

# A dohányzásból származó DNS-adduktok szerepe a karcinogenezisben

Schoket Bernadette

Fodor József Országos Közegészségügyi Központ, Országos Környezetegészségügyi Intézet, Budapest

Epidemiológiai vizsgálatok egyértelműen kimutatták, hogy a dohányzás daganatos betegségeket okoz. Számos kémiai karcinogénnek vagy metabolitjainak a biológiai hatását az váltja ki, hogy reakcióképes származékaik kovalensen kötődnek a DNS-hez, és az így keletkezett DNS-sérülések mutációkat indukálnak a kritikus génekben. A dohányfüst-expozíció következtében létrejött karcinogén-DNS adduktoknak kulcsszerepe van számos daganatos betegség, elsősorban a tüdőrák iniciációjában. A dohányzás DNS-károsító hatását bizonyítja a dohányfüst-eredetű karcinogén-DNS adduktok jelenléte a dohányzók különböző szöveteiben. A DNS-adduktok fontos biomarkerek a dohányzás okozta genotoxikus expozíció biomonitorozásában. A közlemény erről a témáról nyújt rövid irodalmi áttekintést. *Magyar Onkológia 48:201–205, 2004*

Epidemiological studies indicate a close association between smoking and cancer. Biological activity of many chemical carcinogens and of their metabolites is induced by covalent binding of their reactive derivatives to DNA, which consequently causes mutations in critical genes. Carcinogen-DNA adducts formed by exposure to tobacco smoke have a key role in the initiation of various types of cancer including lung cancer. Presence of tobacco smoke-related carcinogen-DNA adducts in various tissues of smokers proves the DNA damaging effect of smoking. DNA adducts are important biomarkers for the biomonitoring of human genotoxic exposures to tobacco smoke. The paper gives a short overview on the role of smoking-related DNA adducts in carcinogenesis. *Schoket B. The role of DNA adducts in smoking-related carcinogenesis. Hungarian Oncology 48:201–205, 2004*



## Bevezetés

Epidemiológiai adatok szerint a tüdőrákos megbetegedések 90%-a a dohányzással függ össze (5, 14). Magyarországon rendkívül magas a tüdőrákos megbetegedések és halálozások száma. A férfiaknál hazánk vezet a negatív világranglistát (13). A dohányzás nemcsak a tüdőben, hanem más szervekben is növeli a rák kockázatát, például a szájüregben, a gégeben, a nyelöcsőben és a hólyagban. Mivel a dohányzás a legismertebb kapcsolat a karcinogén-expozíció és a daganatos megbetegedés között, a rákinitiació molekuláris mechanizmusának a megértéséhez modellként is szolgál.

## Daganatkeltő vegyületek a dohányfüstben

A cigarettafüstnek több mint négyezer kémiai összetevője van, amelyek közül legalább hatvan komponens ismertén rákkeltő. A cigarettafüstben vannak policiklusos aromás szénhidrogének (PAH-ok), mint például a benz[*a*]pirén (BP), aromás aminok, melyek közül kiemeljük a 4-aminobifenilt (4-ABP), dohány-specifikus nitrózaminok, mint például a 4-(metilnitrózamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK) és az N'-nitrozonornikotin (NNN), formaldehid és acetaldehid, benzol, etilénoxid és kadmium, valamint szabad gyökök. A felsorolt ágensek mind hozzájárulhatnak a cigarettafüst mutagén aktivitásához és rákkeltő képességéhez. Biológiai hatásukat ko-karcinogének és tumorpromoterek is befolyásolják. A sokféle kémiai alkotórész kimutatható a cigarettafüst főfüstjében és többségük a mellékfüstben is. A cigarettafüstben lévő PAH-ok a dohány égésekor keletkeznek. A dohány-specifikus nitrózaminok benne vannak a dohányban, és egy részük átkerül a dohányfüstbe. A tüdőrák fő etiológiai tényezőinek a PAH-okat és az NNK-t tekintik, mivel az általuk okozott DNS-károsodás kimutatható tüdőszövetekben. A tüdőlaphámrák és az adenocarcinoma egymáshoz viszonyított gyakorisága megfordult a közelmúltban. Az adenocarcinoma nagyobb gyakoriságát el-

Közlésre érkezett: 2004. augusztus 2.  
Elfogadva: 2004. augusztus 25.

