

W artykule przedstawiono aktualny stan badań na temat mutacji i zaburzeń ekspresji receptorowych kinaz tyrozynowych rodziny ErbB (HER) w pheochromocytoma. Geny rodziny erbB kodują cztery kinazy tyrozynowe (ErbB-1 lub EGFR, ErbB-2, ErbB-3 i ErbB-4), podlegające ekspresji na powierzchni licznych typów komórek, przede wszystkim linii nabłonkowej i mezenchymalnej. Geny rodziny erbB i produkty ich ekspresji są zaangażowane w procesy wzrostu, proliferacji, apoptozy, sekrecji białek, różnicowania oraz przemieszczania się komórek, morfogenezę organów, procesy odżywcze i regeneracyjne tkanek, odgrywają także istotną rolę w wielu procesach nowotworowych. W ich przebiegu ulegają one często amplifikacji, mutacjom punktowym i delecjom, wreszcie zaburzeniom ekspresji, prawdopodobnie wiodącym do onkogennej aktywacji. Rola tej rodziny genów w rozwoju guzów układu neuroendokrynnego jest dotychczas słabo poznana. Opublikowano zaledwie kilka prac na temat ludzkich guzów chromochłonnych, a uzyskane wyniki nie są jednoznaczne. W badaniach receptorów rodziny ErbB wykazywano m.in. związek ich wykrywalnej ekspresji z występowaniem złośliwej lub rodzinnej postaci guza, jednak nie wszystkie prace potwierdzają te wyniki. Mutacje w postaci amplifikacji lub delecji w obrębie onkogenów rodziny erbB w pheochromocytoma są bardzo częstym zjawiskiem, w badaniach przeprowadzonych za pomocą ddPCR ich występowanie stwierdzono w 69 proc. badanych guzów. Może to świadczyć, że anomalie onkogenów erbB mają istotne znaczenie w rozwoju PHEO, jednak by tego dowieść, konieczna jest prospektywna obserwacja liczniejszej grupy chorych.

Słowa kluczowe: onkogeny, geny erbB, receptory ErbB, amplifikacja genów, nadekspresja genów, pheochromocytoma.

# Zaburzenia genów rodziny *erbB* i receptorów ErbB (HER) w *pheochromocytoma*

## *Dysregulation of erbB family genes and ErbB (HER) receptors in pheochromocytoma*

Krzysztof Sworczak<sup>1</sup>, Anna Żaczek<sup>2,3</sup>, Urszula Lisowska<sup>2</sup>, Anna Babińska<sup>1</sup>, Bogdan Falkiewicz<sup>2</sup>, Krzysztof P. Bielawski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Chorób Wewnętrznych, Endokrynologii i Zaburzeń Hemostazy, Akademia Medyczna w Gdańsku

<sup>2</sup>Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku

<sup>3</sup>Studium Medycyny Molekularnej w Warszawie

### MOLEKULARNE ASPEKTY PHEOCHROMOCYTOMA

Nadnercza są drugim (po tarczycy) gruczołem wewnętrznego wydzielania co do częstości występowania nowotworów łagodnych i złośliwych [1]. Guz rdzenia nadnercza (barwiak, *pheochromocytoma*) jest przedstawicielem guzów neuroendokrynnych i wywodzi się z komórek chromochłonnych, znajdujących się w rdzeniu nadnerczy oraz z ciątek przyzwojowych współczulnego układu nerwowego.

Guzy chromochłonne rozpoznaje się stosunkowo rzadko i w całej populacji ich częstość występowania ocenia się od 1 przypadku na 100 tys. do 1 na 500 tys./osób/rok [2, 3]. W 90 proc. guz chromochłonny wykrywa się w obrębie nadnercza, częściej prawego. W 10 proc. przypadków występuje obustronnie, z czego 50 proc. to postaci rodzinne [4]. W ok. 10 proc. przypadków może lokalizować się pozanadnerczowo i powstawać w każdym miejscu, gdzie znajdują się skupienia tkanki chromochłonnej (np. w narządzie Zuckerkandla, wzdłuż przebiegu aorty brzusznej, we wnęce wątroby,

w ścianie pęcherza moczowego i śródmajnikowo); poza jamą brzuszną bardzo rzadko spotyka się go w obrębie klatki piersiowej, szyi, a nawet jamy czaszki [2, 5]. W ok. 10 proc. przypadków guz może towarzyszyć innym jednostkom chorobowym: zespołom wielogruczolakowości wewnątrzwydzielniczej typu 2 (MEN 2-A i 2-B), chorobie von Hippel-Lindau'a (VHL) chorobie Recklinghausena (nerwiakowłóknia-kowość typu 1, NF-1), chorobie Burneville'a (stwardnienie guzowate) czy zespołowi Sturge-Webera [5-9].

