

MAGDALENA IZDEBSKA, ALINA GRZANKA, MACIEJ OSTROWSKI

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Karłowicza 24 85-092 Bydgoszcz
e-mail mizdebska@cm.umk.pl*

RAK PĘCHERZA MOCZOWEGO – MOLEKULARNE PODŁOŻE GENEZY I LECZENIA

WSTĘP

Rak pęcherza moczowego jest jednym z nowotworów układu moczowo-płciowego.

U mężczyzn występuje prawie 3-krotnie częściej niż u kobiet. Nowotwór ten wywodzi się najczęściej z nabłonka przejściowego wyściełającego pęcherz moczowy i może przybierać postać brodawki (brodawczak/łac. papilloma) wnikającej do wnętrza pęcherza. Ten typ komórek rakowych tzw. TCC (ang. transitional cell carcinoma) jest najlepiej poznany i najskuteczniej poddaje się leczeniu. Rak przejściowokomórkowy jest najczęstszym nowotworem pęcherza (ok. 90% przypadków), pozostałe to rak płaskonabłonkowy oraz gruczolakorak. Leczenie, podobnie jak i w przypadku innych guzów złośliwych, zależy od stadium zaawansowania (T) oraz stopnia zróżnicowania (G). Jeśli guz nie przekroczył blaszki właściwej błony śluzowej, zaliczamy go do nowotworów powierzchniowych, natomiast gdy wystąpiły nacieki do po-

wierzchni błony mięśniowej jest to stadium zaawansowane (BORKOWSKI on-line). Pierwszym etapem leczenia jest usunięcie tkanki nowotworowej. Stosuje się również leki podawane do pęcherza, leczenie immunostymulacyjne (szczepionka BCG – pozbawiony zjadliwości szczep *Mycobacterium bovis*), a czasem napromienianie. Bakterie zawarte w szczepionce BCG wywołują lokalnie stany zapalne aktywizując układ odpornościowy do walki z nowotworem. Mechanizm działania tej szczepionki nie jest do końca poznany, mimo to metoda ta jest stosowana z powodzeniem, głównie w leczeniu powierzchniowego raka pęcherza moczowego. Wyniki leczenia zależą od stadium zaawansowania nowotworu, a także indywidualnych cech pacjenta. Mimo, że zapadalność na ten nowotwór wzrasta, to odnotowuje się, głównie u mężczyzn znaczny spadek śmiertelności (patrz MILECKI i współaut. 2002).

CZYNNIKI ZWIĘKSZAJĄCE RYZYKO ZACHOROWANIA NA RAKA PĘCHERZA

Nie znamy dokładnego mechanizmu prowadzącego do zmiany prawidłowej komórki nabłonka pęcherza moczowego w nowotworową. Wiadomo jedynie, że przyczyniają się do tego mutacje i niestabilność genomu komórki (patrz STELLER 1995). Zasadnicze zmiany związane są z mutacją genów supresorowych (np. *p-53*) oraz aktywacją protoonkogenów (gen posiadający możliwość przekształcenia się w aktywny onkogen powodujący

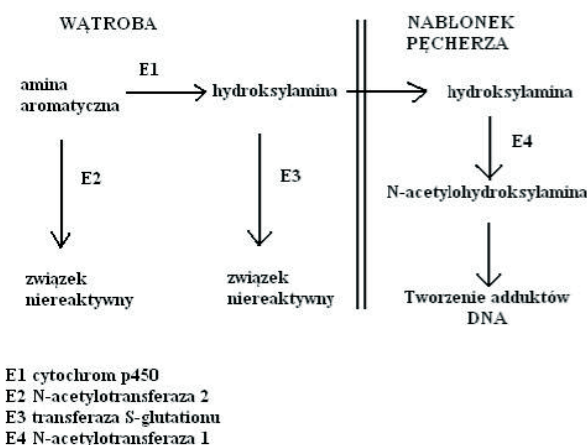
nowotwory), wywołanych m.in. działaniem związków toksycznych, promieniowania i stresu.

Od wielu lat naukowcy starają się stworzyć listę czynników, które zwiększają ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego.