Levelezési cím: Dr. Schoket Bernadette  
Fodor József Országos Közegészségügyi Központ,  
Országos Környezetegészségügyi Intézet, Molekuláris  
Környezet-epidemiológiai Osztály,  
1097 Budapest, Gyáli út 2-6. Tel.: 1-476-1293  
(közvetlen), 1-476-1100/2386 m., Fax: 1-215-0148,  
E-mail: schoketb@okk.antsz.hu

A szerzők a közleményt Dr. Jeney András egyetemi  
tanár 70. születésnapjára ajánlja.

sősorban annak tulajdonítják, hogy a dohányipari termékek minőségi változása következtében a dohányfüstben megnőtt az NNK-tartalom és csökkent a BP-tartalom. Állatkísérletes adatok alapján a PAH-, az NNK- és NNN-expozíció számottevő tényező a szájüregi rákok kialakulásában. Dohányzóknál a hólyagrák iniciáló tényezőjének tekintik a 4-ABP-t és más aromás aminokat (11).

### A DNS-adduktok kulcsszerepe a kémiai karcinogenezis mechanizmusában

A kémiai karcinogének biotranszformációja a fázis I és fázis II metabolizáló enzimek közreműködésével történik. A dohánytermékekben és a dohányfüstben lévő karcinogének többsége metabolikus aktivációt igényel, mielőtt a DNS-hez kötődni képes. A citokróm P-450 enzimrendszer különböző fázis I oxidációs reakciókat katalizál. A CYP1A1 elsősorban a PAH-okat metabolizálja. A CYP1A1 enzim főleg extrahepatikus szövetekben, így a tüdőben mutatható ki. A CYP2 család sok eltérő szerkezetű vegyület metabolizmusában vesz részt, köztük a nikotin és dohányfüst-specifikus nitrozaminok átalakításában. A citokróm P-450 által katalizált reakciók többségében egy-egy testidegen vegyület toxicitása csökken. Vannak azonban olyan reakció-útvonalak, amelyekben fokozottan reakcióképes elektrofil intermediekek képződnek, melyeket a fázis II konjugáló enzimek nem tudnak eltávolítani. A dohányfüst olyan vegyületeket is tartalmaz, amelyek enzimaktiváció nélkül, közvetlen kémiai reakcióban kötődnek a DNS-hez, mint például az etilénoxid, az acetaldehid és a formaldehid. A reaktív intermediekek célpontjai a DNS, az RNS és a fehérjék nukleofil kötéshelyei. A potenciális karcinogén vegyületek metabolikus aktivációja és a nagy reakcióképességű metabolitoknak a DNS nukleofil centrumaihoz történő kovalens kötődése, vagyis DNS-adduktok keletkezése, kulcsfontosságú a rákiniciációban (17, 19, 24). Meggyőző bizonyítékok vannak arról, hogy a dohányzás DNS-adduktok létrejöttét okozza bronchusszövetekben (23). A karcinogén-DNS-adduktok mennyiségét egy-egy sejten illetve adott szövetben a képződésük és az eliminációjuk együttesen határozza meg, tehát a karcinogén vegyület abszorpciója, aktivációja, detoxifikációja, másrészt a DNS-adduktok reparációja és a sejtikicserélődés mind befolyásolja. Ha a DNS-adduktokat eltávolítják a DNS-hibajavító enzimek, akkor a DNS visszanyeri ép szerkezetét. A DNS-adduktok kulcsszerepe az iniciáció folyamatában abban áll, hogy ha egy DNS addukt jelen van a DNS replikációs fázisában, akkor hibás kódolás történhet, és permanens mutáció keletkezhet a DNS bázissorrendjében. A cigarettafüst karcinogéneiből származó DNS-adduktok többnyire G - T és G - A mutációkat eredményeznek (31). Ha a permanens mutációk bizonyos gének, például a *ras* vagy *myc* onkogén, vagy a tumorsuppresszor *p53* vagy *CDKN2A* gén kritikus régióiban keletkeznek, akkor megszűnik a normális sejtnövekedés-szabályozás és megindul a tumor fejlődése. A DNS-adduktok központi szerepe a karcinogenezisben megalapozott biológiai tény (18). A nikotin és a dohány-specifikus nitrozaminok a DNS-adduktoktól független más ha-

tásmechanizmus szerint is kifejthetik káros hatásukat. Bizonyos sejtfelszíni receptorokhoz kötődve aktiválják a szerin/treoninkináz AKT-t és a proteinkináz A-t, ezáltal csökkentik az apoptózist (30).

