

Metka Ravnik Glavač<sup>1</sup>

# Molekularna genetika v diagnostiki dednega raka širokega črevesa in danke

*Molecular Genetics in Diagnosis of Hereditary Colorectal Cancer*

---

## IZVLEČEK

---

**KLJUČNE BESEDE:** kolorektalne novotvorbe, dedne nepolipozne – diagnostika – genetika

Že skoraj eno stoletje je od tega, ko je bila prvič opisana družina, v kateri se je rak dedoval na avtosomno-dominanten način. Nedvomna potrditev, da so določene vrste raka širokega črevesa in danke dedne bolezni, je prišla šele pred manj kot desetletjem, ko so bile odkrite prve mutacije, povezane z dednimi nagnjenji za rak širokega črevesa in danke, ki so se prenašale iz roda v rod po Mendlovem načinu dedovanja. V prispevku so opisane dedne oblike raka širokega črevesa in danke ter njihove fenotipske in genetske značilnosti, ki omogočajo razlikovanje med posameznimi sindromi. Obravnavan je pomen molekularnogenetske analize za posamezno družino in za širšo družbo. Opisan je naš način za prepoznavanje družin z dednim nepolipoznim rakom širokega črevesa in danke v slovenski populaciji, ki temelji zgolj na molekularnogenetskem pristopu.

---

## ABSTRACT

---

**KEY WORDS:** colorectal neoplasms, hereditary nonpolyposis – diagnosis – genetics

A family with autosomal dominant cancer was first reported one century ago. The hereditary nature of some forms of colorectal cancer was confirmed less than 10 years ago by the detection of mutations associated with genetic predispositions to mendelian colorectal cancer. The paper presents several hereditary types of colorectal carcinoma, as well as their phenotypic and genetic characteristics, which allow for differential diagnosis of various syndromes. The role of molecular genetic technology in familial and population genetics is stressed. The paper describes the molecular genetic technique used at the Laboratory of molecular genetics Institute of Pathology Medical Faculty Ljubljana for the identification of families with hereditary non-polyposis colorectal cancer in the Slovene population.

---

<sup>1</sup> Doc. dr. Metka Ravnik Glavač, dipl. inž. kemije, Inštitut za biokemijo in Laboratorij za molekularno genetiko Inštituta za patologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana.

## UVOD

Že zgodnjega leta 1913 je Warthin prvič poročal o večgeneracijski družini, v kateri so družinski člani pogosto zbolevali za rakom. Družinsko drevo, v katerem so bili za rakom zboleli družinski člani prikazani s temno obarvanimi simboli, je jasno izražalo avtosomno dominantno dedovanje bolezni (1). Če se določena bolezen prenaša iz roda v rod, pomeni, da je za nastanek te bolezni v tej družini odgovorna mutacija v točno določenem genu, ki je navzoča tudi v spolnih celicah prenašalca. Odkrivanje genov, povezanih z dednimi oblikami raka, je postalo mogoče šele v zadnjem desetletju, ko se je razvila sodobna molekularna genetika. Z novimi metodami in tehnikami molekularne genetike je bilo mogoče ugotoviti, da je prav vsaka vrsta raka genetska bolezen. Vendar pa je majhen delež vseh rakavih obolenj dednih. Razlika med sporadičnimi in dednimi oblikami raka je v tem, da pri sporadičnih oblikah raka mutacije nastanejo v somatskih celicah kasneje v času življenja posameznika, pri dednih oblikah raka pa so mutacije v nekaterih odgovornih genih nastale že v preteklosti v spolnih celicah predhodnikov, ki so jih nato prenašali na svoje potomce. Po dosedanjih spoznanjih sta v razvoj raka vključeni vsaj dve skupini genov, onkogeni in tumorsko zaviralni geni.

Onkogeni so mutirane oblike človeških celičnih genov, protoonkogenov, ki so najpogosteje vključeni v prenos signalov ali uravnavanje izražanja genov. Skupno vsem onkogenom je, da mutacije v teh genih vodijo do dodatnih dejavnosti oz. povečajo dejavnost njihovih beljakovin, kar povzroči nenadzorovano celično delitev. Onkogeni delujejo prevladovalno (dominantno), kar pomeni, da je prekomerna aktivnost enega samega alela (ene kopije gena) dovolj, da se pospeši delitev celice, čemur sledi klonalna ekspanzija te celične linije. Onkogeni delujejo na vseh ravneh biokemijskih procesov, vključujoč hormone, receptorje, encime in transkripcijske dejavnike. Do sedaj je bilo odkritih že veliko onkogenov, vendar so le nekateri med njimi pomembni v začetni stopnji nastanka tumorjev. Znana je le neposredna povezava med protoonkogenom *RET*

in nekaterimi boleznimi, saj so podedovane mutacije v protoonkogenu *RET* povezane s tremi oblikami dednega rakavega sindroma, poznanega kot multipla endokrina neoplazija tipa 2 (MEN2A, MEN2B in FMTC – angl. *Familial Medular Thyroid Carcinoma*), mutirani ali heterozigotno deletirani gen *RET* pa povzroči tudi avtosomno dominantno obliko Hirschsprungove bolezni (2).

