

# ARTYKUŁY PRZEGLĄDOWE

## Ploidia DNA jako czynnik rokowniczy w nowotworach

Janusz Skowronek

z Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu

Dyrektor: dr J. Malicki

z Zakładu Radiobiologii i Biologii Komórki Akademii Medycznej w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. med. J.B. Warchol

---

*Cytometryczne pomiary ploiddii DNA w komórkach nowotworów złośliwych są coraz częściej uzupełnieniem rutynowej diagnostyki patomorfologicznej. W wielu nowotworach zauważono zależność pomiędzy pojawieniem się nieprawidłowej zawartości DNA i niekorzystnym rokowaniem przebiegu choroby. W niektórych nowotworach, takich jak wczesny rak sutka, jelita grubego, prostaty, pęcherza moczowego, trzonu macicy i jajnika wyróżnia się obecnie na podstawie zawartości DNA grupy wyższego ryzyka, w innych trwają nadal badania a uzyskane wyniki nie są jednoznaczne rokowniczo. Stwierdzono również nieprawidłową zawartość DNA w części zmian łagodnych i stanów przedrakowych. W pracy zebrano niektóre dotychczasowe wyniki pomiarów cytometrycznych DNA w wybranych nowotworach złośliwych. Ze względu na brak szerokich badań prospektywnych oraz często sprzeczne wyniki, włączenie pomiarów ploiddii DNA do rutynowej diagnostyki w onkologii powinno być czynione ostrożnie i po uwzględnieniu innych uznanych czynników rokowniczych.*

### **Cellular DNA content and prognosis in human malignancies**

#### **Abstract**

*The use of cytometry to analyse the cellular DNA content in human malignancies cells has become more often a part of routine pathomorphological diagnostic. In many neoplasms the relation between abnormalities in DNA content and worse prognosis was observed. High-risk groups of patients with early breast cancer, colonorectal cancer, prostatic cancer, bladder cancer, endometrial cancer and ovarian cancer can be distinguished on the basis of DNA content. In others neoplasms researches are continued and results are still controversial. Abnormalities in DNA content in some benign tumours and precancerous stages are observed too. The aim of this work was to review current extended data of cytometric measurements in choosen neoplasms. Considering not enough developed prospective researches and discrepancy in the current results DNA ploidy measurement included to the routin diagnostic process in oncology is valuable only with others histological and clinical factors.*

---

## Wstęp

W poszukiwaniu nowych czynników rokowniczych oraz lepszego poznania biologii nowotworów coraz częściej dokonuje się pomiarów zawartości DNA w jądrach komórek nowotworowych. Uważa się, że wykrycie nieprawidłowej zawartości DNA może być wykładnikiem bardziej agresywnego przebiegu klinicznego choroby [1-6]. Rutynowe określanie zawartości DNA będące uzupełnieniem dotychczas znanych czynników rokowniczych może więc stać się dodatkowym argumentem na rzecz wyboru odpowiedniej metody leczenia oraz zakresu i częstości badań kontrolnych chorego po zakończeniu leczenia.

Na podstawie rozkładu zawartości DNA w komórkach można określić ich cykl komórkowy będący wykładnikiem dynamiki proliferacji. Ploidię DNA określa się na podstawie stosunku zawartego w nich DNA w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> cyklu życiowego w odniesieniu do ilości tego związku w komórkach prawidłowych będących w tych samych fazach cyklu komórkowego. Komórkami używanymi do pomiarów jako wzorzec są często limfocyty krwi obwodowej, erytrocyty kury, żaby, hepatocyty szczura [7]. Komórki prawidłowe lub komórki nowotworów łagodnych będące w fazie spoczynku (G<sub>0</sub>) mają diploidalną ilość DNA (2n). Niewielka część komórek przygotowujących się do podziału ma podwojoną zawartość DNA (tetraploidia – 4n) w fazie G<sub>2</sub>. Aneuploidalna (nieprawidłowa) zawartość DNA oznacza obecność populacji komórek o zawartości DNA różnej od zawartości DNA w poszczególnych fazach prawidłowego cyklu życiowego komórek. Guzy poliploidalne charakteryzują się obecnością kilku klonów komórek o różnej zawartości DNA.

Aneuploidia cechuje większość komórek nowotworów złośliwych, wykrywa się ją jednak również w komórkach zmian łagodnych, stąd ocena ploidii DNA nie powinna być stosowana do różnicowania zmian łagodnych od złośliwych [1, 4, 8, 9].