SKIPPER i współaut (2003) wykazali, że u palaczy czterokrotnie wzrasta możliwość wystąpienia raka układu moczowo-płciowego. 4-aminobifenyl należący do amin aromatycz-

nych jest karcynogenem obecnym w dymie papierosowym, jak również w wielu chemikaliach przemysłowych. Tworzenie rakotwórczych związków zachodzi z udziałem białek wątrobowych, takich jak cytochrom P450, N-acetylotransferaza oraz transferaza S-glutajonu. Cytochrom P450 katalizuje m.in. hydroksylację amin aromatycznych, które dostając się do nabłonka pęcherza, są substratami dla N-acetylotransferazy¹. Efektem tej reakcji jest powstawanie związków powodujących mutacje DNA. Hydroksylamina może także ulec działaniu wątrobowej transferazy S-glutajonu, przyczyniającej się do powstania pochodnej amin aromatycznych nie działającej destrukcyjnie na DNA (Ryc.1). Czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia nowotworu jest również przewlekłe zapalenie pęcherza (patrz JUNG i MESSING 2000). Wiadomo, że stanom zapalnym towarzyszą liczne podziały mitotyczne oraz zmiany o charakterze atypii, metaplastji oraz dysplastji. Jedną z hipotez sugeruje wpływ bakterii redukujących azot na indukcję alkilacji (metylacja, etylacja itd.) zasad azotowych DNA. Wspomniane mikroorganizmy odpowiadają za stany zapalne układu moczowo-płciowego. Hipoteza ta powstała po zaobserwowaniu znacznego wzrostu poziomu związków azotowych w tych procesach.

Kolejnym czynnikiem zwiększającym ryzyko zachorowania na raka pęcherza jest cyklofosfamid (lek immunosupresyjny, hamujący podziały komórkowe). U 9 z 19 pacjentów poddanych tej terapii zaobserwowano mutację genu supresorowego *p-53*. Jednakże nie wiadomo, czy sam cyklofosfamid, czy jego metabolity powodują zmiany w obrębie tego genu (patrz JUNG i MESSING 2000).



Ryc. 1. Drogi metabolizmu amin aromatycznych.

U mężczyzn trzykrotnie częściej występuje rak pęcherza czyżby byli oni bardziej narażeni na czynniki karcynogenne?

Z pewnością większy odsetek mężczyzn pali papierosy oraz pracuje w przemyśle chemicznym. Jedną z hipotez zakłada także różnice w aktywności cytochromu P450 u mężczyzn i u kobiet. Białko to jest zaangażowane m.in. w reakcje hydroksylacji steroidów. Procesy te wymagają NADPH i O₂ i mają kluczowe znaczenie w etapach biosyntezy hormonów steroidowych. Męski hormon, testosteron, wpływa na wzrost podziałów komórkowych, natomiast nie oddziałuje na szlak programowanej śmierci (apoptozy) (OHNO 2000). Intensywność podziałów komórkowych jest zależna od stężenia testosteronu w organizmie. Im wyższa dawka tego hormonu, tym większa liczba proliferujących komórek.

MECHANIZM POWSTAWANIA I LECZENIA RAKA PĘCHERZA MOCZOWEGO

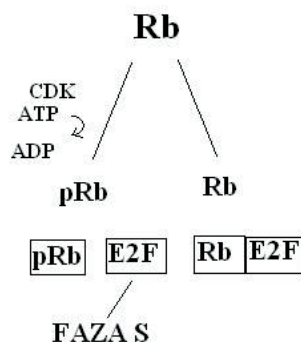
Badania na osobnikach heterozygotycznych wykazały, że delecja specyficznych alleli obserwowana w komórkach nowotworowych odgrywa kluczową rolę w transformacji nowotworowej. Zazwyczaj mutacje dotyczą genów kodujących białka, regulujące podziały komórkowe oraz kierujące komórki na drogę apoptozy. Jak już wspomniano, najczęściej stwierdzane są zmiany w supresorowym genie *p-53* (KAWASAKI i współaut.1996). W 50% przypadków raka pęcherza moczowego zidentyfikowano mutację genu *p-53*, która przyczynia się do zaburzenia cyklu komórkowego, prowadząc do powstania nowotworu

(LORENZO-ROMERO i współaut. 2003). Oprócz badań nad genem *p-53* prowadzone są także prace wyjaśniające rolę supresorowego genu *Rb*. Gen *Rb* (retinoblastoma) koduje jądrowe białko *Rb*, będące regulatorem cyklu komórkowego (patrz JUNG i MESSING 2000). Nieufosforylowane białko *Rb* negatywnie reguluje aktywność jednego z czynników transkrypcyjnych E2F wiążąc się z nim. Natomiast ufosforylowana postać tego białka nie łączy się z E2F. Wolny czynnik transkrypcyjny włącza ekspresję genów, których produkty kierują komórkę w fazę S cyklu, podczas której materiał genetyczny ulega zreplikowa-

niu. Mutacja genu *Rb* powoduje zahamowanie procesu fosforylacji białka Rb, którego brak zaobserwowano w komórkach guzów (Ryc. 2). Delecja długiego ramienia chromosomu 9, na którym znajduje się loci genów *Rb* i *p53*, została wykryta u 60% chorych na raka pęcherza.

