

ANDRZEJ L. PAWLAK

*Zakład Genetyki Człowieka PAN
Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań*

DZIEDZICZENIE PODATNOŚCI NA NOWOTWORY I CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA RYZYKO ZACHOROWANIA

GENETYCZNE ZRÓŻNICOWANIE WRAŻLIWOŚCI NA NOWOTWORY

O ile poznanie genetycznych mechanizmów transformacji nowotworowej ma ogromne znaczenie dla postępu metod leczenia nowotworów, to poznanie genetycznie uwarunkowanych podatności na nowotwory ma ogromne znaczenie dla osób wykazujących taką podatność ze względu na możliwość specyficznego postępowania profilaktycznego z powodu określonego defektu genetycznego.

Wrażliwość osobnicza na nowotwory może być spowodowana indywidualnymi cechami metabolizmu chemicznych karcynogenów, reperacji DNA, stabilności genomu oraz dziedzicznie uwarunkowaną, zmienioną ekspresją protoonkogenów względnie genów supresorowych wobec transformacji nowotworowej. Wymienione procesy należą do funkcji organizmu, których integralność i regulacja stanowią istotny warunek przeżycia ustroju. Oznacza to, że zmiany leżące u podłoża genetycznej wrażliwości na nowotwory mają charakter subtelny, często trudny do określenia w zakresie zmiany funkcji. Stąd duże oczekiwania wiążą się z poznawaniem zmian molekularnych DNA powodujących tę wrażliwość.

Polimorfizmy genetyczne, które wpływają na wrażliwość na nowotwory mogą oddziaływać na etapy powstawania uszkodzeń DNA, reperacji tych uszkodzeń oraz kontroli proliferacji zmienionych komórek. Nakreślony schemat trzech etapów transformacji nowotworowej, na których może ujawniać się wrażliwość, odpowiada w zarysie niżej przedstawionemu podziałowi dziedzicznie uwarunkowanych podatności na nowotwory w oparciu o typ defektu. Proponowany podział, skorelowany z etapami transformacji nowotworowej, można więc uzasadniać nie tylko odmiennością wymienionych form podatności w zakresie typu ich dziedziczenia ale również zależnością od czynników środowiskowych.

GENY WARUNKUJĄCE WRAŻLIWOŚĆ NA KANCEROGENY ŚRODOWISKOWE

Spośród enzymów biorących udział w biotransformacji powszechnie występujących w środowisku produktów niepełnego spalania (głównie wielopierście-

niowe węglowodory aromatyczne — WWA) tylko nieliczne wykazują zróżnicowanie genetyczne w populacji.

Dioksyny, najaktywniejsze toksyny środowiskowe wyżej opisanej serii, oddziałują z organizmami za pośrednictwem receptora cytoplazmatycznego Ahr, który po związaniu z ligandem, tworzy z białkiem transportowym ARNT heterodimer o wysokim powinowactwie do sekwencji DRE DNA w obrębie promotora genu *CYP1A1*. Gen *Ahr* reguluje ekspresję szeregu indukowanych przez dioksyny genów, jak transferazy UDP-glukuronylowej, inhibitora aktywacji plazminogenu czy czynnika transformacji nowotworów α , ale indukcja pod wpływem dioksyn jest najwydajniejsza wobec genu *CYP1A1*. Na istnienie genetycznie uwarunkowanego polimorfizmu locus *Ahr* wskazują do tej pory głównie badania fenotypu indukowalności hydroksylazy węglowodorów aromatycznych. Ze względu na regulacyjną funkcję genu w badaniach molekularnych jest niezbędne stosowanie stosunkowo złożonych testów. Niemniej, stosując ilościowe pomiary produktów PCR — fragmentów genu *CYP1A1* otrzymanych w wyniku reakcji odwrotnej transkrypcji RNA, izolowanego z badanych tkanek, można już potwierdzić istnienie znaczących różnic międzyosobniczych w ekspresji tego genu po zadziałaniu dioksyn (VANDEN-HEUVEL i współaut. 1993).

Badania polimorfizmu locus *CYP1A1*, a właściwie polimorfizmów sprzężonych z tym genem strukturalnym przyniosło do tej pory najwięcej informacji o genetycznych różnicach wrażliwości na nowotwory związane z tym genem w ludzkiej populacji japońskiej. Stwierdzono tam występowanie u ponad 10% badanych dodatkowego miejsca cięcia przez enzym restrykcyjny *MspI* w regionie końca 3' genu *CYP1A1* i powiązano tę cechę ze zwiększoną podatnością na raka płuca (KAWAJIRI i współaut. 1990). Wśród Europejczyków opisany wariant występuje sporadycznie (poniżej 1%) i, być może z tego powodu, nie wykazano jego powiązania z rakiem płuca (WEDLUND i współaut. 1994). Inny polimorfizm związany z tym genem stwierdzono w populacji ludzkiej USA (COSMA i współaut. 1993).

Modelowym polimorfizmem genetycznym ze względu na dostępność zarówno molekularnych, jak farmakologicznych metod fenotypizacji jest polimorfizm hydroksylazy debrizochiny. W populacji rozkład aktywności tego enzymu jest dwumodalny, a metody oparte na pomiarach szybkości metabolizmu tego substratu pozwalają stosunkowo skutecznie rozpoznać fenotypy o szybkiej i wolnej hydroksylacji. Genem determinującym tę aktywność jest *CYP2D6*, którego odmiana delecyjna spowodowana mutacją na granicy 3 intronu i 4 eksonu (allel B) cechuje się obniżoną aktywnością hydroksylazy. Oprócz tej delecji fenotyp wolnej hydroksylacji debrizochiny stwierdza się u homozygot mutacji punktowych, które mogą występować w obu głównych allelach. Osoby szybko metabolizujące debrizochinę są albo homozygotami prawidłowego allele AA, albo heterozygotami BA. Wczesne badania oparte na ocenie szybkości eliminacji leku wskazywały na asocjację pomiędzy szybkim metabolizmem debrizochiny a wrażliwością na raka płuca. Kolejni badacze różnili się w ocenie tej asocjacji. Wyniki największej z dotychczasowych serii badań delecji genu *CYP2D6* i fenotypu hydroksylacji debrizochiny w populacji chorych na raka płuca (218 osób) i zdrowych osób kontrolnych (289) sugerują nawet związek w kierunku asocjacji pomiędzy

wolnym metabolizmem debrizochiny a wrażliwością na raka płuca, co stanowiłoby wniosek przeciwny do pierwotnego (TEFRE i współaut. 1994, tabela 1).

