

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2009

Lucia Žifčáková

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra buněčné biologie

**Bodový polymorfizmus ako biomarker  
predispozície vzniku kolorektálnej rakoviny**

**Single nucleotide polymorphisms as a  
biomarker of colorectal cancer predisposition**

Vypracovala:

Lucia Žifčáková

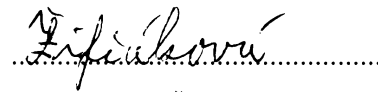
Vedúci bakalárskej práce:

Mgr. Jana Slyšková

## Prehlásenie:

Prehlasujem, že som bakalársku prácu na tému „Bodový polymorfizmus ako biomarker predispozície vzniku kolorektálnej rakoviny“ spracovala samostatne s použitím podkladových materiálov uvedených v zozname použitej literatúry.

V Prahe dne 6.8.2009

Handwritten signature of Lucia Žifčáková in cursive script, followed by a dotted line.

Lucia Žifčáková

## **Pod'akovanie**

Chcela by som poďakovať MUDr. Pavlovi Vodičkovi, PhD. a Mgr. Jane Slyškovej z Ústavu experimentálnej medicíny Akadémie Věd ČR za odborné vedenie a podnetné návrhy pri spracovaní tejto bakalárskej práce. Ďalej ďakujem RNDr. Janu Brábekovi, Ph.D. za záverečnú konzultáciu. Moja vďaka patrí taktiež mojej rodine a priateľom za poskytnutie morálnej podpory.

## Abstrakt

Bakalárska práca sa zaoberá vplyvom najfrekvencovanejších bodových polymorfizmov skupiny génov *Xeroderma pigmentosum* (XPA až XPG) na sporadickú formu kolorektálneho karcinómu. Študované gény sú aktívne v nukleotidovej excíznej reparačnej dráhe. Práca rozoberá jednotlivé gény vyvolávajúce *Xeroderma pigmentosum* podrobnejšie, aby objasnila ich funkcie v bunke ako aj ochorenia spojené s ich mutáciami. Práca tiež pojednáva o klinickom využití štúdia biomarkerov, konkrétne bodových polymorfizmov v súvislosti s nádorovými ochoreniami. Sústreďuje sa na ich možné využitie nielen pri diagnostike ochorenia, ale aj pri prognostike a individualizácii liečby.

**Kľúčové slová:** Kolorektálna rakovina, bodový polymorfizmus, nukleotidová excízna oprava, biomarker, *Xeroderma pigmentosum*, poškodenie DNA, GG-NER – globálna genómová NER, TC-NER – s transkripciou spojená NER

## Abstract

This bachelor thesis summarizes current knowledge of the influence of most common single nucleotide polymorphisms in group of *Xeroderma pigmentosum* (XPA to XPG) on the sporadic form of colorectal carcinoma. In addition, the individual genes are being introduced. The bachelor thesis also present NER pathway and diseases connected with NER disorders. The work also illustrates basic terms connected with the topic, such as: colorectal cancer, single nucleotide polymorphism, nucleotide excision repair, biomarker. The work also focuses on the use of knowledge of SNP's at applied chemotherapy of CRC and the direction which research of SNP's as biomarkers should continue. It also discusses possible sources of inconsistent results by different researches.

**Key words:** Colorectal cancer, single nucleotide polymorphism, nucleotide excision repair, *Xeroderma pigmentosum*, biomarker, DNA lesion, GG - NER – global genomic NER, TC - NER – transcription coupled NER

# Obsah

<b>1.Úvod</b> .....	<b>7</b>
1.1 Cieľ práce .....	7
<b>2.Biomarkery</b> .....	<b>8</b>
<b>3.Polymorfizmus</b> .....	<b>8</b>
3.1 Polymorfizmus DNA.....	9
3.1.1 Bodový polymorfizmus.....	9
3.1.2 Repetitívne sekvencie.....	10
<b>4. Kolorektálna rakovina</b> .....	<b>10</b>
<b>5. Nukleotidová excízna reparácia</b> .....	<b>12</b>
5.1 Poruchy nukleotidovej excíznej reparácie.....	14
<b>6. Gény skupiny Xeroderma pigmentosum a ich charakteristika</b> .....	<b>16</b>
6.1 Gén XPA .....	16
6.2 Gén XPB .....	16
6.3 Gén XPC .....	17
6.4 Gén XPD .....	18
6.5 Gén XPE.....	18
6.6 Gén XPF .....	19
6.7 Gén XPG .....	20
<b>7. Vplyv vybraných polymorfizmov génov skupiny Xeroderma pigmentosum na kolorektálnu rakovinu</b> .....	<b>21</b>
<b>8. Záver</b> .....	<b>22</b>
<b>9. Zoznam použitých skratiek</b> .....	<b>24</b>
<b>10. Prehľad literatúry</b> .....	<b>25</b>
<b>11. Prílohy</b>	

# 1. Úvod

Podľa epidemiologických štúdií a údajov WHO sa odhaduje, že 80-90% všetkých nádorových ochorení vo svete je spôsobených environmentálnymi faktormi. Z nich najvýznamnejšiu úlohu zohrávajú chemické karcinogény. Schopnosť aktivovať resp. deaktivovať karcinogény sa u rôznych indivíduí podstatne líši. Za rozdiely v aktivite a hladine enzýmov podieľajúcich sa na metabolizme karcinogénov sú z veľkej časti zodpovedné genetické polymorfizmy. Jedinci s genotypmi s obmedzenou opravou enzymatickou aktivitou a menej účinnou deaktiváciou karcinogénov sú pravdepodobne vystavené zvýšenému riziku vzniku mutácií a následne vzniku tumorov. Študovať preto genetické, konkrétne bodové polymorfizmy je dôležité. Variácie v DNA sekvenciách ovplyvňujú priebeh chorôb, odpoveď organizmu na patogény, chemikálie, lieky, vakcíny atď. Bodové polymorfizmy sa taktiež považujú za kľúčové v realizácii konceptu personalizovanej medicíny, čiže liečby šitej na mieru každému jednotlivcovi. Ich najväčší prínos v súčasnom biomedicínskom výskume spočíva v porovnávaní oblastí genómu medzi kohortami (ako sú kohorty ľudí so sledovanou chorobou a bez nej) kde sa zisťuje, či špecifické polymorfne miesto môže ovplyvňovať fenotypový prejav. Študovanie bodových polymorfizmov má svoje využitie aj pri určovaní otcovstva či pri šľachtení rastlín a živočíchov.

V posledných rokoch sa venuje veľká pozornosť bodovým polymorfizmom v reparačných génoch a ich možnom vplyve na riziko vzniku kolorektálnej rakoviny. Najlepšie preskúmané boli reparačné dráhy BER (bázová excízna oprava), MMR (oprava chybné spárovaných báz), menej potom NER (nukleotidová excízna oprava) dráha. Dosiaľ bola čiastočne preukázaná súvislosť medzi kolorektálnym karcinómom (CRC) a polymorfizmami v BER a MMR génoch, no ešte nebola preukázaná jednoznačná súvislosť s jednotlivými NER génmi. Preto sa táto práca snaží zosumarizovať poznatky o vplyve bodových polymorfizmov XP génov na kolorektálnu rakovinu a vyvodit' z nich určitý záver. Keďže sa nedávno ukázalo, že BER dráha je prepojená s NER, existuje dôvod domnievať sa, že mutácie/varianty v NER môžu modulovať riziko vzniku rakoviny a to konkrétne CRC.

## 1.1 Cieľ práce

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo vypracovať teoretický prehľad a zosumarizovať poznatky o vplyve bodových polymorfizmov XP génov na kolorektálnu rakovinu. Pre lepšiu predstavu čitateľa o úlohe študovaných génov skupiny XP v rámci NER dráhy sa práca tiež zaoberá podrobnejším popisom jednotlivých génov a ich funkciou.

## 2. Biomarkery

Biomarker je kategória používaná ako indikátor určitého biologického stavu. Jeho hlavná charakteristika je, že objektívne meria a hodnotí normálne biologické procesy, patologické procesy alebo farmakologickú odpoveď na terapiu. Biomarker sa v genetike označuje pojmom genetický marker. Obyčajne je to fragment DNA sekvencie, ktorá zapríčiňuje ochorenie alebo je spojená s náchylnosťou k ochoreniu. Genetický marker môže byť opísaný ako variácia, ktorá vznikla mutáciou alebo zámennou báz v genómovom lokuse. Za genetický marker môže byť považovaná krátka sekvencia DNA, ako je sekvencia obklopujúca bodovú mutáciu (SNP), alebo dlhá sekvencia, ako sú napríklad minisatelity. Často používanými genetickými markermi sú: polymorfizmus mikrosatelitov a minisatelitov a jednonukleotidový polymorfizmus, ktorý je tiež nazývaný ako polymorfizmus bodový. Genetické markery musia byť ľahko identifikovateľné, asociované so špecifickým lokusom a vysoko polymorfne. Podľa charakteru polymorfizmu sa biomarkery ďalej delia na: polymorfizmus dĺžky restričných fragmentov (RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism), polymorfizmus dĺžky sekvencie (SSLP - Simple Sequence Length Polymorphism) a polymorfizmus jednotlivých nukleotidov (SNP - Single Nucleotide Polymorphism). Genetické markery môžu byť použité na vytváranie genetických máp, meranie genomickej odozvy na liečbu. Genetické markery môžu byť taktiež použité na štúdium vzťahov medzi dedičným ochorením a genetickou príčinou.