Kolejną przyczyną powstawania nowotworów jest nadmierna i nieprawidłowa ekspresja onkogenów, powodująca powstanie cech nowotworowych. Produkty protoonkogenów pełnią ważną rolę w życiu komórki regulując jej wzrost, namnażanie i różnicowanie (patrz JUNG i MESSING 2000). Protoonkogen *c-erb-B2* koduje białko receptorowe podobne do receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). W komórkach nowotworowych amplifikacja genu *c-erb-B2* przyczynia się do jego nadekspresji, powodując nadmierną fosforylację (hiperfosforylację) białek regulujących wzrost komórek. Wykazano korelację pomiędzy nadekspresją genu *c-erb-B2* oraz powstawaniem guzów w pęcherzu moczowym. Podobne wyniki uzyskano badając inny onkogen *H-ras*. Białko Ras jest przedstawicielem rodziny małych białek G, zaangażowanych w przekazywanie sygnałów zewnątrzkomórkowych z udziałem kinaz tyrozynowych, a ich nadekspresja była wykrywana w komórkach nowotworowych (JUNG i MESSING 2000).

Zaburzenia równowagi pomiędzy podziałami a programowaną śmiercią komórki powodują powstawanie guzów. W celu zahamowania wzrostu guzów należy wprowadzić komórki na drogę apoptozy. Naukowcy starają się stosować terapię genową, która pozwoliłaby zahamować proliferację lub zwiększyć wrażliwość komórek na leki antynowotworowe (DUGGAN i współaut. 2001, GOMENZ-NAVARRO i współaut. 1999 oraz patrz: SZALA 2000, SZALA i współaut. 2001). Transformacja komórek raka pęcherza moczowego

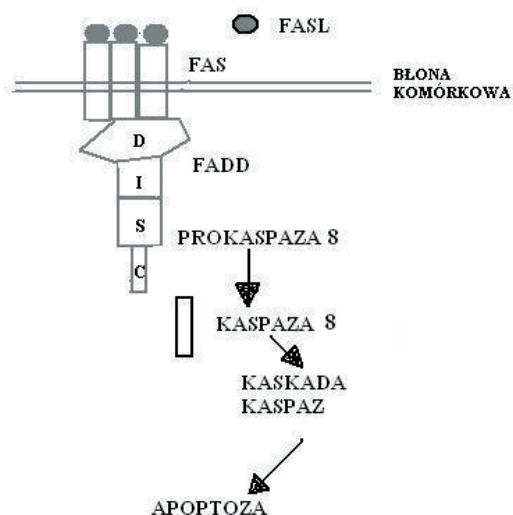


Ryc. 2. Wpływ form białka Rb na cykl komórkowy

wektorem zawierającym zmutowany gen p-53 w kodonie 273 (zamiana argininy na histydyne), powodowała zwiększenie wrażliwości na leki antynowotworowe – cisplatynę oraz doksorubicynę (CHANG i współaut. 2000; CHANG i LAI 2000, 2001; WADA 2001). Także kompleks kwasu retinowego z metalami (głównie Ni) hamował proliferację komórek oraz obniżał poziom zmutowanej formy p53 w komórkach nowotworowych (WANG i współaut. 2000; LOTAN i współaut. 1995, 1996). W doświadczeniach używano syntetycznych (4HPR, CD437) i naturalnych (ATRA, 9-cis retinoid) retinoidów. Obie grupy związków wywoływały apoptozę, jednak silniejszy efekt proapoptotyczny uzyskano stosując syntetyczne analogi tych związków. Indukcja apoptozy przez retinoid odbywa się z udziałem receptorów jądrowych, które pełnią rolę czynników transkrypcyjnych (patrz MANTEUFFEL-CYMBOROWSKA 1999, KWIATKOWSKA i KWIATKOWSKA-KORCZAK 2000). Określone retinoidy wykazują zróżnicowane powinowactwo do białek receptorowych. Stosowanie odpowiednich leków jest bardzo ważnym elementem terapii, jednak aby móc skutecznie walczyć z tą chorobą należałoby dokładnie poznać mechanizm działania środków terapeutycznych oraz zapoznać się z możliwościami uruchomienia różnych szlaków apoptotycznych.