Tumorsko zaviralni geni kodirajo raznoliko skupino beljakovin, ki po številnih mehanizmih negativno uravnavajo celično rast in razvoj. Tumorsko zaviralni geni delujejo recisivno, kar pomeni, da morata biti mutirana oba alela gena, da izgubijo svojo normalno vlogo pri negativnem uravnavanju celične rasti in razvoja. Do sedaj poznani mehanizmi nastanka raka kažejo na to, da se v tumorjih pri človeku geni bolj pogosto izgubijo (tumor supresorski geni) kot aktivirajo (onkogeni), kar pomeni, da so tumorsko zaviralni geni pomembnejši pri nastajanju tumorjev. Večina do sedaj odkritih tumorsko zaviralnih genov je celo bolj pomembnih pri nastanku dednih in sporadičnih oblik raka, kot je bilo mogoče slutiti na začetku raziskav.

Do sedaj je bilo odkritih in karakteriziranih približno 30 različnih tumorsko zaviralnih genov, ki so povezani z družinskimi rakavimi sindromi pri ljudeh. Ti sindromi vključujejo: dedne oblike retinoblastoma, sindrom WAGR/Denys-Drash (Wilmsov tumor), sindrom Li-Fraumeni, družinsko adenomatozno polipozo, neurofibromatozo tip 1 in tip 2, sindrom von Hippel-Lindau, dedni nepolipozni rak širokega črevesa in danke, družinski rak dojke in jajčnika, družinsko obliko raka prostate, sindrom nevoidnih bazalnih celic (3).

## KNUDSONOVA DVOSTOPENJSKA HIPOTEZA O NASTANKU RAKA

Že v zgodnjih sedemdesetih letih, dolgo pred tem, ko je bilo mogoče teorijo potrditi na molekularnogenetski ravni, je švedski znanstvenik Alfred Knudson predpostavil model nastanka raka, ki je temeljil na tumorsko zaviralnih genih. Opazoval je epidemiološke značilnosti bolnikov z retinoblastomom. V družinah, v katerih je že bila navzoča ta redka oblika očesnega raka, so otroci zbolevali

mlajši kot otroci iz tistih družin, kjer te bolezni ni bilo. Ta spoznanja so vodila Knudsona, da je postavil dvostopenjsko hipotezo o nastanku raka. Hipoteza predpostavlja, da pri sporadični (nedružinski) obliki bolezni nastaneta dve spontani mutaciji, vsaka na enem alelu istega tumorsko zaviralnega gena znotraj ene celice, kar se le redko zgodi. Pri družinski obliki bolezni pa je ena podedovana mutacija v tumorsko zaviralnem genu že navzoča v vseh celicah, kar pomeni, da mora nastati le še ena mutacija na drugem alelu istega gena v eni sami celici, da se proces nastanka tumorja lahko začne. Da se bo zgodil ta dogodek, je dosti bolj verjetno, zato se družinska oblika bolezni pojavi v zgodnejši življenjski dobi. Celica, ki ima inaktivirana oba alela kritičnega tumorsko zaviralnega gena, se začne nenadzorovano deliti in lahko postane maligna. V nasprotju z onkogeni, ki delujejo dominantno, delujejo tumorsko zaviralni geni recesivno. Potrebna je mutacija v obeh alelih istega tumorsko zaviralnega gena, da lahko pride do razvoja bolezni, oziroma en normalni alel gena še preprečuje in zavira začetek procesa nastanka raka. Zaradi te lastnosti so take gene imenovali tumorsko zaviralni (supresorski) geni (4).

Knudsonova teorija je bila v novejšem času potrjena in le nekoliko dopolnjena. Opaženo dejstvo, da podedovana heterozigotnost za mutacijo še ni zadosten pogoj za razvoj bolezni, namreč kaže na to, da je v kancerogenezo vključenih več različnih genov. Spoznanje, da imajo določeni tumorji pri dednih rakavih sindromih mutacije v istih genih kot enaki sporadični tumorji v zgodnji fazi razvoja, je vodilo do zaključka, da je verjetno inaktivacija teh genov ključna za začetek in razvoj določenih neoplazem. Vogelstein in Kinzler sta pred kratkim predstavila koncept genov »vratarjev«. Inaktivacija teh genov naj bi bila potrebna za prestop genetskega praga neoplastičnega procesa v danem tkivu. Ko je enkrat gen vratar inaktiviran (tumorsko zaviralni gen) ali aktiviran (protoonkogen) v celici, se zgodi klonalna ekspanzija, ki ji sledijo številni genetski dogodki. Večina družinskih rakavih bolezni vključuje podedovano mutacijo v tumorsko zaviralnem genu, ki verjetno predstavlja začetek procesa nastanka raka, tej pa sledi cela vrsta

delecijskih in mutacijskih dogodkov v drugih tumorsko zaviralnih genih in onkogenih. Mutacija v enem samem tumorsko zaviralnem genu, ki nosi podedovano mutacijo, verjetno sproži niz nadaljnjih mutacij, ki vodijo do neoplastičnega fenotipa v številnih dednih oblikah raka (5).