A DNS-adduktok keletkezését lényegesen befolyásolhatják genetikai hajlamosító tényezők. Ezek közül kiemeljük a génpolimorfizmusokat, köztük a fázis I és fázis II enzimek és a DNS-hibajavító enzimek génpolimorfizmusát, melyek befolyásolhatják a génexpressziót, a szóban forgó enzimek működését, ezáltal a dohányfüstben lévő testidegen vegyületek DNS-károsító hatását (38).

### Karcinogén-DNS-adduktok kimutatása

A karcinogén-DNS-adduktok képződése a karcinogén-expozícióból származó biológiailag hatásos dózist reprezentálja, és humán biomonitorozásban molekuláris dozimetria céljára alkalmazták.

A karcinogén-DNS-adduktok meghatározásának módszerei sokat fejlődtek az utóbbi két évtizedben, különösen a humán vizsgálatokban való alkalmazások terén. A DNS-adduktok kimutatására és mennyiségi meghatározására a következő módszerek használatosak: a foszfor-32 izotópos utójelelés (<sup>32</sup>P-postlabelling), immunassay-k és immunhisztokémiai módszerek, fluoreszcencia- és foszforeszcencia-spektroszkópia, tömegspektrometria, nagyhatékonyságú folyadékromatográfia (HPLC) elektro-kémiai detektálással, valamint a felsorolt elválasztástechnikai és kimutatási módszerek speciális kombinációi (2, 4, 22, 25). A foszfor-32 izotópos utójelelési eljárás során a sejtekből vagy szövetekből kivont DNS-t enzimekkel emésztjük, adduktúsdíszítást végzünk enzimreakcióval vagy szerves oldószeres extrakcióval, és a testidegen metabolitot hordozó nukleotidokat foszfor-32 izotóppal jelöljük enzimes katalízissal. A módszer rendkívül érzékeny, 1 addukt/10<sup>9</sup> normális nukleotid nagyságrendben van a kimutatási határa, és nem szükséges a DNS-adduktok szerkezetének, illetve az expozíció kémiai mi-benlétének a pontos ismerete. A módszer különösen alkalmas nagyméretű aromás vegyületek és összetett keverékek DNS-adduktjainak a kimutatására (20) és összetett környezeti expozíció humán biomonitorozására. Amikor dohányfüst-expozíciónak kitett sejtek és szövetek DNS-adduktjait mutatjuk ki, akkor egy jellegzetes átlós radioaktív sávot látunk az autoradiogramon az adduktkeverék kétdimenziós vékonyréteg-kromatográfiás szétválasztása után. Az immuntechnikai eljárások alapvetően vegyület-specifikusak. A karcinogén célvegyülettel DNS-adduktot vagy nukleotid-adduktot állítanak elő *in vitro* reakcióban. Az így előállított antigén ellen termelt monoklonális vagy poliklonális antitestekkel mutatják ki a DNS-adduktokat a vizsgálandó sejtek vagy szövetek DNS-éből. A benz[a]pirén diol-epoxid (BPDE)-DNS immunassay-kben BP-nel *in vitro* módosított DNS ellen termelt antiszérumot használnak. Az antitestek azonban nemcsak a BP-DNS-adduktokat ismerik fel, hanem az antitest keresztreaktívítása következtében kémiai rokon szerkezetű PAH-DNS-adduktokat is (37). Ez az immunassay ezért különösen alkalmas a dohányfüst-expozícióból származó PAH-DNS-adduktok humán szövetekből

történő kimutatására. A BPDE-DNS immunassay kemilumineszcencia végpontméréssel jelenleg a legérzékenyebb PAH-DNS immunmeghatározás, és megközelíti a  $^{32}\text{P}$ -utójelölés érzékenységét (4). A bemutatott módszerek félmenyiségi DNS-addukt-meghatározást tesznek lehetővé összetett humán expozíció esetén. Dohányfüst-expozícióból származó DNS-adduktok minőségi kimutatására eredményesen alkalmazták az immunkémiai addukt-dúsítás és a  $^{32}\text{P}$ -utójelölés kombinációját humán tüdőszövet mintákból (8). Fluoreszcencia-meghatározással olyan karcinogének DNS-adduktjai vagy azok hidrolizátumai vizsgálhatók, amelyek erősen fluoreszcensek, mint például a PAH-ok. Tömegspektrometriával bizonyos adduktok kémiai szerkezetspecifikus meghatározását lehet elvégezni, míg elektrokémiai kimutatással kisebb DNS-léziók, mint például oxidatív stresszből származó 8-oxo-dezoxiguanozin (8-oxo-dG) határozható meg.