Pomiary zawartości DNA w jądrach komórek wykonuje się stosując dwie podstawowe metody cytometryczne – metodę cytometrii przepływowej (flow cytometry) i cytometrii obrazowej – statycznej (video-imaging cytometry). W obu metodach dokonuje się pomiarów zawartości DNA po odpowiednim przygotowaniu zawiesiny komórek („*flow*” i „*image*”) lub rozmazu odbitkowego („*image*”) i wybarwieniu DNA – w metodzie „*flow*” barwnikami stechiometrycznymi (jodkiem propidionowym lub bromkiem etydyny), w metodzie „*image*” metodą Feulgena. Do pomiarów można wykorzystać tkanki i rozmazy tkankowe świeże lub otrzymane metodą odparafinowania z blozków parafinowych.

W cytometrze przepływowym mierzymy intensywność fluorescencji kompleksów stechiometrycznych DNA i barwnika, w cytometrze statycznym gęstość optyczną wybarwionego DNA. Wyniki otrzymujemy w postaci histogramów odzwierciedlających odsetki komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego. Pomiaru w cytometrze przepływowym dokonujemy na dużej liczbie komórek (10 tys. i więcej), czas pomiaru jest krótki i sięga paru minut. W cytometrze obrazowym zawartość DNA mierzymy pod kontrolą mikroskopu w kilkuset komórkach a sam pomiar często jest czasochłonny.

Zaletą cytometrii przepływowej jest szybkość pomiarów na dużej liczbie komórek oraz możliwość pomiarów kilkudziesięciu parametrów jednocześnie, wadą brak możliwości morfologicznej identyfikacji komórek i konieczność dokładnego przygotowania zawiesiny. Zaletą cytometrii obrazowej jest możliwość identyfikacji morfologicznej badanych komórek pod kontrolą obrazu mikroskopowego oraz selekcji artefaktów i komórek tkanek prawidłowych, wadą niewielka liczba mierzonych komórek i czasochłonność pomiaru. Gdy dysponujemy dostateczną ilością materiału można stosować cytometrię przepływową, w przypadku małej ilości komórek lepiej stosować cytometrię obrazową.

W pracy omówiono niektóre pochodzące z ostatnich lat wyniki cytometrycznych pomiarów zawartości DNA w wybranych nowotworach złośliwych oraz oceniono ich znaczenie rokownicze.

### Rak sutka

Wg wielu autorów ocena ploiddii DNA powinna być włączona do rutynowej oceny patologicznej raków sutka [2, 3, 5, 10-14]. Niwińska (1995) na materiale 106 chorych z inwazyjnym przewodowym rakiem sutka (T1-2 N0 M0) stwierdziła większość raków diploidalnych w grupie chorych długo żyjących i aneuploidalnych w grupie z rozsiewem nowotworu. Najlepsze rokowanie było w rakach typu diploidalnego (17% ryzyka rozsiewu), najgorsze w wysoce aneuploidalnych (100% ryzyka rozsiewu nowotworu w ciągu 10 lat) [11]. Kułakowski w podsumowaniu prac wielu autorów podkreśla, że oznaczanie ploiddii DNA stanowi wartościowe uzupełnienie klinicznych i histologicznych czynników prognostycznych w raku sutka bez przerzutów do węzłów chłonnych [5]. Podobne zalecenia dla raka sutka bez zajęcia węzłów chłonnych (N-) wysunęli inni autorzy [3, 13, 15]. Sharma i wsp. (1991) stwierdzili w analizie wieloczynnikowej aneuploidię jako jedyny czynnik rokowniczy wystąpienia wczesnej wznowy [12]. Clark i wsp. (1992) oraz Kallioniemi i wsp. (1988) w grupie chorych z (N-) wykazali odpowiednio 88% i 94% 5-letnich bezobjawowych przeżyć dla chorych z guzami diploidalnymi oraz 74% i 71% z guzami aneuploidalnymi [3, 15]. Arnerlov i wsp. w grupie 150 chorych stwierdzili brak korelacji pomiędzy ploiddią DNA a wznową miejscową, wystąpieniem przerzutów i okresem przeżycia [16], podobnie Owainati i wsp. [17]. Dla raków sutka w stopniu zaawansowania II B i III (N+) wyniki badań korelacji pomiędzy ploiddią DNA a cechami klinicznymi i rokowaniem są sprzeczne [14, 15]. Fallenius i wsp. (1988) stwierdzili ścisłą korelację pomiędzy ploiddią DNA a stopniem złośliwości histologicznej nowotworu, nie stwierdzili natomiast zależności pomiędzy ploiddią DNA a brakiem lub zajęciem węzłów chłonnych [18].

W wielu badaniach stwierdzono zależność pomiędzy wartością ploiddii DNA a obecnością receptorów estrogenowych w komórkach nowotworowych. W guzach diploidalnych stwierdzono wysokie odsetki komórek ER+, natomiast w guzach aneuploidalnych niskie [4, 15].

Killeen i wsp. (1991) podkreślili znaczenie prognostyczne stwierdzenia aneuploidii w raku przewodowym *in situ* – może to mieć znaczenie w doborze chorych do oszczędzającego zabiegu przy braku innych zdecydowanych czynników rokowniczych [13].

