

**Aim of the study:** The aim of our studies was to assess the influence of paclitaxel on the expression of selected activating transcriptional factors in ductal breast cancer primary cells using the microarray technique.

**Material and methods:** The cells were treated with 60 ng/ml and 300 ng/ml doses of paclitaxel. Administered dose concentrations corresponded to those applied in breast cancer mono- and polytherapy and also covered the number of chemotherapy cycles. The control breast cancer cells *in vitro* were not treated with a cytostatic drug.

**Results:** Sixteen among 21 analysed genes indicated statistically significant increased expression in the cells incubated with 60 ng/ml of paclitaxel: 15 genes in the 1.8-3.3 fold range ( $p < 0.05$ ), but ETS1 gene expression level increased 4.7-fold in comparison to the control cells. The higher dose of 300 ng/ml of paclitaxel caused a cytotoxic effect in the cells and a statistically non-significant decrease in expression of all studied genes.

**Conclusions:** In summary it may be stated that a 60 ng/ml dose of paclitaxel caused increased expression of analysed genes coding transcriptional activating factors that enhance the studied taxane's mechanism of action. Thus we can suppose that these changes in gene expression values may constitute prognostic and predictive factors in ductal breast cancer therapy. The obtained results encourage us to carry out further studies on the functions and relations between genes and their products.

**Key words:** breast cancer, transcriptional activators, paclitaxel, microarrays.

## Analysis of expression of selected genes coding transcriptional activators in ductal breast cancer cells *in vitro* treated with paclitaxel

*Analiza ekspresji wybranych genów kodujących aktywatorowe czynniki transkrypcyjne w komórkach przewodowego raka piersi in vitro poddanych działaniu paklitakselu*

Marta Ziąja-Sołtys, Jolanta Rzymowska

Katedra i Zakład Biologii z Genetyką, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

### Wstęp

Nowotwór piersi jest chorobą, która wykazuje szeroki zakres cech histologicznych, klinicznych i genetycznych [1]. Rak przewodowy *in situ* (łac. *carcinoma in situ* – DCIS), heterogenny, nieinwazyjny stanowi obecnie 25–30% nowo diagnozowanych nowotworów piersi. Charakteryzują go nowotworowe komórki nabłonkowe gromadzące się w przewodach gruczołu piersiowego, bez naciekania przez błonę podstawną do otaczającej tkanki [2]. Polska jest krajem o średniej zachorowalności na raka piersi, a najbardziej dynamiczny wzrost zapadalności na tę chorobę obserwuje się u kobiet w wieku 35–39 lat [3]. Zgodnie z danymi Polskiego Krajowego Rejestru Nowotworów Złośliwych w 2006 r. zarejestrowano ponad 13 000 nowych zachorowań wśród kobiet oraz ponad 5000 zgonów spowodowanych przez ten nowotwór [4].

Aktywacja genów jest złożonym, wieloetapowym procesem, przygotowującym maszynę transkrypcyjną. Aktywatory to czynniki transkrypcyjne oddziałujące bezpośrednio z DNA i przyłączające się do sekwencji dalszego promotora i sekwencji enhancerów. Grupa aktywatorów i koaktywatorów obejmuje zarówno czynniki ogólnego działania aktywne w transkrypcji wielu genów, jak i czynniki specyficzne uczestniczące w wybiórczej aktywacji genów zależnej od rodzaju tkanki czy etapu rozwoju organizmu [5].

Jednym z powszechnie stosowanych leków w terapii wielu nowotworów, w tym raka piersi, jest antymitotyczny paklitaksel [6]. Mechanizm działania taksolu polega na łączeniu się z podjednostką  $\beta$ -tubuliny, głównego białka wrzeciona mitotycznego, i tworzeniu stabilnych i niefunkcjonalnych pęczków mikrotubul, co powoduje zablokowanie cyklu komórkowego na granicy faz G2/M i uniemożliwia dalszą proliferację [7]. Stwierdzono, że w odróżnieniu od innych leków przeciwnowotworowych wykazujących działanie genotoksyczne na DNA komórek neoplastycznych taksol nie wywołuje uszkodzenia materiału genetycznego [8]. Wykazano, że chemioterapia z udziałem taksanów pozytywnie wpływa na wyniki leczenia wczesnego raka piersi [9]. Obecnie coraz powszechniej stosowana technika mikromacierzy otwiera nowe perspektywy w medycynie oraz farmacji. Charakterystyka profilu ekspresji genów w stanach patologicznych umożliwia szybsze i skuteczniejsze diagnozowanie chorób, prognozowanie ich przebiegu oraz odpowiedni wybór leków w zależności od indywidualnych potrzeb pacjenta [10].