### Dohányzással összefüggő DNS-adduktok humán szövetekben

Dohányzás következtében humán szövetekben keletkező nagymolekulájú aromás DNS-adduktok kimutatásáról számos kutatócsoport számolt be az 1990-es évektől kezdve, és több irodalmi áttekintés is született a témában (21, 23, 29, 38).

#### Tüdő és bronchus

A vizsgálatok többségében szignifikánsan magasabb DNS-adduktszintet mutattak ki dohányzók perifériás tüdő- és bronchusszövetében, valamint bronchoalveoláris mosófolyadékából kinyert sejtjeiben a nem dohányzókkal összehasonlítva. Saját új eredményeink szerint a nagymolekulájú aromás DNS-adduktok mennyisége tüdőszövetekben nagy egyedi változottságot mutat.  $^{32}\text{P}$ -utójelöléses eljárást alkalmazva 0,3–27,8 addukt/ $10^8$  nukleotid közötti értékeket mérünk dohányzóknál, és 0,3–14,4 addukt/ $10^8$  nukleotid szintet nem dohányzóknál. A dohányzóknál 1,7–2,4-szer magasabb volt a DNS-adduktszint tumorszövetben, ép perifériás tüdőszövetben és bronchusszövetben a nem dohányzókhöz képest. Kemilumineszcenciás immunassay-vel történt meghatározás szerint is a PAH-DNS-adduktszintek szintén széles tartományban mozogtak, 0,4–22,6 addukt/ $10^8$  nukleotid között voltak dohányzóknál és 0,4–10,8 addukt/ $10^8$  nukleotid között nem dohányzóknál. A PAH-DNS-adduktszintek 1,2–1,4-szer voltak magasabbak a dohányzók tüdőszövetében a nem dohányzókéhoz képest (10). A nem dohányzók szövetében kimutatható PAH-DNS-adduktok valószínűleg környezeti levegőből, passzív dohányzásból, és ivóvízzel és a táplálékkal a szervezetbe jutó PAH-okból származnak (28).

Néhány vizsgálatban lineáris összefüggést találtak a napi cigarettafogyasztás és a tüdőszövetminták DNS-adduktszintje között, más vizsgálatok nem állapítottak meg szoros összefüggést (21). Legalább egy éve absztinens volt dohányzóknál a DNS-adduktszint általában a dohányzók és a sohasem dohányzottaké között volt, a DNS-adduktok látszólagos féleletideje egy és két év közé tehető. Saját vizsgálata-

inkban 1,7 évre becsültük a DNS-adduktok féleletidejét (29). Ez a DNS-addukt-eltávolítási idő hosszabb, mint ami a DNS-hibajavító folyamatokból és a sejtek kicserélődéséből várható, illetve állatkísérletes adatokból becsülhető. A háttérszintre történő lassú DNS-adduktszint-csökkenésnek valószínűleg az az oka, hogy a tüdőben még hosszú ideig tárolódnak kátrányszemcsék a dohányzás abbahagyása után, és a kátrányraktárból folytatódik a karcinogén-aktiváció.

Egy friss keletű tanulmányban számottevően magasabb BPDE-DNS-adduktszintet mutattak ki bronchusepithelium-sejtjeiben, mint tüdőparenchyma-sejtjeiben BPDE-DNS-adduktra specifikus HPLC-fluoreszcenciás módszerrel. Ez a megfigyelés hangsúlyozottan bizonyítja, hogy a bronchusepithelium kritikus célszövet a dohányfüst-karcinogének számára (26).