## DEDNE OBLIKE RAKA ŠIROKEGA ČREVEESA IN DANKE

Rak širokega črevesa in danke je genetsko heterogena bolezen. Molekularne osnove za večino vrst tega raka še niso poznane, vendar pa je na osnovi družinskih anamnez, kliničnih ugotovitev in molekularnogenetskih raziskav popolnoma jasno, da je določen delež rakov širokega črevesa in danke deden.

Približno 5% rakov širokega črevesa in danke je dednih. Najpogostejši med njimi je dedni nepolipozni rak širokega črevesa in danke (angl. *Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer* – HNPCC), ki zavzema od 1% do 4% vseh dednih rakov širokega črevesa in danke. Drugi najpogostejši je družinska adenomatозна polipoza (angl. *Familial Adenomatous Polyposis* – FAP), ki prizadene približno vsakega stotega bolnika z rakom širokega črevesa in danke. Obstajajo pa tudi še številne manj pogoste oblike dednega raka širokega črevesa in danke, kot so Peutz-Jeghersov sindrom, družinska juvenilna polipoza, zmanjšana oblika družinske adenomatözne polipoze (angl. *Attenuated form of FAP* – AFAP) in Turcotov sindrom (6).

Prva zelo pomembna stopnja pri obravnavanju bolnikov z rakom širokega črevesa in danke je ugotovitev navzočnosti specifičnega dednega sindroma, kajti različni sindromi morajo biti z več vidikov različno obravnavani. Prekrivanja v kliničnih značilnostih med dednimi sindromi včasih otežujejo postavljanje pravilne diagnoze. V nadaljevanju bomo zato obravnavali fenotipske in genotipske značilnosti posameznih dednih sindromov in njihovo razločevanje od najpogostejše dedne predispozicije za rak širokega črevesa in danke, to je dednega nepolipoznega raka širokega črevesa in danke – HNPCC ali sindroma Lynch.

## FENOTIPSKO IN GENOTIPSKO RAZLIKOVANJE DEDNIH SINDROMOV RAKA ŠIROKEGA ČREVEESA IN DANKE

### Družinska adenomatozna polipoza

V preteklem stoletju je veljalo prepričanje, da je družinska adenomatozna polipoza (FAP) edina dedna predispozicija za rak širokega črevesa in danke. Deduje se avtosomno dominantno. Zgodovinsko osredotočenje na FAP ni presenetljivo, saj je zaradi njegovega izrazitega fenotipa, stotine ali tisoče adenomatoznih polipov po širokem črevesu in danki, diagnostika sorazmerno enostavna. Polipi se pojavijo že v otroštvu, vsaj eden od polipov se brezpogojno spremeni v rak, običajno do 39. leta življenja, čeprav niso redki primeri raka tudi pri najstnikih in mladih odraslih. Čeprav FAP predstavlja pravzaprav le majhen del dednega raka širokega črevesa in danke, pa je ta sindrom predstavljal klinikom in raziskovalcem paradigmo za dedno obliko raka. Molekularnogenetske raziskave bolnikov s FAP so omogočile postavitev sedaj splošno sprejetega večstopenjskega modela karcinogeneze, v katerem vrsta genetskih dogodkov povzroči morfološke spremembe normalne črevesne sluznice preko adenomatoznih sprememb do invazivnega raka