Apoptoza przebiega według trzech etapów: inicjacji, fazy efektorowej i wykonawczej. Inicjacja apoptozy może przebiegać na drodze receptorowej albo wewnętrznej, zależnej od mitochondrium. Oprócz wymienionych dwóch szlaków istnieje jeszcze jeden z udziałem granzymu B i perforyn, jest on jednak aktywowany jedynie z udziałem cytotoxicychnych limfocytów T.

Dotychczas najlepiej poznaną drogą apoptozy jest zewnętrzny szlak uruchamiany przez połączenie liganda FasL z błonowym receptorem Fas (patrz KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ 2002). W wyniku związania z ligandem, receptor ulega trimeryzacji i tworzy agregaty wnikać do cytoplazmy komórek. Sygnał o śmierci przekazywany jest następnie za pośrednictwem białka adaptorowego FADD (ang. fas associated death domain), które łączy się swoją domeną śmierci z podobną domeną obecną w cząsteczce prokaspazy-8. Tak powstały kompleks białek nazywany jest DISC (ang. death inducing signaling complex). W następstwie utworzenia DISC dochodzi do przekształcenia nieaktywnego zymogenu prokaspazy-8, w jej czynną enzymatycznie



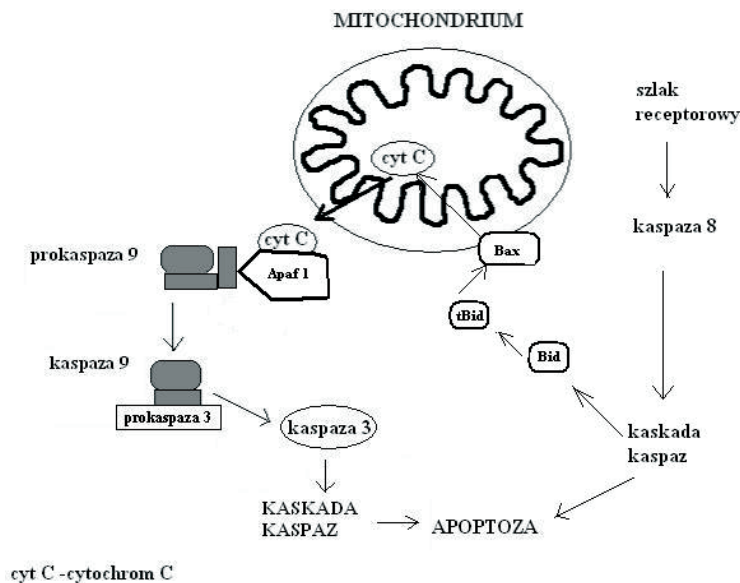
Ryc. 3. Schemat jednej z zewnętrznych dróg apoptotycznych – szlak z udziałem białka Fas

formę (kaspazę 8), która rozpoczyna kaskadę zdarzeń prowadzących do śmierci komórki (Ryc. 3). Kaspaza 8 może aktywować wykonawcze proteazy cysteinowe do których należą: kaspazy 3, 6 i 7 (patrz MRÓZ i MŁYNARCZYK 2003). Te z kolei odpowiadają za cięcie proteolityczne poszczególnych białek komórki, m.in. lamin i białek cytoszkieletu. Dalszy ciąg reakcji przebiega tak samo w szlaku receptorowym i wewnętrznym. W komórce aktywowane są enzymy tnące DNA. Po degradacji DNA następuje segregacja organelli, fragmentacja cytoplazmy i formowanie ciałek apoptotycznych. Natomiast zmiany zachodzące na poziomie błony komórkowej umożliwiają efektywną fagocytozę ciałek apoptotycznych przez m.in. makrofagi (patrz SULEJCZAK 2000).

