

Expozíció vagy rákhajlam? Fej-nyaki laphámrákos betegek citogenetikai szűrése

Székely Gábor¹, Remenár Éva², Kásler Miklós², Gundy Sarolta¹

Országos Onkológia Intézet, Onkocytogenetikai¹ és Fej-Nyak, Állcsont és Rekonstrukciós Sebészeti
Osztály², Budapest

A hazai prevenció egyik legfontosabb igénye a rákkockázat különböző biomarkereinek kutatása. Közleményünkben a konvencionális kromoszómaanalízis mellett a bleomycin-teszt alkalmazhatóságát vizsgáltuk a fej-nyaki laphámrákos betegek (FNyLR) egyéni mutagénérzékenységének és rákhajlamának monitorozására. Az eljárás a perifériás vér lymphocyták in vitro bleomycinkezelése következtében kialakuló kromatid törések egy sejtre eső átlaga alapján (break/cell = b/c) tükrözi a genetikai fogékonyság mértékét. 156 FNyLR beteggel szemben nemcsak 295 egészséges kontrollt (146 nem dohányzó és 149 dohányzó) illesztettünk, hanem a rákos betegekkel azonos életvitelű 51 erősen dohányzó és alkoholizáló, nem daganatos májbeteg is (ALK). Az aberrációt hordozó sejtek aránya a FNyLR-ban (2,85%), az ALK-ban (2,82%) és az egészséges dohányzóknál (2,81%) egyaránt magasabb volt ($p < 0,03$), mint a nem dohányzó kontrollokban (2,25%). A hagyományos aberrációelemzés eredményei tehát főleg a dohányzásból eredő mutagénexpozíciót jelzik. A bleomycin-tesztel mért csoportszintű mutagénérzékenység mind a FNyLR (1,13 b/c), mind az ALK betegek csoportjában (1,29 b/c) szignifikánsan különbözött a dohányzó (1,04 b/c) és a nem dohányzó kontrolltól (0,98 b/c). A bleomycin-teszt ezek alapján nemcsak a rákbetegségnek, hanem az azonos etiológiájú alkoholos májbetegségnek is biomarkere. A b/c értékeknek a kontrollal való nagyfokú átfedése miatt viszont a módszer egyéni rákkockázat becslésére nem alkalmas. A magyar kontroll személyek 42-49%-a mutagénérzékeny - Hsu szerint rákfogékony - szemben az amerikai és nyugat-európai 20-23%-kal. Ennek alapján a bleomycin-teszt hazai körülmények között nem egyértelmű biomarker a rákhajlam becslésére, és a konvencionális kromoszómaanalízis eredményeivel kombinálva is csak óvatosan alkalmazható. *Magyar Onkológia* 45:152-157, 2001

Search of different biomarkers is one of the most important demands of the national cancer prevention programme. We examined the usefulness of bleomycin sensitivity assay, whether it serves as a biomarker of individual sensitivity and risk for head and neck cancer under our environmental conditions. The test is based on the measurement of the means of chromatid breaks induced by bleomycin in vitro in a single lymphocyte (break/cell=b/c). 156 head and neck cancer patients were matched not only with 295 healthy controls (146 non-smokers and 149 smokers), but also with 51 strong alcoholic and smoking patients with liver disease whose lifestyle did not differ from that of the cancer patients. The aberrant cell frequency of cancer patients (2.85%), alcoholics (2.82%) and healthy smokers (2.81%) was similar and higher ($p < 0.03$) than the values of non-smoker controls (2.25%). Thus, the results of conventional chromosome analysis indicate the effect of exposure to mutagens, derived mainly from smoking. Mutagen sensitivity measured by the bleomycin assay was significantly higher in both the cancer- (1.13 b/c) and the alcoholic patients (1.29 b/c) compared with smoker (1.04 b/c) and non-smoker controls (0.98 b/c). The bleomycin sensitivity assay, therefore, seems to be the biomarker not only for the cancer, but also for a disease of the same aetiology such as alcohol-related liver disease. However, the method is not suitable for the assessment of individual cancer risk due to overlapping of b/c values with those of controls. The proportion of mutagen sensitive persons in the group of Hungarian controls is 42-49%, which is two-fold of those in the US and Western Europe. When we estimate the cancer risk, the results of bleomycin sensitivity assay are equivocal under our experimental conditions, and they must be applied cautiously even in combination with the results of chromosome analysis. Székely G, Remenár E, Kásler M, Gundy S. *Exposure or cancer predisposition? Cytogenetic examination of head and neck squamous cancer patients. Hungarian Oncology* 45:152-157, 2001

A „Rizikótényezők a szájüregi daganatok kialakulásában” c. symposiumon elhangzott előadás, Semmelweis Egyetem, Budapest, 2001. március 23-24.