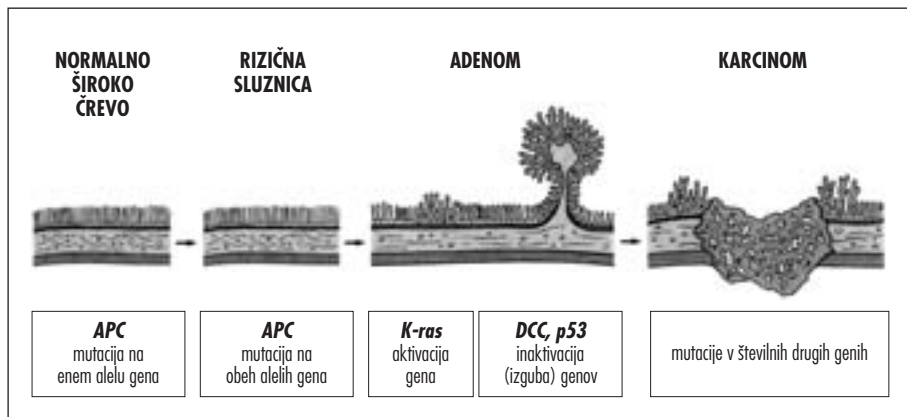
(slika 1). To delo je vodilo do prepoznanja in kloniranja kritičnega gena za nastanek FAP na kromosomu 5q21 (7, 8). Gen je po svojem načinu delovanja tumorsko zaviralni gen, ki so ga imenovali APC (angl. *Adenomatous Polyposis Coli*). Posamezniki, ki podedujejo mutacijo na enem alelu gena APC, imajo skoraj 100% verjetnost, da mladi zbolijo za rakom.

Druga oblika FAP je Gardnerjev sindrom. Zanj so značilne še ciste povrhnjice kože, novotvorbe na kosteh spodnje čeljusti, prirojena hipertrofija pigmentnega epitelijske mrežnice, desmoidni tumorji v trebuhu, možganski tumorji, polipi fundičnih žlez želodca in adrenalni adenomi (6).

### Dedni nepolipozni rak širokega črevesa in danke ali Lynch sindrom

Veliko raziskovalne pozornosti predvsem genetikov je bilo usmerjene v dominantno podedovano dovzetnost za nastanek raka širokega črevesa in danke, katere značilnost je odsotnost velikega števila polipov kolona in se zato imenuje dedni nepolipozni kolorektalni rak (HNPCC). Prav za to obliko raka je bilo največ ugibanj o prispevku dednosti in okolja. Ker je bil Henry Lynch eden redkih raziskovalcev, ki so bili prepričani, da dednost igra najpomembnejšo vlogo v družinah s to obliko raka, so HNPCC-sindrom imenovali tudi sindrom Lynch. Sindrom Lynch je raz-

88

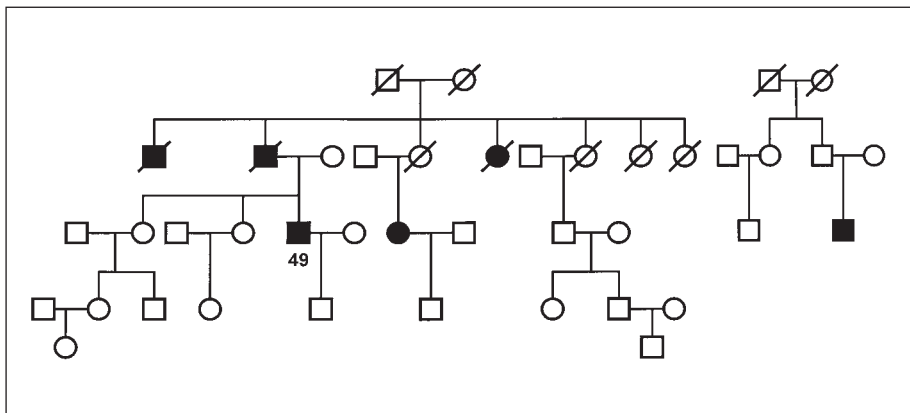


Slika 1. Večstopenjski model karcinogeneze širokega črevesa in danke (po Fearon in Vogelstein, 1990) (27). Cela vrsta genetskih dogodkov, v katero so vključeni geni APC, K-ras, DCC, p53, vodi do spremembe normalne črevesne sluznice preko predrakavih sprememb do invazivnega raka.

deljen v dve glavni obliki. Pri sindromu Lynch I je prizadeto le široko črevo in danke, pri sindromu Lynch II so navzoči tudi tumorji izven tega predela. Prevladuje proksimalna lokacija tumorjev širokega črevesa in danke, pogosti so sinhroni (več sočasnih primarnih tumorjev) in metahroni (primarni tumorji s časovnim zamikom) tumorji. Lynch II vključuje tudi rak endometrija, jajčnika, sečevoda in ledvičnega meha. Zdaj velja, da je nepolipozni sindrom najbolj razširjena oblika dednega raka širokega črevesa in danke, ki prizadene (po različnih podatkih) vsakega 400. do 2000. posameznika in tako predstavlja eno najpogostejših dednih boleznih nasploh. Penetranca bolezni je 80–90%. Variantna oblika sindroma HNPCC je sindrom Muir-Torre, ki vključuje adenome in karcinome lojnic in keratoakantome kože (6).

