

zielononóżka kuropatwiana oraz prof. Zygmunta Surdackiego i prof. Aleksandra Walkiewicza w ochronę świni puławskiej, prof. Ewalda Sasimowskiego i prof. Mariana Kapronia – konika polskiego i konia biłgorajskiego, prof. Zygmunta Litwińczuka – bydła białogrzbiatego, a prof. Romana Dziedzica – głuszcza. Również i obecnie wielu profesorów Wydziału aktywnie uczestniczy w tym tak ważnym przedsięwzięciu, jakim jest ochrona zasobów genetycznych naszych rodzimych ras zwierząt. Wymienić tutaj należy m.in. prof. Andrzeja Stasiaka i dr. hab. Marka Babicza (świnia puławska), prof. Tomasza Gruszeckiego i prof. Mirosława Piętę (owca uhruska), dr. hab. Ryszarda Kolstrunga (kuc feliński), prof. Grażynę Jeżewską-Witkowską (kury polbar i zielononóżka kuropatwiana).

Podkreślić należy również fakt, że młoda kadra poszerza i rozwija swoje zainteresowania naukowe na inne dyscypliny i dziedziny. Potwierdza to fakt uzyskiwania stopni naukowych (doktora i doktora habilitowanego) w innych jednostkach naukowych. W ostatnim 10-leciu stopień doktora habilitowanego nauk biologicznych uzyskali dr Andrzej Demetraki-Paleolog (w 2010 r. na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UMK w Toruniu) i dr Tomasz Mieczan (w 2011 r. na Wydziale Biologii UWM w Olsztynie), a stopień doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia:

dr Joanna Barłowska (w 2008 r.), dr Mariusz Florek (w 2010 r.) i dr Jolanta Król (w 2012 r.) – wszyscy trzej na Wydziale Technologii Żywności UR w Krakowie. Stopień doktora nauk biologicznych uzyskało 11 pracowników (5 osób na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UMCS, 2 – na Wydziale Przyrodniczym UPH w Siedlcach, 2 – na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym KUL, 1 – na Wydziale Biologii UAM w Poznaniu i 1 – na Wydziale Biologii UWM w Olsztynie), doktora nauk rolniczych w zakresie kształtowania i ochrony środowiska – 3 osoby na Wydziale Agrobiotechnologii UP w Lublinie, doktora nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia – 2 osoby na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie oraz 1 osoba w zakresie nauk o ziemi specjalność geologia (Instytut Nauk Geologicznych PAN w Warszawie) i geografia (Wydział Nauk Geograficznych i Geologicznych UAM w Poznaniu). Tego typu działania (uzyskiwanie stopni naukowych poza macierzystym Wydziałem) są bardzo pożądane, a wręcz niezbędne. Pozwalają bowiem poszerzyć ofertę edukacyjną o nowe kierunki i specjalności kształcenia, a także podejmować nowe problemy badawcze, które mogą być finansowane z innych źródeł. Można więc przyjąć, że będzie to w najbliższej przyszłości najważniejszy czynnik warunkujący rozwój i funkcjonowanie Wydziału.

Zaburzenia genomu mitochondrialnego w nowotworach człowieka i psa

Brygida Ślaska, Magdalena Surdyka, Sylwia Nisztuk, Katarzyna Plewka

Katedra Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej UP w Lublinie

Wyniki prowadzonych w Katedrze Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej badań z zakresu genomiki wskazują na możliwości szerokiego zastosowania molekularnych markerów mitochondrialnych w badaniach genomu zwierząt i człowieka oraz ich praktycznego wykorzystania [3, 4, 8, 9, 11]. Obecnie w Katedrze prowadzone są m.in. badania z zakresu genomiki mitochondrialnej nowotworów człowieka i psa. Współpraca z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie dotyczy onkogenomiki mitochondrialnej człowieka. Zainteresowanie rolą mitochondriów w procesie kancerogenezy wynika z faktu stwierdzenia deficytu oddechowego w komórkach dzielących się, a w szczególności w komórkach o przyspieszonej proliferacji. Powstały deficyt oddechowy miałyby wpływać na dalsze różnicowanie się komórek i powodować transformację nowotworową [3, 4]. Somatyczne mutacje mtDNA (mitochondrialnego DNA) stwierdzono w wielu nowotworach człowieka. Mutacje te w swoim założeniu powinny przede wszystkim powodować przemianę nowotworową przez zmianę zasobów energii komórkowej, zwiększenie mitochondrialnego oksydacyjnego stresu i modulację apoptozy [1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12].