#### Száj- és orrüreg, gége, köpet

Klinikailag normális szájnyálkahártyában és szájüregből biopsziával nyert mintákban szignifikánsan magasabb aromás DNS-adduktszintet mutattak ki dohányzóknál, mint volt dohányzóknál és nem dohányzóknál. Egészséges dohányzók levált szájüregi hámsajtjeiben szignifikánsan erősebb volt az immunhisztokémiai festődés DNS-adduktokra, mint nem dohányzóknál, és a napi cigarettadózissal arányos volt a festődési intenzitás. Dohányzók gégeszövetmintájában ugyancsak magasabb karcinogén-DNS-adduktszintet állapítottak meg, mint nem dohányzókéban. Indukált köpetből izolált DNS-ben körülbelül ötször magasabb átlagos DNS-adduktszintet mutattak ki dohányzóknál a nem dohányzókhöz képest. 4-ABP-DNS-re specifikus immunhisztokémiai festés szignifikánsan magasabb adduktszintet jelzett dohányzóknál (21).

#### Hólyag

A hólyagszövetek dohányzásból eredő DNS-károsodásának kimutatására autopsziás és biopsziás mintákat, valamint vizelettel kiürülő levált húgyúti hámsajtjeiket tanulmányoztak. A mintákban 4-ABP-specifikus DNS-adduktokat mutattak ki, és a dohányzóknál szignifikánsan magasabb szinteket mértek, mint a nem dohányzóknál. Immunhisztokémiai módszerrel lineáris összefüggést mutattak ki a napi cigarettafogyasztás és az adduktfestődési intenzitás között. A hólyagszövetben kimutatott 4-ABP-DNS-adduktok arra utalnak, hogy a dohányfüstben lévő 4-ABP és aromás aminok célszerve a hólyag (21).

#### Méhnyak, placenta, spermium

Méhnyakkenetben lévő sejtekben kimutatták a dohányzásból eredő DNS-adduktokat  $^{32}\text{P}$ -utójelöléssel és immunhisztokémiai festéssel. Gázkromatográfiás-tömegspektrometriás analízis is megerősítette a BPDE-DNS-adduktok jelenlétét a méhnyakkenetben. Immuntechnikai, fluoreszcenciás és tömegspektrometriás módszerek kombinációjával mutattak ki BPDE-DNS- és más PAH-DNS-adduktokat placentaiban. Érdekes, hogy nem volt szoros összefüg-

gés a dohányzási státus és a DNS-adduktszint között a placentában. Ez arra utal, hogy a placentában nemcsak a dohányfüst-, hanem más eredetű környezeti PAH-ok is jól mérhető DNS-károsodást okoznak. A spermatoogén sejtek DNS-ének épségét külső és belső genotoxikus tényezők befolyásolhatják. Dohányzók és sohasem dohányzott egyének csoportját összehasonlítva 1,7-szer magasabb DNS-adduktszintet mutattak ki spermiumban dohányzóknál <sup>32</sup>P-utójelöléssel (12). Spermium DNS BPDE-DNS immunhisztokémiai vizsgálata kimutatta, hogy a festődési intenzitás szignifikánsan magasabb volt a dohányzók csoportjában, mint a nem dohányzókéban. Ez a különbség nemcsak a PAH-eredetű DNS-adduktoknál mutatkozott meg, hanem hasonló különbséget állapítottak meg oxidatív DNS-sérülés vonatkozásában is 8-oxo-dG-meghatározással (12, 21).

#### *Egyéb szövetek*

Kardiovaszkuláris, emlő-, gyomor-, hasnyálmirigy- és végbélszövetmintákban is kimutatták a dohányzás DNS-addukt-iniciáló hatását, ami arra utal, hogy a dohányfüsttel a szervezetbe kerülő genotoxikus ágensek szinte az összes szövetben okoznak DNS-károsodást.

#### *Vér*

Bár a fehérvérsejtek nem célsejtek a dohányfüst-expozíció szempontjából, jó hozzáférhetőségük miatt intenzív kutatások folynak helyettesítő szövetként való alkalmazhatóságukra nézve. A vizsgálatok nem vezettek egyértelmű következtetésre (6, 9, 16, 27). Egyes vizsgálatokban a dohányzók fehérvérsejtjeiben szignifikánsan magasabb DNS-addukt-szinteket mutattak ki, mint a nem dohányzóknál. Más vizsgálatokban a dohányzás hatása közel szignifikáns volt, vagy pedig nem okozott mérhető különbséget. A tapasztalatok szerint a hosszabb életidejű limfocitákban gazdag sejtfrakció analízise valamivel érzékenyebb különbségtételt tesz lehetővé a dohányzási expozíció vonatkozásában, mint az összfehérvérsejt-frakció. Valószínű, hogy a leukocita DNS-addukt-szinteket nemcsak a dohányzás, hanem a környezeti levegőben lévő PAH-szennyezés, valamint a táplálékkal a szervezetbe kerülő PAH-ok is befolyásolják (28).

