

PRACA ORYGINALNA – Original Article

JAROSŁAW DYBKO, DONATA URBANIAK-KUJDA, KATARZYNA KAPELKO-SŁOWIK,
KAZIMIERZ KULICZKOWSKI

Znaczenie prognostyczne odsetka komórek Bmi-1⁺ u chorych na ostrą białaczkę szpikową

Prognostic significance of Bmi-1 positive cells percentage in acute myeloid leukemia patients

Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku AM we Wrocławiu
Kierownik: Prof. dr hab. Kazimierz Kuliczkowski

STRESZCZENIE

Celem pracy było zbadanie ekspresji białka Bmi-1 w komórkach blastycznych oraz komórkach CD34⁺ u chorych na ostre białaczki oraz porównanie uzyskanych wyników z grupą kontrolną osób zdrowych. Na podstawie uzyskanych wyników określono czy odsetek komórek wykazujących ekspresję białka Bmi-1 ma wpływ uzyskanie remisji po leczeniu pierwszego rzutu.

SŁOWA KLUCZOWE: Bmi-1 – Ostra białaczka szpikowa – CD34

SUMMARY

The aim of the study was: 1) to evaluate the percentage of Bmi-1 positive cells in CD34⁺ population of leukemic blasts among the patients with newly diagnosed acute leukemias and compare the results with CD34⁺ populations isolated from the bone marrow of healthy donors, 2) to evaluate the prognostic significance of Bmi-1 protein expression in leukemic blasts.

KEY WORDS: Bmi-1 – Acute myeloid leukemia – CD34

WSTĘP

Bmi-1, należący do grupy genów Polycomb, zlokalizowany na chromosomie 10p13 [1], bierze udział w regulacji cyklu komórkowego i starzenia się poprzez hamowanie ekspresji genów locus *Ink4a* i *Arf*, odpowiednio *p16* i *p19* [2, 3]. Brak ekspresji *p16^{Ink4a}* prowadzi do powstania kompleksu kinazy zależnej od Cykliny D (Cdk4,6), która fosforyzuje białko genu retinoblastomy (pRB). Wysokofosforylowana forma pRB nie ma zdolności wiązania i hamowania aktywności czynnika transkrypcyjnego E2F, który tym samym umożliwia transkrypcję genów (polimerazy II DNA, Cykliny E, p19 i in.) niezbędnych do utrzymania ciągłości cyklu komórkowego. Mała ekspresja *bmi-1* powoduje odblokowanie *p16^{Ink4a}*, związanie czynnika E2F przez niskofosforylowaną formę pRB, zahamowanie transkrypcji, zatrzymanie cyklu komórkowego i w rezultacie starzenie się komórki [4]. Brak ekspresji *p19^{Arf}* sprzyja nagromadzeniu czynnika MDM2, powodującego rozkład białka P53, którego niski poziom w komórce hamuje apoptozę. Tym samym odblokowanie *p19^{Arf}*, przy małej ekspresji *bmi-1*, prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego i apoptozy [5, 6]. Duża ekspresja *bmi-1* w komórce powoduje więc na drodze obu mechanizmów jej unieśmiertelnienie. Postulowany jest także pośredni wpływ *bmi-1* na aktywację telomerazy i czynników hamujących apoptozę (inhibitor apoptozy 6, czynnik aktywujący płytki – acetylohydrołaza G) [7].

Białka grupy Polycomb (PcG) to duża rodzina białek sprzężonych z chromatyną, współtworzących ważny epigenetyczny mechanizm, który determinuje los komórki w czasie jej prawidłowego i patologicznego rozwoju. Tworzą kompleksy hamujące ekspresję wielu genów poprzez metylację histonów H3 w zależności od stopnia zróżnicowania komórki i fazy jej podziału. Poprzez supresję głównych stymulatorów różnicowania zapewniają tożsamość i samoodnawianie się komórki [8].