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że dla raków z N(-) stwierdzenie aneuploidii może być podstawą do rozpoczęcia leczenia uzupełniającego [4, 12] natomiast dla raków z N(+) badanie ploiddii DNA nie jest tak istotne prognostycznie.

### Rak płuca

Büchner i wsp. (1985) oraz Barlogie i wsp. (1980) w swych badaniach wykazali odpowiednio w 82,9% i 85,0% raków płuca aneuploidalną zawartość DNA [19, 20]. Sahin i wsp. (1990) stwierdzili na 146 badanych niedrobnokomórkowych raków płuca w 58% aneuploidię, w 42% diploidię. Chorzy z diploidalnym płaskonabłonkowym rakiem płuca przeżyli statystycznie znacząco dłużej niż z aneuploidalnym (5-letnie przeżycie odpowiednio w 70% i 26% przy  $p=0,002$ ) niezależnie od stopnia zaawansowania klinicznego. W innych typach histologicznych takiej zależności nie stwierdzono. Ponadto nie stwierdzono zależności pomiędzy ploidią DNA a innymi czynnikami kliniczno-histopatologicznymi, jak stopień zaawansowania klinicznego wg TNM, stopień zróżnicowania komórek, powierzchnia jądra czy indeks mitotyczny [21]. Ogawa i wsp. (1992) stwierdzili zależność pomiędzy wystąpieniem aneuploidii a liczbą zajętych przez przerzuty węzłów chłonnych, co wiązało się z gorszym rokowaniem u tych chorych [22]. Część autorów widzi zależność pomiędzy stwierdzeniem aneuploidii a krótszym okresem przeżycia chorych z rakiem niedrobnokomórkowym [1, 22-25], inni takiej zależności nie potwierdzili [26, 27]. Doniesienia wielu autorów dotyczące raka drobnokomórkowego są sprzeczne, jednak większość uważa, że z tym nowotworem przeżycie chorych z guzem diploidalnym lub aneuploidalnym jest podobne [19, 27]. W jednym doniesieniu [6] sugeruje się, że źle rokujące anaplastyczne raki płuc mają zwykle diploidalny profil DNA. Konieczne są dalsze badania dla określenia znaczenia rokowniczego pomiarów ploidi DNA w rakach płuca.

### Rak jelita grubego

Czerniak i wsp. (1988) wykazali, że ploidi DNA lepiej koreluje z przebiegiem klinicznym niż stopniowanie histopatologiczne wg Duke'sa [6]. Pomimo nawet dużego zaawansowania miejscowego diploidalne guzy jelita grubego rokują stosunkowo dobrze, mało zaawansowane ale aneuploidalne natomiast rokują źle [4, 6]. Böttger i wsp. (1993) badając zawartość DNA raków w grupie 137 chorych nie stwierdzili zależności pomiędzy wartością ploidi DNA a bezobjawowym okresem przeżycia [28]. W tej pracy podsumowano wyniki uzyskane przez 37 zespołów badaczy i stwierdzono znaczne różnice w odsetkach aneuploidii oraz brak jednoznacznej odpowiedzi na znaczenie prognostyczne oznaczenia ploidi DNA w raku jelita grubego [28]. Autorzy sugerują, że rokowanie w raku jelita grubego zależy od zaawansowania klinicznego, głębokości nacieku i stopnia złośliwości komórek nowotworu.

### Rak przełyku

Przewaga populacji komórek z aneuploidalną zawartością DNA może wskazywać na agresywny przebieg płaskonabłonkowego raka przełyku, związany z częstszym i szybszym wystąpieniem wznowy miejscowej niż w przypadku guzów diploidalnych [29-31].

W innej pracy zauważono różnicę wartości ploidii DNA w raku śródnabłonkowym i inwazyjnym, podkreślono różne wartości ploidii DNA w obrębie tego samego guza co może potwierdzać tezę o wielośrodkowej karcynogenezie raka przełyku [32].

### **Rak żołądka**

Zauważono różnicę w zawartości DNA w zależności od lokalizacji guza. W 96% guzów zlokalizowanych we wpuście lub proksymalnej części żołądka stwierdzono aneuploidię w porównaniu z 50% guzów części dystalnej żołądka [1]. Aneuploidia była powiązana z krótszym okresem przeżycia w grupie chorych z guzem części dystalnej żołądka [1]. W wielu pracach uzyskano przeciwstawne wyniki badań nad znaczeniem rokowniczym ploidii DNA. Część autorów nie stwierdziła znaczenia rokowniczego wykrycia aneuploidii [32, 34], inni stwierdzili zależność pomiędzy aneuploidią a większym zaawansowaniem klinicznym i rokowaniem [35, 36]. Sprzeczne wyniki sugerują, że nadal podstawowe znaczenie rokownicze w raku żołądka ma zaawansowanie kliniczne (TNM), lokalizacja guza i typ histologiczny a nie wartość ploidii DNA [1, 33].