Wiedza dotycząca zaburzeń występujących w materiale genetycznym komórek nowotworowych dotyczy głównie jądrowego DNA. Jednak rośnie liczba doniesień, w których w procesie nowotworzenia nie bez znaczenia pozostają uszkodzenia mtDNA [1, 2, 3, 4, 5, 9]. Mutacje występujące w mtDNA mogą być korzystne, czyli adaptacyjne, neutralne lub szkodliwe, czyli patogenne. Mutacje korzystne są wynikiem procesu adaptacji człowieka do zmieniających się warunków zewnętrznych, dzięki którym człowiek w czasie swojej ewolucji dostosował się do zmieniającego klimatu. Obec-

nie postuluje się, że adaptacyjne mutacje, które zaszły w mtDNA u naszych przodków w czasie przemieszczania się na inne kontynenty mogą mieć wpływ na predyspozycje do zapadania na niektóre choroby, w tym nowotwory [3, 4, 9].

Onkogenomika mitochondrialna człowieka

Ze względu na to, że w ostatnim czasie wskazuje się na udział mitochondriów w procesie kancerogenezy, jak i na rolę polimorfizmów jako czynników zwiększających ryzyko zachorowania na nowotwory, przeprowadzono badania mające na celu potwierdzenie tej hipotezy. Wstępnie zidentyfikowano haplotypy mtDNA związane ze zwiększonym ryzykiem występowania nowotworów [3, 4]. Na podstawie sekwencji 22 genów mt-tRNA ustalono mutacje i polimorfizmy w raku piersi kobiet. Analizując materiał z tkanki nowotworowej i krwi 50 pacjentek wykryto 8 polimorfizmów i 2 mutacje. Stwierdzono, że substytucje nukleotydowe, poprzez ich wpływ na strukturę drugorzędową i trzeciorzędową tRNA, mogą zaburzać funkcjonowanie mitochondriów oraz przyczyniać się do ujawnienia innych zmian w mtDNA. Mutacje w genach tRNA w raku piersi mogą mieć wpływ na funkcjonowanie komórki i powodować zaburzenia jej funkcjonowania, jak w przypadku chorób mitochondrialnych [4].

Wydaje się, że z uwagi na dużą liczbę mutacji w mitochondrialnym DNA w nowotworach mogą one stać się również, obok jądrowego DNA, markerami nowotworowymi. Dostępne są wyniki badań dotyczące wykrywania mutacji w moczu, krwi czy ślinie pacjentów chorych na nowotwory. W przypadku nowotworów głowy i szyi niemal 70% zmian wykrytych w guzie współistniało ze zmianami wykrytymi w ślinie pacjentów. Zmiany homoplazmatyczne wykryte w wydzielinie pobranej z oskrzeli pokrywały się w 80% przypadków ze zmianami w guzie oskrzeli, przy braku tych zmian w tkance prawidłowej [2, 3, 5, 9].

Występowanie i nasilenie objawów zaburzeń mitochondrialnych zależy od proporcji między prawidłowym a zmutowanym DNA. Dominacja zmutowanego mtDNA w komórce doprowadza do zaburzeń produkcji energii, co po pewnym czasie ujawnia się w postaci objawów klinicznych. Zależą one od typu uszkodzeń w mtDNA, stopnia heteroplazmii i wrażliwości danej tkanki na zaburzenia związane z oddychaniem komórkowym i mają charakter postępujący [1, 3, 6].