Jak wynika z dotychczasowych doświadczeń, na skutek zewnętrznego sygnału do samoodnowy, w komórkach macierzystych wzrasta ekspresja genu *bmi-1* [7]. Jego białkowy produkt, będący składową opisanymi kompleksów jest odpowiedzialny za zahamowanie transkrypcji wspomnianych już genów locus *Ink4a* i *Arf*, odpowiednio *p16* i *p19* [2, 3] stymulujących różnicowanie i starzenie się komórek, a także indukujących apoptozę. W dotychczasowych doświadczeniach wykazano zwiększoną ekspresję genu *bmi-1* w komórkach ostrej białaczki szpikowej w stosunku do HSCs [9].

Represyjny mechanizm transkrypcyjny BMI-1 i pozostałych białek kompleksu Polycomb, dotyczący genów różnicowania komórki i jej naturalnego rozwoju ze starzeniem i śmiercią włącznie, opisany w komórkach ostrej białaczki szpikowej [5] może leżeć u podstaw leukemogenezy [10]. Niski wskaźnik podziałowy białaczkowych komórek macierzystych oraz ich tzw. formy uśpione [11] czynią tę populację komórek niedostępnymi dla konwencjonalnej chemioterapii, nawet wspieranej allogenicznym przeszczepieniem szpiku. Białaczkowe komórki macierzyste są najprawdopodobniej odpowiedzialne za pierwotną oporność ostrych białaczek na leczenie oraz nawroty choroby.

CEL PRACY

Celem pracy było:

1. Oznaczenie białka BMI-1 we wczesnych komórkach progenitorowych CD34⁺ pobranych ze szpiku kostnego chorych z rozpoznaną *de novo* ostrą białaczką i porównanie komórkami CD34⁺ ze szpiku osób zdrowych.
2. Określenie wartości prognostycznej przeprowadzonych oznaczeń tj. znaczenia ilościowej relacji między komórkami Bmi-1⁺ oraz Bmi-1⁻ w prognozowaniu uzyskania całkowitej remisji w ostrych białaczkach

Pacjenci

Wszyscy badani chorzy byli pacjentami Kliniki Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku AM we Wrocławiu.

Jest to grupa 67 osób chorujących na ostrą białaczkę szpikową (27 kobiet i 40 mężczyzn, w wieku od 20 do 82 lat (mediana: 53 lata). Podział pacjentów według klasyfikacji WHO przedstawia Tabela 1.

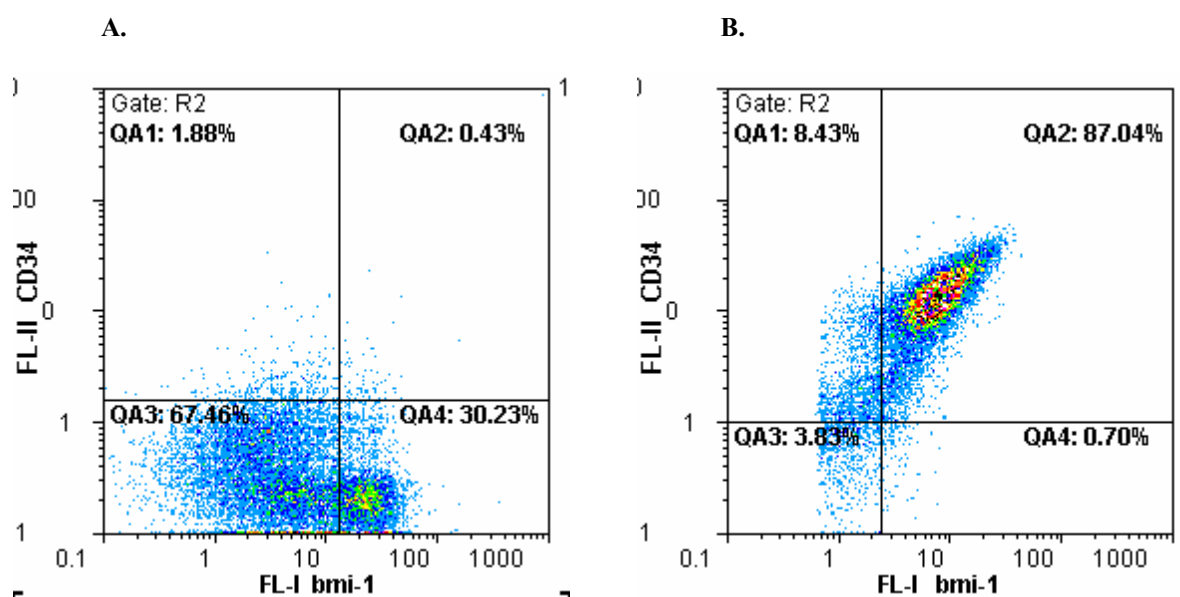
Wszyscy chorzy otrzymali chemioterapię indukcyjną zgodnie z rekomendacjami Polskiej Grupy Białaczkowej ds. leczenia ostrych białaczek (PALG). Pacjentów do 60 roku życia (46 osób) randomizowano zgodnie z obowiązującym programem PALG do leczenia jednym z 3 schematów chemioterapii indukcyjnej: DA, DAF lub DAC. Pacjenci po 60 roku życia (21 osób) zgodnie z zaleceniami PALG, otrzymali chemioterapię indukcyjną wg schematu DA w dawkach zredukowanych.