Leta 1989 sta se združili skupini raziskovalcev, ki sta jih vodila Bert Vogelstein (ZDA) in Albert de la Chapelle (Finska), da bi skupaj poskušali dokazati, da imajo družine s HNPCC-sindromom zares podedovano predispozicijo za nastanek raka širokega črevesa in danke. Po štirih letih, potem ko so testirali več kot 300 različnih genetskih označevalcev, so našli genetsko povezavo med bolniki iz dveh velikih družin s HNPCC-sindromom in genetskim označevalcem na kromosomu 2. To je pomenilo, da gen za HNPCC leži blizu tega označevalca (9, 10). Raziskovalci so tudi opazili, da se DNA normalnega tkiva in DNA tumorja bolnika v družinah s HNPCC razlikuje

je v dolžini ponavljajočih se DNA-zaporedij na številnih kromosomih. Ta fenomen se imenuje mikrosatelitna nestabilnost (angl. *Microsatellite Instability* – MSI) in je pokazatelj napak v genih, ki skrbijo za to, da se popravljajo napake, ki normalno nastajajo pri podvojevanju (replikaciji) DNA. To pa pomeni, da so geni, ki so vključeni v HNPCC-sindrom, geni, ki skrbijo za točnost podvojevanja DNA. To spoznanje je vodilo do dramatičnega odkritja popolnoma nove vrste genov, ki so vključeni v proces nastanka raka pri človeku. Vsak od teh genov ima evolucijske korenine v DNA popravljalni poti MutHLS pri bakterijah in kvasovkah. Do sedaj so odkrili sedem genov, ki očitno sodelujejo pri DNA-popravljalnem mehanizmu pri človeku, in vsaj štirje (*hMSH2*, *hMLH1*, *hPMS1*, *hPMS2*) so povezani s HNPCC-sindromom (11–14). Ta odkritja so odprla nove možnosti za delo z družinami, prizadetimi s sindromom dednega nepolipoznega raka širokega črevesa in danke. Pomembno je torej, da odkrijemo čim več takih družin. Razlikovanje med FAP in HNPCC je, zaradi že prej omenjenih fenotipskih značilnosti, dokaj enostavno. Nasprotno pa so klinične značilnosti HNPCC podobne kliničnim značilnostim sporadičnih primerov raka širokega črevesa in danke in diagnoza HNPCC temelji le na družinski zgodovini bolezni. Za poenoteno diagnostiko HNPCC sindroma je Mednarodna skupina za HNPCC (iz angl. *International Collaborative Group on HNPCC* – ICG-HNPCC) predlagala naslednje



Slika 2. Autosomno dominantno dedovanje v družini z dednim nepolipoznim rakom širokega črevesa in danke (HNPCC). Krogi predstavljajo ženske, kvadrati pa moški spol. Črno obarvani simboli predstavljajo bolne, prečrtani simboli pa umrle člane družine.

minimalne kriterije za prepoznavanje družin s HNPCC:

- trije ali več sorodnikov z rakom širokega črevesa in danke, od katerih je eden sorodnik prvega reda ostalima dvema;
- rak prizadene vsaj dve generaciji;
- vsaj en primer raka mora biti diagnosticiran do 50. leta starosti (slika 2).

Da ne bi zgrešili katere od družin s HNPCC, je priporočljivo, da se obravnava tudi družine, ki ne dosežejo vseh naštetih kriterijev. Pri teh družinah ostaja glavni kriterij zgotovljen pojav bolezni (15). V novejšem času, po odkritju genov, povezanih s HNPCC-sindromom, ima velik pomen pri prepoznavanju družin s HNPCC molekularnogenetska analiza.

### Zmanjšana oblika družinske adenomatozne polipoze (AFAP)

Zmanjšana oblika družinske adenomatozne polipoze (AFAP) je dedna predispozicija za katero so značilni običajni, pa tudi ploščati (ravni) adenomi, ki prevladujejo v proksimalnem delu kolona. Razlika s FAP je tudi v številu polipov, ki jih je pri zmanjšani obliki FAP le nekaj (5–10), zelo redko jih je več kot sto. Rak širokega črevesa in danke se v primerjavi s klasičnim FAP pojavi v kasnejšem življenjskem obdobju, v povprečju pri 55. letu starosti. Za bolezen so značilni tudi polipi fundičnih žlez želodca in adenomi dvanajsternika. Nastanek bolezni je povezan z *APC*-genom, vendar so pri tej obliki FAP mutacije pogosteje prisotne v začetnem predelu gena (bližje koncu 5'), kar omogoča razlikovanje med FAP in AFAP. Dedovanje je avtosomno dominantno (6).