Levelezési cím: Dr. Gundy Sarolta, Országos Onkológiai Intézet,
1122. Budapest, Ráth György u. 7-9.
Tel: 224-8779, Fax: 224-8776, E-mail: gundy@oncol.hu

Bevezetés

Az utóbbi években a rákkutatás környezet-egészségügyi vetületének irányait nemcsak a környezeti karcinogének azonosítása, vagy az epidemiológiai vizsgálatok eredményeiből levont ok-okozati összefüggések megállapítása, hanem a betegségek hátterében álló sejt- és molekuláris szintű mechanizmusok szerepének mind szélesebb körű tisztázása jellemzi. Magyarország a rákhalalozási statisztikában nemcsak a kelet-közép-európai régióban, hanem a WHO statisztikai rangsorolásában is az elsők között áll (19). Tudvalevő az is, hogy a rák kialakulásáért 85-90%-ban a környezet tehető felelőssé (8), tehát ha a környezeti és életmódbeli tényezőkben a rákkeltők hatását kiiktatjuk vagy csökkentjük, akkor az ezek hatásával összefüggő daganatfelelések kialakulása megelőzhető. Ilyen rákkeltő kockázati tényezők a dohányzás, az alkoholfogyasztás és a táplálkozási szokások (1, 8), amelyeknek fontos és kedvezőtlen statisztikai mutatói hazánkat szintén az európai élvonalba sorolják (18).

A Nemzetközi Rákügnökség adatai szerint (3) a közép- és kelet-európai régióban, de különösen hazánkban az utóbbi 5-10 évben drámaian emelkedett a dohányzásra és alkoholizálásra visszavezethető fej-nyaki laphámrákokról eredő daganathalalozás. Az előrejelzések szerint ez a kedvezőtlen tendencia várhatóan tovább romlik, és a magyarországi fej-nyak-eredetű rákmortalitás 2004-ben az 1994-esnek a duplájára nő.

A rákbetegség kialakulását befolyásoló másik tényező a genetikai érzékenység. A genetikai szenzitivitás összefügg a genetikai instabilitás mértékével, az pedig a különböző hajlamosító tényezők súlyával (20, 29). A genetikai hajlamot általában környezeti tényezők provokálják, tehát a kockázati faktorok kerülése vagy csökkentése ebben az esetben is hozzásegíthet a rák megelőzéséhez.

A rákmegelőzési programokban a rákkockázat becsléséhez általában olyan mutatókat keresünk, amelyek mind a környezeti expozíciónak, mind pedig a genetikai hajlamnak megfelelő indikátorai, továbbá olcsók, könnyen kivitelezhetőek és nem invazív módon használhatók, bármilyen súlyú is legyen a környezeti és/vagy genetikai komponensek szerepe.

A prediktív tesztek egyike az a biomarker, amely a rákhajlam fokozódását jó időben jelzi: a testi sejtek kromoszómasérüléseinek vizsgálata. A módszer a perifériás vér lymphocyták kromoszómáiban a DNS mutabilitására utaló aberrációk értékelésén alapul és a géntoxikus anyagokkal kapcsolatba kerülő személyek szűrését teszi lehetővé (4, 9, 21, 22, 32, 33). Az eljárás biológiai alapja a kromoszómák és a DNS töréspontjainak egybeesése az onkogének vagy szuppresszor gének lokalizációjával, ami a tumorgenezis egyik kiinduló pontja lehet (35, 36). Minél több a sérült kromoszóma, annál nagyobb a rák kialakulásának valószínűsége (2, 12). A kromoszómaaberrációk vizsgálata egyéni szinten azonban csak jól behatárolt körülmények között alkalmas a rákkockázat becslésére (4, 12). Hsu és munkatársai az USA-

ban egy olyan módszert dolgoztak ki, amellyel feltételezhetően kiszűrhetők a genetikai konstitúciójukból eredően rákbetegségekre hajlamos egyének (13). A vizsgálandó személy lymphocytáiban a sejtciklus G₂-fázisa végén a bleomycinnel in vitro kezelt sejtekben szinte kizárólag kromatid típusú törések keletkeznek. A kromatid törés/sejt (break/cell = b/c) átlagértékek alapján a vizsgált személyek hiperérzékeny (b/c > 1,00), intermedier érzékeny (b/c = 0,81-1,00) és rezisztens (b/c < 0,81) fenotípusú kategóriákba sorolhatók (14, 15, 16). Amerikai és európai munkacsoportok azt találták, hogy a környezettel közvetlen kapcsolatban álló szervek daganatai esetében (pl. fej-nyaki laphámrák, tüdőrák, vastagbélrák) a daganatos páciensek közel háromnegyede, míg az egészségeseknek csak egynegyede hiper- vagy intermedier érzékeny, miközben a hiperszenzitivitást a kor, a nem, a dohányzási vagy alkoholizálási szokások nem befolyásolták (6, 16, 23, 28, 29).