Tabela 1. Podział pacjentów z ostrą białaczką szpikową wg klasyfikacji WHO 2008
Table 1. Number of AML patients according to WHO 2008 classification

Typ białaczki wg WHO	Liczba pacjentów
Ostre białaczki szpikowe z określonymi zmianami cytogenetycznymi	Σ 11
t(8;21)(q22;q22);(AML1/ETO)	4
inv(16)(p13;q22) or t(16;16)(p13;q22);(CBFB/ MYH11)	1
zmiany 11q23(MLL)	6
Ostre białaczki szpikowe z wieloliniową dysplazją	Σ 5
Nie poprzedzone MDS	5
Ostre białaczki szpikowe gdzie indziej nie sklasyfikowane	Σ 51
Ostra białaczka szpikowa minimalnie zróżnicowana	8
Ostra białaczka szpikowa bez cech dojrzwania	13
Ostra białaczka szpikowa z cechami dojrzwania	15
Ostra białaczka mielomonocytoza	9
Ostra białaczka mielomonocytoza z eozynofilią	1
Ostra białaczka monoblastyczna	4
Ostra białaczka monocytowa	1

METODY

U wszystkich pacjentów wykonano oznaczenie białka BMI-1 w populacji blastów, z uwzględnieniem subpopulacji CD34⁺. Do badań pobierano szpik kostny w czasie rutynowej diagnostyki, w warunkach jałowych, u pacjentów przed rozpoczęciem leczenia cytostatycznego. Grupę kontrolną stanowili rodzeni dawcy szpiku, od których szpik do badań pobierano w trakcie procedury donacji.



Ryc. 1. Wyznaczenie odsetka komórek Bmi-1⁺ z wyodrębnieniem populacji Bmi-1⁺CD34⁻ (A) i Bmi-1⁺CD34⁺ (B) w bramce blastów.

Fig. 1. Bmi-1⁺CD34⁻ (A) and Bmi-1⁺CD34⁺ population (B) in blasts gate.

Po izolacji komórek jednojądrowych w gradiencie Ficollu z pobranych próbek szpiku kostnego, komórki zawieszono w 3% roztworze paraformaldehydu (PFA) i inkubowano w temperaturze 4°C przez 30 minut. Następnie permeabilizowano dodając 0,5% roztworu monolaurynianu polioksyetyleno-

sorbitanu (Tween 20) i inkubując 5 minut w temperaturze pokojowej. Barwienia wewnątrzkomórkowe wykonano przy użyciu mysiego przeciwciała antyBmi-1 (229F6, IgG1, Upstate), a zewnątrzkomórkowe – mysich antyCD34 (Dako) i antyCD45 (BectonDickinson). Analizę cytofluometryczną zabarwionych komórek przeprowadzono w cytofluometrycznej przepływowym Dako Galaxy (PARTEC, Niemcy) (Ryc. 1).

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o program EPIINFO Ver. 3.4.3 (z dnia 08-11-2007). Dla wszystkich grup zostały wyliczone wartości średnie (\bar{x}), i odchylenia standardowe (SD) badanych parametrów ciągłych. Weryfikację hipotezy o równości średnich parametrów w grupach przeprowadzono ze względu na małą liczbę przypadków testem nieparametrycznym sumy rang Kruskala-Wallis. Analizę wieloczynnikową wpływu czynników na uzyskanie remisji przeprowadzono wykorzystując regresję logistyczną (estymacja metodą quasi-Newtona). Wartości $p \leq 0.05$ uznawano za istotne statystycznie.