### Turcotov sindrom

Dedovanje Turcotovega sindroma je verjetno avtosomno recesivno, čeprav v nekaterih družinah izgleda tudi avtosomno dominantno. Značilnost bolezni so adenomi črevesa, ki jih je lahko od približno 50 do več kot 100. Rak širokega črevesa in danke se razvije v mladosti. Ker so z boleznijo povezani tudi tumorji možganov, je možna zamenjava z Gardnerjevimi sindromom. Z molekularnogenetskimi raziskavami so ugotovili, da je Turcotov sindrom, pri katerem prevladujejo multiform-

ni glioblastomi, povezan z mutacijami v genih, ki so okvarjeni tudi pri HNPCC-sindromu (*hMLH1*, *hMSH2*, *hPMS2*), medtem ko je Turcotov sindrom, pri katerem prevladujejo meduloblastomi v malih možganih, povezan z mutacijami v *APC*-genu (16).

### Juvenilna polipoza širokega črevesa

Polipi pri tej bolezni so hamartomski, pojavijo se v širokem in tankem črevesu. Rak črevesa in danke se lahko razvije že v otroštvu, s kolonoskopijo je, tako kot pri FAP in Turcotovem sindromu, treba začeti že v otroštvu (pri starosti 10 do 12 let). Dedovanje bolezni je avtosomno dominantno. Pri bolnikih z juvenilno polipozo širokega črevesa so odkrili podedovane mutacije v genu *PTEN* (angl. *Protein-Tyrosine-Phosphatase*), ki je tumorsko zaviralni gen na kromosomu 10q23 (17, 18) in v tumorsko zaviralnem genu *SMAD4* (19).

### Sindrom Peutz-Jeghers

Značilni so hamartomski polipi želodca ter tankega in širokega črevesa. Rak se lahko razvije na želodcu, tankem in širokem črevesu, kakor tudi na jajčnikih in testisih. Značilen je tudi pojav melaninskih pigmentacij na koži in sluznici. Dedovanje je avtosomno dominantno.

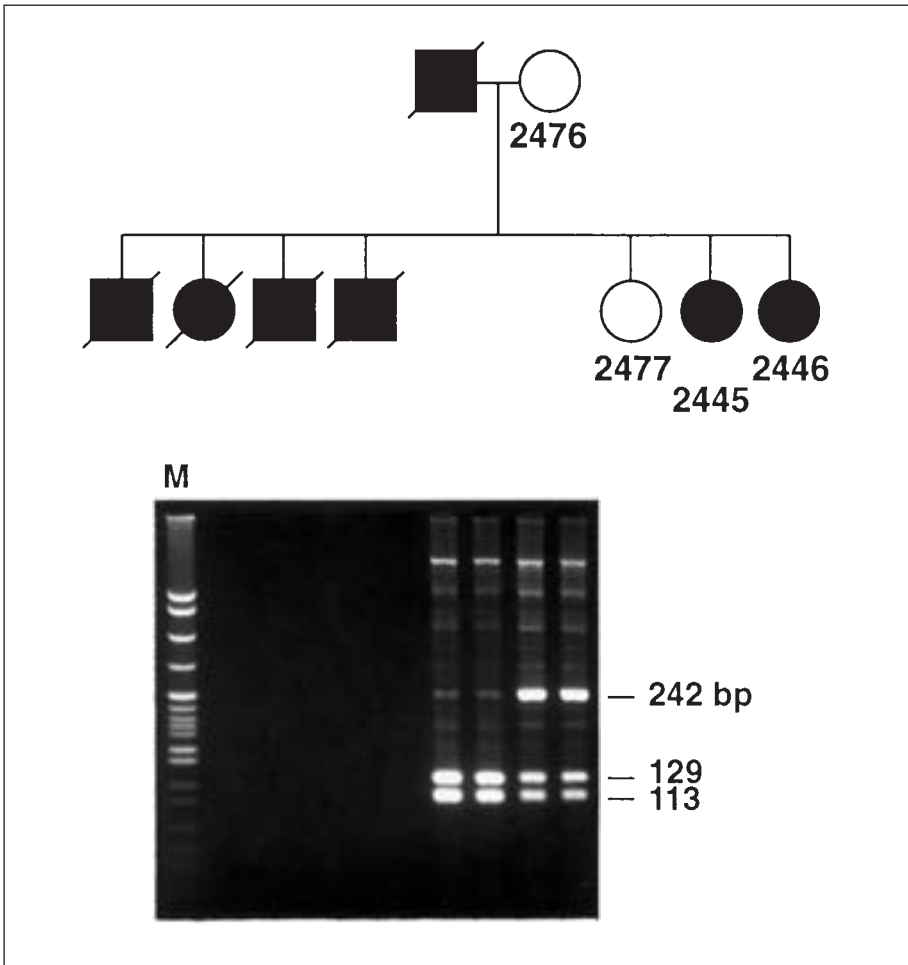
Analiza genetske vezavnosti v šestih družinah s sindromom Peutz-Jeghers (PJS) je potrdila povezavo s kromosomom 19p13.3, kjer je navzoč novoodkriti gen, ki je odgovoren, če je mutiran, za razvoj PJS. Podedovane mutacije v tem genu, ki so ga imenovali *STK11*, so našli pri vseh šestih družinah. Analiza haplotipov je pokazala, da je *STK11* tumorsko zaviralni gen (20).