W surowicy pacjentów cierpiących na raka pęcherza moczowego wykryto rozpuszczalne formy Fas (MIZUTANI i współaut. 1998, 2001). Przyczyną tego jest mutacja odcinka kodującego sekwencję kotwiczącą receptor w błonie, co powoduje brak związania receptora z powierzchnią błony komórkowej. Związanie FasL przez receptor Fas odgrywa ważną rolę w naturalnej śmierci komórek, stąd brak połączenia liganda z receptorem nie uruchamia kaskady reakcji prowadzących do apoptozy, promując tym samym powstawanie nowotworu (WILLERT i współaut. 2002). Jednym z leków stosowanych w terapii antynowotworowej jest mitomycyna C (związek alkilujący, hamujący syntezę DNA komórek nowotworowych w fazie G1 i S cyklu komórkowego) (KELLY i współaut. 2000). Badania dowiodły, że niszczy ona komór-

ki nowotworowe dzięki uruchomieniu zewnętrznego szlaku apoptozy. Wprowadzenie do komórek raka pęcherza moczowego przeciwciał anti-Fas powodowało zahamowanie terapeutycznego działania mitomycyny C. Podobne rezultaty uzyskano stosując inhibitor kaspazy 3. Mitomycyna wpływa na zahamowanie replikacji DNA, generuje powstawanie wolnych rodników oraz aktywuje i zwiększa ekspresję kaspazy 3 (LIU i współaut. 2003). Drugim lekiem antynowotworowym, który aktywuje zewnętrzny szlak apoptotyczny, jest adriamycyna (MIZUTANI i współaut. 1999). W odróżnieniu od mitomycyny, wpływa ona na szlak za pośrednictwem receptora błonowego TRAIL (Apo2). Jest to receptor cytokiny indukującej apoptozę w komórkach nowotworowych, jednocześnie wykazującej niewielką toksyczność wobec komórek prawidłowych (patrz MRÓZ i MŁYNARCZYK 2003). Traktowanie komórek nowotworowych adriamycyną oraz rozpuszczalną formą liganda Apo2L, powodowało znaczne zwiększenie wrażliwości komórek rakowych na działanie leku.

Nie tylko „szlak receptorowy” może być induktorem programowanej śmierci komórek nowotworowych. Badania prowadzone m.in. na liniach komórkowych dowiodły, iż niektóre leki antynowotworowe działają poprzez indukcję szlaku wewnętrznego (FU i współaut. 2003, YUAN i współaut. 2002). W wyniku zniszczenia DNA, szoku cieplnego oraz stresu oksydacyjnego dochodzi w komórkach do aktywacji ścieżki zależnej od mitochondrium. Szlak ten może być uruchamiany poprzez wiele różnych czynników (SUSIN i współaut. 1999). Uszkodzenia komórki wpływają stymulująco bądź hamująco na ekspresję odpowiednich białek. Jest to związane, między innymi, z aktywacją supresora nowotworu p53. Białko p53 jest czynnikiem regulującym transkrypcję genów kodujących białka z rodziny Bcl-2. Rodzinę tę reprezentują liczne inhibitory i stymulatory procesu apoptozy. W wypadku zadziałania silnego bodźca skłaniającego komórkę do śmierci dochodzi do syntezy stymulatorów tworzących megakanały w błonie mitochondrialnej. Z mitochondrium wypływa szereg białek (m.in. endonukleaza G, odpowiedzialna za cięcie jądrowego DNA oraz inne regulatory apoptozy) i najważniejsza dla dalszych wydarzeń cząsteczka – cytochrom c. Jednocześnie w mitochondrium dochodzi do spadku potencjału błonowego, lecz wciąż nie wiadomo czy jest to wtórny efekt otwarcia megakana-



Ryc. 4. Schemat wewnętrzny apoptotyczny. Połączenie szlaku receptorowego i mitochondrialnego.

łów, czy może przyczyna zajścia tego zjawiska (BORNER 2003). W cytozolu cytochrom c łączy się z białkiem efektorowym apoptozy Apaf-1 (ang. apoptosis protease activating factor-1) w obecności ATP bądź dATP. W ten sposób tworzy się heptameryczny kompleks zwany apoptosomem albo „kołem śmierci”, który rzeczywiście przypomina swoją budową koło. Centralny region tego kompleksu składa się z prokaspazy 9 (SOENGAS i współaut. 1999). Po wysyceniu apoptosomu prokaspazą 9 dochodzi do jej proteolitycznego cięcia i aktywacji. Jedną z domen białka Apaf-1 aktywuje prokaspazę 9, co z kolei wpływa na możliwość działania kaspazy 3, która jest czynnikiem sprawczym dalszych etapów reakcji prowadzących do śmierci komórki (ACEHAN i współaut. 2002, CAIN i współaut. 2002). Na etapie apoptosomu może jeszcze dojść do zahamowania apoptozy w wyniku działania różnych inhibitorów, np. białek IAP, Bcl-X_L, itp. (SHIMIZU i współaut. 1999, CHAU i współaut. 2000, ROZENFELD-GRANOT i współaut. 2002) (Ryc. 4).