Złośliwą postać *pheochromocytoma* rozpoznaje się w ok. 7-17 proc. wszystkich guzów chromochłonnych u dorosłych i 2-3 proc. u dzieci. Pomimo pewnych odmienności klinicznych oraz różnic patomorfologicznych, jak dotychczas dopiero pojawienie się odległych przerzutów do narządów niezawierających tkanki chromochłonnej, tzn. wątroby, płuc, kości, węzłów chłonnych, sieci i mózgu, pozwala na prawidłowe różnicowanie pomiędzy łagodnym i złośliwym *pheochromocytoma* [10, 11]. Intensywnie poszukuje się różnych markerów, które pozwoliłyby na różnicowanie postaci łagodnej od złośli-

The paper reviews current knowledge on mutations and expression abnormalities of the ErbB (HER) family receptor tyrosine kinases in human pheochromocytoma. Genes of the erbB family encode four tyrosine kinases (ErbB-1 or EGFR, ErbB-2, ErbB-3, and ErbB-4), which are expressed on the surface of various cells, mainly from epidermal and mesenchymal tissues. Genes of the erbB family and products of their expression are involved in the growth and proliferation, apoptosis, protein secretion, differentiation and motility of cells, morphogenesis of organs and regeneration of diverse tissues, and they play a significant role in numerous carcinogenic processes. During the development of neoplasm they are frequently subject to gene amplification, point mutations and deletions, or gene expression alterations, probably leading to oncogenic activation. However, their role in the development of neuroendocrine tumors is relatively poorly known. Only a few studies on human pheochromocytoma have been published so far and their results are ambiguous. These studies found e.g. some correlations between ErbB receptors expression and the presence of a malignant or recurrent form of PHEO, but not all studies confirmed the observations. Mutations like erbB gene amplification or deletion are very frequent in pheochromocytoma; in the study conducted in our laboratory their presence was detected using ddPCR in 69% of tumors tested. This can show that abnormalities within erbB oncogenes have a significant role in the development of PHEO. However, to prove it, a prospective observation of a large patients' group is necessary.

**Key words:** oncogenes, erbB genes, ErbB receptors, gene amplification, gene overexpression, pheochromocytoma.

wej. Według niektórych autorów poziom enolazy specyficznej dla neuronów (ang. *Neuron-Specific Enolase*, NSE), DOPA (L-dihydroksyfenylalaniny), neuropeptydu Y (NPY) oraz chromograniny A (CgA) wyraźnie różnie w surowicy krwi chorych ze złośliwą postacią *pheochromocytoma* [2, 12–15]. W tkance guza szukano wykładników jego złośliwości, oznaczając immunohistochemicznie markery proliferacji, tj. PCNA, Ki-67 i topoisomerazę II $\alpha$ , ponadto E-kadherynę, białko p53, białko bcl-2, produkt genu *Rb* i wiele innych. Wyniki tych badań były niejednoznaczne [15–17]. Podobnie rozbieżne obserwacje dotyczyły znaczenia obecności aneuploidii komórek *pheochromocytoma* oraz zwiększonej aktywności telomerazy w guzie [17–20].

Etiologia *pheochromocytoma* jest nadal słabo poznana. Większość guzów chromochłonnych to guzy sporadyczne, ale nawet rozwój sporadycznego *pheochromocytoma* wydaje się być związany z aberracjami genomu. W postaciach rodzinnych prawdopodobnie wiele genów bierze udział w powstawaniu nowotworu. Najlepiej poznany jest gen *ret*, związany z zespołem MEN-2 [5, 21] i gen *vhl*, związany z chorobą von Hippel-Lindau'a, często współistniejącą z *pheochromocytoma* [22]. Predyspozycja (1–5 proc.) do guza chromochłonnego występuje też w kolejnym rodzinnym zespole nowotworowym, tj. nerwiakowłókniakowatości typu 1 (NF-1) [8, 14]. Choć mutacje genów *ret* i *vhl* w komórkach płciowych są przyczyną guzów chromochłonnych, ich somatyczne mutacje są rzadkie (6–8 proc.) w sporadycznym *pheochromocytoma* [9, 23].

## RODZINA RECEPTORÓW ERBB

Geny receptorów dla czynników wzrostowych oraz geny enzymów typu kinaz (*erbB-1*, *erbB-2*, *c-ret*, *c-met*, *c-src*, *c-raf*, *c-abl*) należą do najlepiej zbadanych protoonkogenów. W nieprawidłowych warunkach zmutowane formy protoonkogenów – onkogeny – biorą udział w procesie

rozwoju nowotworów. Aktywacja protoonkogeny może być wywołana mutacją, zmieniającą strukturę kodowanego białka, może wiązać się z procesem translokacji protoonkogeny w miejsca, w których znajdują się sekwencje DNA wzmacniające transkrypcję genów; może zachodzić również poprzez amplifikację genu – zwielokrotnienie liczby kopii genu (zjawisko opisano dokładniej w [24]). W dwóch ostatnich sytuacjach produkt genu może być prawidłowy, ale ilość białka dramatycznie zwiększa się. Wydaje się, że sposób aktywacji protoonkogenów jest swoisty dla poszczególnych genów; niektóre geny aktywowane są w wyniku mutacji punktowych, inne za pomocą translokacji lub fuzji, jeszcze inne poprzez amplifikację.