Magyarország rákhalalozási világsorolása (19) és a fej-nyaki laphámrákos (FNyLR) betegek számának drámai növekedése késztetett bennünket arra, hogy megelőzési stratégiánk egyik lehetőségeként először vizsgáljuk a kromoszómaaberrációk és a bleomycin-teszt alkalmazhatóságát hazai betegcsoportokban. Minthogy a fej-nyaki laphámrák kialakulásában az alkoholizálásnak és a dohányzásnak egyaránt döntő szerepe van, a daganatos betegekkel azonos etiológiájú májbeteg, de nem rákos alkoholistákat (ALK) tekintettünk pozitív, míg a nem dohányzó és dohányzó, de nem beteg szubpopulációkat negatív kontrollnak.

Anyag és módszer

Beteganyag

Az Országos Onkológiai Intézet Fej-Nyak, Állcsont és Rekonstrukciós Sebészeti Osztályának beteganyagából az 1996-2001 közötti időtartamban 156, kezelésben még nem részesült beteget választottunk ki, akiknél a szövettani vizsgálat ajak-, nyelv-, garat- és gégelaphámrákot állapított meg. A betegek legalább 5 év óta naponta több mint 10 szál cigarettát szívtak és több mint 3 IU alkoholt fogyasztottak (1 IU = 15 ml abszolút alkohol). Átlagéletkoruk 54,3 ± 9,8 év volt. Az 51 alkoholista májbeteg részben a Szent László Kórház Hepatológiai Belgyógyászati Osztályának (vezető: Telegdy László dr.), részben az ORFI Gasztroenterológiai Osztályának (vezető: Nemesánszky Elemér dr.) betegei közül választottuk ki, akiknek diagnózisa az anamnézis, a klinikai adatok és a laboratóriumi leletek alapján alkoholos zsírmáj és cirrózis volt. Dohányzási és alkoholizálási szokásaik a FNyLR betegekével megegyeztek, átlagéletkoruk 53,3 ± 11,0 év volt. A 295 egészséges kontroll személy között 146 nem dohányzott (átlagéletkor: 49,6 ± 10,3 év), 149 pedig dohányzott, de nem ivott (átlagéletkor: 50,3 ± 8,9 év). A dohányzók esetében a kritériumok a betegekével megegyeztek. Valamennyi csoportban a speciális környezeti és foglalkozási expozíció, valamint a családokban előforduló rákhalmozódás kizáró okként szerepelt.

A sejtek tenyésztése, feltárása, a kromoszómák értékelése

Konvencionális kromoszómaanalízis

A vérminták tenyésztése és a kromoszómák értékelése a már korábban említett módon, a WHO előírások alapján első osztódásban lévő sejteken, kódolással történt (11). A kódok azonosítása csak az értékelést követően történt meg. Az aneuploid sejtek 46 ± 1 kromoszómát tartalmaztak, az egyéb kategóriában pedig a nagyon ritkán előforduló kromatidkicserélődéseket és kromoszóma típusú transzlokációkat rögzítettük.

Bleomycin-teszt

A konvencionális módszerrel megegyezően, de a 2. osztódási ciklus bekövetkeztéig, 72 óráig tenyésztettük a lymphocytákat. Ennek lejárta előtt 5 órával $30 \mu\text{g/ml}$ végkoncentrációban bleomycinnel kezeltük a sejt-kultúrákat, amit kolcemides blokkolás és a szokásos sejtfeltárás, illetve festés követett. A kódolt lemezeket mindkét módszerrel 100-100 metafázist számoltunk. Az aberrációk azonosítása néhány kétséges esetben 4 értékelő aberrációk értékelésénél amennyiben egy gap hosszúsága kisebb volt, mint a kromoszómakar átmérője, akkor kromatid-gapként (akromatikus lézió), amennyiben nagyobb, úgy kromatid típusú törésként számoltuk (5). A ritkán előforduló kromatidkicserélődéseket (exchange), mivel két törés következtében alakulnak ki, értelemszerűen 2 törésként értékeltük. Ha a sejtben nagymértékű roncsolódás következett be (pulverizáció), az egy sejtben előforduló törések számát 12 törésben maximalizáltuk (16). A mutagénnel szembeni hiperérzékenységet a harmadik kvartilis értékénél (34), vagyis 1,25 b/c-nél állapítottuk meg, az intermedier érzékenység határértéke ebből adódóan 1,00 b/c volt.