Taksol jest lekiem często stosowanym w terapii nowotworowej (YUAN i współaut. 2002). Lek ten stymuluje tworzenie układu mikrotubularnego, a następnie blokuje jego

podział. Wiadomo, że układ ten pełni ważną rolę w procesie powstawania wrzeciona kariokinetycznego podczas mitozy. Wskutek tego komórka zostaje zatrzymana w fazie cyklu G2/M. Białka identyfikujące zaburzenia cyklu kierują zmienioną komórkę na drogę śmierci. W komórkach traktowanych taksolem wykrywano towarzyszącą apoptozie aktywność kaspaz 2, 3 i 9. Ponadto zarejestrowano fosforylację białek z rodziny Bcl-2, wywołującą efekt proapoptotyczny (YUAN i współaut. 2002). Przy okazji omawiania apoptozy należy dodać, że dwa główne szlaki jej inicjowania łączą się w komórkach przez białko Bid, należące do rodziny Bcl-2. Może ono promować tworzenie megakanalów w mitochondrium podczas szlaku wewnętrznego, ale też receptorowego. Przyczynia się do tego kaspaza 8, która tnie Bid w cytoplazmie i powoduje powstanie formy aktywnej tBid. Ta z kolei, wiąże się z białkiem Bax, które migruje do mitochondrium, gdzie działa proapoptotycznie (BORNER 2003, SULEJCZAK 2000; patrz także SULEJCZAK 2003). Możliwe, iż w przyszłości mechanizm działania Bid zostanie wykorzystany przy opracowaniu nowej terapii nowotworowej (GIANNOPOULOU i współaut. 2002).

PODSUMOWANIE

Rak pęcherza moczowego, jak już wspomniano, jest jednym z częściej występują-

cych schorzeń układu moczowo-płciowego, jednak wieloletnie badania i wczesne wy-

krycie niepokojących zmian pozwoliły na znaczne obniżenie śmiertelności pacjentów. Poznanie czynników zwiększających ryzyko zachorowania umożliwia ochronę przed nowotworem pęcherza moczowego. Pomimo, iż leczenie nowotworów jest bardzo trudne, to jednak poznanie mechanizmów powstawania raka oraz działania leków pozwala na skuteczniejszą walkę z tą chorobą. Zastosowa-

nie terapii genowej w leczeniu nowotworów stwarza ogromne możliwości. Leczenie chor- rch poprzez genetyczną manipulację komór- rek, pozwoliłoby na naprawę zmutowanego genu i wyeliminowanie przyczyn choroby. Możliwości terapii genowej są przedmiotem badań wielu naukowców, jednak stosowanie jej w chorobach dziedzicznych, czy też naby- tych nie jest do końca poznane.

BLADDER CANCER – MOLECULAR BASIS OF GENESIS AND THERAPY

Summary

Bladder cancer is one of the most common human tumours. This malignancy develops in various tissues of the bladder. The disease is caused by several factors e.g. some chemical agents and radiation. Ingredients of smoke and numerous industrial chemicals play a role in cancer cells formation. Aromatic amines and some their derivatives introduce changes in DNA sequences. Mutations of some suppressor

genes and protooncogenes (p53, Rb) may contribute to tumour transformation. Mitomycin C, adriamycin and other chemotherapeutics destroy cancer cells acting on plasma membrane and mitochondrial apoptotic pathways. This review article presents the molecular basis of formation and of the mechanisms of urinary bladder.