## 3. Polymorfizmus

Polymorfizmy sa rozdeľujú na genetické a enviromentálne.

Enviromentálny polymorfizmus je spôsobený iba vonkajším prostredím a nie je teda geneticky podmienený.

Za geneticky polymorfny je považovaný taký znak s najmenej dvoma dedične podmienenými variantami v rámci jednej populácie, ktorého zriedkavá alela má frekvenciu aspoň 1%. Uvedené vymedzenie pojmu polymorfizmus znamená, že medzi polymorfizmy nepatria alely s frekvenciou nižšou ako 1% (niektoré geneticky podmienené choroby), znaky ktorých variabilita nie je podmienená geneticky (infekčné choroby), znaky s kontinuálnou variabilitou (telesná hmotnosť, výška) a znaky, kde sa v rámci druhu vyskytujú rôzne varianty, avšak v navzájom oddelených populáciách (farba kože atd.). Genetický polymorfizmus tvorí významnú časť vnútropopulačnej genetickej variability. Pojem genetický polymorfizmus je možné podľa objektu štúdia zaradiť do niekoľkých skupín: 1. polymorfizmus DNA, 2.



polymorfizmus biochemický (imunologický), 3. polymorfizmus morfológický, 4. chromozómový polymorfizmus. (Yue P. and Moulton J., 2006)

### **3.1 Polymorfizmus DNA**

Takmer každá fenotypová variabilita má svoj podklad vo variabilite na úrovni DNA. To platí aj pre genetický, imunologický, biochemický a morfológický polymorfizmus.

Vo fenotype sa však prejaví len malá časť variability DNA. Je to spôsobené tým, že exóny kódujúce gény tvoria menej než 3% ľudskej DNA, zvyšok pripadá na nekódujúce sekvencie. Vďaka degenerácii genetického kódu sa fenotypovo neprejavajú ani všetky zmeny exónov, keďže niektoré z nich vôbec nespôsobujú zmenu aminokyseliny. Preto značná časť polymorfizmov je detekovateľná na úrovni DNA iba metódami molekulárnej biológie. (Yue P. and Moulton J., 2006)

#### **3.1.1 Bodový polymorfizmus**

Tento typ polymorfizmu je spôsobený zmenou v sekvencii báz, najčastejšie bodovou mutáciou (väčšinou zámennou nukleotidu alebo deléciou niekoľkých báz) na určitom mieste DNA. Môže sa vyskytovať v génoch, nekódujúcich oblastiach génov alebo v medzigénových oblastiach DNAi. Bodový polymorfizmus v kódujúcej sekvencii neznamena nutne zmenu poradia aminokyselín v proteíne vďaka degenerovanému genetickému kódu. Polymorfizmus, ktorého obe alely vedú k rovnakej polypeptidovej sekvencii sa nazýva synonymický, v prípade že vzniká iná polypeptidová sekvencia polymorfizmus je nesynonymický. Bodový polymorfizmus nesynonymický môže byť so zmenou zmyslu (zámena aminokyseliny) alebo nezmyselný (vzniká stop kodón). Aj polymorfizmy, ktoré nie sú v oblasti kódujúcej proteíny, môžu stále vplývať na vystrihovanie génov u mRNA, väzbu transkripčných faktorov alebo sekvencie nekódujúcej RNA. Odhaduje sa, že u eukaryot je polymorfny každý 500. nukleotid v exónoch a každý 50. v intrónoch.

Laboratórne sa dá bodový polymorfizmus detekovať ako polymorfizmus dĺžky restriktčných fragmentov RFLP (restriction fragment length polymorphism). Podstatou RFLP je, že aj jednobázová zámena v sekvencii cieľového miesta pre restriktčnú endonukleázu, môže viesť k tomu, že restriktáza toto miesto nerozoznáva a neštiepi DNA. Počas restriktčného štiepenia teda vznikajú 2 rôzne produkty (podľa toho, či naamplifikovaný študovaný úsek DNA je alebo nie je enzýmom štiepený), ktoré sú od seba rozlíšiteľné pri gélovej elektroforéze (úsek neštiepený migruje pomalšie ako úsek štiepený). Takto definované polymorfne miesta sa

chová ako mendelisticky dedený gén s kodominantnou dedičnosťou. Jednotlivé alely sa vyskytujú s určitou frekvenciou, ktorá sa môže v rôznych populáciách líšiť. (Yue P. and Moul J., 2006)

### **3.1.2 Repetitívne sekvencie**

V DNA sa vyskytujú sekvencie jednotkové a repetitívne. Jednotkové sekvencie sa v genóme vyskytujú raz alebo v niekoľko málo kópiach. Patria sem gény, medzerníky, okrajové sekvencie. Ako repetitívne sekvencie sa označujú tie, ktoré sa v genóme vyskytujú mnohokrát, ako minisatelity a mikrosatelity. Minisatelity a mikrosatelity prítomné na určitom mieste v genóme môžu mať v rámci populácie rôzny počet opakujúcich sa krátkych sekvencií, čiže rôznu dĺžku. Preto je tento typ polymorfizmu nazývaný ako polymorfizmus dĺžky sekvencie. Zahŕňa mikrosatelity (tiež označované ako STR – Short Tandem Repeats) a minisatelity (označované ako VNTR – Variable Number of Tandem Repeats). Sem patria i vzácné sa vyskytujúce delécie či inzercie v intrónovej časti spôsobené napríklad transpozónami. Tieto varianty sa chovajú ako mendelisticky dedené gény. (Yue P. and Moul J., 2006)

## **4. Kolorektálna rakovina**

Podľa súčasných údajov Mezinárodnej agentúry pre výzkum rakoviny ("International Agency for Research and Cancer - IARC, Lyon"), zaujal kolorektálny karcinóm prvé miesto na rebríčku najčastejších zhubných ochorení a vystriedal na ňom karcinóm pľúc. Každý rok je kolorektálny karcinóm novo diagnostikovaný u 280.000 Európanov. U 20-25 percent pacientov je pri prvom vyšetrení zachytená táto choroba už v pokročilom štádiu. Kolorektálny karcinóm obvykle nevzniká náhle. Na sliznici hrubého čreva najprv vzniká benigný polyp, v ktorom dochádza k ďalším zmenám buniek, čo nakoniec vyústí v karcinóm. Nebezpečenstvo kolorektálneho karcinómu spočíva v tom, že môže prebiehať pomerne dlho skryto a manifestovať sa až v pokročilejších a teda horšie liečiteľných štádiách. Klinické prejavy sú väčšinou krv v stolici, menej často bolesť brucha, striedanie zápchy a hnačky, hlien v stolici, chudnutie alebo zmeny chuti. Pomerne výrazný vplyv na rozvoj kolorektálneho karcinómu má životný štýl. Ako najrizikovejší faktor sa javí vek. Najviac prípadov sporadickej kolorektálnej rakoviny sa vyskytuje medzi 60. a 70. rokom. Ďalším rizikovým faktorom sú adenomatózne polypy, výskyt rakoviny v rodine, nízka fyzická aktivita, vírusy (HPV - human papilloma virus), nedostatok selénu, exogénne hormóny (antikoncepcia), Crohnova

choroba a ďalšie zápalové ochorenia, nadbytok mäsa a nedostatok zeleniny v potrave, úprava potravy grilovaním a smažením, konzumácia udenín, fajčenie a pitie alkoholu. Vplyv prostredia tak isto nie je zanedbateľný. Za určitých okolností sa môžu ako rizikové javiť i dusičnany v pitnej vode. Kolorektálny karcinóm sa môže vyskytovať v niektorých rodinách častejšie, podkladom môže byť genetika, ale i iné faktory (napr. stravovacie návyky). Okrem toho je niekoľko genetických porúch, v rámci ktorých sa môže kolorektálny karcinóm vyskytovať. O tom, že je nádor súčasťou nejakého genetického syndrómu svedčí predovšetkým nízky vek pacienta (20-30 rokov) a veľmi častý výskyt nádorových ochorení v nižšom veku u pokrvných príbuzných.

Najčastejším geneticky podmieneným syndrómom je familiárna adenomatózna polypóza spojená so vznikom kolorektálneho karcinómu. Choroba sa prejavuje už v pomerne nízkom veku. V hrubom čreve postihnutého sa objavuje veľké množstvo polypov, ktoré sa môžu zvrhnúť v maligný karcinóm. Jedinou možnou terapiou je sledovanie a priebežné odstraňovanie polypov kolonoskopicky. Ochorenie je spôsobené mutáciami génov APC a MUTYH. APC je tumorsupresorový gén, ktorý potlačuje funkciu onkogénneho proteínu  $\beta$ -katenínu. Gén MUTYH kóduje DNA glykozylázu MYH, ktorá odstraňuje oxoguaníny z DNA a tým bráni v nesprávnom párovaní báz.

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&=fap>).

Dedičná nepolypózna rakovina hrubého čreva (HNPCC - hereditary non-polyposis colon cancer) je ďalšou z dedičných ochorení spôsobujúcich CRC. U postihnutého vzniká už v rannom veku kolorektálny karcinóm bez predchádzajúceho vzniku polypov. HNPCC je často doprevádzaná výskytom ďalších nádorov: endometria, žalúdka, pankreasu, kože i iných. Bola identifikovaná rada génov zodpovedných za vznik tohoto syndrómu, najčastejšiou príčinou sú však mutácie génov MSH2 a HLH1. Obe gény sú zapojené v MMR.