### **Rak wątroby, wątrobiak**

Zależność pomiędzy aneuploidią a złym rokowaniem w nowotworach wątroby jest mniej zaznaczona niż w raku przełyku i wnosi niewiele do rokowania [1]. Schmidt i wsp. (1993) nie stwierdzili znaczenia rokowniczego wartości ploidii DNA w wątrobiaku lecz jedynie zauważalną tendencję bez znamienności statystycznej, co może jednak wynikać z liczebności grupy (29 chorych) [37]. Inni autorzy badając zawartość DNA w wątrobiaku potwierdzili [38] lub nie potwierdzili [39] zależność aneuploidii z gorszym rokowaniem. W raku wątrobowo-komórkowym uzyskano sprzeczne wyniki badań wpływu ploidii DNA na rokowanie [37, 40]. Niewielka liczba badań wymaga ich kontynuacji.

### **Rak nerki**

Aneuploidię jako gorszy czynnik rokowniczy stwierdzono w kilku badaniach [41, 42]. W badaniu na dużej grupie 206 chorych na jasnokomórkowego raka nerki wykryto niezależne znaczenie rokownicze wartości ploidii DNA – chorzy z guzem aneuploidalnym mieli krótszy okres do wystąpienia wznowy oraz krótszy okres przeżycia [42]. Ljungberg i wsp. (1988) stwierdzili obecność przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych lub naciekanie torebki tylko w grupie guzów aneuploidalnych, również przerzuty odległe wystąpiły wcześniej i były liczniejsze w tej grupie [43]. Niewielka liczba badań nie pozwala na jednoznaczne wnioski i zalecenia lecznicze [1].

### **Rak pęcherza moczowego**

Aneuploidalna ilość DNA w komórkach raka należy do czynników zwiększających ryzyko nawrotu powierzchniowych (nie przekraczających błony śluzowej) raków pęcherza moczowego [44]. Inni autorzy również potwierdzają złe znaczenie rokownicze

wykrycia aneuploidii i występowanie jej w bardziej zaawansowanych miejscowo guzach [45]. Demkow (1995) określa aneuploidalną zawartość DNA w komórkach raka pęcherza moczowego jako czynnik zwiększający ryzyko nawrotu powierzchniowych raków, w których zawartość DNA jest lepszym czynnikiem rokowniczym niż histologiczna ocena stopnia zróżnicowania – G [44]. Diploidalna zawartość DNA występuje częściej w guzach o niższym stopniu złośliwości klinicznej i histologicznej [44, 45]. Aneuploidia jest też związana z krótszym okresem przeżycia chorych [4, 45].

### **Rak prostaty**

Badanie ploidii DNA w raku prostaty ma istotne znaczenie rokownicze [1, 46, 47]. Peters-Gee i wsp. (1992) stwierdzili znaczącą statystycznie różnicę odsetka chorych ze stwierdzoną progresją po pierwotnym zabiegu chirurgicznym pomiędzy grupą aneuploidalną i diploidalną [47]. Stwierdzono zależność pomiędzy aneuploidią DNA a podwyższonym poziomem PSA [1]. Odsetek guzów aneuploidalnych wzrasta wraz ze wzrostem zaawansowania klinicznego, przykładowo Flanigan i wsp. (1994) stwierdzili diploidię w 90% guzów w stadium T1a i tylko w 50% guzów w stadium T1b [48].

W niektórych badaniach nie potwierdzono gorszego rokowania chorych z guzami aneuploidalnymi [49]. Wydaje się, że badanie ploidii DNA ma szczególne znaczenie rokownicze w grupie chorych w stadium bez przerwania torebki i bez zajęcia regionalnych węzłów chłonnych, które to cechy są najbardziej istotne rokowniczo. Wartość ploidii DNA nie powinna jednak wpływać na rodzaj leczenia.

### **Rak jajnika**

Aneuploidia jest uważana za jeden z głównych czynników rokowniczych w zaawansowanym nabłonkowym raku jajnika [4, 50-52]. Stwierdzono zawartość aneuploidalną DNA w 60 do 80% raków nabłonkowych, aneuploidia korelowała w sposób istotny z zaawansowaniem klinicznym i typem histologicznym [4, 50, 52]. Znacząco krótszy okres przeżycia stwierdzono u chorych z guzem aneuploidalnym – cecha ta w niektórych analizach mono- i wieloczynnikowych była bardziej znacząca od pozostałych badanych cech [4, 52]. Średni czas przeżycia dla chorych z guzem aneuploidalnym wyniósł w jednej z badanych grup 13 miesięcy, dla chorych z guzem diploidalnym 60 miesięcy [4]. W jednym z badań nad znaczeniem rokowniczym ploidii DNA nie stwierdzono znaczenia rokowniczego wystąpienia aneuploidii [53]. Obecnie zaleca się badanie wartości ploidii DNA jako element diagnostyczny i rokowniczy w raku jajnika, szczególnie w guzach o tzw. granicznej złośliwości [51].