Celem badań była ocena wpływu paklitakselu na ekspresję genów kodujących wybrane aktywatorowe czynniki transkrypcyjne w komórkach przewodowego raka piersi *in vitro*.

**Cel pracy:** Celem badań była ocena wpływu paklitakselu na ekspresję genów kodujących wybrane aktywatorowe czynniki transkrypcyjne w komórkach *in vitro* przewodowego raka piersi za pomocą techniki mikromacierzy.

**Materiał i metody:** Do pierwotnych hodowli komórek przewodowego raka piersi podawano paklitaksel w stężeniach 60 ng/ml i 300 ng/ml. Obliczone stężenia odpowiadały dawkom stosowanym w mono- i politerapii raka piersi, a także uwzględniały liczbę przeprowadzanych cykli chemioterapii paklitaksellem. Równocześnie prowadzono hodowle kontrolne komórek nabłonkowych przewodowego raka piersi, które inkubowano bez cytostatyku.

**Wyniki:** Szesnaście z 21 badanych genów wykazało istotny statystycznie wzrost ekspresji w hodowlach komórek przewodowego raka piersi poddanych działaniu dawki 60 ng/ml paklitakselu: 15 genów w zakresie 1,8–3,3 ( $p < 0,05$ ), natomiast poziom ekspresji genu ETS1 wzrósł 4,7-krotnie ( $p = 0,0227$ ) w porównaniu z komórkami kontrolnymi. Druga stosowana dawka paklitakselu 300 ng/ml spowodowała w hodowlach efekt cytotoksyczny oraz nieistotny statystycznie spadek ekspresji wszystkich analizowanych genów w odniesieniu do komórek kontrolnych.

**Wnioski:** Podsumowując, można stwierdzić, że wprowadzenie dawki 60 ng/ml cytostatyku do hodowli komórek przewodowego raka piersi spowodowało wzrost ekspresji genów dla czynników transkrypcyjnych, wzmacniających mechanizm działania badanego taksanu. Dlatego też można przypuszczać, że wartość ekspresji badanych genów dla aktywatorów transkrypcji w komórkach przewodowego raka piersi może stanowić czynnik prognostyczny i predykcyjny. Uzyskane wyniki skłaniają do dalszego badania funkcji analizowanych genów i ich produktów oraz istniejących między nimi zależności.