1. táblázat. A spontán kromoszómaaberrációk gyakorisága egészséges kontrollokban, fej-nyaki daganatos és alkoholis-ta májbetegekben

Statistikai módszerek

Konvencionális kromoszómaanalízisnél az eredmények összehasonlításához Wilcoxon- és χ^2 -tesztet használtunk (10, 22). A bleomycin-teszt b/c átlagértékeit Student-féle t-próbával, illetve Mann-Whitney U-tesztel, az életkor mutagénérzékenységre irányuló hatását pedig regressziós analízissel vizsgáltuk (6).

Eredmények

Konvencionális kromoszómaanalízis

A konvencionális kromoszómaanalízis eredményei alapján, ha az aberrációk fajtáit vesszük figyelembe (1. táblázat), a kromoszómafragmentek és a dicentrikus + ring aberrációk megoszlásában nem látható lényeges eltérés az egyes csoportok között. A dohányzó kontrolloknál tapasztaljuk a legalacsonyabb aneuploid sejt-gyakoriságot, de csak a fej-nyaki tumoros betegekkel szemben szignifikáns a különbség ($p < 0,001$). Az előzőekhez hasonló jelenség figyelhető meg az egyéb aberrációk esetében is ($p < 0,04$). A spontán kromatid-törések a nem dohányzók csoportjában ritkábban fordulnak elő a dohányzó kontrollokhoz és a tumorosokhoz viszonyítva ($p < 0,01$).

Az összes vizsgált csoport között csak a nem dohányzó kontrollokban alacsonyabb ($p < 0,02$) a spontán aberráns sejt- (egy vagy több aberrációt tartalmazó sejt) gyakoriság és az összes aberráció gyakorisága ($p < 0,04$).

A dohányzás egyértelműen befolyásolja a kromoszómaaberrációk kialakulását, ez a jelenség azonban ugyanolyan mértékű valamennyi dohányzó csoportban. Tehát nincs különbség az egészséges és beteg, illetve a daganatos szubpopulációk között.

Bleomycin-érzékenység

A vizsgált személyek individuális bleomycin-érzékenységét az egyes csoportokon belül nagyfo-

Vizsgált csoportok (n)	Vizsgált sejt-szám	Kromoszómaaberrációk(%)						
		Aneuploid sejt	Kromatid-törés	Kromoszóma-fragment	Dicentrikus + ring	Egyéb	Aberráns sejt	Összes aberráció
Nem dohányzó kontrollok (146)	14600	2,42 \pm 0,17	1,71 \pm 0,14	0,34 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	2,24 \pm 0,15	2,37 \pm 0,17
Dohányzó kontrollok (149)	14900	2,16 \pm 0,14	2,35 \pm 0,18*	0,40 \pm 0,07	0,19 \pm 0,04	0,15 \pm 0,04	2,81 \pm 0,19*	3,10 \pm 0,22*
Fej-nyaki daganatos betegek (156)	15600	2,86 \pm 0,16	2,26 \pm 0,16*	0,46 \pm 0,07	0,18 \pm 0,04	0,23 \pm 0,04*	2,85 \pm 0,17*	3,14 \pm 0,20*
Alkoholista májbeteg (51)	5100	2,47 \pm 0,24	2,06 \pm 0,23	0,78 \pm 0,25*	0,20 \pm 0,08	0,18 \pm 0,06	2,82 \pm 0,28*	3,24 \pm 0,39*

* Szignifikancia: $p < 0,04$ a nem dohányzó kontrollokhoz viszonyítva

kú egyéni variabilitás jellemzi (2. táblázat). A b/c értékek a betegcsoportokban azonban sokkal szélesebb értékhatárok között találhatók és a felső határértékek is 0,9 - 1,1 b/c-vel magasabbak, mint az egészséges kontrollokban. A különböző beteg- és egészséges csoportok b/c átlagértékeit szintén a 2. táblázatban foglaltuk össze, amely alapján megállapítható, hogy a bleomycin-teszt csoportszinten valóban alkalmas a daganatos betegek egészséges kontrollokkal szembeni nagyobb genetikai érzékenységének kimutatására, azonban nem kizárólagosan ($p < 0,04$). A klinikailag nem daganatos, de a rákosokkal azonos életvitelű alkoholos májbetegknél is magas b/c értéket észleltünk, ami, bár a FnyLR csoport átlagát meghaladta, de attól szignifikánsan nem tért el ($p = 0,12$).