Zasadniczą rolą większości receptorowych kinaz tyrozynowych jest rozpoznawanie i wiązanie czynników wzrostowych. Typowe receptorowe kinazy tyrozynowe są białkami błonowymi; ich domena zewnątrzkomórkowa zawiera miejsce wiążące ligand, którego przyłączenie indukuje homo- i heterodimeryzację receptorów [25–27], albo też tzw. dimeryzację wtórną (sekwencyjną) [28]. Receptorowe kinazy klasy I, zwane też receptorami epidermalnych czynników wzrostowych lub rodziną receptorów ErbB, są ważne w rozwoju prawidłowych tkanek pochodzenia epidermalnego, mezenchymalnego i neuronalnego, a także w rozwoju procesów nowotworowych [26, 27]. Geny rodziny *erbB* (*erbB-1*, *erbB-2*, *erbB-3* i *erbB-4*) i kodowane przez nie receptory ErbB są zaangażowane w procesy wzrostu, proliferacji, apoptozy, sekrecji białek, różnicowania i odróżnicowywania się oraz przemieszczania się komórek, morfogenezę organów, procesy odżywcze i naprawcze tkanek [26].

Jak dotąd opisano 4 rodzaje receptorów, należących do tej grupy: ErbB-1 lub EGFR (receptor naskórkowego czynnika wzrostu, ang. *Epidermal Growth Factor Receptor*),

ErbB-2, ErbB-3 i ErbB-4; ludzkie receptory tego typu często nazywane są HER1, HER2 (lub inaczej HER2/neu), HER3 i HER4 [25–27]. Spośród nich, ErbB-1 i ErbB-2 są uznanymi onkoproteinami, natomiast ErbB-3 i ErbB-4 są białkami o prawdopodobnej funkcji onkogennej.

Kinazy ErbB podlegają ekspresji na powierzchni licznych typów komórek, przede wszystkim linii nabłonkowej i mezynchymalnej [25–27]. Każdy z receptorów ErbB ma własny wzorzec aktywujących go ligandów, co różnicuje ich fizjologiczną rolę [25–27]. Transdukcja sygnałów zewnątrzkomórkowych do cytoplazmy poprzez receptory ErbB zależy nie tylko od wiązania specyficznych ligandów z receptorami i procesów przewodzenia sygnału, następujących potem, determinowana jest także stężeniem receptorów na powierzchni komórki, m.in. dlatego, że muszą one ulegać dimeryzacji w czasie przewodzenia sygnału [25, 26]. Oprócz potranslacyjnych mechanizmów kontroli stężenia receptorów ErbB na powierzchni komórek, istnieją przynajmniej 2 inne drogi regulacji ekspresji tych białek: zmiany liczby kopii kodujących je genów (amplifikacja/delecja) oraz regulacja ekspresji mRNA, powstającego w wyniku transkrypcji. Geny te w przebiegu powstawania wielu nowotworów ulegają amplifikacji (zwłaszcza *egfr* i *erbB-2*), znacznie rzadziej występują delecje (jedynie w przypadku *erbB-1*) czy wzrost stężenia ligandów i autokrynną aktywacja kinaz. Jak się wydaje, najczęstszym spośród mechanizmów jest nadekspresja kinazy, u podłoża której może leżeć zjawisko amplifikacji (zwielokrotnienia) liczby kopii genu kinazy w komórce i/lub zjawisko nadmiernej aktywności procesów ekspresji kinazy przy obecności jednej (bez amplifikacji) lub większej (z amplifikacją) liczby kopii genu w komórce [24]. Ekspresję lub nadekspresję białek ErbB i/lub amplifikację ich genów stwierdzono w wysokim odsetku różnych nowotworów narządowych (tab. 1.).