**Słowa kluczowe:** rak piersi, aktywatory transkrypcji, paklitaksel, mikromacierze.

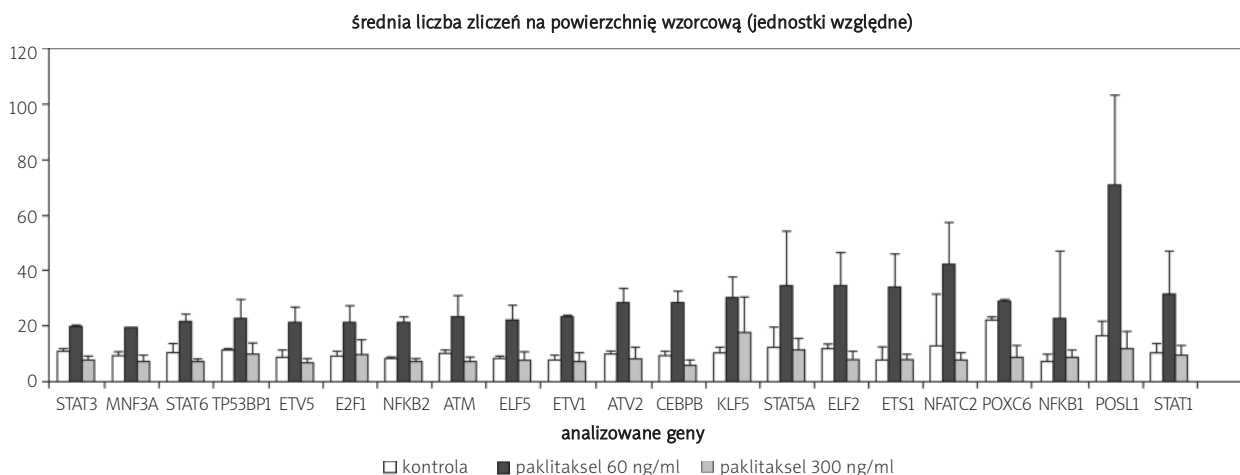
## Materiał i metody

Badane komórki otrzymano z tkanek gruczołów piersiowych pobranych od 36 pacjentek, hospitalizowanych w Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej, z wykrytym przewodowym rakiem piersi podczas zabiegu mastektomii. Pacjentki nie były poddane żadnej chemioterapii. Materiał weryfikowano histopatologicznie: obejmował on przypadki raka piersi w I i II stadium rozwoju wg klasyfikacji Blooma (rak przedinwazyjny i zmiany do wielkości ok. 2 cm, bez przerzutów do węzłów chłonnych).

Pobrano materiał poddawano homogenizacji mechanicznej (homogenizator kulkowy), a następnie enzymatycznej (0,01-procentowa trypsyna; WSiSz Lublin) i zakładano pierwotne hodowle komórek przewodowego raka piersi w jednorazowych naczyniach plastikowych o powierzchni 25 cm<sup>2</sup> w podłożu RPMI (SIGMA) z dodatkiem płodowej surowicy bydlęcej (FBS, SIGMA) oraz penicyliny i streptomycyny (370C, w atmosferze zawierającej 5% dwutlenku węgla, przy 90-procentowej wilgotności powietrza). Do hodowli, które osiągnęły gęstość 10 000 komórek/ml, dodawano paklitaksel (Bristol – Myers Squibb; Anglia) w stężeniach 60 ng/ml i 300 ng/ml, a następnie inkubowano je przez 72 godz. Dozowane stężenia cytostatyku przeliczano na podstawie dawki terapeutycznej, która wynosi 175 mg/m<sup>2</sup> powierzchni ciała. Hodowle prowadzono w naczyniach Falcona o powierzchni 25 cm<sup>2</sup>, stąd przelicznik dawki terapeutycznej stosowanej w badaniach autorek niniejszej pracy wynosił 60 ng. Wartość pięciokrotnie wyższej, zastosowanej w badaniach dawki wynika z przeliczenia na 6 cykli chemioterapii. Zakładane hodowle po 72 godz. tworzyły monolayer, dlatego też stężenie cytostatyku podano w jednostkach wagowo-objętościowych, tj. 60 ng i 300 ng na mililitr podłoża hodowlanego. Równocześnie prowadzono hodowle kontrolne komórek nabłonkowych przewodowego raka piersi, które inkubowano bez cytostatyku, ale z dodatkiem 5-procentowego dimetylosulfotlenku (DMSO).

Z komórek przewodowego raka piersi kontrolnych i z dodatkiem paklitakselu wyizolowano całkowite RNA (T RNA) przy użyciu zestawu TRI (SIGMA) zgodnie z procedurą producenta. Do czasu wykonania kolejnych etapów analizy T RNA przechowywano w temperaturze –70°C.