### **Rak szyjki macicy**

Zależność pomiędzy wartością ploidii DNA a rokowaniem nie jest jednoznacznie określona w raku szyjki macicy [4, 54]. Lai i wsp. (1993) potwierdzili znaczenie

rokownicze wartości ploidii DNA we wczesnych stadiach choroby, jednocześnie jednak nie uznali tej cechy za ważniejszą od innych dotychczas opisywanych (jak zaawansowanie kliniczne wg FIGO, głębokość nacieku czy wielkość guza) [54]. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy [55]. W innych pracach nie stwierdzono wpływu wartości ploidii DNA na rokowanie chorych [56, 57]. Ze względu na odmienne wyniki uzyskane w szeregu pracach rola pomiaru ploidii DNA w raku szyjki macicy jest daleka od wyjaśnienia [1].

### **Rak trzonu macicy**

W kilku badaniach stwierdzono gorsze rokowanie chorych ze stwierdzoną aneuploidią w raku trzonu macicy [54, 58, 59]. W największej liczebnie badanej grupie chorych przez Lindahla i wsp. (1987) aneuploidia była istotnie statystycznie powiązana z krótszym okresem przeżycia, wyższym stopniem złośliwości histologicznej (G), głębokością nacieku w endometrium. W analizie wieloczynnikowej tylko wartość ploidii była niezależnym znaczącym czynnikiem rokowniczym wystąpienia wznowy miejscowej [60].

### **Nowotwory tkanek miękkich i kości**

Pomiar ploidii DNA nie odgrywa znaczącej roli w diagnostyce patomorfologicznej oraz prognozowaniu przebiegu klinicznego mięsaków tkanek miękkich [61-63]. W jednym z badań stwierdzono nawet lepsze rokowanie u chorych z guzem aneuploidalnym [62]. Niewielka liczba badań oraz sprzeczne wyniki nie pozwalają na dokładne określenie roli pomiaru ploidii w mięsakach tkanek miękkich. W mięsakach kości (*osteosarcoma*) w dwóch doniesieniach stwierdzono gorsze rokowanie chorych z guzem aneuploidalnym [1, 64]. Mieli oni krótszy okres do wystąpienia wznowy oraz gorzej odpowiadali na chemioterapię [1]. Konieczne są dalsze badania na większych grupach chorych w celu określenia znaczenia wystąpienia nieprawidłowej zawartości DNA.

### **Nowotwory głowy i szyi**

W raku płaskonabłonkowym jamy ustnej stwierdzono zależność pomiędzy aneuploidią a rozmiarem guza: w zaawansowaniu T1 stwierdzono 7,6% guzów aneuploidalnych, w T2 76,9% a w T3 90,6%, stwierdzono również zależność pomiędzy aneuploidią a stopniem złośliwości: w G1 38,1% guzów aneuploidalnych, w G2 76,6% i w G3 92,0% [65]. W innych pracach stwierdzono krótszy czas życia dla guzów aneuploidalnych raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, krtani i gardła oraz języka [75]. Mała liczba badań nie pozwala jednak na jednoznaczne określenie znaczenia rokowniczego wartości ploidii DNA w nowotworach głowy i szyi.

### **Czerniak złośliwy**

Pomiary ploidii DNA wykonywane przez różnych autorów przyniosły sprzeczne obserwacje [7]. Na podstawie wyników badań własnych oraz innych autorów nie można uznać pojawienia się aneuploidii w komórkach czerniaka jako istotnie gorszy czynnik

rokowniczy. Najważniejszym czynnikiem rokowniczym pozostaje ocena grubości nacieku wg Breslowa oraz obecność przerzutów do węzłów chłonnych [1, 7].