WYNIKI

Liczba komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów chorych na ostre białaczki i populacji komórek jednojądrowych prawidłowego szpiku

W populacji „zdrowych” komórek CD34⁺ odsetek komórek Bmi-1⁺ jest znamienne niższy niż w blastach CD34⁺ ostrej białaczki szpikowej ($p=0,04$). Jednocześnie porównując odsetek komórek Bmi-1⁺ w populacjach CD34⁺ i CD34⁻ komórek jednojądrowych prawidłowego szpiku oraz blastów ostrej białaczki szpikowej stwierdzono, że jest on istotnie wyższy w populacjach CD34⁺ (odpowiednio $p=0,01$, $p=0,00001$) Wyniki przedstawiają tabele 2 i 3.

Tabela 2. Porównanie odsetka komórek Bmi-1⁺ w populacji komórek CD34⁺ prawidłowego szpiku (MNC) i blastów CD34⁺ AML

Table 2. Bmi-1⁺ cells percentage in healthy donors bone marrow CD34⁺ population (MNC) compared with CD34⁺ AML blasts

		Odsetek komórek Bmi-1 ⁺	
		x	SD
1	CD34 ⁺ prawidłowego szpiku (kontrola)	37,0	19,6
2	Blasty CD34 ⁺ AML	52,5	24,0
p	1:2	0,04	

Tabela 3. Porównanie odsetka komórek Bmi-1⁺ w populacji komórek jednojądrowych prawidłowego szpiku (MNC) i blastów AML w zależności od ekspresji antygenu CD34

Table 3. Bmi-1 positivity in CD34⁺ and CD34⁻ subpopulations compared in two groups: MNC of healthy donors bone marrow and AML blasts

			Odsetek komórek Bmi-1 ⁺	
			x	SD
MNC prawidłowego szpiku (kontrola)	CD34 ⁺	37,0	19,6	
	CD34 ⁻	17,4	22,1	
p			0,01	
Blasty AML	CD34 ⁺	52,5	24,0	
	CD34 ⁻	27,1	19,8	
p			0,00001	

Rozkład komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów w zależności od odpowiedzi na leczenie indukcyjne

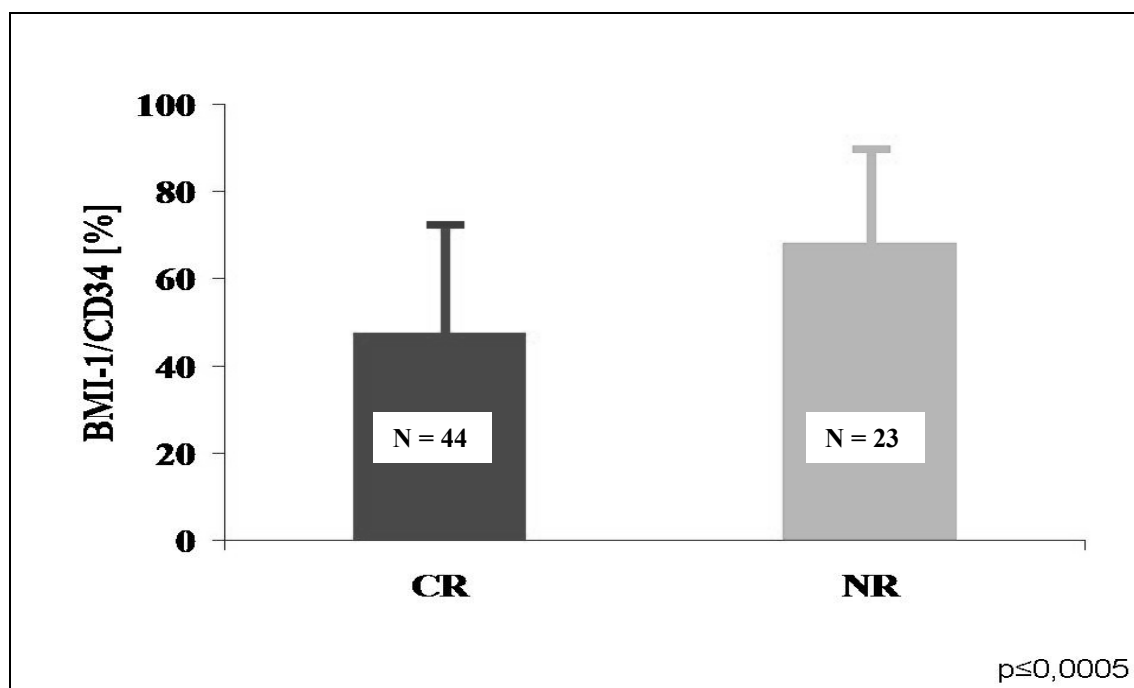
Różnica ekspresji białka Bmi-1 w populacji blastów i subpopulacji blastów CD34⁺ przy porównaniu „remisja” – „brak remisji” jest istotna w grupie chorych z AML (p=0,015 i p=0,013). Wyniki przedstawiono w tabeli 4. oraz na rycinie 2.