Komplementarny DNA (cDNA) otrzymano w reakcji odwrotnej transkrypcji przy użyciu standardowego zestawu (SIGMA), a następnie poddano procesowi hybrydyzacji (zestaw Panorama Human Cancer cDNA Labeling and Hybridization Kit; CDLBL-HCN, SIGMA-GENOSIS). Do próbek zawierających mieszaninę reakcyjną do odwrotnej transkrypcji dodano RNA pochodzący z genu wzorcowego *Escherichia coli* (z zestawu hybrydyzacyjnego Panorama Armored RNA E. coli-B 1444 RNA), dzięki czemu możliwe było późniejsze skalibrowanie aktywności innych genów zawartych na podłożu macierzy w odniesieniu do ekspresji tego genu. Otrzymano cDNA z wyznakowanymi radioaktywnym <sup>32</sup>P resztami trójfosforanu dezoksyrybocytosyny. Proces oczyszczania przeprowadzono w kolumnie Sephadex G-25. Oczyszczony cDNA poddano procesowi hybrydyzacji na macierzy firmy (SIGMA-GENOSIS), zawierającej sekwencje genów kodujących różne grupy białek związanych z regulacją procesów nowotworowych oraz sekwencje genu wzorcowego. Wstępna faza obejmowała przygotowanie nylonowego podłoża matrycy. W tym celu do pojemnika z matrycą dodano roztwór hybrydyzacyjny, w skład którego wchodził testowy DNA łososia (SIGMA-GENOSIS kit CDBL-HCN). Hybrydyzację prowadzono w piecu hybrydyzacyjnym Bachover GmbH-D7410. Następnie matrycę umieszczono w kasecie wychwytyjącej promieniowanie  $\gamma$  (detektor promieniowania Screen Imaging K, Bio-Rad). Czas pomiaru aktywności wynosił ok. 24 godziny. Promieniowanie  $\gamma$  pochodzące z punktów odpowiadających genom na matrycy powodowało przemiany chemiczne promienioczułego nośnika zawartego w kasecie (podłożu z soli fluorobromowej z naniesionym na nie Europem). Nośnik ten po napromienieniu skanowano na skanerze Molecular Image FX (Bio-Rad) o rozdzielczości 50 mikronów, otrzymując w ten sposób obraz ekspresji genów na matrycy. Otrzymane zdjęcie przenoszono w postaci pliku na dysk komputera. Ekspresję z poszczegól-



**Fig. 1.** Arithmetical means and standard deviations of expression values for all (21) studied genes coding activating transcriptional factors in ductal breast cancer control cells *in vitro* and treated with 60 ng/ml and 300 ng/ml doses of paclitaxel

**Ryc. 1.** Średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe wartości ekspresji wszystkich (21) badanych genów kodujących czynniki transkrypcyjne pełniące funkcję aktywatorów w komórkach kontrolnych *in vitro* przewodowego raka piersi oraz poddanych działaniu dawek 60 ng/ml i 300 ng/ml paklitakselu

nych punktów matrycy normalizowano z poziomem ekspresji genu wzorcowego *E. coli*, zlokalizowanego w punktach kontrolnych. Do analizy ekspresji genów matrycy wykorzystano program komputerowy Quantity One – wersja 4.2.1. Za miarę poziomu ekspresji w poszczególnych polach przyjęto średnią liczbę zliczeń na piksel przypadającą na określoną jednostkę powierzchni (tzw. powierzchnię wzorcową odpowiadającą położeniu pojedynczego genu na matrycy). Analiza wyników polegała na porównaniu ekspresji badanych genów w hodowlach komórek raka piersi poddanych działaniu paklitakselu z ekspresją tych genów w hodowlach kontrolnych. Badania przeprowadzono w trzech niezależnych powtórzeniach z użyciem jednego zestawu odczynników. Przeanalizowano ekspresję 21 genów, kodujących aktywatory procesu transkrypcji. Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Microsoft Office Excel 2003.

1. Policzone wartości średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych dla ekspresji poszczególnych genów.
2. W celu oceny istotności różnic pomiędzy ekspresją badanych genów posłużono się testem t-Studenta. Za istotne statystycznie były przyjmowane wartości dla istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki

W pracy analizowano ekspresję 21 genów dla aktywatorowych czynników transkrypcyjnych, z których 16 wykazało istotny statystycznie wzrost ekspresji w hodowlach komórek przewodowego raka piersi poddanych działaniu dawki 60 ng/ml paklitakselu. Druga stosowana dawka paklitakselu 300 ng/ml spowodowała efekt cytotoksyczny w hodowlach *in vitro* komórek przewodowego raka piersi oraz nieistotny statystycznie spadek ekspresji wszystkich analizowanych genów w odniesieniu do komórek kontrolnych nieinkubowanych z lekiem (ryc. 1).

Piętnaście genów wykazało 1,8–3,3-krotny wzrost wartości ekspresji w hodowlach komórek z dawką 60 ng/ml leku w porównaniu z ich ekspresją w komórkach kontrolnych.