Az egészséges nem dohányzók és dohányzók értékei között ezzel a teszttel viszont már nem tudtunk olyan különbséget ($p = 0,24$) kimutatni, mint a konvencionális kromoszómaanalízis estében. A genetikai érzékenységet az életkor sem befolyásolta ($p > 0,20$). (Táblázatosan nem tüntetük fel az adatokat.)

A b/c átlagértékek tehát mindkét betegcsoportban magasabbak, mint a kontrollban, de inkább a betegség közös etiológiáját tükrözik, mintsem a daganatra való fogékonyságot. Ha az érzékenységi besorolás alapján (3. táblázat) a mutagénnel szemben rezisztens csoportokba tartozók százalékos arányát ($b/c < 1,0$) vizsgáljuk, a nem beteg kontrollok lényegesen nagyobb százalékban mutatkoznak ebben a kategóriában (58% ill. 51%), mint a tumoros és alkoholisták (35% ill. 41%).

A bleomycin-érzékenység és a spontán aberrációk közötti kapcsolat

Amikor egy adott csoporton belül keresünk összefüggést a genetikai érzékenység foka és a spontán aberráns sejt-gyakoriság között (3. táblázat), a nem dohányzó kontrolloknál semmilyen korreláció nem mutatható ki, vagyis a genetikai

érzékenység fokozódását nem kíséri az aberráns sejtek gyakoriságának növekedése. A fej-nyaki tumoros betegek esetében viszont - az alkoholistákhoz hasonlóan - egyértelmű az összefüggés a mutagénerzékenység foka és a kromoszómaaberrációk számának emelkedése között. A bleomycinnel szembeni érzékenység magasabb aberráns sejt-gyakorisággal társul ($p < 0,04$).

Ha a négy vizsgált csoport aberráns sejt-értékeit viszonyítjuk egymáshoz, a rezisztens csoportban nem találunk különbséget. Az intermedier érzékenyek esetében viszont szignifikáns különbség mutatkozik a dohányzó és a nem dohányzó kontrollok között ($p < 0,04$) és ez a különbség a hiperérzékenyek között is jól érzékelhető ($p < 0,03$). A daganatos és az alkoholisták betegeket illetően pedig a csoportszinten korábban is detektált magasabb aberrációgyakoriság és a mutagénnel szembeni hiperérzékenység közötti kapcsolat már egyértelmű ($p < 0,01$).

Megbeszélés

A fej-nyaki laphámrák kialakulásában az alkohol és a dohányzás együttes kóros tényezők, így az egészséges nem dohányzó és dohányzó kontrol-

2. táblázat. Bleomycin-teszttel mért mutagénerzékenység az egészségi állapot tükrében

Vizsgált csoportok (n)	Bleomycinnel indukált kromatidaberrációk Törés/sejt (b/c)	
	Individuális értékek (min. - max.)	Csoportátlag (b/c±SD)
Nem dohányzó kontrollok (146)	0,29–2,46	0,98±0,39
Dohányzó kontrollok (149)	0,27–2,20	1,04±0,40
Fej-nyaki daganatos betegek (156)	0,42–3,35	1,13±0,39*
Alkoholisták májbetegei (51)	0,23–3,31	1,29±0,69*

* Szignifikancia: $p < 0,04$ a nem dohányzó és a dohányzó kontrollokhoz viszonyítva

3. táblázat. A spontán kromoszómaaberrációk és a mutagénerzékenységi kategóriák közötti összefüggés egészséges kontrollokban, valamint fej-nyaki daganatos és alkoholisták májbetegeiben

Vizsgált csoportok (n)	Rezisztensek (<1,00 b/c)		Intermedier érzékenyek (1,00-1,24 b/c)		Hiperérzékenyek (≥1,25 b/c)							
	Vizsgált személyek n	Spontán aberráns sejt %	Vizsgált személyek n	Spontán aberráns sejt %	Vizsgált személyek n	Spontán aberráns sejt %						
Nem dohányzó kontrollok (146)	84	57,5	186	2,21	29	19,9	71	2,45	33	22,6	71	2,15
Dohányzó kontrollok (149)	76	51,0	188	2,47	29	19,5	99	3,41	44	29,5	131	2,98
Fej-nyaki daganatos betegek (156)	55	35,3	118	2,15	53	34,0	153	2,89	48	30,8	174	3,63
Alkoholos májbetegei (51)	21	41,2	43	2,05	8	15,7	24	3,00	22	43,1	75	3,41