### Podsumowanie

W wielu nowotworach złośliwych badano znaczenie rokownicze ploiddii DNA, jednakże w szeregu nowotworach istnieją nieliczne, często sprzeczne w wynikach doniesienia. Stąd dotychczas jedynie w kilku nowotworach zaleca się rutynowe stosowanie pomiarów ploiddii DNA w diagnostyce patomorfologicznej. Dotyczy to szczególnie raka sutka w stadium T1-2N0M0, raka jelita grubego (Duke's A,B,C), raka prostaty (stadium A,B), pęcherza moczowego, trzonu macicy i jajnika. Stwierdzenie nieprawidłowej zawartości DNA nie może być zawsze uznane za zły czynnik rokowniczy. W niektórych nowotworach o agresywnym przebiegu klinicznym stwierdza się diploidalną zawartość DNA co nakazuje ostrożność w wysuwaniu wniosków. Dotyczy to np. anaplastycznego raka płuca i szyjki macicy czy raka żołądka o tzw. rozlanym rozroście. Badanie ploiddii DNA nie pozwala też na odróżnienie zmian łagodnych od złośliwych. Wydaje się również, co nie było przedmiotem doniesienia a co wskazują liczne badania, że stwierdzenie nieprawidłowej aneuploidalnej wartości DNA nie jest wskaźnikiem większej zdolności do przerzutowania. W badaniach nie zauważono bowiem wzrostu odsetka aneuploidii w komórkach przerzutów w stosunku do komórek ogniska pierwotnego jak i większej liczby przerzutów nowotworów aneuploidalnych.

Coraz szersza dostępność do aparatury cytometrycznej powinna zaowocować opracowaniem wyników badań na większych grupach chorych przed podjęciem decyzji o włączeniu ploiddii DNA do grupy pewnych czynników rokowniczych. Badania cytometryczne mogą pozwolić w przyszłości na dobór właściwej metody leczenia w niektórych nowotworach złośliwych. Obecnie jednak większe znaczenie mają nadal dotychczas uznawane kliniczne i histopatologiczne czynniki rokownicze.

### Piśmiennictwo

1. DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer. Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia: JB Lippincott, 1993.
2. Olszewski W. Wybrane zagadnienia z patomorfologii raka sutka. *Nowotwory*; Supplement II 1994; 44: 10-16.
3. Clark G, Dressler L, Owens M i wsp. Prediction of relapse or survival in patients with node-negative breast cancer by DNA flow cytometry. *N Engl J Med* 1989; 320: 627-633.
4. Merkel DE, McGuire WL. Ploidy, Proliferative Activity and Prognosis. DNA Flow Cytometry of Solid Tumors. *Cancer* 1990; 65: 1194-1205.
5. Kulakowski A. Rak sutka. *Przegląd Piśmiennictwa Chirurgicznego* 1994; 91-103
6. Czerniak B, Eppich EM, Gorczyca W i wsp. Cytometryczne pomiary ploiddii DNA w rakach jelita grubego. *Pat Pol* 1988; 39: 1-12.
7. Skowronek J. *Ocena zawartości DNA w komórkach czerniaka złośliwego*. Praca doktorska. Poznań: Akademia Medyczna, 1996.
8. Niezabitowski A, Lackowska B, Ryś J i wsp. Comparative Flow Cytometric DNA Analysis on Fresh and Paraffin-embedded Tumor Tissue in Different Neoplasms. *Pat Pol* 1994; 45: 203-208.
9. Skowronek J, Filipiak K, Karaś Z i wsp. Examination of DNA-ploidy in melanocytic nevi cells using video-imaging cytometry. *Polish J Pathol* 1997; 1: 37-41.