Najwyższy wzrost poziomu ekspresji – 4,7-krotny – zanotowano natomiast dla genu *ETS1* (ryc. 2).

## Dyskusja

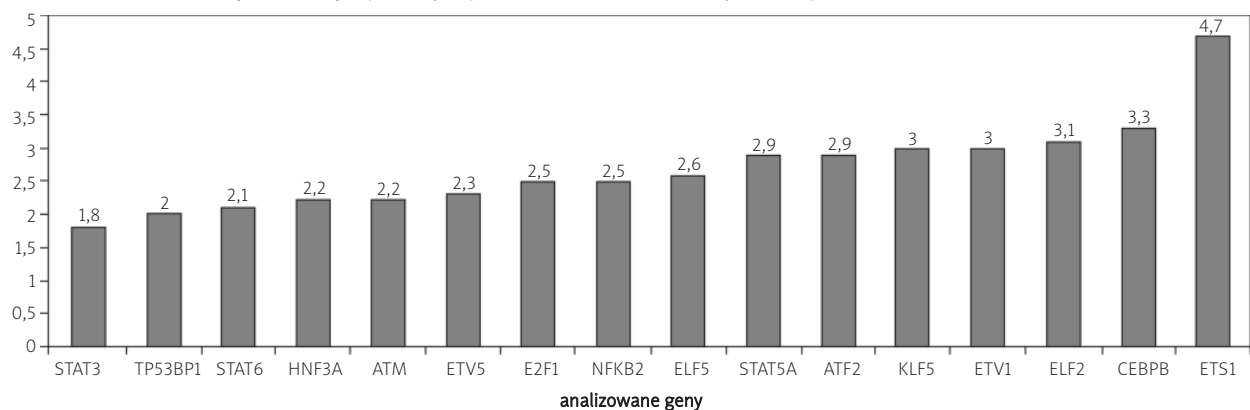
Regulacja ekspresji genów jest najbardziej fundamentalnym procesem w biologii i wywiera ogromny wpływ na komórki całego organizmu. Błędy pojawiające się w aktywacji genowej przez zbyt wysoką albo niską ekspresję określonego genu mogą często prowadzić do wystąpienia choroby. Najlepiej znanym przykładem jest ekspresja onkogenów, gdzie skutkiem transkrypcji pojedynczego genu może być transformacja nowotworowa [11].

W przeprowadzonych badaniach najwyższy wzrost ekspresji stwierdzono dla genu kodującego czynnik *ETS1* należący do grupy czynników powszechnie aktywnych i funkcjonujących jako aktywatory promotorów w ludzkich komórkach raka piersi [12]. *ETS1* i *ETV5* ulegają ekspresji w większości zaawansowanych guzów pochodzenia nabłonkowego i uważa się, że odgrywają ważną rolę w rozwoju i progresji nowotworu, a ponadto są niezależnymi czynnikami prognostycznymi w raku piersi [13]. W nowotworach piersi czynnik *ETS1* pozytywnie reguluje indukowaną metaloproteinazą macierzy 1 (MMP-1) ekspresję genu *HER2* [14]. Innym czynnikiem grupy ETS jest białko kodowane przez badany gen *ETV1*, odgrywające znaczącą rolę w nowotworzeniu, w którym pośredniczy gen *HER-2/Neu* [15]. Podobnie, gen *ATF2* koduje potencjalny czynnik transkrypcyjny odpowiedzialny za indukowaną TGF- $\beta$  pozytywną regulację metaloproteinazy macierzy 2 (MMP-2), prowadzącą do progresji nowotworowej ludzkich komórek nabłonkowych gruczołu piersiowego [16]. Liczne badania wykazały, że ekspresja *FOXA1* (*HNF-3 $\alpha$* ) jest silnie skorelowana z genem *ESR1* dla estrogenu w komórkach raka piersi z podtypem luminalnym A, a także znaczącym czynnikiem rokowniczym dla pacjentek z nowotworami estrogenopozytywnymi [17, 18].