lok mellé egy, a daganatosokkal azonos etiológiájú, de daganatos tünetet nem mutató kontrollt is állítottunk. A májbeteg alkoholisták, bár ugyanúgy alkoholizálnak és dohányoznak, mint a FNyLR betegek, ám a klinikai tapasztalatok és az epidemiológiai felmérések alapján különböznek tőlük. Az alkoholos májbetegségeknek évente 3,5-szer több az áldozata, mint az ajak- és szájüregi daganatoknak, vagyis alkoholos májbetegségben sokkal többen halnak meg anélkül, hogy fejnyaki laphámrák alakulna ki náluk (17). A daganat kialakulásához tehát egyéb hajlamosító tényezőnek is jelen kell lennie FNyLR-ban, amit reményeink szerint bleomycin-tesztel kívánunk kiszűrni. A bleomycin-tesztet már korábban is alkalmazó szerzők azonban figyelmen kívül hagyták, hogy azonos genotoxikus expozíciók következtében nem csak az egészséges vagy a daganatos állapot, hanem más környezeti etiológiájú betegség is kialakulhat az emberekben (6, 14-16, 28, 29, 34).

Az erősen dohányzó és italozó FNyLR betegekben a velük azonos életmódot folytató ALK májbeteggekhez viszonyítva nem volt kimutatható a daganatosok nagyobb mértékű genetikai instabilitására utaló magasabb aberrációgyakoriság. Ez az eredmény korábbi, de kisebb egyedszámú vizsgálatainkhoz képest azért is meglepő, mert a tumoros állapot és a kromoszómák törékenysége között a korreláció akkor még egyértelmű volt (30). A kromoszómaaberrációk további elemzésekor a dohányzás genotoxikus és klasztogén hatására is fény derült valamennyi dohányzó csoportban, hiszen a daganatosok, az ALK májbetegék és az egészséges dohányzók aberráns sejtjeinek aránya nem tért el egymástól, de szignifikánsan magasabb értéket mutatott, mint a nem dohányzó kontrollok esetében.

Hsu és követői szerint a bleomycinnel indukált magas b/c érték az egyéni genetikai érzékenység és a rákhajlam biomarkere (7, 16, 28, 29, 34). Ha a bleomycin-teszt valóban egyéni érzékenységet és rákhajlamot fejez ki, akkor azonos etiológiai faktorok hatása mellett jelentős különbségnek kellett volna lennie a már fejnyak-rákos, illetve a daganatmentes ALK májbeteg személyek érzékenysége között.

Csoportszinten való igaz, hogy a FNyLR betegek b/c átlaggal mért genetikai érzékenysége nagyobb, mint a kontroll személyeké, azonban hasonló, ha nem nagyobb érzékenységről tanúskodik az alkoholizáló májbeteg csoportja is. Minthogy a mienkhez hasonló azonos etiológiával rendelkező kontrollt mindezidáig nem vizsgáltak, így nem is állapíthatták meg, hogy azonos expozíciós körülmények, de más diagnózisok mellett a genetikai érzékenységek különböznek-e. Tehát a bleomycin-teszt a mi vizsgálataink szerint nem annyira a daganatokkal szembeni fogékonyságot, mint inkább a genotoxikus hatással szembeni érzékenységet és a rákhajlam közötti korrelációt fejezi ki. A genotoxikus hatással szembeni érzékenység és a rákhajlam közötti korreláció pedig még a környezeti hatásoknak közvetlenül kitett szervek esetében sem olyan egyértelmű, mint ahogy azt a teszt támogatói leírták (6, 7, 14, 16, 28, 29).

A hazai beteganyag bleomycin-tesztel mért egyéni érzékenységének illetve kockázatának megítélésében még különösebb képet kaptunk. Az egyéni értékek a beteg- és kontroll csoportokban sokkal szélesebb értékhatárok között mozogtak, mint azt más kutatócsoportok kimutatták. A kontrollknál Michalska (23) az egyéni b/c értékek elemzésekor 0,21-1,48, Hsu (16) pedig 0,08-2,00 közötti értékeket talált. Az amerikai fejnyaki laphámrákosoknak csak 3,9%-ában volt $b/c > 1,81$, nálunk több mint kétszeresüknél (16, 30). A teljesen azonos kísérleti körülmények ellenére emiatt kaptunk 1,25 b/c értéket (harmadik kvartilis) az érzékenységi határ megállapításakor, szemben Hsu és munkatársai 1,00 b/c értékével. A nagyfokú variabilitás miatt hazai körülmények között még a nagy esetszám ellenére sem értékelhető az egyéni kockázat, ugyanis a b/c értékek igen széles értékhatárokon belül mutatnak átfedést mind a kontrollokkal, mind pedig az ALK májbeteggekkel. Magunk bármilyen érzékenységi küszöböt, tehát bármilyen matematikai közelítést használunk, kiemelkedően nagy a hiper- és intermedier érzékenyek aránya, ami az amerikai és nyugat-európai adatokhoz képest több mint kétszer magasabb értéket mutat (6, 16). Ugyanakkor a hiper- és intermedier szenzitív fejnyaki daganatos betegek általunk kapott 64,8%-os aránya a külföldi 72,8%-kal jól egyezik (16). Tehát a különbség nem a daganatos betegek százalékos megoszlásában, hanem a hazai kontroll nem beteg populáció nagyfokú genetikai érzékenységében van.