Tabela 4. Odsetek komórek Bmi-1⁺ w całej populacji blastów i subpopulacji blastów CD34⁺ w AML w zależności od odpowiedzi na leczenie indukcyjne (CR – całkowita remisja, NR – brak remisji)

Table 4. Bmi-positivity in the whole AML blasts population and CD34⁺ AML blasts subpopulation in “complete remission” and “no remission” groups

		Odsetek komórek Bmi-1 ⁺			
		Populacja blastów		Subpopulacja blastów CD34 ⁺	
		x	SD	x	SD
AML	CR	35,8	22,1	46,8	23,8
	NR	51,4	25,8	63,3	20,9
p		0,015		0,013	

x – średnia, SD – odchylenie standardowe



Ryc. 2. Porównanie średniego odsetka komórek wykazujących ekspresję Bmi-1 w subpopulacji blastów CD34⁺ w grupie chorych z AML w zależności od odpowiedzi na leczenie indukcyjne (CR całkowita remisja, NR – brak remisji)

Fig. 2. Mean percentage of Bmi-1 positive cells in CD34⁺ blasts subpopulation among AML patients compared in two groups with different response for first line treatment (CR – complete remission, NR – no remission)

Zależność między odsetkiem komórek wykazujących ekspresję Bmi-1 a uzyskaniem remisji – analiza wieloczynnikowa

Do analizy wieloczynnikowej metodą regresji logistycznej wprowadzono uzyskane drogą analizy jednoczynnikowej istotnie statystycznie wartości: leukocytozę ≥ 15 G/L, odsetek komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów $\geq 39\%$, odsetek komórek Bmi-1⁺ w subpopulacji blastów CD34⁺ $\geq 46\%$ i grupę ryzyka cytogenetycznego.

Na uzyskanie remisji, zgodnie z wynikami analizy wieloczynnikowej, mają wpływ wszystkie wprowadzone czynniki, ale jedynie wiek pacjenta i odsetek komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów są niezależne od siebie i od innych czynników.

Pacjent w wieku < 59 lat i z odsetkiem komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów $< 39\%$ ma większe szanse na uzyskanie remisji. Wyniki przedstawiono w tabeli 5 oraz na rycinie 3.