Czynniki transkrypcyjne rodziny STAT stają się aktywne w odpowiedzi na cytokiny i czynniki wzrostu [19]. Ekspresja genu *STAT5* w nowotworach piersi, szczególnie we wczes-

**Table 1.** Analyzed genes of activatory transcription factors**Tabela 1.** Analizowane geny, kodujące aktywatorowe czynniki transkrypcyjne

Gen	
ELF5	gen kodujący czynnik transkrypcyjny ELF5 (czynnik transkrypcyjny mający domenę ETS)
ATF2	gen kodujący aktywator transkrypcyjny 2
ETV1	gen kodujący czynnik transkrypcyjny ETV1 formę genu 1
STAT5A	gen kodujący przekaźnik sygnalizacyjny i aktywator transkrypcyjny 5A
ETS1	onkogen v-ets erytroblastozy, homolog 1 wiusa E26 u ptaków
FOXO3	gen kodujący czynnik transkrypcyjny mający domenę
KLF5	gen kodujący czynnik transkrypcyjny podobny do czynnika 5 Kruppel (jelito cienkie)
NFKB1	gen kodujący jądrowy czynnik transkrypcyjny 1 $\kappa$ dla wzmacniacza lekkiego łańcucha polipeptydowego w leukocytach B
ETV5	gen kodujący czynnik transkrypcyjny ETV5 homologiczny do genu 5
NFATC2	gen kodujący jądrowy czynnik aktywujący limfocyty T oraz cytoplazmatyczny, zależny od kalcineuryny 2
NFKB2	gen kodujący jądrowy czynnik transkrypcyjny 2 $\kappa$ dla wzmacniacza lekkiego łańcucha polipeptydowego w leukocytach B
ATM	gen kodujący czynnik transkrypcyjny ATM dla zmutowanego genu ataxia telangiectasia (zawierający komplementarne grupy A, C, D)
HNF3A	gen kodujący czynnik transkrypcyjny mający domenę forkhead box A1
TP53BP1	gen kodujący białko wiążące białko P53
E2F1	gen kodujący czynnik transkrypcyjny 1 rodziny E2F
FOSL1	gen kodujący czynnik transkrypcyjny podobny do antygeny 1 należącego do grupy białek FOS1
CEBPB	gen kodujący białko wiążące wzmacniacz dla sekwencji CCAAT
STAT1	gen kodujący przekaźnik sygnalizacyjny i aktywator transkrypcyjny 1, 91 kDa
STAT6	gen kodujący przekaźnik sygnalizacyjny i aktywator transkrypcyjny 6, indukowany interleukiną 4
ELF2	gen kodujący czynnik transkrypcyjny ELF2 podobny do E74 (czynnik transkrypcyjny rodziny ETS)
STAT3	gen kodujący przekaźnik sygnalizacyjny i aktywator transkrypcyjny 3

**Wzrost poziomu ekspresji badanych genów w komórkach inkubowanych z 60 ng/ml PTX w odniesieniu do kontroli****Fig. 2.** Statistically significant values of 16 genes expression increment level in ductal breast cancer cells in vitro treated with 60 ng/ml dose of paclitaxel in comparison to control cells

**Ryc. 2.** Istotnie statystycznie wartości wzrostu poziomu ekspresji 16 genów w komórkach przewodowego raka piersi in vitro poddanych działaniu dawki 60 ng/ml paklitakselu w odniesieniu do komórek kontrolnych

nych etapach raka, zanim powstaną przerzuty do węzłów chłonnych, pozwala na przewidywanie zmniejszonego ryzyka nawrotu choroby i śmierci [20]. Gen *STAT3* koduje onkogeną proteinę stale aktywną w 30–60% pierwotnych raków piersi. Zidentyfikowano geny negatywnie regulowane przez *STAT3*, np. *c-Myc*, oraz geny dla cykliny-D1, *Bcl-xL*,

*Mcl-1* i *Bcl-2*. Wiadomo również, że białko *STAT6* uczestniczy w zahamowaniu wzrostu i indukcji apoptozy przez interleukinę 4 w komórkach raka piersi [21].

Aktywatorowe czynniki transkrypcyjne kodowane przez geny *E2F1*, *ATM* i *TP53BP1* odgrywają ważną rolę w zachowaniu stabilności genomu, a także ochronie komórki przed



transformacją nowotworową poprzez regulację ekspresji genu *P53*. Wiadomo także, że zwiększenie progu regulacji *P53* i *P21* jest głównym sugerowanym mechanizmem indukowania apoptozy przez taksany.