**Tab. 1. Ekspresja i nadekspresja receptorów rodziny ErbB w niektórych nowotworach złośliwych u ludzi [27, 36 i inne]**

**Table 1. Expression and overexpression of ErbB receptors in some human carcinomas [27, 36 and other]**

Rodzaj nowotworu	EGFR (proc.)	ErbB-2 (proc.)	ErbB-3 (proc.)	ErbB-4 (proc.)
płuco	40–80	18–60	25–85	nie badano
piers	14–91	9–39	22–90	12–82
żołądek	33–74	8–40	35–100	nie badano
okrężnica	25–77	11–20	65–89	22
przełyk	43–89	7–64	64	nie badano
wątroba	47–68	0–29	84	61
trzustka	30–50	19–45	57–63	37–81
prostata	40–80	40–80	22–96	nie badano
nerka	50–90	0–40	0	nie badano
pęcherz moczowy	35–86	9–50	30–56	30
jajnik	35–70	8–32	85	93
głowa i szyja	36–100	17–53	81	28–69

Receptory ErbB są ściśle od siebie funkcjonalnie zależne poprzez proces dimeryzacji [25–26]. Może istnieć 10 różnych homo- lub heterodimerów receptorów ErbB, a ich powstawanie i aktywność wykazują wyraźną hierarchię. Wszystkie heterodimery mają wyższą aktywność biologiczną od homodimerów [25]. Gradacja siły sygnałów mitogennych pochodzących od receptorów rodziny ErbB układa się od homodimerów ErbB-3-ErbB-3 pozbawionych aktywności fosfokinazowej i niewysyłających sygnałów w ogóle, po heterodimer ErbB-2-ErbB-3 o największej sile sygnału pobudzającego proliferację. W dotychczasowych publikacjach, gdzie celem było badanie więcej niż jednego receptora rodziny ErbB w tkance nowotworu i opartych głównie na immunohistochemii, stwierdzono szereg korelacji pomiędzy poszczególnymi receptorami oraz ich koekspresją, a niektórymi parametrami klinicznymi [29–32]. Chow [33] w swoich badaniach nad ekspresją receptorów rodziny ErbB w raku pęcherza moczowego udowodnił, że kombinacje profili ekspresji EGFR, ErbB-2 i ErbB-3 są dokładniejszym wskaźnikiem prognostycznym niż ekspresja każdego

receptora oddzielnie. Do podobnych wniosków można dojść, obserwując prace grupy Brandta [np. 34], w których badano równocześnie amplifikacje/delecje więcej niż jednego onkogenu *erbB*.

Budowa i funkcja oraz niektóre zaburzenia receptorów rodziny ErbB i metody ich badania zostały już wcześniej dokładnie omówione na łamach *Współczesnej Onkologii* [24, 35].

## **PHEOCHROMOCYTOMA A RODZINA RECEPTORÓW ERBB**

Zaburzenia genetyczne onkogenów rodziny *erbB*, jak to opisano wcześniej, są przedmiotem intensywnych badań w różnych nowotworach, natomiast w guzach chromochłonnych są bardzo słabo poznane. Nieliczne dostępne dane pozwalają jednak przypuszczać, że mogą mieć one duże znaczenie.

W komórkach linii PC12, wywodzącej się z PHEO szczura, naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) i czynnik wzrostu nerwów (NGF) wykorzystują ten sam szlak sygnałowy, by powodować odpowiednio proliferację i różnicowanie komórek [37, 38] (jed-

**Tab. 2. Oznaczone wartości średniej liczby kopii genów (AGCN) w PHEO**  
**Table 2. Values of average gene copy number (AGCN) in PHEO**

	AGCN			
	<i>erbB-1</i>	<i>erbB-2</i>	<i>erbB-3</i>	<i>erbB-4</i>
średnia ± odch. standard.	1,18±0,63	2,00±2,00	1,36±0,68	1,22±0,69
mediana	1,17	1,37	1,19	1,02
zakres (minimum-maks.)	0,02–2,68	0,46–9,95	0,26–4,02	0,25–3,67
liczba zbadanych próbek	35	34	36	30

nakże w połączeniu z TGF $\alpha$ , EGF może także aktywować różnicowanie PC12 [39]). Równocześnie EGF i NGF hamują apoptozę tych komórek wywołaną etopozydem, prawdopodobnie dzięki inaktywacji białek zaangażowanych w apoptozę [40]. W przypadku zastosowania erbstatyny (inhibitora kinaz tyrozynowych) i jej analogów, komórki PC12 ulegają przejściowemu różnicowaniu [41].

Immunohistochemicznie ekspresję błonową i cytoplazmatyczną onkoproteiny ErbB-1 (EGFR) wykryto w 4 na 7 (57 proc.) analizowanych guzów chromochłonnych, jednak mała liczba próbek badanych w tej pracy uniemożliwia wysuwanie dalej idących wniosków na temat związku tego faktu z cechami nowotworu [42]. Nadekspresję mRNA EGF w *gastrinoma*, innym guzie pochodzenia neuroendokrynnego, stwierdzono w 18 proc. przypadków i znamienne korelowała ona z obecnością przerzutów w wątrobie oraz ze skróceniem czasu przeżycia chorych [43]. Ekspresja EGFR jest prawdopodobnie czynnikiem promującym wzrost i przerzutowanie raka kory nadnerczy, gdzie występuje ona bardzo często (63/64 przypadki) [42].