A jelenség oka egyelőre tisztázatlan, de úgy tűnik, hogy egybevág daganathalálzási statisztikánk trendjével. Más oldalról feltételezhető, hogy a magyarok kiemelkedően magas érzékenységének hátterében populációgenetikai sajátságok állnak. Számos olyan hazai citogenetikai és molekuláris genetikai adat is napvilágot látott, amelyek alapján valószínűsíthető, hogy egyes sporadikus, vagy örökletes daganatok esetében a magyar népességcsoportok genetikai fogékonysága különbözhet más országokétól (10, 11, 25, 31). Ezt támasztja alá, hogy a kémiai karcinogének metabolikus aktivációjában közreműködő CYP1A1 gén C alléljét hordozó és a karcinogének detoxikálásában szerepet játszó GSTM1 génre null-genotípusú emberekben nagyobb gyakorisággal fordulnak elő a szájüregi laphámrákok, mint a kontroll populációban. Náluk kisebb mennyiségű cigaretta fogyasztása mellett is nagyobb valószínűséggel alakul ki a daganat (26, 27, 29). A bleomycin-teszt önálló biomarkerként való alkalmazhatóságáról egy cseh munkacsoport is más konklúzióra jutott: míg az amerikai munkacsoportok egyes dominánsan öröklődő rákszindrómákban és környezeti eredetű sporadikus daganatos betegeknekél hiperszenzitivitást, ők normális bleomycin-érzékenységet találtak (24). Nem kizárt, hogy a reparációt és a detoxifikálást végző enzimmrendszerek polimorfizmusa és a merőben eltérő környezeti viszonyok jelentősen módosítják a citogenetikai módszerek kimutatható mutagénérzékenységet.

A fentiek alapján, a hazai betegcsoportokban a bleomycin-tesztet csak nagyon óvatosan használ-

hatjuk a környezeti etiológájú fej-nyaki daganatok biomarkereként. Minthogy a nem daganatos máj-betegekben és az egészséges kontrollokban egyaránt feltűnően magas a mutagénérzékenyek aránya, a teszt egyéni rákhajlankockázat becslésére valószínűleg nem alkalmas. Az adatok értelmezésénél nagyobb súlyt kell fektetnünk a (főleg a dohányzásból eredő) mutagénexpozíciót jelző konvencionális kromoszómaanalízis eredményeire és vélhetően a karcinogének aktiválásában és a detoxikálásban szerepet játszó enzimek polimorfizmusára, amelyek vizsgálata jelenleg folyamatban van.

Köszönetnyilvánítás:

A szerzők hálás köszönetüket fejezik ki Vass Nagyvezsdának és Kiss Krisztinának a kromoszómák preparálása és értékelése során végzett lelkiismeretes munkájukért.

A kutatás az OTKA 024125, OTKA 034416 és az ETT 044/1996 számú témák támogatásával készült.