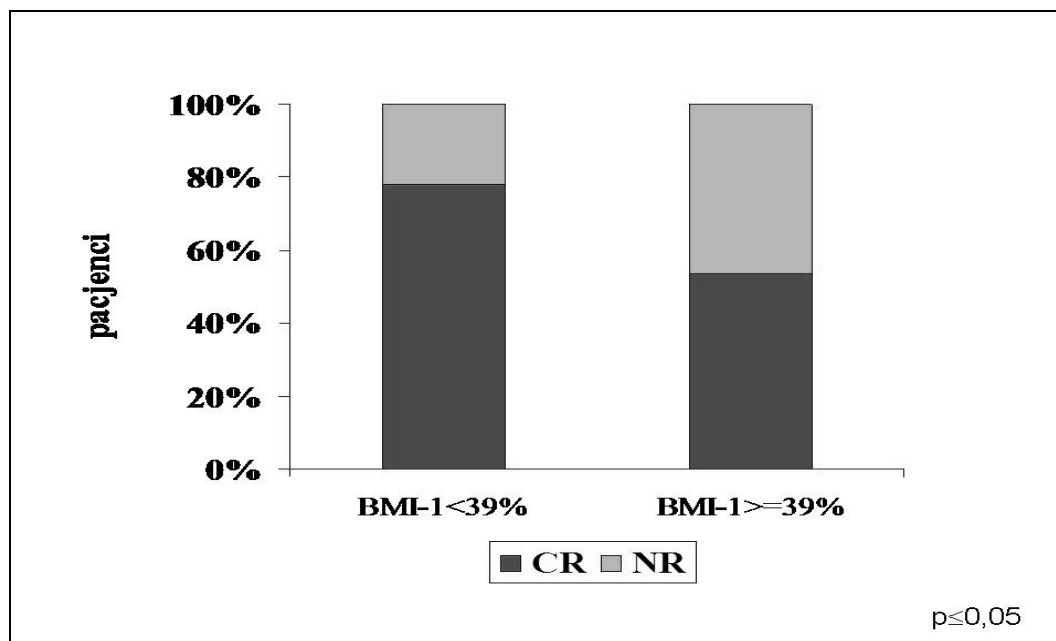
Tabela 5. Analiza wieloczynnikowa - czynniki mające wpływ na uzyskanie remisji

Table 5. Multivariate analysis – complete remission effecting factors

$$\chi^2_2 = 10,8, p = 0,00459$$

N=67 (NR=0, n=23; CR=1, n=44)

	Wiek 0<59 1≥59	Bmi-1 0<39 1≥39
Ocena	-1,06	-1,21
p	0,0398	0,0206
OR	0,347	0,299
- 95% CI	0,127	0,108
+95% CI	0,951	0,827



Ryc. 3. Regresja logistyczna – odsetek komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów AML jako niezależny czynnik uzyskania remisji (CR – całkowita remisja, NR – brak remisji)

Fig. 3. Logistic regression – the probability of achieving complete remission among AML patient predicted by percentage of Bmi-1 positive cells in blasts population (CR – complete remission, NR – no remission)

DYSKUSJA

Ostre białaczki to modelowy przykład autonomizacji jednego, patologicznego klonu komórkowego z zahamowaniem dojrzewania na różnych szczeblach rozwoju i stałym samoodnawianiem komórek nowotworowych, co przy zahamowaniu apoptozy prowadzi do szybkiego przyrostu masy guza, czyli liczby komórek białaczkowych. W dotychczasowych badaniach wykazano dużą ekspresję białka BMI-1 w niektórych komórkach nowotworowych. Na modelu mysim potwierdzono kluczową rolę BMI-1 w zachowaniu populacji komórek białaczkowych [12]. Okazało się, że także w komórkach blastycznych ludzkiej ostrej białaczki szpikowej ekspresja białka BMI-1 jest znacznie zwiększona [5], podobnie jak w raku piersi [13], pęcherza moczowego [14] czy nowotworach układu nerwowego [15].

Uzyskane wyniki, w których wykazano większy odsetek komórek Bmi-1⁺ w frakcji CD34⁺ zarówno chorych na ostre białaczki jak i zdrowych dawców szpiku, znajdują potwierdzenie w literaturze. Les-sard i wsp. [16] badając ekspresję genów grupy Polycomb w prawidłowych komórkach ludzkiego szpiku w izolowanych frakcjach CD34⁺ i CD34⁻ stwierdzili, że największą ekspresję genu *bmi-1* wykazują prymitywne komórki macierzyste (long-term culture initiating cells – LTC-IC), ekspresja ta zmniejsza się w miarę różnicowania, a w CD34⁻ prekursorach gen jest niewykrywalny metodą PCR. Te obserwacje potwierdzają wcześniejsze doświadczenia na myszach, w których wykazano kluczową rolę genu *bmi-1* w samoodnowie i zahamowaniu starzenia hematopoetycznych i białaczkowych komórek macierzystych [17].