Nasuwa się jednak pytanie: czy obecne w mitochondrialnym DNA mutacje są pierwotne w stosunku do nowotworu, czy też są wynikiem powstałych zmian i procesów zachodzących w trakcie nowotworzenia. Na ich pierwotny charakter może wskazywać

ujawnianie się w postaci objawów klinicznych po długim okresie od zajęcia mutacji (w momencie osiągnięcia przewagi zmutowanego DNA) oraz postępujący powolny charakter tych objawów. Rola mutacji somatycznych w mtDNA w progresji nowotworów jest stale badana, a ich znaczenie, po wielu latach badań, nadal nie do końca wyjaśnione [1, 3, 4, 6, 9].

Onkogenomika mitochondrialna psa

Pies domowy (*Canis lupus familiaris*) jest najintensywniej badanym przedstawicielem rodziny Canidae, głównie ze względu na badania etiologii, patogenezę i objawów chorób dziedzicznych. Pies, jako gatunek, stał się obiecującym modelem do badań chorób genetycznych człowieka, w tym nowotworów, co spowodowało wzrost zainteresowania onkogenomiką. Dotychczasowe badania dotyczyły przede wszystkim mutacji mitochondrialnego DNA człowieka, a tylko nieliczni autorzy zajmowali się dokładną analizą wpływu mutacji mtDNA na proces nowotworzenia u psów [9, badania własne niepublikowane].

W przypadku fragmentów mtDNA, w tym pętli D i genów *CYTB*, *COI* i *ND1* w nowotworach psów pochodzenia nabłonkowego zidentyfikowano mutacje charakterystyczne dla tkanki zmienionej chorobowo i/lub krwi, które nie występowały w tkance zdrowej. Stwierdzono, że komórki nowotworowe u badanych psów wykazują szereg nieprawidłowości w strukturze mtDNA, o czym świadczą określone mutacje, głównie delecje i substytucje, które mogą być przyczyną lub skutkiem rozwoju choroby nowotworowej u badanych osobników. Wszystkie delecje oraz niektóre substytucje określone w kodujących fragmentach mtDNA (*CYTB*, *COI* i *ND1*) przyczyniły się do zaburzenia struktury kodowanych białek, co może wpływać na zaburzenia przebiegu procesu fosforylacji oksydacyjnej. Na uwagę zasługuje jedna z określonych mutacji w pętli D, charakterystyczna tylko dla guzów, której nie stwierdzono w tkance zdrowej, występująca z wysoką frekwencją. We fragmentach kodujących i niekodujących mtDNA określono mutacje specyficzne dla komórek nowotworowych, które nie występowały w tkance zdrowej, czyli ściśle związane z procesem nowotworzenia. Niewykluczone jest ich wykorzystanie jako molekularnych markerów diagnostycznych chorób nowotworowych psów [badania własne niepublikowane].

Mitochondrialna onkogenomika porównawcza człowieka i psa

Do chwili obecnej zidentyfikowano szereg genów, których mutacje odpowiedzialne są za dziedziczną predyspozycję do nowotworów człowieka i psa. Przede wszystkim dotyczy to genów zlokalizowanych w jądrowym DNA, ale również w mtDNA [9]. Wyniki badań genetycznego uwarunkowania nowotworów psów są niezwykle wartościowe, ponieważ mogą być wykorzystane w medycynie człowieka. Wysoka homologia sekwencji genomów psa i człowieka jest

jedną z przyczyn wysuwania tezy o podobnym uwarunkowaniu genetycznym transformacji nowotworowej u obu gatunków [7, 9, 10].

W dostępnym piśmiennictwie istnieje niewiele informacji na temat występowania, częstotliwości i znaczenia mutacji w przebiegu transformacji nowotworowej u psów [9], co wynika z faktu zsekwenjonowania genomu psa dopiero w 2005 roku. Był to początek porównawczych badań podłoża molekularnego chorób genetycznych psa i człowieka.

Ze względu na to, że mapowanie genomu człowieka zostało wstępnie zakończone kilka lat wcześniej, wiedza na temat transformacji nowotworowej u psów, w porównaniu z człowiekiem, jest mniej szczegółowa. Pomimo to pies, jako model do badań podłoża nowotworowego człowieka ma więcej zalet niż sztucznie indukowany mysz model [9].