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&=hnpcc#hnpcc>)

Peutz–Jehgers syndróm, taktiež známy ako dedičná intestinálna polypóza, je dominantná autozomálna genetická porucha, charakterizovaná vývinom benigných polypov v tráviacom ústrojenstve a hyperpigmentáciami na perách a v okolí úst. Za vznik ochorenia je zodpovedný mutovaný tumorsupresorový gén STK11.

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=pjs#pjs>).

Ďalším syndrómom spojeným s viacnásobnými polypmi v tráviacej sústave je juvenilná polypóza. Polypy nie sú neoplastického rázu a sú benigne. Mutácie spôsobujúce tento syndróm sa obvykle nachádzajú v génoch BMPR1A a SMAD4. SMAD4 je proteín zapojený do mnohých bunkových funkcií ako sú diferenciácia, apoptóza, gastrulácia, embryonálny

vývoj a bunkový cyklus. BMPRIA je transmembránový receptor, ktorý hrá rolu v apoptóze. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=genec&jps>).

Základom liečby u každej CRC je odstránenie časti čreva s nádorom. Pokiaľ je odstránená celá nádorová masa, dá sa výkon považovať za úspešný. Chemoterapia sa používa buď ako prídavná liečba, alebo ako liečba pokročilého metastatického procesu. Obvykle sa používa kombinácia 5-fluorouracilu alebo oxaliplatinu a leukovorínu alebo irinotekan. Pri skorej diagnostike je prognóza dobrá, päťročné prežitie dosahuje 80% pacientov, u pokročilých foriem je prognóza zlá, priemerná doba prežitia je 11 mesiacov.

## 5. Nukleotidová excízna reparácia

Udržiavanie integrity genómu, ktorá zabezpečuje správne fungovanie bunčných pochodov, je cieľom všetkých DNA opravných mechanizmov. Nukleotidová excízna reparácia (NER) je ústredný mechanizmus eliminácie širokého spektra štruktúrne nepríbuzných poškodení DNA. Týmito poškodeniami môžu byť UV indukované cyklobutánové pyrimidínové diméry a pyrimidín 6-4 pyrimidín fotoprodukty, adukty tvorené napríklad karcinogénnymi polycyklickými uhlovodíkmi a heterocyklickými amínmi, ako aj priečne väzby v DNA (cross-links) (Masutani C. et al., 1994). Medzi najčastejšie ochorenia bezprostredne spojené s defektom v NER opravnej dráhe patrí Xeroderma pigmentosum, Cockaynov syndróm a Trichothiodystrofia, ktoré sú zapríčinené poruchou najmenej 11 génov. V rámci NER existujú dve cesty ako rozoznať poškodenie a vytvoriť reparačný komplex. Tieto dráhy sú jednak s transkripciou spojená NER (TC - NER), jednak celková genómová NER (GG - NER).

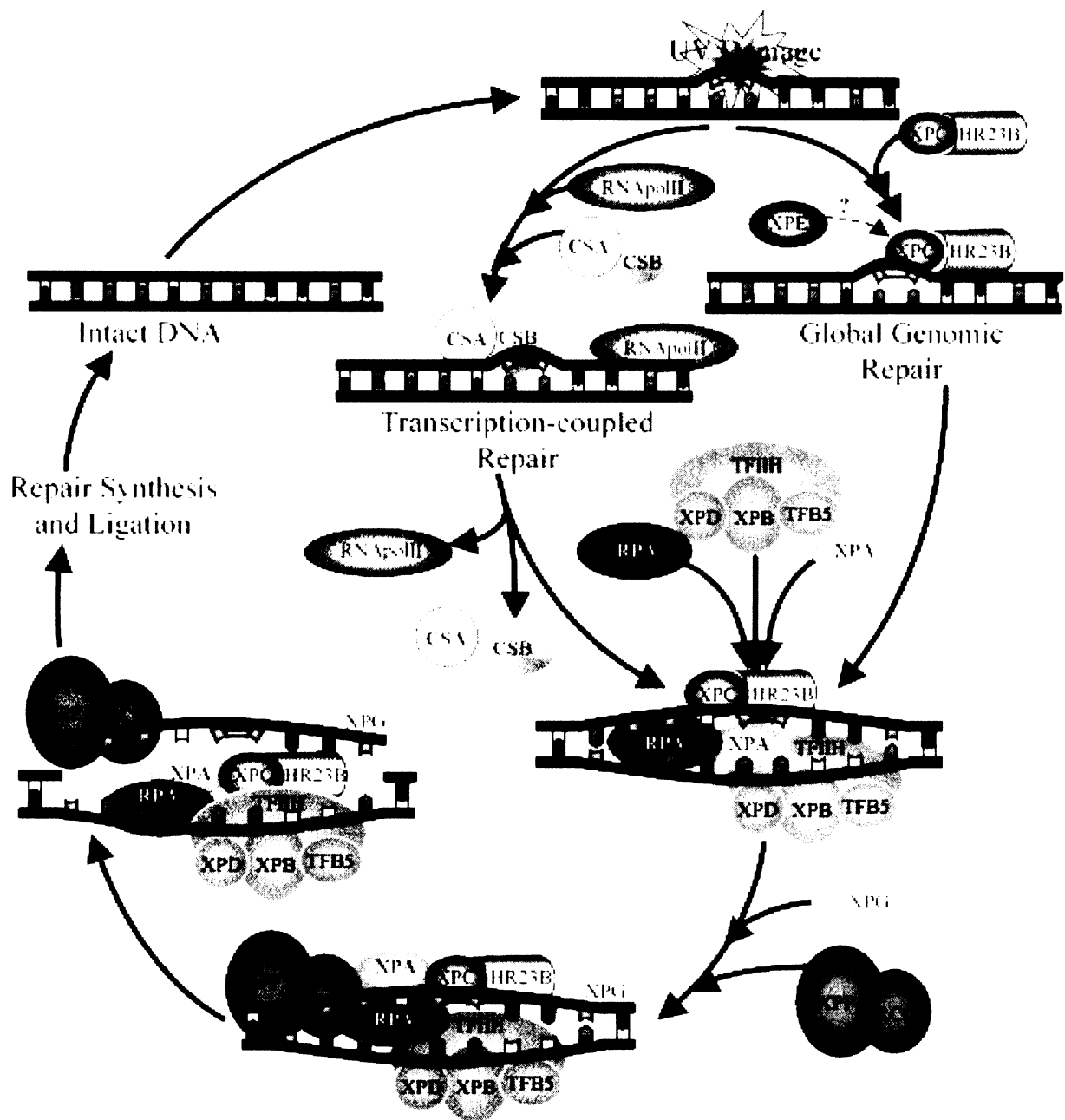
V TC – NER oprave sú zahrnuté CSA a CSB proteíny, ktoré majú podobnú funciu ako komplex XPC - hHR23B v GG – NER. Hlavný signál pre spustenie TC – NER je zastavenie RNA polymerázy II, ktorá na miesto lézie naverbuje reparačný aparát. To znamená, že RNA polymeráza II slúži ako nástroj na rozpoznávanie helixových deformácií a že reparácii génov, ktoré sú prepisované, sa venuje väčšia pozornosť ako neprepisovaným génom. Dráha TC – NER je zvlášť dôležitá, pretože pri permanentne zaseknutej RNA polymeráze II dochádza k zastaveniu bunkového cyklu a k apoptóze (Wouter L. et al., 1999).

GG – NER opravuje poškodenia na oboch vláknach DNA, na transkribovanom aj netranskribovanom vlákne, a to v aktívnych aj neaktívnych génoch. Komplex proteínov XPC - hHR23B neustále prechádza DNA a vyhľadáva deformácie v štruktúre. DDB1 a DDB2 proteíny sú schopné rozpoznať UV poškodenia DNA helixu. Šesť hlavných proteínov XPC - HR23B, TFIIH, XPA, RPA (replikačný proteín A), XPG a XPF-ERCC1 vzájomne

spolupracuje u GG – NER, aby odstránili podľa veľkosti poškodenia oligonukleotid o veľkosti 24-30 nukleotidov. GG – NER môže byť posilnená v blízkosti transkribovaných oblastí väzbou transkripčných faktorov, ktoré vedú k zvýšeniu NER v blízkych oblastiach DNA, ktoré nie sú prepisované. Tento mechanizmus je odlišný od TC - NER. (Frit P. et al., 2002). XPC a HR23 proteíny, pri GG – NER, rozpoznávajú lézie pravdepodobne s pomocou XPE. Reparačný komplex vrátane TFIIH je formovaný okolo poškodenia a dve helikázy XPB a XPD rozmotávajú DNA v blízkosti poškodenia. Ďalší komponent TFIIH, TFB5 bol nedávno objavený u trichothiodystrofiu typu A. XPA môže byť dôležitý pre naverbovanie ďalších prídavných komponentov reparačného komplexu. Endonukleázy XPF/ERCC1 a XPG potom rozštiepia poškodenú oblasť. Medzera je následne vyplnená DNA polymerázou  $\delta$  a  $\epsilon$  a nasledovaná ligázou. Mutácie spôsobené v DNA polymeráze  $\eta$ , vedú k variantnej forme XP (bunky sú normálne v NER ale defektívne v poreplikačných opravách a transléznej syntéze).

Proces NER zahŕňa (Obr. 1):

1. rozpoznanie poškodenia v DNA,
2. rozpletenie dvojzávitnice na poškodenej časti DNA,
3. jednovláknový zlom DNA na oboch stranách poškodenia,
4. vystrihnutie poškodeného oligonukleotidu,
5. syntézu nového vlákna DNA za použitia templátového nepoškodeného vlákna a ligáciu novodosyntetizovaného vlákna s pôvodným vláknom DNA.