Polimorfizm GST1 dotyczy powszechnie występującej delekcji genu determinującego izoenzym GST1 μ . Przyjmując istotny udział transferaz glutationowych w reakcjach detoksykacji genotoksycznych produktów aktywacji metabolicznej powszechnie występujących w środowisku produktów niepełnego spalania, oczekiwano relatywnie większych efektów kancerogennych u osób z niedoborem GST1. O ile pierwsze doniesienia na ten temat wydawały się potwierdzać przypuszczenie (tabela 1), to najnowsze doniesienia nie potwierdzają pierwotnych założeń. W grupach 117 chorych z rakiem płuca i 200 chorych grupy kontrolnej, po uwzględnieniu efektów palenia, płci i wieku, nie stwierdzono wpływu genotypu GST1 w klasie μ na ryzyko zachorowania na ten nowotwór (BROCKMÖELLER i współaut. 1993).

Tabela 1

Geny polimorficzne biorące udział w determinacji metabolizmu ksenobiotyków o potencjalnym znaczeniu w kształtowaniu osobniczej wrażliwości na kserogenne działanie WWA; zestawienie wczesnych obserwacji o postulowanych markerach wrażliwości i zakres potwierdzenia hipotezy przez innych badaczy czy na innych populacjach

Gen	Funkcja	Allele	Częstość występowania	Wzrost ryzyka związany z markerem	Weryfikacja hipotezy
Ahr	cytoplazmatyczny receptor TCDD (dioksyn, WWA)	fenotyp wysokiej indukowalności hydroksylazy BP	około 0,1	około 10 $\times$ (rak płuca)	spośród licznych badań, w połowie potwierdzono hipotezę
CYP1A1	hydroksylaza benzopirenu	CYP1A1	0,1 w Japonii; 0,01 w Europie	około 2,5 $\times$ (rak płuca w Japonii)	nie stwierdzono efektu w populacji europejskiej
CYP2D6	hydroksylaza debrizochiny	CYP2D6B (fenotyp wolnej hydroksylacji)	0,05–0,1 w Europie	0,2–0,3 $\times$ (rak płuca w Europie)	1,2 $\times$ rak płuca w Europie
GSTmu	transferaza glutationowa	GST1 μ (-)	0,45	2,7 $\times$ (rak płuca płasko- i drobnokomórkowy w Japonii)	nie potwierdzono na populacji europejskiej

W sumie, poza polimorfizmem związanym z CYP1A1, pozostałe wymienione w tabeli mają tylko ograniczone znaczenie jako ewentualne markery wrażliwości. Z drugiej strony, występowanie potencjalnie wrażliwych genotypów w kombinacji, jak na przykład CYP1A 1m1/m1 i GST1 wzmacnia cechę wrażliwości. W przypadku współwystępowania wysokiej indukowalności CYP1A1 i GST1(-) stwierdza się podwyższone ryzyko raka płuca (ANTTILA i współaut. 1992). Oznacza to, że w grupie chorych o wysokiej indukowalności CYP1A1 można zaobserwować wpływ polimorfizmu GST na częstość zachorowań na raka płuca, co nie było możliwe w populacji ogólnej.

Jako zupełnie odmienną postać dziedzicznej wrażliwości na karcynogeny środowiskowe można wymienić wrażliwość na karcynogenne działanie wirusa EBV. Zespół limfo-proliferacyjny sprzężony z chromosomem X (X-linked lympho-proliferative syndrome — XLP) jest rzadko występującym (głównie u chłopców) typem białaczki, uwarunkowanym ekspresją genu zlokalizowanego na chromosomie X. Zespół ten stanowi interesujący przykład nowotworu, który rozwija się na podłożu silnej predyspozycji genetycznej, jednak transformacja złośliwa, przeważnie w kierunku chłoniaka, następuje wyłącznie w wyniku zadziałania czynnika zewnętrznego, w tym wypadku zakażenia wirusem Epstein-Barra. Ze względu na wzajemne relacje pomiędzy czynnikami istotnymi dla patogenезy transformacji nowotworowej omawiana choroba należy do defektów o charakterze dziedzicznych wrażliwości na czynnik i środowiskowe, a więc mieści się w obszarze badań ekogenetyki. Gen *XLP* zlokalizowano na odcinku terminalnym ramienia długiego chromosomu X dystalnie wobec markera *DXS* 11 i proksymalnie wobec locus *HPRT* (SHARE i współaut. 1989).

RECESYWNE GENY PODATNOŚCI NA NOWOTWORY

W przebiegu transformacji nowotworowej jedną z charakterystycznych zmian funkcjonalnych są zaburzenia procesów reparacji DNA. Zaburzenie reperacji jako podstawową przyczynę zespołu podatności na nowotwory stwierdza się obecnie głównie w *xeroderma pigmentosum* (XP) oraz zespole Fanconiego. Badania tych recesywnie uwarunkowanych chorób w swoim czasie zwróciło uwagę badaczy na funkcje reparacji uszkodzeń DNA w komórkach prawidłowych. Istotnym osiągnięciem lat ostatnich jest zmapowanie locus genowego XP grupy C (LEGERSKI i PETERSON 1992, THOMSON i współaut. 1990).