Wskazano geny jądrowego DNA i region mtDNA, w których mutacje predysponują do wystąpienia podobnych typów nowotworów w analogicznych tkankach człowieka i psa. Należą do nich: *BRCA1*, *BRCA2*, *VHL*, *RAD51*, *Rb*, *PTEN*, *KIT*, *FLCN* oraz *D-loop*. Stwierdzono przy tym możliwość badania psa jako modelu dla raka sutka, raka nerki, siatkówczaka, polipów jelita grubego i nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego człowieka [9].

Stwierdzono występowanie mutacji w pętli D (*D-loop*, displacement loop) mtDNA zarówno u psa i człowieka w różnych typach nowotworów, w tym w nowotworze sutka u obu gatunków [9, badania własne niepublikowane]. Podobna sytuacja miała miejsce w przypadku niektórych genów łańcucha oddechowego. Mutacje związane z nowotworami odnotowano w przypadku genów *CYTB*, *COI* i *ND1* zarówno w przypadku nowotworów człowieka, jak również psa [2, 6, 9, 12, badania własne niepublikowane].

Literatura: 1. Czarnecka A.M., Golik P., Bartnik E., 2006 – J. Appl. Genet. 47, 67-78. 2. Fliss M.S., Usadel H., Caballero O.L., Wu L., Buta M.R., Eleff S.M., Jen J., Sidransky D., 2000 – Science 287, 2017-2019. 3. Grzybowska-Szatkowska L., Ślaska B., 2012 – Molecular Medicine Reports 6, 923-930. 4. Grzybowska-Szatkowska L., Ślaska B., 2012 – Mitochondrial DNA 23 (2), 106-111. 5. Okochi O., Hibi K., Uemura T., Inoue S., Takeda S., Kaneko T., 2002 – Clin. Cancer Res. 8, 2875-2878. 6. Petros J.A., Baumann A.K., Ruiz-Pesini E., Amin M.B., Sun C.Q., Hall J., 2004 – Proc. Natl. Acad. Sci. 102, 719-724. 7. Rivera P., von Euler H., 2011 – Vet. Pathol. 48 (1), 132-146. 8. Ślaska B., Grzybowska-Szatkowska L., 2011 – Mitochondrial DNA 22(4), 105-110. 9. Ślaska B., Grzybowska-Szatkowska L., Bugno-Poniewierska M., Surdyka M., Śmiech A., 2013 – Med. Weter. 69 (4), 195-202. 10. Ślaska B., Nisztuk S., Plewka K., Surdyka M., 2012 – Annales UMCS, sec. EE, 3, 96-105. 11. Ślaska B., Zięba G., Rozempolska-Rucińska I., Grzybowska-Szatkowska L., Jeżewska-Witkowska G., Prus J., 2010 – Annales UMCS, sec. EE, 4, 44-51. 12. Zhu W., Qin W., Bradley P., Wessel A., Puckett C.L., Sauter E.R., 2005 – Carcinogenesis 26, 145-152.

Disorders of the mitochondrial genome in human and canine tumors

Summary

Mitochondria are eukaryotic organelles that are involved in many metabolic pathways. These organelles play a major role in the process of oxidative phosphorylation (OXPHOS) and apoptosis. Genetic changes in mtDNA may disrupt these processes and lead to abnormal cell function. Abnormalities in nucleotide sequence of mitochondrial DNA are identified as being characteristics of malignant cells. Changes observed in mtDNA can occur in the early stage of carcinogenesis. Until now, no specific mutations for type of tumor have been found in mitochondrial DNA. After many years of research of mtDNA mutations in malignant transformation, it is still not clear whether mutations present in mitochondrial DNA are primary in relation to a cancer or secondary acquired during carcinogenesis. Disclosure of mutations after a long period of occurrence (when mutated gene occurs predominantly) and slowly progressive nature of symptoms may indicate a primary character of these mutations. Despite intensive studies, the impact of mitochondria on carcinogenesis process is still not clear. Continuation of studies on relationship between mutations of mtDNA and occurrence of cancers can become the basis for identification of prognostic and diagnostic markers for early detection of malignant transformation process and development of new methods of treatments for both humans and dogs. The results of study on oncogenomics of dog, as a model animal, can be employed in the future in human medicine.

KEY WORDS: mutations, genes, mtDNA, cancer