10. Witzig TE, Ingle JN, Cha SS i wsp. DNA ploidy and the percentage of cells in S-phase as prognostic factors for women with lymph node negative breast cancer. *Cancer* 1994; 74: 1752-1761.
11. Niwińska A. Nowe czynniki prognostyczne u chorych na raka sutka bez przerzutów do węzłów chłonnych. *Nowotwory* 1995; 45: 459-469.
12. Sharma S, Mishra MC, Kapur BML i wsp. The Prognostic Significance of Ploidy Analysis in Operable Breast Cancer. *Cancer* 1991; 68: 2612-2616.
13. Killeen JL, Namiki H. DNA Analysis of Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. *Cancer* 1991; 68: 2602-2607.
14. Witzig TE, Gonchoroff NJ, Therneau T i wsp. DNA Content Flow Cytometry as a Prognostic Factor for Node-Positive Breast Cancer. *Cancer* 1991; 68: 1781-1788.
15. Kallioniemi OP, Blanco G, Alavaikko M i wsp. Improving the prognostic value of DNA flow cytometry in breast cancer by combining DNA index and S-phase fraction: a proposed classification of DNA histograms in breast cancer. *Cancer* 1988; 62: 2183-2190.
16. Arnerlov C, Emdin SO, Lundgren B i wsp. Mammographic Growth Rate, DNA Ploidy, and S-Phase Fraction Analysis in Breast Carcinoma. *Cancer* 1992; 70: 1935-1942.
17. Owainati AA, Robins RA, Hinton C i wsp. Tumour aneuploidy, prognostic parameters and survival in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1987; 55: 449-454.
18. Fallenius AG, Franzen SA, Auer GU. Predictive Value of Nuclear DNA Content in Breast Cancer in Relation to Clinical and Morphologic Factors. *Cancer* 1988; 62: 521-530.
19. Büchner T, Hiddemann W, Wormann B i wsp. Differential Pattern of DNA-Aneuploidy in Human Malignancies. *Path Res Pract* 1985; 179: 310-317.
20. Barlogie B, Drewinko B, Schumann J i wsp. Cellular DNA Content as a Marker of Neoplasia in Man. *Amer J Med* 1980; 69: 195-203.
21. Sahin AA, Ro JY, El-Naggar AK i wsp. Flow Cytometric Analysis of the DNA Content of Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer* 1990; 65: 530-537.
22. Ogawa J, Tsurumi T, Shohtsu A. Relationship Between Tumor DNA Ploidy and Regional Lymph Node Changes in Lung Cancer. *Cancer* 1992; 69: 1688-1695.
23. Volm M, Hahn EW, Mattern J i wsp. Five-year follow-up study of independent clinical and flow cytometric prognostic factors for the survival of patients with non-small lung carcinoma. *Cancer Res* 1988; 48: 2928-2933.
24. Zimmermann PV, Hawson GA, Bint MH i wsp. Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. *Lancet* 1987; 2: 530-533.
25. Tirindelli-Danesi D, Teodori L, Mauro F i wsp. Prognostic significance of flow cytometry in lung cancer. *Cancer* 1987; 60: 844-851.
26. Ten Velde GPM, Schutte B, Vermeulen A i wsp. Flow cytometric analysis of DNA ploidy level in paraffin-embedded tissue of non-small-cell lung cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 445-460.
27. Bunn PA Jr, Carney DN, Gazdar AF i wsp. Diagnostic and biological implications of flow cytometric DNA content analysis in lung cancer. *Cancer Res* 1983; 43: 5026-5032.
28. Böttger TC, Potratz D, Stockle M i wsp. Prognostic Value of DNA Analysis in Colorectal Carcinoma. *Cancer* 1993; 72: 3579-3587.
29. Tsutsui S, Kuwano H, Mori M i wsp. A Flow Cytometric Analysis of DNA Content in Primary and Metastatic Lesions of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer* 1992; 70: 2586-2591.
30. Matsuura H, Sugimachi K, Ueo H i wsp. Malignant potentiality of squamous cell carcinoma of the esophagus predictable by DNA analysis. *Cancer* 1986; 57: 1810-1831.
31. Kaketani K, Saito T, Kobayashi M. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in esophageal cancer: aneuploidy as an index for highly malignant potential. *Cancer* 1989; 64: 887-889.
32. Tsutsui S, Kuwano H, Mori M i wsp. Comparison of cell nuclear DNA contents between intraepithelial and invasive components of oesophageal squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1991; 27: 620-624.
33. Böttger TC, Gabbert H, Stockle TC i wsp. DNA Image Cytometry in Stomach Carcinoma. *Cancer* 1992; 70: 1819-1824.
34. Ballantyne K, James P, Robins R i wsp. Flow cytometric analysis of the DNA content of gastric cancer. *Br J Cancer* 1987; 56: 52-54.
35. Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimura T i wsp. Correlation of DNA Ploidy and Proliferative Activity in Human Gastric Cancer. *Cancer* 1988; 62: 1497-1502.