Irodalom

1. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 48:3282-3287, 1988
2. Bonassi S, Hagmar L, Strömberg U, et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. *Cancer Res* 60:1619-1625, 2000
3. Bray I, Brennan P, Boffetta P. Projections of alcohol- and tobacco-related cancer mortality in central Europe. *Int J Cancer* 87:122-128, 2000
4. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 204:379-406, 1988
5. Chatham Bars Inn Workshop Conference: Karyological monitoring of normal cell populations. *Intern Ass Biol Stand* 1971
6. Cloos J, Spitz MR, Schantz SP, et al. Genetic susceptibility to head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 88:530-535, 1996
7. Cloos J, Nieuwenhuis EJC, Boomsma DI, et al. Inherited susceptibility to bleomycin-induced chromatid breaks in cultured peripheral blood lymphocytes. *J Natl Cancer Inst* 91:1125-1130, 1999
8. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risk of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 66:1191-1308, 1981
9. Gundy S. Cytogenetical studies on a large population and on persons occupationally exposed to radiation and/or to chemicals. *Ann Inst Super Sanita* 25:549-556, 1989
10. Gundy S, Baki M, Bodrogi I, et al. Persistence of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of testicular cancer patients II. The effect of chemo- and/or radiotherapy. *Oncology* 49:376-380, 1992
11. Gundy S, Katz N, Füzy M, et al. Cytogenetic study of radiation burden in thyroid disease patients treated with external irradiation or radioiodine. *Mutat Res* 360:107-113, 1996
12. Hagmar L, Bonassi S, Strömberg U, et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 58:4117-4121, 1998
13. Hsu TC. Genetic instability in the human population: a working hypothesis. *Hereditas* 98:1-9, 1983
14. Hsu TC, Cherry L, Samaan NA. Differential mutagen susceptibility in cultured lymphocytes of normal individuals and cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet* 17:307-313, 1985
15. Hsu TC. Genetic predisposition to cancer with special reference to mutagen sensitivity. *In Vitro Cell Dev Biol* 23:591-603, 1987
16. Hsu TC, Johnston DA, Cherry LM, et al. Sensitivity to genotoxic effects of bleomycin in humans: possible relationship to environmental carcinogenesis. *Int J Cancer* 43:403-409, 1989
17. Központi Statisztikai Hivatal: Demográfiai évkönyv. KSH, Budapest 1999
18. Központi Statisztikai Hivatal: Élelmiszermérlegek 1970-1998. KSH, Budapest 2000
19. Landis SH, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics 1998. *CA Cancer J Clin* 48:6-28, 1998
20. Li FP, Montesano R. Interactions of cancer susceptibility genes and environmental carcinogens. *Cancer Res* 54:4243-4247, 1994
21. Major J, Jakab MG, Tompa A. Multiple end-point genotoxicology monitoring of Hungarian historical and industrial control subjects. *Central Eur J Occupat Environ Med* 3:87-101, 1997
22. Major J, Jakab MG, Tompa A. Genotoxic monitoring of 175 subjects living in the green belts, inner town or near chemical industrial estates in Greater Budapest agglomeration, Hungary. *Mutat Res* 412:9-16, 1998
23. Michalska J, Motykiewicz G, Kalinowska E, et al. Bleomycin sensitivity test in the exposed and reference human populations. *Mutat Res* 418:43-48, 1998
24. Musilová J, Michalová K, Folberová L, et al. Chromosome sensitivity to bleomycin in patients with dominantly inherited and sporadic tumors. *Neoplasma* 40:93-96, 1993
25. Oláh E. Örökletes daganatos megbetegedések. *Orvosi Hetilap* 140:451-466, 1999
26. Olshan AF, Weissler MC, Watson MA, et al. GSTM1, GSTT1, GSTP1, CYP1A1, and NAT1 polymorphisms, tobacco use, and the risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 9:185-191, 2000
27. Sato M, Sato T, Izumo T, et al. Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. *Carcinogenesis* 20:1927-1931, 1999
28. Spitz MR, Hsu TC. Mutagen sensitivity as a marker of cancer risk. *Cancer Detect Prev* 18:299-303, 1994
29. Spitz MR, Wu X, Jiang H, et al. Mutagen sensitivity as a marker of cancer susceptibility. *J Cell Biochem* 25S:80-84, 1996
30. Székely G, Remenár É, Kásler M, et al. A kromoszómaanalízis és a bleomycin-teszt hazai alkalmazhatóságának vizsgálata a fej-nyaki laphámrák prevenciójában. *Orvosi Hetilap* 142:611-616, 2001
31. Tompa A, Sápi É. Detection of 6-thioguanine resistance in human peripheral blood lymphocytes (PBL) of industrial workers and lung cancer patients. *Mutat Res* 210:345-351, 1989
32. Tompa A, Farkas I. Új "morbus hungaricus"? A munkahelyi környezet szerepe a daganatos betegségek kialakulásában. *Magyar Tudomány* 1310-1324, 1992
33. Tompa A, Major J, Jakab MG. Monitoring of benzene-exposed workers for genotoxic effects of benzene: Improved-working-condition-related decrease in the frequencies of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res* 304:159-165, 1994
34. Wu X, Gu J, Hong WK, et al. Benzo(a)pyrene diol epoxide and bleomycin sensitivity and susceptibility to cancer of upper aerodigestive tract. *J Natl Cancer Inst* 90:1393-1399, 1998
35. Yunis JJ. The chromosomal basis of human neoplasia. *Science* 221:227-236, 1983
36. Yunis JJ. Constitutive fragile sites and cancer. *Science* 226:1199-1204, 1984