Procesy reperacji uszkodzeń DNA stanowią podstawowy atrybut życia i aktualne badania tych procesów w recesywnych podatnościach na nowotwory wskazują na związki funkcjonalne pomiędzy reparacją a transkrypcją i replikacją. Z drugiej strony, badania tych samych chorych w kierunku wrażliwości na czynniki genotoksyczne pozwalają określać związki pomiędzy funkcją genów reperacji DNA a toksycznością względnie mutagennością elementów środowiska (tabela 2).

Do najbardziej znaczących zespołów wrażliwości na nowotwory należy *ataxia telangiectasia* (AT). Nazwa wywodzi się od widocznych objawów: zaburzeń równowagi i zborności ruchowej (*ataxia*) oraz rozszerzeń naczyń krwionośnych, głównie na gałce ocznej, a u osób dorosłych także na skórze twarzy (telangiectazje), a znaczenie wynika z niezwykle wysokiej wrażliwości na promieniowanie jonizujące oraz liczby nosicieli genu (od 0,7% do 5% w różnych populacjach). Wrażliwość ta prowadzi do fatalnych konsekwencji zastosowania radioterapii w przypadkach częstych nowotworów u tych chorych (30% przyczyn zgonów). Na poziomie komórkowym wrażliwość na indukcję aberracji chromosomowych i zwiększona letalność ekspozycji na promieniowanie jonizujące współlistnieje z paradoksalną reakcją braku hamowania proliferacji po ekspozycji na promienie X. Przypuszcza się, że nie występowanie bloku cyklu komórkowego w okresie G2 jest jedną z przyczyn niezdolności komórek AT do naprawy uszkodzeń

spowodowanych przez radiację. Spośród reakcji naprawy DNA stwierdzono w AT niedobór łączenia złamań dwuniciowych DNA (NORTH i współaut. 1990).

Ze względu na powiązanie defektów reparacji DNA z wrażliwością na specyficzne czynniki genotoksyczne również bezobjawowi nosiciele omawianych genów recesywnych mogą odznaczać się zwiększoną zachorowalnością na nowotwory w wyniku ekspozycji na te czynniki. W *xeroderma pigmentosum* i *ataxia telangiectasia* wrażliwość dotyczy odpowiednio promieni UV i X (SWIFT i współaut. 1993, PAWLAK i współaut. 1990). Nie stwierdzono natomiast zwiększonej wrażliwości na specyficznie toksyczne dla homozygot związku, wytwarzające wiązania między niciami DNA u heterozygot anemii Fanconiego.

Tabela 2

Wrażliwość na czynniki genotoksyczne i karcynogenne w dziedzicznie uwarunkowanych recesywnych defektach reperacji/różnicowania

Defekt	Czynnik genotoksyczny	Wzrost wrażliwości <i>in vitro</i> (krotność)	Wzrost ryzyka nowotworu
<i>xeroderma pigmentosum</i> (XP) (A, C, D)	UV, kancerogeny chemiczne	5–10	100% przy ekspozycji
XP wariant	UV	1,6	obniżone w porównaniu do XP
zespół Cockayne	UV	4,6	nie stwierdza się
<i>ataxia telangiectasia</i> (AT)	promienie jonizujące (promienie X)	3,0–3,5	przy wysokiej ekspozycji przeważa toksyczność bezpośrednia
heterozygotci AT	jak wyżej	1,2	zwiększone u osób ekspozowanych na dawki diagnostyczne
anemia Fanconiego	mitomycyna C, związki alkylujące, tworzące wiązania pomiędzy niciami DNA	4–15	wysokie u chorych, niezmiennie u heterozygot

Znaczenie aktualnych badań dziedzicznie uwarunkowanych defektów reparacji DNA dla poznania roli specyficznych uszkodzeń i procesów reperacji w procesie karcynogenezy można zilustrować obserwacjami dokonanymi w zespole Cockayne. Jest to odmiana genetycznej wrażliwości na promienie UV, w której poza zmianami skórnymi obserwuje się ogólne wycieńczenie i zaburzenia neurologiczne. Od *xeroderma pigmentosum* zespół Cockayne'a różni się tym, że chorzy nie wykazują zwiększonej zachorowalności na nowotwory. Na poziomie molekularnych mechanizmów zespół Cockayne'a wyróżnia się defektem preferencyjnej reparacji genów aktywnych (VENEMA i współaut. 1990). Tego rodzaju wybiórcza naprawa była obserwowana powszechnie w organizmach wyższych i przyciągała uwagę badaczy zainteresowanych wpływem specyficznych typów reparacji DNA na toksyczność i karcynogenność uszkodzeń DNA. Z badań zespołu Cockayne'a wynika, że wspomniany defekt wybiórczej naprawy genów

aktywnych prowadzi do zwiększonej toksyczności promieni UV, nie zwiększając podatności chorych na nowotwory.

DOMINUJĄCE GENY PODATNOŚCI NA NOWOTWORY

KNUDSON wysunął w roku 1971 teorię powstawania nowotworu na drodze dwóch mutacji, z których pierwsza może być przekazywana dziedzicznie. W tych przypadkach mamy do czynienia z dziedzicznie uwarunkowaną podatnością na nowotwory, w której ryzyko rozwinięcia się nowotworu jest bardzo wysokie. Pierwszą weryfikacją tej hipotezy było poznanie dziedziczenia siatkówczaka (gen *Rb* od retinoblastoma).