Białko ErbB-2 wykryto metodami immunohistochemicznymi w wielu prawidłowych tkankach ludzkich i zwierzęcych pochodzenia neuroendokrynnego, w tym w chromochłonnych komórkach rdzenia nadnerczy [44], a jego nadekspresję także w szczurzej linii komórkowej *pheochromocytoma* [45]. Roncalli [46] stwierdził ekspresję ErbB-2 w 6 z 27 (22 proc.) analizowanych guzów rdzenia nadnerczy, natomiast wg Se-

agera i wsp. [47] w 5/5 przypadkach *pheochromocytoma* badania ekspresji receptora ErbB-2 za pomocą przeciwciał DAKO wykazały wyraźne ziarniste wybarwienia cytoplazmatyczne oraz (w nielicznych komórkach) słabe znakowanie błonowe, nie świadczące o nadekspresji białka na powierzchni błony komórkowej. Według tych autorów, barwienie cytoplazmatyczne, nieobecne w guzach kory nadnerczy, może służyć do odróżniania guzów kory narządu od PHEO [47]. W innej pracy, badając 34 przypadki *pheochromocytoma* (27 sporadycznych i 7 rodzinnych w zespołach MEN), w tym 9 przypadków postaci złośliwej, wykazano występowanie barwienia charakterystycznego dla ErbB-2 w cytoplazmie wszystkich guzów (w różnym odsetku komórek) oraz bardzo ścisły związek pomiędzy odsetkiem komórek z wykrywalną ekspresją cytoplazmatyczną onkoproteiny ErbB-2 a złośliwością guza ( $p < 0,001$ ) [48]. Stwierdzono także znamienne wyższą częstość ekspresji ErbB-2 w guzach towarzyszących zespołowi MEN w porównaniu z grupą sporadycznych *pheochromocytoma* ( $p < 0,007$ ) [48]. Wyników tych nie potwierdzono w innej, podobnej metodycznie pracy, w której w próbce 50 parafinowanych tkanek PHEO pochodzących z łagodnych i złośliwych przypadków guza, nie zaobserwowano nadekspresji ErbB-2 [16]. De Krijger [15] w licznej grupie próbek guza chromochłonnego (90/104 – 86,5 proc.) obserwował immunohistochemicznie w cytoplazmie obecność ErbB-2, stwierdzając równocześnie częstsze występowanie nadekspresji ErbB-2 w rodzinnych niż w spo-

radycznych przypadkach *pheochromocytoma* ( $p < 0,001$ ), a nie stwierdzał różnic pomiędzy postacią łagodną i złośliwą [15].

Nadekspresję białka ErbB-3 stwierdzono w szczurzej linii komórkowej *pheochromocytoma* [45]. Poza tą pracą nie ma w dostępnym piśmiennictwie (*Medline, Embase, Science Citation Index*) publikacji na temat związku ekspresji receptorów ErbB-3 czy ErbB-4 z guzem chromochłonnym rdzenia nadnerczy.

W zakresie badań zaburzeń liczby kopii protoonkogenów rodziny *erbB* w guzach neuroendokrynnych, potwierdzono obecność amplifikacji onkogenu *erbB-2*, ale nie *erbB-1*, w rakowiakach i *gastrinoma* trzustki, ponadto w jednym z badań wykazano korelację pomiędzy amplifikacją *erbB-2* a obecnością przerzutów tych guzów w wątrobie; onkogen ten jest także amplifikowany w liniach komórkowych (STAN, BON, SIM) pochodzących z takich guzów [49–51].

W badaniach przeprowadzonych w naszym zespole [52], w 36 guzach chromochłonnych uzyskanych od 34 chorych (18 mężczyzn i 16 kobiet, średnia wieku 44 lata) oznaczono średnią liczbę kopii genów (AGCN) *erbB-1*, *-2*, *-3* i *erbB-4*, stosując metodę ddPCR [53]. Średnia wielkość badanego guza wynosiła 4,7 cm. Lokalizację pozanadnerczową stwierdzono w 2 przypadkach (5,9 proc.), guzy obustronne w 4 przypadkach (11,8 proc.), wznowy miejscowe u 5 pacjentów (14,7 proc.), a zmiany złośliwe (obecność przerzutów odległych) u 3 chorych (8,8 proc.). Statystykę opisową wartości AGCN genów *erbB-1* do *erbB-4* zmierzonych w tych tkankach zawiera tab. 2.