LITERATURA

- ACEHAN D., JIANG X., MORGAN D. G., HAUSER J. E., WANG X., AKEY CH.W., 2002. *Three- dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding and activation*. Mol. Cell 9, 423–432.
- BORNER C., 2003. *The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions*. Mol. Immunol. 39, 615–647.
- BORKOWSKI A. *Rak pęcherza*. On-line. <http://odchudzanie.org.pl/szkolaurolo/opracowanie3.asp>
- CAIN K., BRATTON S. B., COHEN G. M., 2002. *The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex*. Biochimie 84, 203–214.
- CHANG F. L., LAI M. D., 2001. *Various forms of mutant p53 confer sensitivity to cisplatin and doxorubicin in bladder cancer cells*. J Urol. 166, 304–310.
- CHANG F. L., LAI M. D., 2000. *The relationship between p53 status and anticancer drugs-induced apoptosis in nine human bladder cancer cell lines*. Anticancer Res. 20, 351–355.
- CHANG F. L., LING Y. F., LAI M. D., 2000. *Exogenous mutant p53 DNA enhanced cisplatin-induced apoptosis in TSGH-8301 human bladder cancer cells*. Anticancer Res. 20, 329–336.
- CHAU B. N., CHENG E. H., KERR D. A., HARDWICK J. M., 2000. *Aven, a novel inhibitor of caspase activation, binds Bcl-XL and Apaf-1*. Mol. Cell 6, 31–40.
- DUGGAN B. D., KELLY J. D., KEANE P. F., JOHNSON S. R., WILLIAMSON K. E., 2001. *Molecular targets for the therapeutic manipulation of apoptosis in bladder cancer*. J. Urol. 165, 946–995.
- FU W. F., BERTONI F., KELSEY S. M., MCELWAIN S. M., COTTER F. E., NEWLAND A.C., JIA L., 2003. *Role of DNA methylation in the suppression of Apaf-1 protein in human leukaemia*. Oncogene 22, 451–455.
- GIANNOPOULOU I., NAKOPOULOU L., ZERVAS A., LAZARIS A. C., STRAVODIMOS C., GIANNOPOULOS A., DAVARIS P. S., 2002. *Immunohistochemical study of pro-apoptotic factors Bax, Fas and CPP32 in urinary bladder cancer: prognostic implications*. Urol. Res. 30, 342–345.
- GOMEZ-NAVARRO J., CUIEL D. T., DOUGLAS J. T., 1999. *Gene therapy for cancer*. Eur J Cancer 35, 2039–2057.
- JUNG I., MESSING E., 2000. *Molecular mechanisms and pathway in bladder cancer development and progression*. Cancer Control 7, 325–334.
- KAWASAKI T., TOMITA Y., BILIM TOMISTA, TAKEDA M., TAKAHASHI K., KUMANISHI T., 1996. *Abrogation of apoptosis induced by DNA-damaging agents in human bladder-cancer cell lines with p21/WAF1/CIP1 and/or p53 gene alterations*. Int. J. Cancer 15, 501–505.
- KELLY J. D., WILLIAMSON K. E., WEIR H. P., MCMANUS D. T., HAMILTON P. W., KEANE P. F., JOHNSTON S. R., 2000. *Induction of apoptosis by mitomycin-C in an ex vivo model of bladder cancer*. Br J Urol. 85, 911–917.
- KEYSZEJKO-STEFANOWICZ L. 2002. *Cytobiochemia*. PWN Warszawa
- KWIATKOWSKA D., KWIATKOWSKA-KORCZAK J., 2000. *Heterodimeryczne receptory jądrowe. Receptory witamin i hormonów*. Post. Bioch. 46, 115–124.
- LIU J., WANG Q., WANG X., SUN Y., CHEN X., KONG Q., ZHANG K., LI H., 2003. *Apoptosis of bladder cancer cells induced by short-term and low-dose Mitomycin-C: Potential molecular mechanism and clinical implication*. Mol. Med. 11, 389–394.
- LORENZO-ROMERO J. G., SALINAS-SANCHEZ A. S., GIMENEZ-BACHS J. M., SANCHEZ-SANCHEZ F., ESCRIBANO-MARTINEZ J., SEGURA-MARTIN M., HERNANDEZ-MILLAN I. R., VISEDA-RODRIGUES J. A., 2003. *Prognostic implications of p53 gene mutations in bladder tumors*. J Urol. 169, 492–499.
- LOTAN R., DAWSON M. I., ZOU C. C., JONG L., LOTAN D., ZOU C. P., 1995. *Enhanced efficacy of combinations of retinoic acid- and retinoid X receptor-selective retinoids and alpha- interferon in in-*