W dalszych badaniach funkcję genu *Rb*, której utrata powoduje rozwój nowotworu, zaliczono do klasy antyjonkogenów, czyli genów-supresorów onkogenezy. Tylko nieliczne spośród tych genów występują w formie mutacji przekazywanej dziedzicznie (tabela 3). Dominujący autosomalny charakter dziedziczenia znajdował potwierdzenie w większości badanych rodowodów siatkówczaka. Wyjątkiem od tej reguły były jednak stosunkowo częste odosobnione przypadki

Tabela 3

Dziedziczne uwarunkowania podatności na nowotwory spowodowane utratą funkcji genów supresorowych

Choroba	Nazwa genu	Lokalizacja chromosomowa	Funkcja/aktywność, regulacja ekspresji	Lokalizacja guza
Siatkówczak	<i>Rb</i>	13q4	reguluje transkrypcję czynników E2F/DRTF1, przewaga występowania u płci męskiej (piętno genomowe)	gałka oczna, mięsak kostny, piers, płuco (rak drobno-komórkowy)
Zespół Li-Fraumeni	<i>p53</i>	17p13.1	regulator cyklu życiowego komórki, włącza program apoptozy	jelito grube, piers, płuca
Zespół WAGR z aniridią (brakiem tęczówki)	<i>WT1</i>	11p13		nerka (guz Wilmsa)
Zespół Wiedemanna i Beckwitha	<i>WT2</i>	11p15.5	guz powstaje w wyniku wyłącznie ojcowskiej kontroli piętna genomowego genu <i>WT2</i>	nerka (guz Wilmsa)
Neurofibromatosis 1 (choroba Recklinghausen)	<i>NF-1</i>	17q	GTPaza aktywująca białko ras	włókniak nerwiaków o dowolnej lokalizacji
Rodzinna polipowatość jelita grubego	<i>APC</i> (adenomatous polyposis coli)	5q21	utrata funkcji APC następuje na wczesnych etapach transformacji nowotworowej również w sporadycznych rakach jelita grubego	rak jelita grubego

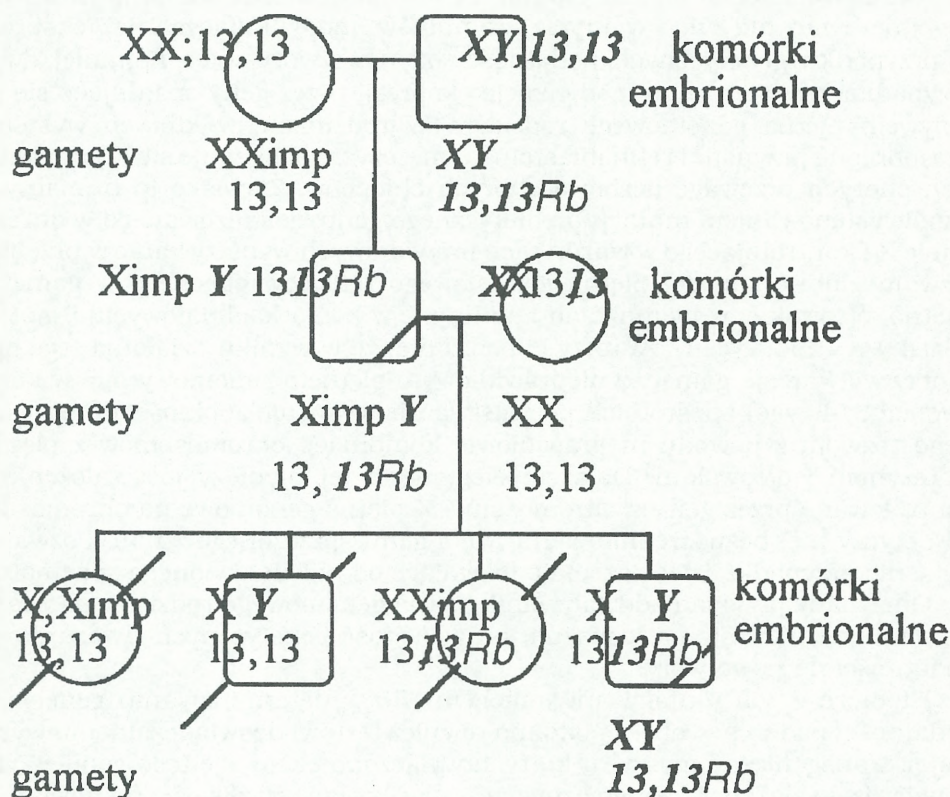
siatkówczaka u mężczyzn. Chorzy ci stosunkowo często przekazują gen *Rb* w linii męskiej.

Klarowny schemat przekazywania cechy o charakterze dominującym stwarza dogodnie warunki do wykrycia czynników modyfikujących jej ekspresję. W przypadku genetycznych podatności na nowotwory w co najmniej dwóch przypadkach stwierdzono modyfikację ekspresji przez geny znajdujące się pod wpływem piętna genomowego rodziców. W rodzinach, w których występują odosobnione przypadki retinoblastoma u mężczyzn, obserwuje się w potomstwie tych chorych przewagę liczbową chorych chłopców. Zjawisko to tłumaczy się współwystępowaniem mutacji hipotetycznego genu zlokalizowanego w chromosomie X i kontrolującego w warunkach prawidłowych wymazywanie w przebiegu rozwoju embrionalnego, piętna genomowego rodziców obecnego w gametach (piętno ojcowskie w plemnikach i matczyne w komórkach jajowych) (NAUMOVA i SAPIENZA 1994, ryc. 1). Autorzy ci postulują, że w wyniku działania tego genu chorzy wytwarzają gamety z nieprawidłowym piętnem genomowym, a w konsekwencji 3/4 zygot spośród ich potomstwa nie wykazuje zdolności do prawidłowego rozwoju z powodu nieprawidłowej kombinacji chromosomów z piętnem matczynym i ojcowskim. Dalszym elementem tej hipotezy jest założenie, że kontrolowane przez gen na chromosomie X piętno genomowe na chromosomie 13 dotyczy nie, bezpośrednio, genu *Rb*, a genu sprzężonego z nim. Pozwala to wyjaśnić przypadki dziedziczenia odbiegające od przedstawionego schematu.