36. Haraguchi M, Korenaga D, Kakeji Y i wsp. DNA Ploidy Is Associated With Growth Potential in Gastric Carcinoma. *Cancer* 1991; 68: 2608-2611.
37. Schmidt D, Wischmeyer P, Leuschner I i wsp. DNA Analysis in Hepatoblastoma by Flow and Image Cytometry. *Cancer* 1993; 72: 2914-2919.
38. Hata Y, Ishizu H, Ohmori K i wsp. Flow cytometric analysis of the nuclear DNA content of hepatoblastoma. *Cancer* 1991; 68: 2566-2670.
39. Conran RM, Hitchcock CL, Waclawiw MA i wsp. Hepatoblastoma: the prognostic significance of histologic type. *Ped Pathol* 1992; 12: 167-183.
40. Ezaki T, Kanematsu T, Okamura T i wsp. DNA Analysis of Hepatocellular Carcinoma and Clinicopathologic Implications. *Cancer* 1988; 61: 106-109.
41. Jochum W, Schroder S, Al-Taha R i wsp. Prognostic Significance of Nuclear DNA Content and Proliferative Activity in Renal Cell Carcinomas. *Cancer* 1996; 77: 514-521.
42. Reinwater LM, Hosaka Y, Farrow GM i wsp. Well differentiated clear cell renal carcinoma: Significance of nuclear deoxyribonucleic acid patterns studied by flow cytometry. *J Urol* 1987; 137: 15-20.
43. Ungberg B, Stenling R, Roos G. Prognostic value of DNA content in metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 1986; 136: 801-804.
44. Demkow T. Rak pęcherza moczowego. *Nowotwory Supplement* 1995; 45: 68-82.
45. Blomjous CEM, Schipper NW, Baak JPA i wsp. Retrospective study of prognostic importance of DNA flow cytometry of urinary bladder carcinoma. *J Clin Pathol* 1988; 41: 21-25.
46. Stelmach A. Diagnostyka urologiczna nowotworów miednicy. *Nowotwory Supplement* 1995; 45: 44-53.
47. Peters-Gee JM, Miles BJ, Cerny JC i wsp. Prognostic Significance of DNA Quantitation in Stage D1 Prostate Carcinoma with the Use of Image Analysis. *Cancer* 1992; 70: 1159-1165.
48. Flanigan RC, Catalona WJ, Richie JP i wsp. Accuracy of digital rectal examination and transrectal ultrasonography in localizing prostate cancer. *J Urol* 1994; 152: 1506.
49. Jones EC, McNeal J, Bruchofsky N i wsp. DNA content in prostatic adenocarcinoma. *Cancer* 1990; 66: 752-757.
50. Lage JM, Weinberg DS, Huettner PC i wsp. Flow Cytometric Analysis of Nuclear DNA Content in Ovarian Tumors. *Cancer* 1992; 69: 2668-2675.
51. Padberg B-Ch, Arps H, Franke U i wsp. DNA Cytophotometry and Prognosis in Ovarian Tumors of Borderline Malignancy. *Cancer* 1992; 69: 2510-2514.
52. Iversen O-E, Skaarland E. Ploidy assessment of benign and malignant ovarian tumors by flow cytometry: A clinicopathological study. *Cancer* 1987; 60: 82-87.
53. Brescia RJ, Barakat RA, Beller U i wsp. The prognostic significance of nuclear DNA content in malignant epithelial tumors of the ovary. *Cancer* 1990; 65:141.
54. Lai ChH, Hsueh S, Huang M-Y i wsp. The Uses and Limitations of DNA Flow Cytometry in Stage IB or II Cervical Carcinoma. *Cancer* 1993; 72: 3655-3662.
55. Jacobsen A. Prognostic impact of ploidy level in carcinoma of the cervix. *Am J Clin Oncol* 1984; 7: 475-480.
56. Rutgers DH, van der Linden PM, van Peperzeel HA. DNA-flow cytometry of squamous cell carcinomas from the human uterine cervix: The identification of prognostically different subgroups. *Radiother Oncol* 1986; 7: 249-258.
57. Dyson JED, Joslin CAF, Rothwell RI i wsp. Flow cytofluorometric evidence for the differential radioresponsiveness of aneuploid and diploid cervix tumours. *Radiother Oncol* 1987; 8: 263-272.
58. Rosenberg P, Wingern S, Simonsen E i wsp. Flow cytometric measurements of DNA index and S-phase on paraffin-embedded early stage endometrial cancer: an important prognostic indicator. *Gynecol Oncol* 1989; 35: 50-54.
59. Newbury R, Schuerch C, Goodspeed N i wsp. DNA content as a prognostic factor in endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 251-257.
60. Lindahl B, Alm P, Ferno M i wsp. Prognostic value of flow cytometrical DNA measurements in Stage I-II endometrial carcinoma: Correlations with steroid receptor concentration, tumor myometrial invasion, and degree of differentiation. *Anticancer Res* 1987; 7: 791-798.
61. Kreicbergs A, Tribukait B, Willems J i wsp. DNA Flow Analysis of Soft Tissue Tumors. *Cancer* 1987; 59: 128-133.

62. Kilpatrick SE, Teot LA, Geisinger KR i wsp. Relationship of DNA Ploidy to Histology and Prognosis in Rhabdomyosarcoma. *Cancer* 1994; 74: 3227-3233.
63. Pastel-Levy C, Bell DA, Rosenberg AE i wsp. DNA Flow Cytometry of Epithelioid Sarcoma. *Cancer* 1992; 70: 2823-2826.
64. Bauer HCF, Kreicbergs A, Silversward C i wsp. DNA Analysis in the Differential Diagnosis of Osteosarcoma. *Cancer* 1988; 61: 1430-1436.
65. Hemmer J, Kreidler J. Flow Cytometric DNA Ploidy Analysis of Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity. *Cancer* 1990; 66: 317-320.
66. Adamska K, Lewandowski L, Skowronek J i wsp. Zastosowanie analizy profilu DNA metodą cytometrii przepływowej i techniki video-imaging w nowotworach głowy i szyi. *Czas Stomat* 1996; 49: 254-260.

*Otrzymano 28 listopada 1996 r.*

*Przyjęto do druku 24 stycznia 1997 r.*

*Adres do korespondencji: Wielkopolskie Centrum Onkologii  
ul. Garbary 15, 61-866 Poznań, tel. 540-543.*