Obr. 1: NER dráha (Friedberg E.C.: How nucleotide excision repair protects against cancer. *Nature Rev. Cancer* 1: 232-33 (2001) )

### 5.1 Poruchy nukleotidovej excíznej opravy

Dôležitosť NER môže byť ilustrovaná výskytom vzácnjej autozomálnej recesívnej poruchy *Xeroderma pigmentosum* (XP). Pacienti charakteristicky vykazujú vážnu fotosenzitivitu so skorým výskytom rakoviny kože, abnormálnu pigmentáciu, často doprevádzanú mentálnou retardáciou (Sugasawa K. et al., 1998). Bunky od pacientov sú extrémne citlivé na svetlo

a deficitné v NER. Komplementačné štúdie odhalili osem génov zodpovedných za XP: XPA, XPB, XPC, XPD, XPE, XPG a XPV. Mutácie v týchto génoch (okrem XPV) vedú k vzniku ochorenia. XPV forma je výnimkou, pretože bunky nie sú deficitné v NER, ale v transléznej syntéze, keď replikačná vidlička narazí na objemný adukt. V transléznej syntéze DNA je za bežných okolností angažovaná polymeráza  $\eta$ , ktorá je v XPV bunkách mutovaná. XPV pacienti sú menej fotosenzitívni než klasickí XP pacienti a rakovina kože sa u nich zvykne vyvinúť medzi 20. a 30. rokom života. Taktiež sa u nich prejavuje menej neurologických abnormalít.

*Pacienti s CS (Cockayne syndrome)* sú deficitní v TC – NER. CS sa prejavuje spomaleným rastom a zakrpatenosťou, mentálnou retardáciou, fotosenzitivitou. Oproti XP nie je CS spojený so zvýšeným rizikom kožnej rakoviny. CS bunky sú charakteristické zvýšenou senzitivitou na UV svetlo a neschopnosťou obnoviť RNA syntézu po ožiarení UV svetlom. Bunky poškodené ultrafialovým svetlom umierajú. Je to spôsobené tým, že gény CSA a CSB sú poškodené. CSA proteín interaguje s CSB a podjednotkou RNA polymerázy II. To indikuje, že bunky CS pacientov nie sú schopné transléznej syntézy (Groisman R. et al., 2003). CS podobný fenotyp pacientov môže vzniknúť aj mutáciou XPG génu a TFIIH faktoru, ktorý tvorí komplex s XPB, XPD. TFIIH faktor napomáha XPG vystrihnúť poškodenú časť DNA bez odstránenia RNA polymerázy II, čo znamená, že TC – NER je efektívnejšia ako GG – NER (Sarker A.H. et al., 2005). CSB a XPG rozoznáva zaseknutú RNA polymerázu II. Ak nie je prítomný XPG, tak CSB nie je schopný pracovať správne, takže vzniká fenotyp podobný CS.

(<http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/ExcisRepairID20014.html>)

*Trichothiodystrofia (TTD)* je autozomálna recesívna porucha s variabilným fenotypom, ktorý zahrňuje fotosenzitivitu, ichtyózu, lámavé vlasy, mentálnu poruchu, malý vzrast, mikrocefáliu, charakteristické tvárové znaky ako odstavajúce uši a mandibulárnu hypopláziu a zníženú plodnosť. Dosiaľ bolo zaznamenaných približne 100 prípadov tohto vzácneho ochorenia. Veľmi nízka telesná hladina síry u postihnutých osôb redukuje množstvo cysteínu a cystínu v proteínoch, čo vyúsťuje v lámavé vlasy, ktoré vykazujú pod polarizovaným svetlom charakteristickú tmavú a svetlú priečne pruhovanú kresbu opisovanú ako vzhľad "tigrovaného chvosta" (Liang C. et al., 2005). TTD je zapríčinené mutáciami v ERCC3, ERCC2, alebo TTDA génoch. (Itin P.H. et al., 2001).

## 6. Gény skupiny *Xeroderma pigmentosum* a ich charakteristika

### 6.1 XPA gén

XPA proteín má 273 aminokyselín, molekulárnu hmotnosť 31 kD a obsahuje zopár alfa-helixov a motív zinkových prstov (Tanaka K. et al., 1990). XPA gén tvorí 6 exónov. Na exóne 1 je umiestený jaderný lokalizačný signál, exóny 2 až 6 sú dôležité pre DNA reparačnú funkciu. XPA gén je lokalizovaný na chromozóme 9q22.2-q34.3 (Miyamoto I. et al., 1992) COOH-terminálna doména proteínu XPA, ktorá tvorí motív zinkových prstov, interaguje s TFIIH transkripčným faktorom (Shimamoto T. et al., 1991). XPA participuje na rozpoznaní poškodenia a aktivácii incíznej opravy v trojkomplexe proteínov XPA, ERCC1 a XPF (Shimamoto T. et al., 1991; Li L. et al., 1994; Park C.H. and Sancar A. 1994). Proteín XPA asociuje s excíznym holokomplexom relatívne neskoro. Prítomnosť XPA je nutná pre pripojenie ERCC1-XPF ku holokomplexu a tento gén môže byť dôležitý pre aktiváciu endonukleázovej aktivity XPG (Volker M. et al., 2001).

Najčastejšie študovanými mutáciami boli delécie a mutácie zostrihového miesta v exónoch 3, 4, a v intróne 3, ktoré vyúsťujú v posun čítacieho rámca v oblasti viažúcej DNA. Tranzverzia A na G vnútri intrónu 3 zapríčiňuje vznik zostrihového akceptorového miesta, ktoré môže súťažiť s pôvodným akceptorovým miestom. Mutácie v DNA viažúcom mieste boli u pacientov asociované s neurologickými komplikáciami, pričom mutácie v C` konci proteínu, sa vyskytovali u pacientov s ľahšou kožnou chorobou. Zriedkavosť prirodzene sa vyskytujúcich mutácií so zmenou zmyslu v DNA viažúcom mieste naznačuje, že zmeny aminokyselín môžu byť dostatočne tolerované, takže pacienti môžu mať iba ľahké symptómy. Polymorfizmy v XPA tvoriace pozmenený proteín sú 5-bp delécia, T na G substitúcia v intróne 1, G108T (ničí doménu zinkových prstov), R228TER, R207TER a Y116TER. Ďalej sú známe polymorfizmy s inými následkami: C108F (ničí doménu zinkových prstov), A23G na 5`UTR (untranslated region – neprekladaná oblasť) vytvára nové zostrihové akceptorové miesto, ktoré môže súťažiť s pôvodným (States J.C. et al., 1998).

### 6.2 XPB gén

XPB gén tvorí 14 exónov, leží na chromozóme 2q21a má rozsah približne 45 kb. XPB proteín má veľkosť 782 aminokyselín a 89,3kDa. XPB aj XPD hrajú rolu v dvoch vzdialených metabolických procesoch: DNA reparácii a transkripcii (Weeda G. et al., 1991 a 1997). Zdedené mutácie TFIIH helikázových podjednotiek XPB alebo XPD ústia v prekrývajúce sa reparačné a transkripčné syndrómy (Kim T.K. et al., 2000).



Génový produkt XPB interaguje s jednou z podjednotiek (p52) ľudského transkripčného faktoru TFIIH požadovaného pre transkripciu génov pod promótorom II triedy. Táto interakcia stimuluje ATPázovú aktivitu XPB. XPB u pacientov s T296C mutáciou bol neschopný indukovať otvorenie DNA okolo lézií kvôli nesprávnej XPB/p52 interakcii a nedostatku ATPázovej stimulácie. Helikázová aktivita XPB nebola nevyhnutná pre NER, ale jeho ATPázová aktivita v kombinácii s helikázovou aktivitou XPD bola nevyhnutná (Schaeffer L. et al., 1993; Coin F. et al., 2007).

Mutácia so zmenou zmyslu v kodóne 799 v XPB géne má na svedomí deléciu 45 aminokyselín na C` konci a spôsobuje UV senzitivitu. Mutácie K392 zvyšku na R boli letálne. Polymorfizmy tvoriace pozmenený XPB proteín sú tieto: heterozygótna C na A substitúcia v akceptrovom zostrihovom mieste intrónu 14, 2-bp delécia (807delTT), 1-bp inzercia (1421insA) v exóne 9, heterozygótna tranzícia G na A na +1 pozícii intrónu 3 (IVS3DS+1G-A), R425TER a Q545TER (Oh K.S. et al., 2006). Ďalšie polymorfizmy XPB: F99S, T119P (Park E. et al., 1992).

### 6.3 XPC gén

XPC gén má dĺžku 940 aminokyselín a hmotnosť 105981 Da a je lokalizovaný na chromozóme 3p25 (Legerski R. et al., 1994).

