutacje germinalne mają miejsce w genach *hMSH2* i *hMLH1* [13]. Badania histologiczne guzów z wykrytą mutacją w genie *hMSH2* lub *hMLH1* wykazały, że w grupie pacjentów z mutacją w *hMSH2* stwierdza się częstsze występowanie nowotworów poza jelitem grubym niż w grupie z *hMLH1* i w ogóle pacjentów z rakami jelita grubego. Kolejne badania wykazały, że MSI jest obecna w ok. 20% sporadycznych raków jelita grubego.

Jednym z częściej występujących nowotworów w koincydencji z rakiem jelita grubego jest rak endometrium. W genomie jego komórek dochodzi często do MSI pod wpływem uszkodzeń w genach mutatorowych.

Poza tym wiadomo, że niestabilność mikrosatelitarna spotyka się w 15–43% sporadycznych przypadków raka trzonu macicy [14, 15]. Dotychczasowe badania wskazują, że niestabilność mikrosatelitarna jest istotna dla rozwoju tego nowotworu [16, 17]. Wiadomo, że głównie mutacje w genie naprawczym *hMLH1* prowadzą do rozwoju MSI w sporadycznym raku endometrium. Mutacje tego genu dotyczą przede wszystkim domen konserwatywnych i mają charakter delecji, insercji oraz tranzycji i transwersji. Mutacje te są rozrzucone wzdłuż całego regionu kodującego genu. W regionie 3' w eksonach od 15 do 19 występuje 38% wszystkich poznanych mutacji genu *hMLH1*. Najczęściej obserwowaną mutacją jest delecja w eksonie 16. Innym gorącym miejscem w genie *hMLH1* są, podobnie jak w *hMSH2* dinukleotydy CpG. Badania zespołów Katabuchi i wsp., Kobayashi i wsp., Lim i wsp. oraz Kowalski i wsp. [18–21] wykazały, że u wszystkich pacjentek z rakiem trzonu macicy, u których stwierdza się defekt genu *hMLH1* występuje niestabilność mikrosatelitarna. Oprócz *hMLH1* ekspresja innych genów naprawczych *hMSH2* i *hMSH6* została określona przez zespół Stefanssona i wsp. [22] u chorych na raka endometrium oraz skorelowana ze stopniem MSI. Podwyższona ekspresja *hMLH1* była częstsza wśród nowotworów z wysokim indeksem MSI, podczas gdy zwiększoną ekspresję *hMSH2* i *hMSH6* obserwowano częściej u chorych z niskim stopniem niestabilności mikrosatelitarnej. MSI była znacząco skorelowana z patologiczną ekspresją *hMLH1* (P < 0,001), a także *hMSH2* (P = 0,04), i *hMSH6* (P = 0,001). Dane wskazują, że geny naprawcze *hMSH2* i *hMSH6* uczestniczą w powstawaniu niestabilności mikrosatelitarnej, ale w mniejszym stopniu niż w przypadku *hMLH1* [22].



Ryc. 2. Analiza polimorfizmu konformacji jednoniciowych fragmentów DNA (SSCP) przy pomocy elektroforezy



## Wykrywanie niestabilności mikrosatelitarnych

Niestabilność mikrosatelitarna genów *hMLH1* i *hMSH2* jest wykrywana z zastosowaniem reakcji PCR-SSCP (ang. *single strand conformation polymorphism – polimorfizm konformacyjny pojedynczych nici*). Analiza polimorfizmu konformacji jednoniciowych fragmentów DNA (SSCP) jest jedną z najczęściej stosowanych technik wykrywania mutacji punktowych. Jest to technika elektroforetyczna, polegająca na rozdziale w żelu poliakryloamidowym jednoniciowych fragmentów DNA (zdenaturowane produkty PCR), które podczas elektroforezy przyjmują konformację zależną od ich sekwencji nukleotydowej. Szybkość migracji jednoniciowych fragmentów DNA zależy od ich wielkości oraz konformacji. Fragmenty o takiej samej wiel-

kości i sekwencji nukleotydów przyjmują takie same konformacje, a więc migrują z tą samą szybkością. Teoretycznie wystarczy zmiana jednego nukleotydu, aby fragment przyjął inną konformację, a tym samym migrował z inną szybkością (ryc. 2.).

Wartość prognostyczna poszczególnych czynników jest w raku błony śluzowej trzonu macicy bardzo zróżnicowana i możliwa do zdefiniowania w różnych etapach leczenia. Ustalenie rokowania na podstawie tylko jednego, choćby najbardziej istotnego czynnika daje rokowanie o mniejszej wartości niż kompleksowa analiza wszystkich możliwych do uzyskania w danym momencie informacji, dotyczących czynników rokowniczych. Umożliwia to podjęcie właściwych decyzji dotyczących leczenia, zarówno przed operacją, jak i po operacji.