Chowdhury i wsp. [5] badali ekspresję białka BMI-1 metodą cytometrii przepływowej w subpopulacjach blastów CD34⁺ i CD34⁻ ostrej białaczki szpikowej. Wykazali, że w całej populacji blastów AML znajdują się komórki Bmi-1⁺, niezależnie od ekspresji antygenów powierzchniowych, jednak we frakcji CD34⁺ odsetek tych komórek jest znacząco wyższy niż we frakcji CD34⁻. Badania te potwierdzają również wcześniejsze doświadczenia *in vitro* opisujące właściwości i fenotyp białaczkowych komórek macierzystych myszy (L-SCs). Wykazano w nich analogiczną do prawidłowej hematopoezy hierarchizację L-SCs, wysoki poziom transkryptu *bmi-1*, szczególnie we frakcji CD34⁺, w konsekwencji utrzymywanie samoodnowy bez różnicowania i zahamowanie apoptozy [16,18]. W naszych badaniach stwierdziliśmy, że wśród blastów ostrej białaczki szpikowej komórki Bmi-1⁺ stanowią znacząco wyższy odsetek we frakcji CD34⁺ niż CD34⁻, ponadto odsetek komórek Bmi-1⁺ jest istotnie wyższy w populacji CD34⁺ ostrych białaczek w porównaniu z populacją CD34⁺ prawidłowego szpiku. Może to oznaczać, że L-SCs są „unieśmiertelnione” (samoodnowa, brak różnicowania, zahamowanie apoptozy) w znacznie wyższym stopniu niż H-SCs. Miałoby to znaczenie szczególnie w leczeniu ostrych białaczek allogenicznym przeszczepieniem szpiku, gdzie zniszczenie białaczkowej komórki macierzystej wysokodawkowaną chemioterapią i, co ważniejsze, zastąpienie jej prawidłową, pochodzącą od dawcy, w wyniku immunologicznej „wojny”, ma kluczowe znaczenie.

Zwróciliśmy uwagę, że ten odsetek jest istotnie większy wśród chorych z ostrą białaczką szpikową, którzy nie uzyskali remisji po pierwszym leczeniu indukcyjnym i ta obserwacja nie była dotąd opisywana w literaturze. Przeprowadzona analiza wieloczynnikowa w prognozowaniu uzyskania remisji i całkowitego przeżycia wykazała, że odsetek komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów w grupie chorych z ostrą białaczką szpikową stanowi niezależny czynnik prognozujący uzyskanie całkowitej remisji po pierwszym leczeniu indukcyjnym. W analizie wieloczynnikowej metodą regresji proporcjonalnego hazardu Cox'a w prognozowaniu całkowitego przeżycia (OS) nie stwierdzono niezależnego znaczenia odsetka komórek Bmi-1⁺ w populacji blastów, chociaż w analizie jednoczynnikowej niski odsetek tych komórek wiąże się z istotnie dłuższym przeżyciem całkowitym. Chowdhury i wsp. [5] w swojej publikacji dotyczącej ostrej białaczki szpikowej, uzyskali istotne statystycznie wyniki dotyczące ekspresji BMI-1 w prognozowaniu całkowitego przeżycia, czasu wolnego od nawrotu i czasu trwania remisji. Z kolei Mihara i wsp. [19] w swoim badaniu dotyczącym pacjentów z MDS wykazali, że odsetek ko-

mórek Bmi-1⁺ w populacji CD34⁺ stanowi czynnik prognozujący całkowite przeżycie. Stwierdzili, że duży odsetek komórek Bmi-1⁺ korelujący z wysokim IPSS wiąże się z istotnie krótszym przeżyciem całkowitym. Grubach i wsp. [20] badając ekspresję genów grupy Polycomb w komórkach blastycznych przy rozpoznaniu ostrej białaczki, po uzyskaniu remisji i w czasie nawrotu, stwierdzili, że duża przy rozpoznaniu ekspresja *bmi-1* znacząco obniża się po uzyskaniu remisji i w przypadkach wznowy jest porównywalna z wynikami z okresu rozpoznania.