Érdekes kérdés, hogy kimutatható-e DNS-addukt-meghatározással a passzív dohányzás azokban a nem dohányzóknál, akik dohányfüst-expozíciót szenvednek a közvetlen környezetükben dohányzó személyektől. A fehérvérsejtekben általában nem éri el a kétszeres különbséget a DNS-adduktszint dohányzók és nem dohányzók között, emiatt a DNS-addukt-meghatározás érzékenysége vagy „felbontó képessége” nem elegendő a passzív dohányzás kimutatására. Egyszeri háromórás tartózkodás egy dohányfüstös kocsmában szignifikánsan megnövelte a plazma-nikotin- és plazma-kotinin-koncentrációt nem dohányzóknál, és az expozíciót kimutatták indukált köpetből izolált sejtek DNS-addukt-mintázatában és mennyiségében is. A fehérvérsejtek viszont nem bizonyultak kellően érzékeny vizsgálati anyagnak a passzív dohányzás kimutatására (1).

### **DNS-adduktszintek korrelációja célszövetek és a fehérvérsejtek között**

Az a néhány tanulmány, amely összehasonlította a tüdő mint célszövet és a vér mint helyettesítő szövet genotoxikus károsodását bizonyos környezeti expozícióval összefüggésben, különösen értékes, mert az expozíció becsléséhez, a humán biomonitor fejlesztéséhez nyújt ismereteket (34, 36, 39). Saját eredményeink szerint dohányzóknál az aromás DNS-adduktszint körülbelül kétszer olyan magas volt normális tüdő- és bronchusszövetben, mint a perifériás vér limfocita-frakcióban <sup>32</sup>P-utójelöléssel történt meghatározással. Nem dohányzóknál nem volt számottevő különbség a célszövet és a limfociták DNS-adduktszintje között. Ha a dohányzókat és a nem dohányzókat összesítve vizsgáltuk, akkor szignifikáns pozitív korrelációt kaptunk célszövet és helyettesítő szövet között. Ha azonban dohányzási státus szerinti bontást végeztünk, akkor a dohányzóknál nem volt korreláció, míg a nem dohányzóknál szignifikáns pozitív korreláció volt a normális tüdőszövet és a vér limfociták DNS-adduktszintje között (10). Más sejtekkel és szövetekkel nyert korrelációs adatok, mint például bronchoalveoláris mosófolyadék sejteji, ornyálkahártya, gége, arra utalnak, hogy a korrelációt befolyásolja a sejteket ért genotoxikus dózis (32, 35, 40). A korreláció dóziszfüggését állatkísérletes adatok is alátámasztják, melyek szerint lineáris dóziszfüggés állt fenn kis dózisoknál és telítődés nagy dózisoknál (15). Egy karcinogén ágens aktivációja függ az adott szövet metabolikus kapacitásától, amit figyelembe kell venni a szövetről szövetre történő extrapolációnál.

### **Dohányzással kapcsolatos DNS-adduktok és a p53-mutációs spektrum**

A dohányzási expozícióval párosuló mutációs spektrumok rendkívül összetettek, de az egyértelműen kimutatható, hogy a p53-mutációk gyakorisága dohányzóknál magasabb, mint nem dohányzóknál. A tüdőráknál a domináns mutációtípus a G – T transzverzió, és a p53-mutációk a leggyakrabban a 157-es, a 248-as és a 273-as kodonon fordulnak elő. Kísérletes bizonyíték van arról, hogy ezek a kodonok a BPDE-DNS-adduktok leggyakoribb előfordulási helyei BP-nel kezelt bronchussejtben, az pedig ismert, hogy a dohányfüst tartalmaz BP-t (3). A 4-ABP-nek specifikus adduktkötőhelyei vannak a p53 génen a 280-as és a 285-ös kodonon, és ez nagymértékben hozzájárul a p53 szokatlan mutációs spektrumához a humán hólyagrakban. Ez a megfigyelés alátámasztja azt a hipotézist, hogy a dohányfüst okozta 4-ABP-expozíció fontos etiológiai tényezője a hólyagraknak (7).