## POMEN MOLEKULARNOGENETSKE DIAGNOSTIKE DEDNIH RAKOV ŠIROKEGA ČREVESIA IN DANKE

Odkritje številnih genov, ki so povezani z nastankom dednih oblik raka širokega črevesa in danke, je omogočilo ugotavljanje dednih predispozicij za razvoj teh bolezni na molekularnogenetskem nivoju. Odkritje mutacij v genih, odgovornih za razvoj posa-

meznih sindromov, v družinah, pri katerih družinske anamneze kažejo na navzočnost dednih rakavih sindromov, ima velik pomen za posamezno družino kakor tudi za širšo družbo. Za posamezno družino pomeni pozitivna molekularnogenetska analiza (odkritje podedovane patogene mutacije) potrditev diagnoze dednega raka širokega črevesa in danke. To pa ima pomemben vpliv na nadaljnje obravnavanje in zdravljenje bolnika, saj veliko posameznikov s podedovano mutacijo razvije številne tumorje. Na primer, bolni-

ca, z nepolipoznim rakom širokega črevesa in danke in odkrito podedovano mutacijo v genu *hMSH2*, ima zelo veliko verjetnost, da se ji razvije tudi rak endometrija. Odkrita mutacija v družini pomeni tudi možnost genetskega testiranja pred pojavom simptomov in s tem ugotavljanja še zdravih, vendar ogroženih družinskih članov. Če se še zdravi posamezniki po genetskem posvetovanju odločijo za genetsko analizo in se pri njih odkrije navzočnost mutacije, morajo biti vključeni v preventivne programe. Ti programi vključujejo



Slika 3. Molekularnogenetska potrditev diagnoze v družini z dednim polipoznim rakom širokega črevesa in danke (FAP). Genetska analiza je bila opravljena pri vseh še živečih članih družine. Slika predstavlja gelsko elektroforezo dela gena APC, ki je v tej družini mutiran. Krogci predstavljajo ženski, kvadrati moški spol. Črno obarvani simboli predstavljajo bolne, prečrtani simboli pa umrle članke družine. Pri bolnih članih družine zaradi navzočnosti mutacije na enem alelu gena ni prišlo do cepitve DNA z restriksijsko endonukleazo.

psihosocialno skrb in obdobje preglede za zgodnje odkrivanje bolezni. Zgodnje odkrivanje bolezni je povezano z možnostjo preprečevanja razvoja bolezni in zato tudi z uspešnejšim zdravljenjem (21).

V populacijskem smislu pa molekularnogenetska analiza omogoča ugotavljanje incidence posamezne patologije in izdelavo nacionalnih registrov dednih rakov širokega črevesa in danke. S pomočjo registrov je omogočeno spremljanje družin in aplikacija novih spoznanj za zgodnje odkrivanje in uspešno zdravljenje ogroženih družinskih članov tudi v prihodnosti. Odkrivanje bolezni v zgodnejših stadijih pomeni tudi zmanjšanje stroškov zdravljenja in zmanjšanje umrljivosti zaradi raka (22).

## MOLEKULARNOGENETSKA DIAGNOSTIKA DEDNEGA NEPOLIPOZNEGA RAKA ŠIROKEGA ČREVESJA IN DANKE V SLOVENIJI

V Laboratoriju za molekularno genetiko Inštituta za patologijo MF v Ljubljani izvajamo molekularnogenetsko analizo v družinah, ki z ozirom na družinsko anamnezo pretežno izpolnjujejo kriterije za dedni nepolipozni rak širokega črevesa in danke. Na drugi strani pa prepoznavamo HNPCC-družine tudi na osnovi izključno molekularnogenetskega pristopa. Z ugotavljanjem mikrosatelitne nestabilnosti v tumorjih širokega črevesa in danke in nadaljnjo mutacijsko analizo v genih DNA-popravljalnega mehanizma (*hMSH1* in *hMLH2*),

smo tako določili, da je incidenca HNPCC-sindroma v slovenski populaciji vsaj 1 na 1700. Z molekularnogenetskimi analizami smo tako potrdili nekatere in prepoznali nove slovenske družine s HNPCC in FAP sindromom (23–26) (slika 3). To nam je omogočilo, da smo zdravnikom in članom družin z dednimi predispozicijami za rak širokega črevesa in danke posredovali več informacij o vlogi in pomenu molekularnogenetske diagnostike. Ponudili smo možnost genetske analize pred pojavom simptomov in v sodelovanju z Gastroenterološko interno kliniko v Ljubljani tudi preventivne programe v smislu obdobjnih pregledov družinskih članov s podedovano mutacijo.