- hibition of cervical carcinoma cell proliferation. *Cancer Res.* 55, 232–236.
- LOTAN R., TRIZNA Z., ZOU C. C., LOTAN D., MITCHELL M. F., ZOU C. P., 1996. Additive inhibition effects of retinoids and interferon-alpha on the growth of human cervical carcinoma cells: Lack of association with HPV status or retinoid receptor expression. *Int. J. Oncol.* 8, 5–13.
- MANTEUFFEL-CYMBOROWSKA M., 1999. Nuclear receptors, their coactivators and modulation of transcription. *Acta Biochim. Polon.* 46, 77–89.
- MILECKI P., KWIAS Z., NAWROCKI S., SKACEL T., SKONECZNA I., 2002. Leczenie raka pęcherza moczowego: stan obecny i perspektywy. *Współ. Onkol.* 6, 465–472.
- MIZUTANI Y., YOSHIDA O., BONAVIDA B., 1998. Sensitization of human bladder cancer cells to Fas-mediated cytotoxicity by cis-diamminedichloroplatinum (II). *J. Urol.* 160, 561–570.
- MIZUTANI Y., YOSHIDA O., MIKI T., BONAVIDA B., 1999. Synergistic cytotoxicity and apoptosis by Apo-2 ligand and adriamycin against bladder cancer cells. *Clin. Cancer Res.* 9, 2605–2612.
- MIZUTANI Y., HONGO F., SATO N., OGAWA O., YOSHIDA O., MIKI T., 2001. Significance of serum soluble fas ligand in patients with bladder carcinoma. *Cancer* 92, 287–293.
- MRÓZ P., MEYNARCZYK I., 2000. Mechanizmy indukcji apoptozy i zastosowanie TRAIL w terapii nowotworów. *Post. Biol. Kom.* 30, 113–128.
- OHNO H., 2000. Effects of testosterone on cell proliferation and apoptosis in BNN- induced mouse urinary bladder cancer. *Yon. Acta Med.* 43, 121–130.
- ROZENFELD-GRANOT G., KRISHNAMURTHY J., KANNAN K., TOREN A., AMARIGLION., GIVOL D., REHAVI G., 2002. A positive feedback mechanism in the transcription activation of Apaf-1 by p53 and the coactivator Zac-1. *Oncogene* 21, 1469–1476.
- SHIMIZU S., NARITA M., TSUJIMOTO Y., 1999. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature* 399, 483–487.
- SKIPPER P. L., TANNENBAUM S. R., ROSS R. K., YU M. C., 2003. Nonsmoking-related arylamine exposure and bladder cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 12, 503–507.
- SOENGAS M., ALARCON R., YOSHIDA H., GIACCIA A. J., HAKEM R., MAK T. W., LOWE S. W., 1999. Apaf-1 and caspase-9 in p53-dependent apoptosis and tumor inhibition. *Science* 284, 156–159.
- STELLER H., 1995. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267, 1445–1449.
- SULEJCZAK D., 2000. Apoptoza i metody jej identyfikacji. *Post. Biol. Kom.* 27, 527–568.
- SUSIN S. A., LORENZO H. K., ZAMZAMI N., MARZO I., SNOW B. E., BROTHERS G. M., MANGION J., JACOTOT E., COSTATINI P., LOEFFLER M., LARPCHETTE N., GOODLETT D. R., AEBERSOLD R., SIDEROVSKI D., PENNINGER J. M., KROEMER G., 1999. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 397, 441–446.
- SZALA S., 2000. Swoista indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych. *Nowotwory* 50, 111–121.
- SZALA S., MITRUS I., MISSOL-KOLKA E., 2001. Geny proapoptotyczne w terapii genowej nowotworów. *Współ. Onkol.* 5, 242–249.
- WANG Z., ZHANG Z., LIU Y., CHN Y., LI Q., DUANGU-LOAN, QIN D., LIU G., WANG L., 2000. Effect of retinoic acid and its complexes with transition metals on human bladder cancer cell line EJ in vitro. *Urol. Res.* 28, 191–195.
- WADA Y., GOTOH A., SHIRAKAWA T., HAMADA K., KAMIDONO S., 2001. Gene therapy for bladder cancer using adenoviral vector. *Mol. Urol.* 2, 47–52.
- WILLERT L., PERABO F., WIRGER A., SCHMIDT D., WARDELMANN E., RUECKER A., KOHN E., MUELLER S., 2002. Fas-ligand induced apoptosis of bladder cancer cells by staphylococcal enterotoxin B-mediated T-cell immune response ASCO Ann. Meeting. Abstract
- YUAN S. Y., HSU S. L., TSAI K. J., YANG C. R., 2002. Involvement of mitochondrial pathway in Taxol-induced apoptosis of human T24 bladder cancer cells. *Urol. Res.* 30, 282–288.