Jakiegokolwiek zaburzenia AGCN któregoś z czterech onkogenów *erbB* stwierdzono w 25 przypadkach, co stanowi 69 proc. badanych guzów chromochłonnych. Stwierdzono 11 przypadków amplifikacji genu *erbB-1* (AGCN > 1,6), 6 delecji *erbB-1* (AGCN < 0,4), 8 amplifikacji *erbB-2*

(AGCN>2,0), 5 amplifikacji *erbB-3* (AGCN>1,75) i 4 amplifikacje genu *erbB-4* (AGCN>1,6). Obserwowano również po 1 delecji genu *erbB-3* i *erbB-4* (AGCN<0,4). Nie zaobserwowano przypadku delecji *erbB-2* (AGCN<0,4). W przypadku 8 chorych z nieprawidłowymi wartościami AGCN dotyczyły one więcej niż jednego z genów *erbB*. Metodą Spearmana stwierdzono występowanie istotnej korelacji pomiędzy AGCN *erbB-2* i *erbB-3* ( $p=0,002$ ,  $R=0,51$ ) oraz odwrotnej korelacji pomiędzy AGCN *erbB-1* i *erbB-4* ( $p=0,031$ ,  $R=-0,40$ ). Wyniki na granicy istotności przy założonym poziomie błędu 5 proc. otrzymano dla związków AGCN *erbB-3* i *erbB-4* ( $p=0,063$ ,  $R=0,34$ ) oraz *erbB-2* i *erbB-4* ( $p=0,095$ ,  $R=0,31$ ).

Badając, czy z występowaniem określonych cech klinicznych wiąże się różnica AGCN dla poszczególnych genów *erbB*, stwierdzono istotną statystycznie różnicę w wartościach AGCN *erbB-3* pomiędzy guzami pierwotnymi (wyższe wartości) i wznowami (niższe wartości). Zbliżone do założonego poziomu istotności były wyniki porównania AGCN dla *erbB-2* i *erbB-3* pomiędzy guzami złośliwymi i niewykazującymi cech złośliwości ( $p=0,084$  i  $p=0,076$ ), co ciekawe, wartości AGCN dla obu tych onkogenów były niższe w guzach złośliwych niż w niezłośliwych. Jednak z powodu niskiej liczebności grupy złośliwego *pheochromocytoma* (3 przypadki) wynik ten należy traktować z dużą ostrożnością.

Podsumowując, zaburzenia ekspresji oraz mutacje onkogenów *erbB* w PHEO są częstym zjawiskiem. Wysoka częstość występowania anomalii, stwierdzone korelacje pomiędzy wartościami AGCN poszczególnych *erbB* oraz znamienne zależności pomiędzy stopniem ekspresji lub anomalią liczby kopii odpowiednich onkogenów tej rodziny a danymi klinicznymi i patologicznymi pozwalają podejrzewać, że odgrywają one znaczącą rolę w patogenezie tych nowotworów,

jednak potwierdzenie tych sugestii wymaga dalszych, najlepiej prospektywnych badań, z udziałem liczniejszych grup chorych.