## ZAKLJUČEK

Dedni raki širokega črevesa in danke so genetsko heterogene bolezni. Še vedno je veliko genov povezanih z nastankom teh bolezni, ki pa še niso bili odkriti. Z dosedanjim znanjem tako lahko na primer odkrijemo mutacije pri večini bolnikov z družinsko adenomatozno polipozo in le pri 30–40% družin z dednim nepolipoznim rakom širokega črevesa in danke. Molekularnogenetska diagnostika je smiselna v obeh primerih, saj je dedni nepolipozni rak širokega črevesa in danke najpogostejša oblika vseh dednih rakov črevesja in ena najpogostejših dednih bolezni nasploh. Z odkritjem podedovane mutacije se namreč v vsaki posamezni družini odpre možnost za genetsko testiranje pred pojavom simptomov, zgodnje odkrivanje bolezni in uspešno zdravljenje.

## LITERATURA

1. Warthin AS. Hereditary with reference to carcinoma. *Arch Intern Med* 1913; 12: 546–55.
2. Lee WH. Tumor suppressor genes – the hope. *FASEB J* 1993; 7: 819.
3. Brown MA. Tumor suppressor genes and human cancer. *Advances in Genetics* 1997; 36: 45–135.
4. Knudson AG Jr, Di Ferrante N, Curtis JE. Effect of leukocyte transfusion in a child with type II mucopolysaccharidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971; 68: 1437–43.
5. Sidransky D. Is human patched the gatekeeper of common skin cancers? *Nature Genet* 1996; 14: 7–8.
6. Lynch HT, Smyrk T, Lynch JF. Overview of natural history, pathology, molecular genetics and management of HNPCC (Lynch syndrome). *Int J Cancer (Pred. Oncol.)* 1996; 69: 38–43.
7. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 1991; 66: 589–600.
8. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, et al. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991; 253: 661–5.
9. Peltomaki P, Aaltonen LA, Sistonen P, et al. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science* 1993; 260: 810–2.



10. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993; 260: 812-6.
11. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75: 1027-38.
12. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, et al. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993; 75: 1215-25.
13. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994; 368: 258-61.
14. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei Y-F, Ruben SM, et al. Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994; 263: 1625-9.
15. Vasen HFA. What is hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC)? *Anticancer research* 1994; 14: 1623-6.
16. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *New Engl J Med* 1995; 332: 839-47.
17. Olschwang S, Serova-Sinilnikova OM, Lenoir GM, Thomas G. PTEN germ-line mutations in juvenile polyposis coli. *Nat Genet* 1998; 18 (1): 12-4.
18. Wambach J, Barnard J. SMAD4 germline mutations in juvenile polyposis coli. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28 (5): 538-9.
19. Lynch ED, Ostermeyer EA, Lee MK, Arena JF, Ji H, Dann J, Swisshelm K, Suchard D, MacLeod PM, Kvinnsland S, Gjertsen BT, Heimdal K, Lubs H, Moller P, King MC. Inherited mutations in PTEN that are associated with breast cancer, cowden disease, and juvenile polyposis. *Am J Hum Genet* 1997; 61 (6): 1254-60.
20. Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, Muller O, Back W, Zimmer M Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet* 1998; 18 (1): 38-43.
21. Lynch HT, Lemon S, Smyrk T, et al. Genetic counseling in hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an extended family with MSH2 mutation. *Am J Gastroenterology* 1996; 91 (12): 2489-93.
22. Vasen HFA, Taal BG, Nagengast FM, et al. Hereditary non-polyposis colorectal cancer: results of long-term surveillance in 50 families. *Eur J Cancer* 1995; 31A (7/8): 1145-8.
23. Ravnik-Glavač M, Potočnik U, Koželj M, Krizman I, Glavač D. A novel in frame deletion of codons 188-190 in the hMSH2 gene of a slovenian patient with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Hum Hered* 1998; 48: 285-7.
24. Potočnik U, Glavač D, Golouh R and Ravnik-Glavač M. A novel Q562X mutation identified in the hMLH1 gene in a Slovenian HNPCC patient. *Hum Hered* 2000; 50: 140-1.
25. Ravnik-Glavač M, Potočnik U, Glavač D. Incidence of germline hMLH1 and hMSH2 mutations (HNPCC patients) among newly diagnosed colorectal cancers. *J Med Genet* 2000 (v tisku).
26. Potočnik U, Glavač D, Golouh R and Ravnik-Glavač M. Evaluation of microsatellite markers for efficient assessment of high microsatellite instable colorectal tumors. *Europ J Physiol (Pflug Arch)* 2000; 439 (3 Suppl): R47-9.
27. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-67.

Prispelo 18. 6. 1999