XPC proteín viaže jednovláknovú DNA a je zložený z dvoch podjednotiek: 125 (XPC) a 58 (HHR23B a HHR23A) kDa. XPC-HHR23B komplex je špecificky zapojený v GG – NER, ale nie v TC – NER (Masutani C. et al., 1994). XPC-HHR23B rozpoznáva poškodenú DNA ešte pred XPA, a tým zahajuje NER (Sugasawa K. et al., 1998). Komplex XPC-HR23B interaguje s tymínovou DNA glykozydázou (TDG), ktorá iniciuje báзовú excíznu opravu nesprávne spárovaných G/T spojení. XPC-HR23B stimuluje TDG aktivitu pomocou jej uvoľnenia z DNA po vystrihnutí zle spárovaných T báz, tým komplex XPC-HR23B prispieva k potlačeniu spontánnych mutácií (Shimizu Y. et al., 2003). 125kDa podjednotka XPC vkladá beta-vlásoknu cez DNA duplex, zapríčiňujúc, že 2 poškodené páry báz sa prevrátia von z dvojzávitnice. Tieto lézie sú potom rozoznané XPC a termodynamicky destabilizujú helix čím napomáhajú prevráteniu báz smerom von z DNA helixu (Min J.H. and Pavletich N.P., 2007). XPC - obsahujúce komplexy sú schopné vystrihovať oxidatívne poškodenia DNA (Brooks P.J. et al., 2000; Kuraoka I. et al., 2000), ktoré sú opravované mechanizmom NER. XPC je zahrnutý aj v oprave hlavného oxo-produktu 8-OH-guanínu a 8-hydroxyadenínu (8-OH-Ade). Autori odhalili rolu XPC ako kofaktora pre efektívne vyštepovanie 8-OH-guanínu

pomocou OGG1 (8- $\alpha$ -oxogvanín DNA glykozyláza – gén je súčasťou BER dráhy). Takto sa XPC podieľa na NER aj BER dráhe a môže významne prispievať k prevencii onkologických ochorení.

Polymorfizmy tvoriace pozmenený XPC proteín: 83-bp inzercia začínajúca na pozícii 462, delécia dinukleotidu AA na pozícii 1132, delécia 161 báz zahrňajúca celý exón 9, 155-bp inzercia lokalizovaná v intróne 9, A-T delécia dvoch báz (669-670) v exóne 5 a R579TER. Ďalšie polymorfizmy XPC: P218H, K822Q, záměna T na G donorovej strane zostrihového miesta exónu 9 (Li L. et al., 1993; Khan S. et al., 1998 a 2004; Slor H. et al., 2000; Gozukara E. et al., 2001).

#### **6.4 XPD gén**

Gén XPD (tiež označovaný ako ERCC2) je uložený na chromozomálnom lokuse 19q13.2-q13.3 (Flejter W.L. et al., 1992). XPD gén má 23 exónov v rozpätí veľkostí od 5 bp (exón 1) do 169 bp (exón 11) (Frederick G.D. et al., 1994).

XPD proteín má ATPázovú aktivitu závislú na jednovláknovej DNA a DNA helikázovú aktivitu (Sung P. et al., 1993). Fe-S centrum blízko N' konca je esenciálne pre XPD helikázovú aktivitu (Rudolf J. et al., 2006). XPD interakcia s podjednotkou TFIIH (p44) vedie k stimulácii 5'-3' XPD helikázovej aktivity. Mutácie v karboxy doméne bránia interakcii s p44, čím sa vysvetľuje znížená XPD helikázová aktivita i reparačná schopnosť NER. Väčšina pacientov s TTD a XP má mutácie v C'-terminálnej doméne XPD (Coin F. et al., 1998).

Hlavným typom bodových mutácií u XPD génu boli G:C a A:T tranzície (Seetharam S. et al., 1987). Väčšina mutácií sa líši u XP a TTD pacientov, ale sú tu 3 miesta s rovnakými mutáciami pri XP aj TTD chorobe. Polymorfizmus v R683 a bol jasne asociovaný s XP, zatiaľ čo polymorfizmy v R112H, R722W a R658 sa zdali byť asociované s TTD. Šesť mutačných zmien Rinínových zbytkov pozorovaných na 4 miestach sú C na T alebo G na A mutácie na CpG miestach, ktoré sú výsledkom deaminácie 5-metylcytozínu na tymín. Polymorfizmy tvoriace pozmenený proteín: Q726TER, A725P, 4-bp delécia od nukleotidu 668. Ďalšie polymorfizmy v XPD: L461V, S541R (Taylor E.M. et al., 1997).

#### **6.5 XPE gén**

XPE gén leží na chromozóme 11p12-p11. Ľudský XPE gén kóduje 2 polypeptidické podjednotky p127 (DDB1) a p48 (DDB2) (Dualan R. et al., 1995).

P48 podjednotka obsahuje WD motív (u proteínov definovaný prítomnosťou 4 alebo viacerých opakujúcich sa jednotiek, s konzervovaným jadrom o 40 aminokyselinách, zakončený tryptofánom a asparágovou kyselinou) podobne ako proteíny rozoznávajúce chromatín a je požadovaná pre iniciáciu väzby na DNA po UV poškodení. Bunkám od XPE pacientov chýba DNA väzobná aktivita kvôli zámene jednej aminokyseliny. P48 v interakcii s p53 tumorsupresorovým proteínom hraje rolu v reparácii lézií, ktoré by inak ostali neprístupné v netranskribovanom chromatíne (Hwang B.J. et al., 1998 a 1999).

V 48 kD podjednotke XPE zistil Nichols A.F. et al. (1996) G na A tranzíciu, ktorá zapríčiňuje aminokyselinovú zmenu R273H a zmenu A na G zapríčiňujúcu zmenu K244E. U homozygótnych pacientov so zámennou G na T 1094 v p48 táto mutácia zapríčiňuje buď zmenu jednej aminokyseliny (D307Y) a tým skrátenie proteínu, alebo vnútornú deléciu. Tieto defekty vyústia v zrušenie interakcií s p127 podjednotkou a tým obmedzeniu DNA väzbovej aktivity po indukcii UV svetlom (Radic-Otrin V. et al., 2003). U Homozygótov so substitúciou C na T v 7. exóne a 937. nukleotide dochádza k zmene CGA (R) kodónu na TGA (stop kodón), ktorá predčasnou termináciou skráti proteín o 115 aminokyselín (Itoh T. et al., 1999). Polymorfizmy tvoriace pozmenený XPE proteín: R313TER. Polymorfizmy zabráňujúce väzbe p48 podjednotky k reparačnému komplexu: L244E, R273H, D307Y. V p127 podjednotke XPE neboli zistené žiadne polymorfizmy (Nichols A. F. et al., 1996).

## 6.6 XPF gén

XPF gén kóduje polypeptid o 905 aminokyselinách, obsahuje 11 exónov s dĺžkou 28.2 kb a leží na chromozóme 16p13.2-p13.1. XPF proteín má 2 domény leucínového zipsu na N-konci a má molekulárnu hmotnosť 110-kD (Brookman K.W. et al., 1996; Sijbers A.M. et al., 1996).

Komplex XPF a ERCC1 je štruktúrne - špecifická endonukleáza, zodpovedná za 5' štiepenie počas opravy DNA. NER operuje spájaním jednotlivých faktorov na mieste DNA poškodenia, skôr, než pomocou predpripraveného holokomplexu a ERCC1/XPF participuje v oprave DNA poškodenia distribučným spôsobom skôr než procesívnym skríningom veľkých genómových segmentov (Houtsmuller A.B. et al., 1999).

Jedným z častých polymorfizmov je 4-nukleotidová delécia, TCTC, v repetitívnej sekvencii na pozícii 2281 XPF génu. Delécia môže byť spôsobená sklíznutím polymerázy pri replikácii a vyústiť v posun čítacieho rámca a skrátenie proteínu na 803 aminokyselín. Ďalšia z mutácií je zámena 2377. nukleotidu C na T, vznikajúca kvôli deaminácii metylovaného cytozínu na

CpG mieste a mení Rinín-788 na tryptofán (Sijbers A.M. et al., 1996). U afgánskeho muža s novým syndrómom predčasného starnutia, Niedernhofer L.J. et al. (2006) identifikoval homozygótnu zámenu G na C na 458 pozícii, ktorá vyústila v substitúciu rinínu na prolín v 153 pozícii. R153 leží v doméne, ktorá ukrýva helikázový motív a na leucín bohatú oblasť, často zahrnutú v interakciách proteínu.

## 6.7 XPG gén

1,186-zvyškový XPG proteín má molekulárnu hmotnosť 133 kD a konzervovanú štruktúru helix-slučka-helix. XPG mRNA je dlhá 4.6 kb. XPG gén bol detekovaný na chromozóme 13q32.3-q33.1. Gén obsahuje 15 exónov a existuje 6 alternatívnych zostrihových izoforiem génu (Takahashi E. et al., 1992; MacInnes M.A. et al., 1993; Emmert S. et al., 2001).

XPG pôsobí ako magnéziu-dependentná endonukleáza, ktorá je vyžadovaná pre 3' štiepenie počas NER (O'Donovan A. et al., 1994). Aktívnym centrom štiepenia sú aminokyseliny lokalizované na N-konci proteínu (Scherly D. et al., 1993). Iba v asociácii s TFIIH je XPG nasmerované na poškodené miesto, kde sa uplatňuje jeho 3' endonukleázová aktivita (Habraken Y. et al., 1996). Rozoznanie zaseknutej RNA polymerázy II pomocou XPG a CSB komplexu iniciuje TC – NER. TFIIH-dependentná remodelácia zastavenej RNA polymerázy II bez jej uvoľnenia môže byť dostatočná, aby prebehla reparácia (Sarker A.H. et al., 2005).