### **Dohányzással kapcsolatos DNS-adduktok és a kockázatbecslés**

Egy New York City-ben folytatott kórházi tüdőrák eset-kontroll vizsgálatban az eset csoportban hétszer nagyobb volt az esélyhányados az emelkedett PAH-DNS-adduktszintre fehérvérsejtben, mint a kontroll csoportban (34). Egy prospektív tüdőrák-epide-

miológiai vizsgálatból kiderült, hogy azoknak az egészséges dohányzóknak, akiknek a fehérvérsejtjeiben emelkedett aromás DNS-adduktszint volt, körülbelül háromszor akkora volt a kockázatuk a tüdőrákos megbetegedésre, mint azoknak, akiknek alacsonyabb volt a DNS-adduktszintje (33).

Összefoglalva megállapítható, hogy a dohányzás DNS-károsító hatását bizonyítja a karcinogén-DNS-adduktok fokozott jelenléte a dohányzók különböző szöveteiben. A dohányzás okozta karcinogén-DNS-adduktoknak iniciálóz szerepe van számos daganatos betegség, elsősorban a tüdőrák keletkezésében. A DNS-addukt fontos biomarker a dohányzás okozta genotoxikus expozíció biomonitorozásában. Már vannak olyan kutatási eredmények, melyek ígéretesek a DNS-adduktoknak a rizikóbecslésben való jövőbeni alkalmazásával kapcsolatban.