Omawiany przykład oddziaływania piętna genomowego rodziców na ekspresję genu retinoblastoma wskazuje na złożoność genetycznych uwarunkowań podatności na nowotwory.

Hipotezę o roli mutacji antyonkogenu *Rb* w determinowaniu genetycznej podatności na ten nowotwór poddano również testowi doświadczalnemu wytwarzając transgeniczne myszy, u których wyłączono ekspresję tego genu. Wyniki potwierdzają złożoność genetycznych uwarunkowań wrażliwości na nowotwory. U wspomnianych myszy stwierdzono taką wrażliwość, jednak nastąpiła zmiana specyficzności w odniesieniu do typu nowotworu: zamiast siatkówczaków u tych myszy rozwijają się gruczolaki przysadki (JACKS 1992). Z drugiej strony wiadomo, że u podatnych na nowotwory myszy transgenicznych, wykazujących niekontrolowaną ekspresję genu SV40, typowym nowotworem jest właśnie retinoblastoma (HARLOW 1992).

Przełomem w badaniach dominujących genów podatności na nowotwory było stwierdzenie, że zespół rodzinnego występowania nowotworów (zespół Li-Fraumeni) jest spowodowany mutacją genu *p53* (MALKIN i współaut. 1990). Zespół ten cechuje się rodzinnym występowaniem nowotworów, w tym guzów wieku dziecięcego, mięsaków tkanek miękkich i kości, guzów mózgu, raka piersi, białaczki i raka kory nadnerczy. Z kolei gen *p53*, znany również jako regulator cyklu życiowego komórki i programowanej śmierci komórki (apoptozy), niezwykle często (w ponad 50% badanych guzów) wykazuje zmiany (mutacje somatyczne) w tkance nowotworowej. Wypadnięcie funkcji tego genu prowadzi do osłabienia kontroli proliferacji i stanowi znaczący (ale raczej późny) etap procesu transformacji nowotworowej. Dominujący charakter mutacji genu *p53* w zespole Li-Fraumeni wynika z unieczynniania produktu prawidłowego genu *p53* poprzez tworzenie nieaktywnych heterodimerów z produktem genu zmutowanego. Za-



Ryc. 1. Skutki mutacji i utraty funkcji hipotetycznego genu (na przedstawionym schemacie oznaczony *imp*) zlokalizowanego w chromosomie X i kontrolującego w warunkach prawidłowych wymazywanie piętna genomowego rodziców w przebiegu rozwoju embrionalnego (według NAUMOVEJ i SAPIENZA 1994).

Chromosomy wpisane w symbole reprezentujące poszczególne osoby przedstawiają zapis piętna chromosomów komórek somatycznych we wczesnych stadiach rozwoju embrionalnego. Poniżej tych symboli są przedstawione zapisy genomu plemników i komórek jajowych. Chromosomy gamet różnią się od chromosomów komórek somatycznych piętnem genomowym, co zaznaczono czcionką standardową (piętno matczyne) lub pogrubionym *italikiem* (piętno ojcowskie). W komórkach somatycznych dla prawidłowego różnicowania i funkcji niezbędne jest współwystępowanie komplementarnych zestawów chromosomów naznaczonych jeden — piętnem ojcowskim drugi — matczynym.

Chory mężczyzna przekazuje potomstwu chromosomy X i 13 z nie zmienionym żeńskim piętnem genomowym, jakie otrzymał od matki. W potomstwie tego mężczyzny, któremu matka przekazała z chromosomem X również nieprawidłowy gen kontrolujący procesy wymazywania piętna genomowego, przeważać będą zygoty o letalnych kombinacjach chromosomów nie zrównoważonych pod względem piętna genomowego. Spośród możliwych kombinacji genowych w potomstwie omawianego chorego trzy zygoty wykazują taki letalny brak zrównoważenia; zdolność przeżycia wykazuje tylko syn, który od ojca, razem z prawidłowym chromosomem Y, otrzyma chromosom 13 o również o prawidłowym piętnie ale z genem *Rb*.

skakujący był wynik doświadczalnego wyłączenia ekspresji obu aleli genu *p53* u myszy — zwierzęta rozwijały się prawidłowo. (DONEHOWER i współaut. 1992). Wobec blisko 100% penetracji dominującego genu, determinującego zespół Li-Fraumeni można było oczekiwać letalności tej zmiany. Z drugiej strony, zgodnie z oczekiwaniami, w wieku do 6 miesięcy u tych myszy rozwijały się chłoniaki, mięsaki, guzy nadnerczy lub gonad.

Rodzinnie występujące guzy nerek zaliczono do nowotworów powstających zgodnie ze schematem Knudsona dwóch mutacji w jednym locus. Chory z dziedzicznie uwarunkowanym guzem nerki (guz Wilmsa) pierwszą mutację dziedziczy od rodziców, czym różni się od chorych z guzami indukowanymi przez czynniki zewnętrzne, u których ten etap transformacji ma charakter mutacji somatycznej. Druga mutacja, zgodnie z teorią Knudsona, tak w przypadkach uwarunkowanych czynnikami zewnętrznymi (sporadycznych), jak w przypadkach dziedzicznych predyspozycji, ma z reguły charakter mutacji somatycznej. Nowsze badania wykazały, że guz Wilmsa może powstawać w wyniku mutacji w co najmniej 3 loci genowych (MOUTOU i współaut. 1993):

1. Gen *WT1*, mieszczący się w locus sprzężonym, ale nie identycznym, z locus aniridii (11p13); guzy Wilmsa determinowane przez gen *WT1* występują jako element zespołu WAGR (guz Wilmsa, aniria, genito-urinary abnormalities, mental retardation).