#### PIŚMIENNICTWO

- Sworzczak K, Babińska A, Stanek A, et al. *Clinical and histopathological evaluation of the adrenal incidentaloma*. *Neoplasma* 2001; 48: 65-70.
- Sworzczak K, Babińska A. *Pheochromocytoma malignum – postępy w rozpoznawaniu i leczeniu*. *Pol Arch Med Wewn* 1996; 95: 68-74.
- Klingler HC, Klingler PJ, Martin JK Jr, et al. *Pheochromocytoma*. *Urology* 2001; 57: 1025-32.
- Wajda Z, Kwiecińska B, Łachirski A, Sworzczak K. *Współczesne poglądy na rozpoznawanie i leczenie guza chromochłonnego*. *Endokrynol Pol* 1999; 50 supl. 2: 141-56.
- Januszewicz W, Wocial B, Sznajderman M, Januszewicz A. *Guz chromochłonny*. Wyd Lek PZWL, Warszawa 2000.
- Bender BU, Gutsche M, Gläsker S, et al. *Differential genetic alterations in von Hippel-Lindau syndrome-associated and sporadic pheochromocytomas*. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4568-74.
- Hanna NN, Kenady DE. *Advances in the management of adrenal tumors*. *Curr Opin Oncol* 2000; 12: 49-53.
- Koch CA, Vortmeyer AO, Huang SC, et al. *Genetic aspects of pheochromocytoma*. *Endocr Regul* 2001; 35: 43-52.
- Van der Harst E, de Krijger RR, Bruining HA, et al. *Prognostic value of RET proto-oncogene point mutations in malignant and benign, sporadic pheochromocytomas*. *Int J Cancer* 1998; 79: 537-40.
- Edstrom E, Skog AL, Hoog A, Hamberger B. *The management of benign and malignant pheochromocytoma and abdominal paraganglioma*. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 278-83.
- Morikawa T, Suzuki M, Unno M, et al. *Malignant pheochromocytoma with hepatic metastasis diagnosed 10 years after a resection of the primary incidentaloma adrenal lesion: report of a case*. *Surg Today* 2001; 31: 80-4.
- Rao F, Keiser HR, O'Connor DT. *Malignant pheochromocytoma. Chromaffin granule transmitters and response to treatment*. *Hypertension* 2000; 36: 1045-52.
- Stridsberg M, Husebye ES. *Chromogranin A and chromogranin B are sensitive circulating markers for pheochromocytoma*. *Eur J Endocrinol* 1997; 136: 67-73.
- Kopf D, Goretzki PE, Lehnert H. *Clinical management of malignant adrenal tumors*. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 143-55.
- de Krijger RR, van der Harst E, van der Ham F, et al. *Prognostic value of p53, bcl-2, and c-erbB-2 protein expression in pheochromocytomas*. *J Pathol* 1999; 188: 51-5.
- Gupta D, Shidham V, Holden J, Layfield L. *Prognostic value of immunohistochemical expression of topoisomerase alpha II, MIB-1, p53, E-cadherin, retinoblastoma gene protein product, and HER-2/neu in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8: 267-74.
- Brown HM, Komorowski RA, Wilson SD, et al. *Predicting metastasis of pheochromocytomas using DNA flow cytometry and immunohistochemical markers of cell proliferation: a positive correlation between MIB-1 staining and malignant tumor behavior*. *Cancer* 1999; 86: 1583-9.
- Maryniak RK, Szczaluba K, Ignatowska-Switalska M, et al. *Immunomorphological studies and cytometric DNA ploidy in diagnostics of pheochromocytoma*. *Pol J Pathol* 2000; 51: 83-6.
- Kubota Y, Nakada T, Sasagawa I, et al. *Elevated levels of telomerase activity in malignant pheochromocytoma*. *Cancer* 1998; 82: 176-9.
- Bamberger CM, Else T, Bamberger AM, et al. *Telomerase activity in benign and malignant adrenal tumors*. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999; 107: 272-5.
- Wiench M, Włoch J, Wygoda Z, et al. *Genetic diagnosis of Multiple Endocrine Neoplasia Type 2B*. *Pol J Endocrinol* 2000; 51: 67-76.
- Neumann HP, Bender BU. *Genotype-phenotype correlations in von Hippel-Lindau disease*. *J Intern Med* 1998; 243: 541-5.
- Van der Harst E, de Krijger RR, Dinjens WN, et al. *Germline mutations in the vhl gene in patients presenting with pheochromocytomas*. *Int J Cancer* 1998; 77: 337-40.
- Bielawski KP, Vogt U, Brandt B, Falkiewicz B. *Zaburzenia funkcji receptorów ErbB (HER): mechanizmy i metody badania. Część I. Amplifikacja genów rodziny ErbB (HER). Współcz Onkol* 2000; 4: 102-7.