Wzrost ekspresji genu *E2F1* indukuje komórki wyciszone do wejścia w fazę *S*, co koreluje z aktywacją transkrypcji np. genów dla cykliny *E* i *D1* [22], a białko *E2F1* w nadekspresji indukuje zarówno zależną od *P53*, jak i niezależną apoptozę i reguluje promotor *BRCA1* i *RB* u ludzi [23]. Wyniki wielu badań *in vivo* i *in vitro* sugerują, że niska ekspresja *ATM* w komórkach raka piersi koreluje z występowaniem mutacji DNA, ze zwiększoną angiogenezą, a zatem progresywnym fenotypem nowotworu [24]. Konserwatywne białko jądrowe wiążące *P53* – *TP53BP1* – jest głównym przełącznikiem sygnałów o uszkodzeniu DNA do *P53* i innych białek supresorowych nowotworów [25].

Nabłonkowo specyficzne czynniki *ELF-3* i *ELF-5* funkcjonują w komórkach zróżnicowanych. Wykazano, że białko *ELF-3* zlokalizowane w cytoplazmie pośredniczy w onkogenezie komórek gruczołu piersiowego [26].

Komórki nowotworowe piersi są zwykle otoczone przez desmoplazję, która jest nagromadzeniem fibroblastów, stanowiącym strukturalne i biochemiczne wsparcie dla guza. Cytokiny wydzielane przez komórki nabłonkowe raka piersi działają na stromę fibroblastów i powodują obniżenie aktywności *C/EBP $\alpha$*  [27].

Gen *KLF5* o podwyższonej ekspresji w obecności niższej badanej dawki paklitakselu koduje białko należące do czynników transkrypcyjnych rodziny Krüppel-like, zaangażowanych w wielu etapach nowotworzenia, włączając kontrolę wzrostu komórek, apoptozę i angiogenezę [28]. Wiadomo, że geny indukowane przez czynnik *NF- $\kappa$ B*, stale aktywny w nowotworach piersi, chronią komórki rakowe przed działaniem paklitakselu [29].

Podsumowując, można stwierdzić, że wprowadzenie dawki 60 ng/ml cytostatyku do hodowli komórek przewodowego raka piersi spowodowało wzrost ekspresji genów dla czynników transkrypcyjnych wzmacniających mechanizm działania badanego taksanu. Dlatego też można przypuszczać, że wartość ekspresji badanych genów dla aktywatorów transkrypcji w komórkach przewodowego raka piersi może stanowić czynnik prognostyczny i predykcyjny.