2. Gen *WT2*, mieszczący się w regionie 11p15.5, występuje u chorych z zespołem Wiedemanna-Beckwitha (WBS), w którym predyspozycji do nowotworów, w tym do guza Wilmsa, towarzyszą liczne wady rozwojowe, w tym najbardziej charakterystyczne — zaburzenia symetrii wzrostu i przerost języka.

3. Gen do tej pory nie zmapowany, jednak na jego istnienie wskazuje znaczna liczba przypadków dziedzicznego guza Wilmsa nie sprzężonego z loci genowymi *WT1* i *WT2*.

Jednym z elementów złożoności patogenezy guzów Wilmsa jest fakt, że obraz kliniczny zespołu Wiedemanna-Beckwitha (WBS) rozwija się na podłożu przewagi piętna genomowego ojca w wyniku występowania w obu chromosomach 15 chorego dziecka genu *WT2* (a najprawdopodobniej również szeregu sprzężonych genów) pochodzenia ojcowskiego.

U chorych z guzem Wilmsa nie obciążonych występowaniem tego nowotworu w rodzinie, w około 1/3 przypadków stwierdza się utratę alleli *WT1* lub *WT2*.

Ważnym rodzajem wrażliwości na nowotwory są dziedziczone jako cechy dominujące podatności na specyficzne typy nowotworów, takie jak niektóre formy polipowatości jelita grubego a także w podatności na raka tarczycy. W przypadkach tych prawdopodobieństwo zachorowania nosicieli takich genów jest bliskie 100%. Rodzinna polipowatość jelita grubego (FAP — familial adenomatous polyposis, albo APC — *adenomatous polyposis coli*) występuje z częstością od 3 do 15 przypadków na 100 tysięcy osób, co stanowi w przybliżeniu 1/3 wszystkich dziedzicznie uwarunkowanych raków jelita grubego. Cechą wyróżniającą ten defekt jest możliwość rozpoznania nosiciela genu obciążonego 100% ryzykiem transformacji złośliwej na podstawie występowania charakterystycznych mnogich polipów poprzedzających rozwój raka. Chorzy ci od kilku lat mają możliwość poddania się profilaktycznej operacji usunięcia jelita grubego i śluzówki odbytnicy z wszczepieniem w miejsce tej śluzówki pętli jelita krętego

i zachowaniem odbytu. Operacje te wykonuje się w Klinice Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej w Poznaniu. Jej wykonanie stwarza choremu szansę znacznie dłuższego przeżycia i uniknięcia bardziej obciążającej operacji, jaka byłaby konieczna po wystąpieniu zmian złośliwych.

Gen APC zlokalizowano w regionie q21-22 chromosomu 5. Produkt tego genu jest supresorem proliferacji a wypadnięcie jego funkcji odgrywa decydującą rolę w powstawaniu raka jelita grubego u chorych nosicieli mutacji (GRODEN i współaut. 1991). Klasyczna teoria Knudsona zakładała, że komórki heterozygotyczne są chronione przed niedoborem funkcji genu APC i warunkiem transformacji nowotworowej jest zmutowanie prawidłowego allele APC. Obecnie, przyjmując, że transformacja nowotworowa jest skutkiem łańcucha mutacji genów o synergistycznym działaniu na procesy proliferacji, można założyć, że wzrost gruczolaków (polipów) może następować również w wyniku zmienności ekspresji genu APC w komórkach heterozygot, która może prowadzić do miejscowych niedoborów supresora (produktu genu APC). Kluczowe znaczenie genu APC w patogenezie raka jelita grubego zachęca do diagnostyki molekularnej tych defektów. Przy zastosowaniu znanych podejść diagnostycznych jest to możliwe w 30%–50% przypadków. Ponieważ rozpoznanie takie może nastąpić znacznie wcześniej aniżeli rozpoznanie oparte na obecności polipów w śluzówce jelita grubego otwiera ono nowe możliwości przed profilaktyką opartą na hamowaniu procesu transformacji przy użyciu leków przeciwzapalnych.

Pozostałe, poza rodzinną polipowością jelita grubego, przypadki dziedzicznie uwarunkowanych raków jelita grubego (hereditary non-polyposis colon cancer — HNPCC) cechują się tym, że stany przedrakowe nie manifestują się w nich w tak wyraźnej formie, jak to ma miejsce w polipowości: nie stwierdza się polipów ani takich objawów sygnalizujących podatność na raka, jak zmiany barwnikowe siatkówki, które występują u osób z genem APC. Dziedzicznie uwarunkowane raki jelita grubego bez polipowości łączy się z mutacjami powodującymi zwiększoną częstość mutacji (tzw. geny mutatorowe, jeden z nich zlokalizowano w chromosomie 2). Ich rozpoznawanie przedobjawowe nie może więc opierać się na objawach klinicznych i cała nadzieja w tym zakresie w rozwoju diagnostyki molekularnej. Dotychczas jedyną dostępną metodą rozpoznawania podatności w tych rodzinach jest oznaczanie dziedziczenia sprzężonych z poznanymi genami HNPCC markerów molekularnych. Takie podejście badawcze wymaga jednak pełnych danych o badanej rodzinie i tylko wyjątkowo duże rodziny dostarczają informacji wystarczających dla postawienia prognozy.

GENETYCZNE ZRÓŻNICOWANIE POPULACJI A POZIOMY DOPUSZCZALNYCH EKSPOZYCJI TOKSYCZNYCH

Pytanie o przyczyny zachorowania danej osoby różni się zasadniczo od pytania o przyczyny częstego występowania jakiegoś nowotworu w określonej populacji. Z powyższym wiąże się różnica podejść badawczych pomiędzy medycyną profilaktyczną a epidemiologią (ROSE 1985).

Metody molekularne, definiując różnice genetyczne na poziomie sekwencji genów, zwiększają zakres interpretacji ich wpływu na osobniczą podatność na

nowotwory o badania porównawcze populacji różniących się pulą genową (przykładem mogą być badania polimorfizmu sprzężonego z locus CYP1A1 u Japończyków).