### Summary

**Purpose:** Endometrial cancer is one of the most common malignant neoplasms which appear in the uterine body. Endometrial tumorigenesis is still poorly understood. Microsatellite instability (MSI) and *hMLH1* and *hMSH2* gene expression have been shown in patients from groups with a high risk of endometrial cancer. The paper presents a review of the results of studies showing that alterations in the mismatch repair gene *hMLH1* and *hMSH2* seem to be important for the development of MSI in these tumors.

**Materials and methods:** The patients diagnosed with endometrial carcinoma have been studied. The microsatellite instability was detected using PCR-SSCP reaction.

**Results and conclusion:** Microsatellite instability seems to be important in the development of various human cancers including endometrial cancer.

**Key words:** endometrial cancer, *hMLH1* and *hMSH2* genes, microsatellite instability

## Piśmiennictwo

1. Rose PG. *Endometrial carcinoma*. N Engl J Med 1996; 335: 610-9.
2. Spaczyński M. *Onkologia ginekologiczna*. Urban & Partner, Wrocław 1997.
3. Markowska J. *Epidemiologia raka endometrium*. Klin Perinat Gin 1993; 6: 54-64.
4. Hofmeister F. *Endometrial biopsy*. Another look. Am J Obstet Gynecol 1974; 6: 93.
5. Lothe RA. *Microsatellite instability in human solid tumours*. Mol Med Today 1997; 3: 61-68.
6. Muresu R, Sini MC, Cossu A. *Chromosomal abnormalities and microsatellite instability in sporadic endometrial cancer*. Eur J Cancer 2002; 38: 1802-9.
7. Berends M, Hollema H, Wu Y. *MLH1 and MSH2 protein expression as a pre-screening marker in hereditary and non-hereditary endometrial hyperplasia and cancer*. Int J Cancer 2001; 92: 398-403.
8. Chadwick R, Pyatt R, Niemann T. *Hereditary and somatic DNA mismatch repair gene mutations in sporadic endometrial carcinoma*. J Med Genet 2001; 38: 461-6.
9. Furlan D, Casati B, Cerutti R. *Genetic progression in sporadic endometrial and gastrointestinal cancers with high microsatellite instability*. J Pathol 2002; 197: 603-9.
10. Hamid A, Mandai M, Konishi I. *Cyclical change of hMSH2 protein expression in normal endometrium during the menstrual cycle and its overexpression in endometrial hyperplasia and sporadic endometrial carcinoma*. Cancer 2002; 94: 997-1005.
11. Stefansson I, Akslén LA, MacDonald N. *Loss of hMSH2 and hMSH6 expression is frequent in sporadic endometrial carcinomas with microsatellite instability: a population-based study*. Clin Cancer Res 2002; 8: 138-43.
12. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. *Microsatellite instability in cancer of the proximal colon*. Science 1993; 260: 816-9.
13. Peltomäki P, Vasen HF. *Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study*. The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. Gastroenterology 1997; 113: 1146-58.



14. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman M. *Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma*. Am J Pathol 1996; 148: 1671-8.
15. Gurin CC, Federici MG, Kang L. *Causes and consequences of microsatellite instability in endometrial carcinoma*. Cancer Res 1999; 59: 462-6.
16. Muresu R, Sini MC, Cossu A. *Chromosomal abnormalities and microsatellite instability in sporadic endometrial cancer*. Eur J Cancer 2002; 38: 1802-9.
17. Orbo A, Eklo K, Kopp M. *A semiautomated test for microsatellite instability and its significance for the prognosis of sporadic endometrial cancer in northern Norway*. Int J Gynecol Pathol 2002; 21: 27-33.
18. Katabuchi H, van Rees B, Lambers AR. *Mutations in DNA mismatch repair genes are not responsible for microsatellite instability in most sporadic endometrial carcinomas*. Cancer Res 1995; 55: 5556-60.
19. Kobayashi K, Matsushima M, Koi S. *Mutational analysis of mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 in sporadic endometrial carcinomas with microsatellite instability*. Jpn J Cancer Res 1996; 87: 141-5.
20. Kowalski LD, Mutch DG, Herzog TI. *Mutational analysis of MLH1 and MSH2 in 25 prospectively-acquired RER+ endometrial cancers*. Genes Chrom Cancer 1997; 18: 219-27.
21. Lim PC, Tester D, Cliby W. *Absence of mutation in DNA mismatch repair genes in sporadic endometrial tumours with microsatellite instability*. Clin Cancer Res 1996; 11: 1907-11.
22. Stefansson I, Akslen LA, MacDonald N. *Loss of hMSH2 and hMSH6 expression is frequent in sporadic endometrial carcinomas with microsatellite instability: a population-based study*. Clin Cancer Res 2002; 8: 138-43.

## Adres do korespondencji

dr n. med. **Hanna Romanowicz-Makowska**  
Pracownia Biologii Molekularnej  
Zakład Patomorfologii Klinicznej ICZMP  
ul. Rzgowska 281/289  
93-338 Łódź  
tel. + 48 42 271 12 80  
faks + 48 42 271 14 21