Badania nad czynnikami ryzyka ostrych białaczek, a tym samym ustaleniem optymalnej terapii warunkującej uzyskanie remisji i wyleczenie w poszczególnych grupach chorych doprowadziły do powstania nowej klasyfikacji AML, w zależności od obecności aberracji chromosomalnych i związanych z nimi markerów molekularnych. Ważne jest znalezienie nie tylko czynników prognostycznych, ale również potencjalnych markerów, będących celem terapii przeciwnowotworowej, jak to ma miejsce w stosowanym już rutynowo leczeniu inhibitorami kinazy tyrozynowej. Określenie pełnej charakterystyki molekularnej i genotypowej macierzystej komórki nowotworowej może stanowić w przełom w leczeniu nowotworów.

PIŚMIENNICTWO

1. Peters WG, Willemze R, Zwaan FE, Colly LP. Day-6 bone marrow aspirate for the prediction of response to remission induction therapy for acute myelogenous leukaemia. *Blut*. 1988; **57**(2): 91-95.
2. Moore MA, Metcalf D. Cytogenetic analysis of human acute and chronic myeloid leukemic cells cloned in agar culture. *Int J Cancer*. 1973; **11**(1): 143-152.
3. Passegue E, Jamieson CHM, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; **100**: 11842-11849.
4. Bonnet D. Normal and leukemic stem cells. *Br J Hematol*. 2005; **130**: 469-479.
5. Chowdhury M, Mihara K, Yasunaga S, Ohtaki M, Takihara Y, Kimura A. Expression of Polycomb-group (PcG) protein BMI-1 predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2007; **21**: 116-1122.
6. Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ i wsp. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med*. 2004; **351**(7): 657-667.
7. Park I-K, Morrison SJ, Clarke MF. Bmi1, stem cells, and senescence regulation. *J Clin Invest*. 2004; **113**: 175-179.
8. Raaphorst FM. Self-renewal of hematopoietic and leukemic stem cells: a central role for the Polycomb-group gene Bmi-1. *Trends Immunol*. 2003; **24**: 522-524.
9. Park I-K, Morrison SJ, Clarke MF. Bmi1, stem cells, and senescence regulation. *J Clin Invest*. 2004; **113**: 175-179.
10. Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature*. 2003; **423**: 255-260.
11. Hope KJ, Jin L, Dick JE. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat Immunol*. 2004; **5**(7): 738-743.
12. Bharti AC, Shishodia S, Reuben JM i wsp. Nuclear factor-kappaB and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood*. 2004; **103**(8): 3175-3184.
13. Kim JH, Yoon SY, Jeong SH i wsp. Overexpression of Bmi-1 oncoprotein correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer. *Breast*. 2004; **13**: 383-388.
14. Qin ZK, Yang JA, Ye YL i wsp. Expression of Bmi-1 is a prognostic marker in bladder cancer. *BMC Cancer*. 2009; **9**: 61.
15. Bea S, Tort F, Pinyol M, i wsp. BMI-1 gene amplification and overexpression in hematological malignancies occur mainly in mantle cell lymphomas. *Cancer Res*. 2001; **61**: 2409-2412.
16. Lessard J, Baban S, Sauvageau G. Stage-specific expression of polycomb group genes in human bone marrow cells. *Blood*. 1998; **91**: 1216-1224.
17. Mehrhof FB, Schmidt-Ullrich R, Dietz R, Scheidereit C. Regulation of vascular smooth muscle cell proliferation: role of NF-kappaB revisited. *Circ Res*. 2005; **96**(9): 958-64.
18. Strair RK, Gharibo M, Schaar D i wsp. Nuclear Factor- κ B Modulation in Patients Undergoing Induction Chemotherapy for Acute Myelogenous Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2008; **14**(22): 7564-7568.

19. Braun T, Carvalho G, Coquelle A i wsp. NF-kappaB constitutes a potential therapeutic target in high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2006; **107**(3): 1156-1165.
20. Grubach L, Juhl-Christensen C, Rethmeier A i wsp. Gene expression profiling of Polycomb, Hox and Meis genes in patients with acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol*. 2008; **81**: 112-122.

Praca wpłynęła do Redakcji 07.09.2010 r. i została zakwalifikowana do druku 12.10.2010 r.

Adres Autora:

Dr n. med. Jarosław Dybko

Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku AM we Wrocławiu

50-367 Wrocław

ul. Pasteura 4

Tel. 71 784 25 87

e-mail: dybko@post.pl