Mutácia A792V v XPG géne, ktorá vyvoláva proteín skrátenejší o C' koniec, znemožnila väzbu XPG na TFIIH, čo ústi do zastavenia TC - NER a v konečnom dôsledku v XPG/Cockaynov syndróm (Ito S. et al., 2007). Mutácia so zmenou zmyslu, ktorá zachovala C koncovú oblasť, má za následok miernejší prejav ochorenia. Štúdie naznačujú, že XPG hrá rolu v stabilizácii TFIIH a regulácii génovej expície. Dvaja pacienti s XPG produkovali proteín so zhoršenou endonukleázovou aktivitou. Obaja pacienti boli v XPG heterozygótni pre skraccujúcu mutáciu L858P (Lale P. et al., 2002).

Polymorfizmy tvoriace pozmenený proteín: Q136TER, A874T, 1-bp delécia 9 adenosínov od pozície 2743, 1-bp delécia 4 adenosínov na 1491 pozícii, 4-bp delécia AGGA od kodónu 1114, 1-bp delécia AAA so začiatkom na 2170. nukleotide, 1-bp delécia od nukleotidu 2972, E960TER, R263TER. Ďalšie polymorfizmy v XPG: L858P (mutácia v aktívnom mieste), P72H (poškodzuje 3' endonukleázovú aktivitu XPG), Q176TER, , A792V (vytrihovací defekt). (Nospikel T. et al., 1994 a 1997; Zafeiriou D.I. et al., 2001; Emmert S. et al., 2002; Lalle P. et al., 2002; Ito S. et al., 2007).

## **7. Vplyv vybraných polymorfizmov génov skupiny *Xeroderma pigmentosum* na kolorektálnu rakovinu**

Bolo preštudovaných 22 vedeckých článkov hlavne o týchto polymorfizmoch: *XPA* A23G (5'UTR), *XPC* G492A (R/H), *XPC* C499T (V/A), *XPC* A939C (K/Q), *XPB* G312A (D/N), *XPB* A751C (K/Q), *XPG* T46C (H/H), *XPG* G1104C (D/H) a interakcie *XPG* T46C (H/H) /ERCC5 kodón 3 s *XPA* A23G (5'UTR), *XPB* A751C (K/Q) s *XPG* G1104C (D/H).

Heterozygótni a homozygótni pacienti s variantnou alelou v polymorfizmame *XPA* A23G a variantní homozygóti pre polymorfizmus *XPG* T46C vykazovali dlhší čas prežitia než pacienti s inými genotypami. Výsledky naznačujú, že polymorfizmus v *XPG* kombinovaný s *XPA* môže byť dôležitým prognostickým znakom klinického fenotypu CRC u pacientov (Monzo M. et al., 2007). Jedna štúdia nenašla žiadnu asociáciu medzi *XPA* A23G a kolorektálnou rakovinou (Hansen R.D. et al., 2007).

Prítomnosť aspoň jednej variantnej alely v G492A polymorfizme génu *XPC* bolo spojené so zvýšeným rizikom kolorektálnej rakoviny. Pri sledovaní kombinovaného efektu CSB R1213G a *XPC* G492A polymorfnych miest sa zistilo, že riziko CRC signifikantne stúpa so zvyšujúcim sa počtom variantných alel (Berndt S.I. et al., 2006). Variantná alela *XPC* 939C bola spojená s nižšou kapacitou bázovej excíznej opravy a u konzumentov červeného mäsa zvyšovala riziko vzniku CRC (Vodicka P. et al., 2004, Hansen R.D. et al., 2007). Fajčenie bolo spojené s rizikom adenómu u *XPC* polymorfizmov (492A, 499T, 939C). Ďalej bol zistený protektívny efekt alely *XPC* 499T (Huang W.Y., 2006). V inej štúdii nebola prítomnosť variantného genotypu *XPC* 939C ani *XPB* 751C spojená so zvýšeným rizikom CRC, napriek zvýšenému oxidatívne stresu u nositeľov spomínaných genotypov (Engin A.B., et al., 2008).

Prítomnosť variantnej alely v genotype *XPB* A751C sa javila byť protektívna v 5 štúdiách, zatiaľ čo v ďalších šiestich vykazovala skôr negatívny efekt, pretože alela A bola spojená so zníženou funkciou NER a tým s vyšším rizikom vzniku CRC (Lunn R.M. et al., 2000; Spitz M.R. et al., 2001; Vila J. M. et al., 2004; Hou S.M. et al., 2002; Tang D. et al., 2002; Gao W.M. et al., 2003; Bigler J. et al., 2005; Skjelbred C.F. et al., 2006; Stern M.C. et al., 2006; Ruzzo et al., 2007; Wang F. et al., 2008). Medzi nosičmi variantných alel polymorfizmov *XPB* A751C a *XPB* G312A, bola signifikantná pozitívna asociácia s fajčením. Výsledky naznačujú, že efekt fajčenia a alkoholu na kolorektálnu rakovinu môže závisieť na genetickom pozadí, konkrétne na variantných sekvenciách v génoch participujúcich v BER a NER (Bigler J. et al., 2005; Stern M.C. et al., 2006). Výskumy taktiež naznačujú, že *XPB* je

možným markerom pre zistenie náchylnosti na rakovinu nezávisle na environmentálnych faktoroch. Alela *XPD* G312 bola asociovaná s vyšším rizikom mutácií v transkripčnom faktore a tumorsupresore p53 (Lunn R.M. et al., 2000; Gao W.M. et al., 2003), no v druhej štúdií nebola nájdená žiadna asociácia medzi týmto polymorfizmom a CRC (Wang F. et al., 2008). Pacienti, ktorí boli variantnými homozygotmi v *XPD* A751C aj *XPG* G1104C súčasne, vykazovali štatisticky nesignifikantný vzrast rizika rektálnej rakoviny (Pardini B. et al., 2007). Žiadna asociácia medzi CRC a *XPD* polymorfizmami G156T, C711T, A751C a G312A, nebola nájdená v 7 štúdiách (Morte R. et al., 2003; Starinsky S. et al., 2005; Yeh C.C. et al., 2005 a 2006; Huang W.Y., 2006; Chen H. et al., 2007; Hansen R.D. et al., 2007). Žiadne signifikantné asociácie neboli nájdené ani pre *XPF* T835C (S/S) polymorfizmus (Morte R. et al., 2003).

Divoká alela *XPG* 46C sa javí byť protektívna v 2 štúdiách (Vila J.M. et al., 2004; Monzo M. et al., 2007). *XPG* 1104C genotyp bol protektívny pred rizikom CRC v jednej štúdií (Bigler J. et al., 2005). Variantná alela *XPG* 1104C bola asociovaná s rakovinou konečníku podľa 1 štúdie (Pardini B. et al., 2007) a s jednovláknovými zlomami (SSB) (Vodicka P. et al., 2004). Fajčiari s *XPG* G1104 vykazovali zvýšený risk adenómov hrubého čreva v porovnaní s nefajčiarmi s rovnakým genotypom (Bigler J. et al., 2005). Podľa výsledkov štúdie skupiny Morte R. et al. (2003) nie je *XPG* G1104C polymorfizmus v žiadnej asociácii so CRC

Najštudovanejšie a najčastejšie polymorfizmy, ktoré sú asociované s kolorektálnou rakovinou, majú tendenciu sa stať genetickými markermi. Prognostickým znakom klinického fenotypu CRC u pacientov majú ambíciu sa stať polymorfizmy: *XPG* T46C kombinovaný s *XPA* A23G a *XPD* A751C.

## 8. Záver

Táto práca vychádzala z hypotézy, že bodové polymorfizmy v NER génoch môžu ovplyvňovať vnímavosť ku kolorektálnej rakovine. Niektoré formy kódovaných proteínov môžu byť v dôsledku napríklad skrátenej formy proteínu o aktívne miesto alebo poškodenia aktívneho miesta, či poškodenia väzobnej domény menej aktívne, či efektívne v oprave DNA poškodení, vznikajúcimi pri expozícii črevného epitelu genotoxickým zlúčeninám. O NER je známe, že je aktívna proti širokému spektru DNA aduktov i UV-indukovaných DNA poškodení. Nedostatočné preukázanie vplyvu SNPs v NER génoch na CRC môže byť spôsobené príliš malými výberovými súbormi, nízkou frekvenciou alely v etniku, malou citlivosťou detekčnej techniky, atď.

Prítomnosť aspoň jednej variantnej alely v *XPC* G492A polymorfizme bolo spojené so zvýšeným rizikom CRC. Protektívny vplyv na CRC vykazovali alely: *XPA* 23G, *XPC* 499T, *XPG* 46C, *XPG* 1104C. Najviac študovaný je gén *XPB*, ktorého variantná alela 751C vykazuje signifikantnú asociáciu s kolorektálnymi adenómami. Alely asociované so zníženou opravnou kapacitou NER sú: *XPC* 492A, *XPC* 939C, *XPB* 312A, *XPB* A751, *XPB* 751C, *XPG* T46, *XPG* G1104. Interakcie variantných alel spomínaných polymorfných miest génov *XPA*, *XPB* a *XPG* majú menej efektívnu NER reparáciu a tým môžu zvyšovať riziko CRC. Všetky študované alely a ich prípadné vplyvy na CRC sú prehľadne zhrnuté v tabuľke 2 (viď prílohy).