Badania epidemiologiczne dużych grup stosunkowo często wykazują wpływ niektórych czynników na ryzyko zachorowania na nowotwory, ponieważ znamienność wzrostu ryzyka związanego z nosicielstwem markera może być funkcją liczebności badanej grupy. Dla oceny ryzyka indywidualnego ważniejsza, od statystycznej znamienności różnic międzygrupowych, jest amplituda wzrostu ryzyka związana z markerem.

Identyfikacja osób podatnych na nowotworzenie jest możliwa w oparciu o markery wzrostu ryzyka wskazujące na wrażliwość nie tylko znacząco wyższą, ale również wielokrotnie przewyższającą wartości kontrolne.

Szczególne znaczenie ma rozpoznawanie wrażliwości na promieniowanie jonizujące w celu unikania szkód spowodowanych zbędną ekspozycją diagnostyczną (kobiety heterozygoty AT wykazują zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi w wyniku mammografii) a także negatywnych efektów jatrogennych radioterapii nowotworów.

Genetycznie uwarunkowane osobnicze różnice metabolicznej aktywacji wwa i innych produktów niepełnego spalania prowadzą do znaczących różnic w biologicznie efektywnych poziomach ekspozycji i powinny być brane pod uwagę przy ustalaniu dopuszczalnych poziomów ekspozycji, to jest norm obejmujących całość populacji.

Odrębną od oceny indywidualnego ryzyka sprawą jest identyfikacja i ocena znaczenia specyficznych czynników genetycznych, które wpływają na częstość zachorowań na nowotwory w populacji.

Nakreślone rozróżnienie podejść badawczych w poradnictwie genetycznym i zawodowym z jednej strony i w epidemiologii z drugiej znajduje swoje odbicie również w stosowanych metodach.

Testy różnic zagrożenia nowotworem oparte na analizie zawartości adduktów związków genotoksycznych do DNA wykazują szereg zalet takich jak czułość i możliwości przechowywania materiału badanego. Postuluje się wzajemną pozytywną zależność pomiędzy wysoką aktywnością enzymów wytwarzających aktywne metabolity wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (wwa) a zawartością adduktów DNA. Addukty nie są jednak bezpośrednimi produktami interesujących nas polimorficznych enzymów, co sprawia, że do wspomnianych wyżej źródeł zmienności aktywności dołącza się zmienność zależna od kinetyki łańcucha dalszych przemian tych produktów *in vivo*, a także od złożonej procedury laboratoryjnej. Wnioski z oznaczania adduktów, przydatne do oceny różnicowania populacji pod względem zagrożenia związanego z ekspozycją (m.in. na WWA), do tej pory nie mogą być wykorzystane do prognozowania osobniczej podatności.

W badaniach osobniczych różnic w zakresie mikrosomalnych oksygenaz, zależnych od cytochromów P450, metodą z wyboru jest obecnie badanie zmian aktywności specyficznych białek połączone z badaniami mutacji w omawianych genach a także polimorfizmów DNA sprzężonych z tymi genami. Testy oparte na ocenie aktywności polimorficznych białek napotykaają na utrudnienie wynikające z pozagenetycznych źródeł zmienności, takich jak indukowalność syntezy

enzymów przez liczne elementy środowiska, tkankowa specyficzność ekspresji genów, a także zmienność aktywności w zależności od pory dnia i roku. Pomimo złożoności, stosunkowo dobrą rozdzielczością cechują się testy *in vivo* oparte na różnicach aktywności polimorficznych białek. Przykładem jest test kofeinowy, który może służyć do określania fenotypu indukowalności hydroksylazy benzopirenu.

INHERITED SUSCEPTIBILITY TO CANCER AND OTHER FACTORS INFLUENCING OCCURRENCE OF CANCER

Summary

The types of defects and polymorphisms leading to hereditary susceptibility to cancer include: proneness to increased DNA damage, recessive syndromes of faulty DNA repair and differentiation, as well as dominant mutations of cell cycle and control of proliferation. The cancer susceptibility syndromes inherited in a dominant fashion are caused by mutations in tumor suppressor genes. These genes are recessive in relation to wild type alleles. In two syndromes of hereditary mutations in tumor suppressor genes (*Rb* and *WT2*), their expression *in vivo* may be influenced by the sex of the transmitting parent, what points to modulation by imprinting.

Genetic heterogeneity of the population in susceptibility to genotoxic agents is related to the individual variation in acceptable levels of exposure to agents and factors, such as products of incomplete combustion (PIC), UV (*xeroderma pigmentosum*) and ionizing radiation (*ataxia telangiectasia*).

DNA damage and adducts are considered to be indicative of genotoxic exposure and its effect, as well as of modulation of carcinogenic damage by genetic polymorphisms. Gene and protein polymorphisms are considered as markers of increased individual risk.

Since environmental factors are considered to be liable to control, the individual susceptibility to enhanced DNA damage and environmentally induced cancers could be counteracted by decreasing the levels of contamination or exposure. This explains the wide interest in markers of this individual sensitivity. Most of the postulated markers of sensitivity to PIC do not, however, prove to be generally applicable in that sense. Their prognostic value is limited either by low amplitude of the effect, or by their character specific either to the population or to the cancer type. The polymorphisms most relevant to cancers induced by PIC exposures may be those of inducibility of benzopyrene hydroxylase, and some other DNA polymorphisms concerning the *CYP1A1* gene.