## Piśmiennictwo

- Korkola JE, Blaveri E, DeVries S, et al. Identification of a robust gene signature that predicts breast cancer outcome in independent data sets. *BMC Cancer* 2007; 7: 61 (doi: 10.1186/1471-2407-7-61).
- Hannemann J, Velds A, Halfwerk JBG, et al. Classification of ductal carcinoma in situ by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R61 (doi:10.1186/bcr1613).
- Humańska M, Nowicki A. Postępowanie dodatkowe i alternatywne u kobiet chorych na raka piersi. *Współcz Onkol* 2005; 9: 263-8. <http://85.128.14.124/krn/>, dostęp z listopada 2008 r.
- Genetyka molekularna. Węgleński P (ed.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- Bodnar L, Wcisto G, Miedzińska-Maciejewska M, Szczylik C. Docektaksel i paklitaksel: porównanie ich budowy, farmakologii oraz mechanizmów oporności. *Współcz Onkol* 2004; 8: 435-46.
- Dozier JH, Hiser, Davis JA, et al. Beta class II tubulin predominates in normal and tumor breast tissues. *Breast Cancer Res* 2003; 5: R157-R169.
- Górecka KM, Gawęcki W, Szyfter K. Brak aktywności genotoksycznej preparatu paklitaksel w limfocytach eksponowanych *in vitro* na terapeutyczne dawki leku. *Współcz Onkol* 2003; 7: 260-3.
- Bednaruk-Młyński E, Czufryn A. Postępy w leczeniu wczesnego raka piersi – najważniejsze doniesienia z 2005 r. – sprawozdanie z konferencji. *Współcz Onkol* 2006; 5: 255-7.
- Roman I. Mikromacierze DNA-perspektywy wykorzystania w badaniach skuteczności i bezpieczeństwa stosowania leków. *Post Bioch* 2008; 54: 107-13.
- Bednarski D, Firestone SM. Regulation of transcription by synthetic DNA- bending agents. *Chem Bio Chem* 2006; 7: 1715-21.
- Baert JL, Monté D, Musgrove EA, et al. Expression of the PEA3 group of ETS-related transcription factors in human breast-cancer cells. *Int J Cancer* 1997; 70: 590-7.
- Dittmer J. Does a truncated form of the transcription factor Ets1 exist in breast cancer cells? *Br J Canc* 2006; 94: 176-7.
- Park YH, Jung HH, Ahn JS, Im YH. Ets-1 upregulates HER2-induced MMP-1 expression in breast cancer cells. *Bioch Bioph Res Comm* 2008; 377: 389-94.
- Goueli BS, Janknecht R. Upregulation of the catalytic telomerase subunit by the transcription factor ER81 and oncogenic HER2/Neu, Ras, or Raf. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 25-35.
- Kim ES, Sohn YW, Moon A. TGF-beta-induced transcriptional activation of MMP-2 is mediated by activating transcription factor (ATF)2 in human breast epithelial cells. *Cancer Lett* 2007; 252: 147-56.
- Lacroix M, Leclercq G. About GATA3, HNF3A, and XBP1, three genes co-expressed with the oestrogen receptor-alpha gene (ESR1) in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 219: 1-7.
- Badve S, Turbin D, Thorat MA, et al. FOXA1 expression in breast cancer-correlation with luminal subtype A and survival. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4415-21.
- Lee MY, Joung YH, Lim EJ, et al. Phosphorylation and activation of STAT proteins by hypoxia in breast cancer cells. *Breast* 2006; 15: 187-95.
- Sultan AS, Xie J, LeBaron MJ, Ealley EL, Nevalainen MT, Rui H. Transcription factor Stat5 promotes homotypic adhesion and inhibits invasive characteristics of human breast cancer cell. *Oncogene* 2005; 24: 746-60.
- Gooch JL, Christy B, Yee D. STAT6 mediates interleukin-4 growth inhibition in human breast cancer cells. *Neoplasia* 2002; 4: 324-31.
- Vandel L, Kouzarides T. Residues phosphorylated by TFIIF are required for E2F-1 degradation during S-phase. *EMBO J* 1999; 18: 4280-91.
- Wang A, Schneider-Broussard R, Kumar AP, et al. Regulation of BRCA1 expression by the Rb-E2F pathway. *J Biol Chem* 2000; 275: 4532-6.
- Ye C, Cai Q, Dai Q, et al. Expression patterns of the ATM gene in mammary tissues and their associations with breast cancer survival. *Cancer* 2007; 109: 1729-35.
- Rapakko K, Heikkinen K, Karppinen SM, et al. Germline alterations in the 53BP1 gene in breast and ovarian cancer families. *Cancer Lett* 2007; 245: 337-40.
- Prescott JD, Koto KS, Singh M, Gutierrez-Hartmann A. The ETS transcription factor ESE-1 transforms MCF-12A human mammary epithelial cells via a novel cytoplasmic mechanism. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 5548-64.
- Zahnow CA. CCAAT/enhancer binding proteins in normal mammary development and breast cancer. *Breast Cancer Res* 2002; 4: 113-21.
- Ceshi C, Hina V, Bhalala HQ, Dong JT. A possible tumor suppressor role of the KLF5 transcription factor in human breast cancer. *Oncogene* 2002; 21: 6567-72.
- Patel NM, Nozaki S, Shortle NH, et al. Paclitaxel sensitivity of breast cancer cells with constitutively active NF-kappaB is enhanced by I kappa B alpha super-repressor and parthenolide. *Oncogene* 2000; 19: 4159-69.

## Adres do korespondencji

### Marta Ziaja-Soltys

Katedra i Zakład Biologii z Genetyką  
ul. Witolda Chodźki 4 A  
20-093 Lublin  
tel. +48 81 535 73 92  
e-mail: marta.ziaja-soltys@umlub.pl