Potenciálne rozdiely v štúdiách preukazujúce, či nepotvrdzujúce vplyv SNP v NER génoch v asociácii s výskytom CRC môžu byť spôsobené nereprezentatívnou vzorkou populácie pacientov (rôzny vek, časové obdobie uplynuté od dňa diagnózy, čiže rakovina v rôznom štádiu, pohlavie, fajčenie alebo stravovacie návyky) a asociácia môže byť nájdená iba v stratifikačnej analýze. Ak zohľadníme, že vplyv jediného polymorfizmu môže byť veľmi malý spolu relatívne malými súbormi pacientov a kontrol v každej štúdii, je dôležité previesť kvantitatívnu syntézu výsledkov. Pre získanie relevantných výsledkov porovnateľných v rámci rôznych štúdií by mali nové štúdie pracovať s najčastejšími bodovými polymorfizmami v danej populácii aby boli dobre detekovateľné. Ďalej je nevyhnutné pracovať s veľkými kohortami, používať rovnakú metódu skúmania SNP, rovnaké dotazníky (čo sa týka určenia vplyvu fajčenia, príjmu mäsa atď. na CRC). Rovnako však treba mať na zreteli, že modulačný efekt polymorfizmov na vznik a liečbu rakoviny nezávisí iba na jednotlivom géne alebo SNP, ale skôr na spojenom efekte viacerých SNPs v rôznych génoch či dráhach, v tesnej interakcii s environmentálnymi faktormi. Analýza veľkého počtu polymorfných miest a sledovanie vplyvu ich vzájomných kombinácií je nevyhnutná.

Určenie genetických profilov môže mať svoje využitie nielen pri prognóze ochorenia, ale aj pri jeho liečbe, respektíve pri výbere pacientov na základe genotypu tak, aby čo možno najlepšie reagovali na špecifickú chemoterapiu. Cieľom takéhoto postupu by malo byť navrhnutie liečby šitej na mieru každého pacienta, v záujme efektivity liečby, predĺženia doby prežívania a minimalizácie vedľajších účinkov.

## 9. Zoznam použitých skratiek

BER	base excision repair – bazová excízna oprava
CRC	colorectal cancer – kolorektálna rakovina
CA	chromosomal aberation – chromozomálne aberácie
FAP	familial adenomatous polyposis – familiárna adenomatózna polypóza
GG - NER	global genomic nucleotide excision repair – celogenómová nukleotidová excízna oprava
HNPCC	hereditary non-polyposis colon cancer – dedičná nepolypózna rakovina hrubého čreva
NER	nucleotide excision repair – nukleotidová excízna oprava
MMR	mismatch repair – porucha párovania báz vedúca k zmene čítacieho rámca
SNP	single nucleotide polymorphism – bodový polymorfizmus
SSB	single strand brakes – jednovlákové zlomy
TC - NER	transcription coupled nucleotide excision repair – s transkripciou spojená nukleotidová excízna oprava
UTR	untranslated region – neprekladaná oblasť



## 10.Literatúra

- Berndt, S.I., et al.:** (2006) Genetic Variation in the Nucleotide Excision Repair Pathway and Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 15(11):2263–9.
- Bigler, J., et al.:** (2005) DNA repair polymorphisms and risk of colorectal adenomatous or hyperplastic polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 11: 2501-8.
- Brookman, K.W., et al.:** (1996) ERCC4 (XPF) encodes a human nucleotide excision repair protein with eukaryotic recombination homologs. *Molec. Cell. Biol.* 16: 6553-6562.
- Brooks, P.J., et al.:** (2000) The oxidative DNA lesion 8,5'-(S)-cyclo-2'-deoxyadenosine is repaired by the nucleotide excision repair pathway and blocks gene expression in mammalian cells. *JBiolChem* 275: 22355–22362.
- Coin, F., et al.:** (1998) Mutations in the XPD helicase gene result in XP and TTD phenotypes, preventing interaction between XPD and the p44 subunit of TFIIH. *Nature Genet.*, 20, 184–188.
- Coin, F., et al.:** (2007) Distinct roles for the XPB/p52 and XPD/p44 subcomplexes of TFIIH in damaged DNA opening during nucleotide excision repair. *Molec. Cell* 26: 245-256.
- Dualan, R., et al.:** (1995) Chromosomal localization and cDNA cloning of the genes (DDB1 and DDB2) for the p127 and p48 subunits of a human damage-specific DNA binding protein. *Genomics* 29: 62-69.
- Emmert, S., et al.:** (2001) The human XPG gene: gene architecture, alternative splicing and single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* 29: 1443-1452.
- Emmert, S., et al.:** (2002) Relationship of neurologic degeneration to genotype in three xeroderma pigmentosum group G patients. *J. Invest. Derm.* 118: 972-982.
- Engin, A.B., et al.:** (2008) XPC K939Q and XPD K751Q polymorphisms, oxidative stress and Helicobacter pylori IgG seropositivity in colorectal carcinoma. *Toxicology Letters* 180: 0378-4274.
- Flejter, W.L., et al.:** (1992) Characterization of a complex chromosomal rearrangement maps the locus for in vitro complementation of xeroderma pigmentosum group D to human chromosome band 19q13. *Genes Chromosomes Cancer* 5: 335-342.
- Frederick, G.D., et al.:** (1994) Structural and mutational analysis of the xeroderma pigmentosum group D (XPD) gene. *Hum. Molec. Genet.* 3: 1783-1788.
- Frit, P., et al.:** (2002) Transcriptional Activators Stimulate DNA Repair. *Molecular Cell*, Vol. 10, 1391–1401.

- Gao, W.M., et al.:** (2003) Association of the DNA repair gene XPD D312N polymorphism with p53 gene mutations in tobacco-related non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 24: 1671–1676.
- Gozukara, E.M., et al.:** (2001) A stop codon in xeroderma pigmentosum group C families in Turkey and Italy: molecular genetic evidence for a common ancestor. *J. Invest. Derm.* 117: 197-204.
- Groisman, R., et al.:** (2003) The ubiquitin ligase activity in the DDB2 and CSA complexes is differentially regulated by the COP9 signalosome in response to DNA damage. *Cell* 113: 357-367.
- Habraken, Y., et al.:** (1996) Transcription factor TFIIH and DNA endonuclease Rad2 constitute yeast nucleotide excision repair factor 3: implications for nucleotide excision repair and Cockayne syndrome. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 93: 10718-10722.
- Hansen, R.D., et al.:** (2007) XPA A23G, XPC K939Q, XPD K751Q and XPD D312N polymorphisms, interactions with smoking, alcohol and dietary factors, and risk of colorectal cancer. *Mutation Research* 619: 68–80.
- Hou S.M., et al.:** (2002) The XPD variant alleles are associated with increased aromatic DNA adduct level and lung cancer risk. *Carcinogenesis* 23: 599-603.
- Houtsmuller, A.B., et al.:** (1999) Action of DNA repair endonuclease ERCC1/XPF in living cells. *Science* 284: 958-961.
- Huang, W.Y., et al.:** (2006) Nucleotide Excision Repair Gene Polymorphisms and Risk of Advanced Colorectal Adenoma: XPC Polymorphisms Modify Smoking-Related Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*;15(2):306–11.
- Chen, H., et al.:** (2007) Single nucleotide polymorphisms and expression of ERCC1 and ERCC2 vis-à-vis chemotherapy drug cytotoxicity in human glioma. *Journal of Neuro-Oncology* Vol. 82: 257-262.
- Hwang, B.J., et al.:** (1999) Expression of the p48 xeroderma pigmentosum gene is p53-dependent and is involved in global genomic repair. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96: 424-428.
- Hwang, B.J., et al.:** (1998) p48 activates a UV-damaged-DNA binding factor and is defective in xeroderma pigmentosum group E cells that lack binding activity. *Molec. Cell. Biol.* 18: 4391-4399.
- Chen, J., et al.:** (2003) Xpd/Ercc2 regulates CAK activity and mitotic progression. *Nature* 424: 228-232.

**Itoh, T., et al.:** (1999) A newly identified patient with clinical xeroderma pigmentosum phenotype has a non-sense mutation in the DDB2 gene and incomplete repair in (6-4) photoproducts. *J. Invest. Derm.* 113: 251-257.

**Itin P.H., et al.:** (2001) Trichothiodystrophy: update on the sulfur-deficient brittle hair syndromes. *Journal of the American Academy of Dermatology* 44: 891-920.

**Ito, S., et al.:** (2007) XPG stabilizes TFIIH, allowing transactivation of nuclear receptors: implications for Cockayne syndrome in XP-G/CS patients. *Molec. Cell* 26: 231-243.

**Kim, T.-K.,:** (2000) Mechanism of ATP-dependent promoter melting by transcription factor IIH. *Science* 288: 1418-1421.

**Khan, S.G., et al.:** (1998) Xeroderma pigmentosum group C splice mutation associated with autism and hypoglycinemia. *J. Invest. Derm.* 111: 791-796.

**Khan, S.G., et al.:** (2004) Two essential splice lariat branchpoint sequences in one intron in a xeroderma pigmentosum DNA repair gene: mutations result in reduced XPC mRNA levels that correlate with cancer risk. *Hum. Molec. Genet.* 13: 343-352.

**Kuraoka, I., et al.:** (2000) Removal of oxygen free-radical-induced 5,8'-purine-cyclodeoxynucleosides from DNA by the nucleotide excision-repair pathway in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 3832-3837.

**Lale, P., et al.:** (2002) The founding members of xeroderma pigmentosum group G produce XPG protein with severely impaired endonuclease activity. *J. Invest. Derm.* 118: 344-351.

**Legerski, R., et al.:** (1994) Assignment of xeroderma pigmentosum group C (XPC) gene to chromosome 3p25. *Genomics* 21: 266-269.

**Li, L., et al.:** (1994) Specific association between the human DNA repair proteins XPA and ERCC1. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91: 5012-5016.

**Liang, C., et al.:** (2005) Characterization of tiger tail banding and hair shaft abnormalities in trichothiodystrophy. *J Am Acad Dermatol* 52: 224-232.