25. Marmor MD, Skaria BK, Yarden Y. *Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004; 58: 903-13.
26. Holbro T, Hynes NE. *ErbB receptors: directing key signaling networks throughout life*. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2004; 44: 195-217.
27. Normanno N, Bianco C, De Luca A, et al. *Target-based agents against ErbB receptors and their ligands: a novel approach to cancer treatment*. Endocr Relat Cancer 2003; 10: 1-21.
28. Gamett DC, Pearson G, Cerione RA, Friedberg I. *Secondary dimerization between members of the Epidermal Growth Factor Receptor family*. J Biol Chem 1997; 272: 12052-6.
29. Witton CJ, Reeves JR, Going JJ, et al. *Expression of the HER1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer*. J Pathol 2003; 200: 290-7.
30. Xia W, Lau YK, Zhang HZ, et al. *Combination of EGFR, HER-2/neu, and HER-3 is a stronger predictor for the outcome of oral squamous cell carcinoma than any individual family members*. Clin Cancer Res 1999; 5: 4164-74.
31. Suo Z, Risberg B, Kalsson MG, et al. *EGFR family expression in breast carcinomas. c-erbB-2 and c-erbB-4 receptors have different effects on survival*. J Pathol 2002; 196: 17-25.
32. Hudelist G, Singer CF, Manavi M, et al. *Co-expression of ErbB-family members in human breast cancer: Her-2/neu is the preferred dimerization candidate in nodal-positive tumors*. Breast Cancer Res Treat 2003; 80: 353-61.
33. Chow NH, Chan SH, Tzai TS, et al. *Expression profiles of ErbB family receptors and prognosis in primary transitional cell carcinoma of the urinary bladder*. Clin Cancer Res 2001; 7: 1957-62.
34. Brandt B, Vogt U, Schlotter CM, et al. *Prognostic relevance of aberrations in the erbB oncogenes from breast, ovarian, oral and lung cancers: double-differential polymerase chain reaction (ddPCR) for clinical diagnosis*. Gene 1995; 159: 35-42.
35. Bielawski KP, Vogt U, Falkiewicz B. *Budowa i funkcje receptorów ErbB (HER)*. Współcz Onkol 1999; 3: 241-3.
36. Sworcza K. *Anomalie liczby kopii genów protoonkogenów rodziny erbB w rakach gruczołu tarczowego i w guzach chromochłonnych u ludzi. Rozprawa habilitacyjna*. Annales Acad Med Gedan 2003; 33 supl.: 1-165.
37. Vaudry D, Stork PJ, Lazarovici P, Eiden LE. *Signaling pathways for PC12 cell differentiation: making the right connections*. Science 2002; 296: 1648-9.
38. Boonstra J, Mummery CL, Feyen A, et al. *Epidermal growth factor receptor expression during morphological differentiation of pheochromocytoma cells, induced by nerve growth factor or dibutyryl cyclic AMP*. J Cell Physiol 1987; 131: 409-17.
39. Nakafuku M, Kaziro Y. *Epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha can induce neuronal differentiation of rat pheochromocytoma PC12 cells under particular culture conditions*. FEBS Lett 1993; 315: 227-32.
40. Nakajima M, Kashiwagi K, Ohta J, et al. *Nerve growth factor and epidermal growth factor rescue PC12 cells from programmed cell death induced by etoposide: distinct modes of protection against cell death by growth factors and a protein-synthesis inhibitor*. Neurosci Lett 1994; 176: 161-4.
41. Watanabe Y, Kakeya H, Ikoma E, Umezawa K. *Induction of morphological and enzymic differentiation in rat pheochromocytoma PC12h cells by stable erbstatin analogues*. Drugs Exp Clin Res 1993; 19: 1-6.
42. Kamio T, Shigematsu K, Sou H, et al. *Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptors in human adrenocortical carcinoma*. Hum Pathol 1990; 21: 277-82.
43. Peghini PL, Iwamoto M, Raffeld M, et al. *Overexpression of epidermal growth factor and hepatocyte growth factor receptors in a proportion of gastrinomas correlates with aggressive growth and lower curability*. Clin Cancer Res 2002; 8: 2273-85.
44. Martin-Lacave I, Utrilla JC. *Expression of a neu/c-erbB-2-like product in neuroendocrine cells of mammals*. Histochem J 2000; 32: 1027-33.
45. Gamett DC, Greene T, Wagreich AR, et al. *Heregulin-stimulated signaling in rat pheochromocytoma cells. Evidence for ErbB3 interactions with Neu/ErbB2 and p85*. J Biol Chem 1995; 270: 19022-7.
46. Roncalli M, Springall DR, Varndell IM, et al. *Oncoprotein immunoreactivity in human endocrine tumours*. J Pathol 1991; 163: 117-27.
47. Saeger W, Fassnacht M, Reincke M, Allolio B. *Expression of HER-2/neu receptor protein in adrenal tumors*. Pathol Res Pract 2002; 198: 445-8.
48. Castilla-Guerra L, Moreno AM, Fernandez-Moreno MC, et al. *Expression and prognostic value of c-erbB-2 oncogene product in human pheochromocytomas*. Histopathology 1997; 31: 144-9.
49. Evers BM, Rady PL, Tying SK, et al. *Amplification of the HER-2/neu protooncogene in human endocrine tumors*. Surgery 1992; 112: 211-7.
50. Evers BM, Rady PL, Sandoval K, et al. *Gastrinomas demonstrate amplification of the HER-2/neu proto-oncogene*. Ann Surg 1994; 219: 596-601.
51. Goebel SU, Iwamoto M, Raffeld M, et al. *Her-2/neu expression and gene amplification in gastrinomas: correlation with tumor biology, growth and aggressiveness*. Cancer Res 2002; 62: 3702-10.
52. Sworcza K, Żaczek A, Babińska A, et al. *Gene copy numbers of erbB oncogenes in human pheochromocytoma*. Oncol Rep 2002; 9: 1373-8.
53. Bielawski K, Żaczek A, Lisowska U, et al. *The suitability of DNA extracted from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues for double differential polymerase chain reaction analysis*. Int J Mol Med 2001; 8: 573-8.

**ADRES DO KORESPONDENCJI**dr med. **Krzysztof Sworcza**

Klinika Chorób Wewnętrznych,  
Endokrynologii i Zaburzeń Hemostazy  
Akademia Medyczna w Gdańsku  
ul. Dębinki 7  
80-952 Gdańsk  
e-mail: ksworcza@poczta.onet.pl