## Irodalom

- Besaratinia A, Maas LM, Brouwer EMC, et al. A molecular dosimetry approach to assess human exposure to environmental tobacco smoke in pubs. *Carcinogenesis* 23:1171-1176, 2002
- Boysen G, Hecht SS. Analysis of DNA and protein adducts of benzo[a]pyrene in human tissues using structure-specific methods. *Mutat Res* 543:17-30, 2003
- Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* 274:430-432, 1996
- Divi RL, Beland FA, Fu PP, et al. Highly-sensitive chemiluminescence immunoassay for benzo[a]pyrene-DNA adducts: validation by comparison with other methods, and use in human biomonitoring. *Carcinogenesis* 23:2043-2049, 2002
- Doll R, Peto R. *The Causes of Cancer*. Oxford University Press, Oxford 1981
- Duell EJ, Wiencke JK, Cheng TJ, et al. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells. *Carcinogenesis* 21:963-971, 2000
- Feng Z, Hu W, Rom WN, et al. 4-Aminobiphenyl is a major etiological agent of human bladder cancer: evidence from its DNA binding spectrum in human p53 gene. *Carcinogenesis* 23:1721-1727, 2002
- Godschalk R, Nair J, van Schooten FJ, et al. Comparison of multiple DNA adduct types in tumor adjacent human lung tissue: effect of cigarette smoking. *Carcinogenesis* 23:2081-2086, 2002
- Godschalk RW, Maas LM, Van Zandwijk N, et al. Differences in aromatic-DNA adduct levels between alveolar macrophages and subpopulations of white blood cells from smokers. *Carcinogenesis* 19:819-825, 1998
- Gyórfy E, Anna L, Győri Z, et al. DNA adducts in tumour, normal peripheral lung and bronchus, and peripheral blood lymphocytes from smoking and non-smoking lung cancer patients: correlations between tissues and detection by 32P-postlabelling and immunoassay. *Carcinogenesis* 25:1201-1209, 2004
- Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer* 3:733-744, 2003
- Horak S, Polanska J, Widlak P. Bulky DNA adducts in human sperm: relationship with fertility, semen quality, smoking, and environmental factors. *Mutat Res* 537:53-65, 2003
- IACR. GLOBOCAN 2000: International Agency for Research on Cancer ([www.iarc.fr](http://www.iarc.fr)), 2001
- IARC. Tobacco smoking. Vol. 38. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1986
- Lewtas J, Walsh D, Williams R, Dobiás L. Air pollution exposure-DNA adduct dosimetry in humans and rodents: evidence for non-linearity at high doses. *Mutat Res* 378:51-63, 1977
- Matullo G, Palli D, Peluso M, et al. XRCC1, XRCC3, XPD polymorphisms, smoking and 32P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis* 22:1437-1445, 2001
- Miller EC, Miller JA. Searches for ultimate chemical carcinogens and their reaction with cellular macromolecules. *Cancer* 47:2327-2345, 1981
- Miller JA. Research in chemical carcinogenesis with Elisabeth Miller - a trail of discovery with our associates. *Drug Metabol Dispos* 26:1-36, 1994
- Pelkonen O, Nebert DW. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: etiologic role in carcinogenesis. *Pharmacol Rev* 34:189-222, 1982
- Phillips DH. Detection of DNA modification by the 32P-postlabelling assay. *Mutat Res* 378:1-12, 1977
- Phillips DH. Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. *Carcinogenesis* 23:1979-2004, 2002
- Phillips DH, Farmer PB. Protein and DNA adducts as biomarkers of exposure to environmental mutagens. In: *Environmental Mutagenesis*. Eds. Phillips DH, Venitt S. Bios Scientific Publishers Limited, Oxford 1995, pp 367-395
- Phillips DH, Schoket B, Hewer A, et al. Influence of cigarette smoking on the levels of DNA adducts in human bronchial epithelium and white blood cells. *Int J Cancer* 46:569-575, 1990
- Poirier MC, Beland FA. DNA adduct measurement and tumor incidence during chronic carcinogen exposure in animal models: implications for DNA adduct-based human cancer risk assessment. *Chem Res Toxicol* 5:749-755, 1992
- Poirier MC, Santella RM, Weston A. Carcinogen macromolecular adducts and their measurement. *Carcinogenesis* 21:353-359, 2000
- Rojas M, Marie B, Vignaud JM, et al. High DNA damage by benzo[a]pyrene 7,8-diol-9,10-epoxide in bronchial epithelial cells from patients with lung cancer: comparison with lung parenchyma. *Cancer Lett* 207:157-163, 2004
- Savella K, Hemminki K. DNA adducts in lymphocytes and granulocytes of smokers and nonsmokers detected by the 32P-postlabelling assay. *Carcinogenesis* 12:503-508, 1991
- Schoket B. DNA damage in humans exposed to environmental and dietary polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat Res* 424:143-153, 1999
- Schoket B, Phillips DH, Kostic S, Vincze I. Smoking-associated bulky DNA adducts in bronchial tissue related to CYP1A1 MspI and GSTM1 genotypes in lung patients. *Carcinogenesis* 19:841-846, 1998
- Schuler HM. Mechanisms of smoking-related lung and pancreatic adenocarcinoma development. *Nat Rev Cancer* 2:455-463, 2002
- Seo KY, Jelinsky SA, Loechler EL. Factors that influence the mutagenic patterns of DNA adducts from chemical carcinogens. *Mutat Res* 463:215-246, 2000
- Szyfter K, Hemminki K, Szyfter W, et al. Aromatic DNA adducts in larynx biopsies and leukocytes. *Carcinogenesis* 15:2195-2199, 1994
- Tang D, Phillips DH, Stampfer M, et al. Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the Physicians' Health Study. *Cancer Res* 61:6708-6712, 2001
- Tang D, Santella RM, Blackwood AM, et al. A molecular epidemiological case-control study of lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 4:341-346, 1995
- van Schooten FJ, Godschalk RWL, Breedijk A, et al. 32P-Postlabelling of aromatic DNA adducts in white blood cells and alveolar macrophages of smokers: saturation at high exposures. *Mutat Res* 378:65-75, 1997
- van Schooten FJ, Hillebrand MJX, Leeuwen FE, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in white blood cells from lung cancer patients: no correlation with adduct levels in lung. *Carcinogenesis* 13:987-993, 1992
- Weston A, Manchester DK, Poirier MC, et al. Derivative fluorescence spectral analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in human placenta. *Chem Res Toxicol* 2:104-108, 1989
- Wiencke JD. DNA adduct burden and tobacco carcinogenesis. *Oncogene* 21:7376-7391, 2002
- Wiencke JK, Thurston SW, Kelsey KT, et al. Early age at smoking initiation and tobacco carcinogen DNA damage in the lung. *JNCI* 91:614-619, 1999
- Zhao C, Georgellis A, Flato S, et al. DNA adducts in human nasal mucosa and white blood cells from smokers and non-smokers. *Carcinogenesis* 18:2205-2208, 1997