LITERATURA

- ANTTILA S., VAINIO H., HIETANEN E., CAMUS A.-M., MALAVEILLE C., BRUN G., HUSGAFEL-PURSIANEN K., HEIKKILA L., KARJALAINEN A., BARTSCH H., 1992. *Immunohistochemical detection of pulmonary cytochrome P450IA and metabolic activities associated with P450IA1 and P450IA2 isozymes in lung cancer patients*. Environm. Health Persp. 98, 179-182.
- BROCKMÖLLER J., KERB R., DRAUKOULIS N., NITZ M., ROOTS I., 1993. *Genotype and phenotype of glutathione S-transferase class isoenzymes and in lung cancer patients and controls*. Cancer Res., 53, 1004-1011.
- COSMA G., CROFTS F., TAIOLI E., TONIOLO P., GARTE S., 1993. *Relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gene*. J Toxicol Environ Health. 40, 309-16
- DONEHOWER L. A., HARVEY M., SLAGLE B. L., MCARTHUR M. G., MONTGOMERY C. A., JR., BUTEL J. S., BRADLEY A., 1992. *Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours*. Nature 356, 215-221.
- GRODEN J., THLIVERIS A., SAMOWITZ W., CARLSON M., GELBERG L., ALBERTSEN H., JOSLYN G., STEVENS J., SPIRO L., ROBERTSON M., SARGEANT L., KRAPCHO K., WOLFF E., BURT R., HUGHES J. P., WARRINGTON J., MCPHERSON J., WASUMITH J., LE PASLIER D., ABDERRAHIM H., COHEN D., LEPPERT M., WHITE R., 1991. *Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene*. Cell 66, 589-600.
- HARLOW E., 1992. *For our eyes only*. Nature 359, 270-271.

- JACKS T., FAZELI A., SCHMITT E. M., BRONSON R. T., GOODELL M. A., WEINBERG R. A., 1992. *Effects of an Rb mutation in the mouse*. Nature 359, 295–300.
- KAWAJIRI K., NAKACHI K., IMAI K., YOSHII A., SHINODA M., WATANABE J., 1990. *Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450IA1 gene*. FEBS Lett. 263, 131–133.
- KNUDSON A. G. Jr., 1971. *Mutation and cancer statistical study of retinoblastoma*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 820–823.
- LEGERSKI R., PETERSON C., 1992. *Expression cloning of a human DNA repair gene involved in xeroderma pigmentosum group C*. Nature 359, 70–73.
- MALKIN D., LI F. P., STRONG L. C., FRAUMENI J. F. JR., NELSON C. E., KIM D. H., KASSEL J., GRYKA M. A., BISCHOFF F. Z., TAINSKY M. A. i współaut., 1990. *Germline p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcoma, and other neoplasms*. Science 250, 1233–1238.
- MONTOU C., CHOMPRET A., HOCHERZ J., TOURNADE M.-F., ZUCKER J. -M., LEMERLE J., JUNIEN C., BONAITI-PELLIÉ C., 1993. *Testing genomic imprinting in Wilms' tumor*. Eur. J. Hum. Genet. 1, 190–205.
- NAUMOVA A., SAPIENZA C., 1994. *The Genetics of Retinoblastoma, Revisited*. Am. J. Hum. Genet. 54, 264–273.
- NORTH P., GANESH A., THACKER J., 1990. *The rejoining of double strand breaks in DNA by human cell extracts*. Nucleic Acid Res. 18, 6205–6210.
- PAPADOPOULOS N., NICOLAIDES N. N., WEI Y.-F., RUBEN S. M., CARTER K. C., ROSEN C. A., HASELTINE W. A., FLEISCHMANN R. D., FRASER G. M., ADAMS M. D. i współaut., 1994. *Mutation of mutL homolog in hereditary colon cancer*. Science 263, 1625–1628.
- PAWLAK A. L., IGNATOWICZ R., KOTECKI M. 1990. *Increased frequency of chromatid breaks in lymphocytes of heterozygotes of ataxia telangiectasia after in vitro treatment with caffeine*. Mutation Res., 230, 197–204.
- ROSE G., 1985. *Sick individuals and sick populations*. Int. J. Epidemiol. 14, 32–38.
- SWIFT M., HEIM R. A., LENCH N. J., 1993. *Genetic aspects of ataxia telangiectasia*. Adv. Neurol. 61, 115–125.
- SYLLA B. S., WANG Q., HAYOZ D., MCCOY Z., MILLER C. R., LUCIER G. W., BELL D. A. 1989. *Multipoint linkage mapping of the Xq25-q26 region in a family affected by the X-linked lymphoproliferative syndrome*. Clin Genet. 36, 459–62.
- TEFRE T., DALY A. K., ARMSTRONG M., LEATHART J. B. S., IDLE J. R., BROGGER A., BORRESEN A.-L., 1994. *Genotyping of CYP 2D6 gene in Norwegian lung cancer patients and controls*. Pharmacogenetics, 4, 47–57.
- THOMPSON L. H., BROOKMAN K. W., JONES N. J., CARRANO A. V., 1990. *Molecular cloning of the human XRCC-1 gene which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange*. Mol. Cell Biol. 10, 6160–6171.
- VANDEN-HEUVEL J. P., CLARK G. C., THOMPSON C., LATHROP G. M., LENOIR G. M., 1993. *CYP1A1 mRNA levels as a human exposure biomarker: use of quantitative polymerase chain reaction to measure CYP1A1 expression in human peripheral blood lymphocytes*. Carcinogenesis 14, 2003–2006.
- VENEMA J., MULLENDERS L. H. F., NATARAJAN A. T., VAN ZEELAND A. A., MAYNE L. V., 1990. *The genetic defect in Cockayne syndrome is associated with defect in repair of UV-induced damage in transcriptionally active DNA*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 4707–4711.
- WEDLUND P. J., KIMURA S., GONZALEZ F. J., NEBERT D. W., 1994. *1462V mutation in the human CYP1A1 gene: lack of correlation with either the Msp I 1,9kb (M2) allele or Cyp1A1 inducibility in three-generation family of East Mediterranean descent*. Pharmacogenetics 4, 21–26.