**Lunn, R.M., et al.:** (2000) XPD polymorphisms: Effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis* 21: 551-555.

**MacInnes, M.A., et al.:** (1993) Human ERCC5 cDNA-cosmid complementation for excision repair and bipartite amino acid domains conserved with RAD proteins of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. *Molec. Cell. Biol.* 13: 6393-6402.

**Monzo, M., et al.:** (2007) Single Nucleotide Polymorphisms in Nucleotide Excision Repair Genes XPA, XPD, XPG and ERCC1 in Advanced Colorectal Cancer Patients Treated with First-Line Oxaliplatin/Fluoropyrimidine. *International Journal of Cancer Research and Treatment* Vol. 72: No. 5-6.

**Masutani, C., et al.:** (1994) Purification and cloning of a nucleotide excision repair complex involving the xeroderma pigmentosum group C protein and a human homologue of yeast RAD23. *The EMBO journal* 13(8):1831-43.

**Min, J.H. and Pavletich, N.P.:** (2007) Recognition of DNA damage by the Rad4 nucleotide excision repair protein. *Nature* 449: 570-575.

**Miyamoto, I., et al.:** (1992) Mutational analysis of the structure and function of the xeroderma pigmentosum group A complementing protein: identification of essential domains for nuclear localization and DNA excision repair. *J. Biol. Chem.* 267: 12182-12187.

**Morte, R., et al.:** (2003) Lack of involvement of nucleotide excision repair gene polymorphisms in colorectal cancer. *Br J Cancer*:89:333–337.

**Niedernhofer, L.J., et al.:** (2006) A new progeroid syndrome reveals that genotoxic stress suppresses the somatotroph axis. *Nature* 444: 1038-1043.

**Nichols, A.F., et al.:** (1996) Mutations specific to the xeroderma pigmentosum group E Ddb-phenotype. *J Biol Chem.* 271(40): 24317-20.

**Nouspikel, T., et al.:** (1994) Mutations that disable the DNA repair gene XPG in a xeroderma pigmentosum group G patient. *Hum. Molec. Genet.* 3: 963-967.

**Nouspikel, T., et al.:** (1997) A common mutational pattern in Cockayne syndrome patients from xeroderma pigmentosum group G: implications for a second XPG function. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94: 3116-3121.

**Oh, K.S., et al.:** (2006) Phenotypic heterogeneity in the XPB DNA helicase gene (ERCC3): xeroderma pigmentosum without and with Cockayne syndrome. *Hum. Mutat.* 27: 1092-1103.

**O'Donovan, A., et al.:** (1994) Isolation of active recombinant XPG protein, a human DNA repair endonuclease. *J. Biol. Chem.* 269: 15965-15968.

**Pardini, B., et al.:** (2007) DNA repair genetic polymorphisms and risk of colorectal cancer in Czech Republic. *Mutat. Res.: Fundam. Mol. Mech. Mutagen.*

**Park, C.H., and Sancar, A.:** (1994) Formation of a ternary complex by human XPA, ERCC1, and ERCC4 (XPF) excision repair proteins. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91: 5017-5021.

**Park, E., et al.:** (1992) RAD25(SSL2), the yeast homolog of the human xeroderma pigmentosum group B DNA repair gene, is essential for viability. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 89: 11416-11420.

**Rapic-Otrin, V.,:** (2003) True XP group E patients have a defective UV-damaged DNA binding protein complex and mutations in DDB2 which reveal the functional domains of its p48 product. *Hum. Molec. Genet.* 12: 1507-1522.

**Rudolf, J., et al.:** (2006) The DNA repair helicases XPD and FancJ have essential iron-sulfur domains. *Molec. Cell* 23: 801-808.

**Ruzzo, A., et al.:** (2007) Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFOX-4 chemotherapy. *J. ClinOncol* 25: 1247–1254.

**Sarker, A.H., et al.:** (2005) Recognition of RNA polymerase II and transcription bubbles by XPG, CSB, and TFIIH: insights for transcription-coupled repair and Cockayne syndrome. *Molec. Cell* 20: 187-198.

**Seetharam, S.:** (1987) Abnormal ultraviolet mutagenic spectrum in plasmid DNA replicated in cultured fibroblasts from a patient with the skin cancer-prone disease, xeroderma pigmentosum. *J. Clin. Invest.* 80: 1613-1617.

**Shimamoto, T., et al.:** (1991) Molecular cloning of human XPAC gene homologs from chicken, *Xenopus laevis* and *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 181: 1231-1237.

**Shimizu, Y., et al.:** (2003) Xeroderma pigmentosum group C protein interacts physically and functionally with thymine DNA glycosylase. *EMBO J.* 22: 164-173.

**Schaeffer, L., et al.:** (1993) DNA repair helicase: a component of BTF2 (TFIIH) basic transcription factor. *Science* 260: 58-63.

**Scherly, D., et al.:** (1993) Complementation of the DNA repair defect in xeroderma pigmentosum group G cells by a human cDNA related to yeast RAD2. *Nature* 363: 182–185.

**Sijbers, A.M., et al.:** (1996) Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell* 86: 811-822.

**Slor, H., et al.:** (2000) Clinical, cellular, and molecular features of an Israeli xeroderma pigmentosum family with a frameshift mutation in the XPC gene: sun protection prolongs life. *J. Invest. Derm.* 115: 974-980.

**Skjelbred, C.F., et al.:** (2006) Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3 and XPD genes and risk of colorectal adenoma and carcinoma, in a Norwegian cohort: a case control study. *BMC Cancer.* Mar 16;6: 67.

**Spitz, M.R., et al.:** (2001) Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. *Cancer Res* 61: 1354-7.

**Starinsky, S., et al.:** (2005) Genotype phenotype correlations in Israeli colorectal cancer patients. *International journal of cancer* vol. 114: 58-73.

**States, J.C., et al.:** (1998) Distribution of mutations in the human xeroderma pigmentosum group A gene and their relationships to the functional regions of the DNA damage recognition protein. *Hum. Mutat.* 12: 103-113.

**Stern, M.C., et al.:** (2006) XRCC1, XRCC3, and XPD Polymorphisms as Modifiers of the Effect of Smoking and Alcohol on Colorectal Adenoma Risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* Vol. 15, 2384-2390.

**Sugasawa, K., et al.:** (1998) Xeroderma pigmentosum group C protein complex is the initiator of global genome nucleotide excision repair. *Molec. Cell* 2: 223-232.

**Sung, P., et al.:** (1993) Human xeroderma pigmentosum group D gene encodes a DNA helicase. *Nature* 365: 852-855.

**Takahashi, E., et al.:** (1992) Precise localization of the excision repair gene, ERCC5, to human chromosome 13q32.3-q33.1 by direct R-banding fluorescence in situ hybridization. *Jpn. J. Cancer Res.* 83: 1117-1119.

**Tanaka, K., et al.:** (1990) AnaKis of a human DNA excision repair gene involved in group A xeroderma pigmentosum and containing a zinc-finger domain. *Nature* 348: 73-76.

**Tang, D., et al.:** (2002) Polymorphisms in the DNA repair enzyme XPD are associated with increased levels of PAH-DNA adducts in a case-control study of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 75: 159-66.

**Taylor, E.M., et al.:** (1997) Xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy are associated with different mutations in the XPD (ERCC2) repair/transcription gene. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94: 8658-8663.

**Vila, J.M., et al.:** (2004) XPD, XPA, ERCC1 and XPG/ERCC5 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in oxaliplatin-treated colorectal cancer (CRC). *Journal of Clinical Oncology* Vol 22, No 14S: 3677.

**Vodička, P. et al.:** (2004) Genetic polymorphisms in DNA repair genes and possible links with DNA repair rates, chromosomal aberrations and single-strand breaks in DNA. *Carcinogenesis* 25(5): 757-63.

**Volker, M., et al.:** (2001) Sequential assembly of the nucleotide excision repair factors in vivo. *Molec. Cell* 8: 213-224.

**Zafeiriou, D.I., et al.:** (2001) Xeroderma pigmentosum group G with severe neurological involvement and features of Cockayne syndrome in infancy. *Pediat. Res.* 49: 407-412.

**Wang, F., et al.:** (2008) DNA Repair Gene XPD Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-analysis Based on 56 Case-Control Studies. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 17: 507.

**Weeda, G., et al.:** (1997) A mutation in the XPB/ERCC3 DNA repair transcription gene, associated with trichothiodystrophy. *Am. J. Hum. Genet.* 60: 320-329.

**Weeda, G., et al.:** (1991) Localization of the xeroderma pigmentosum group B-correcting gene ERCC3 to human chromosome 2q21. *Genomics* 10: 1035-1040.

**Wouter L., et al.:** (1999) Molecular mechanism of nucleotide excision repair. *Genes Dev.* 13: 768-785

**Yeh, C.C., et al.:** (2006) Association between polymorphisms of biotransformation and DNA-repair genes and risk of colorectal cancer in Taiwan. *J. Biomed. Sci.* vol.14: 183-193.

**Yeh, C.C., et al.:** (2005) Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3, & XPD genes, and colorectal cancer risk: a case-control study in Taiwan. *BMC Cancer.* Jan 28; 5:12.

**Yue P. and Moul J.:** (2006) Identification and Analysis of Deleterious Human SNPs *J. Mol. Biol.* 356, 1263–1274.

#### **Internetové zdroje:**

Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.  
Dostupné na <http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/ExcisRepairID20014.html> (15.6.2009).

NCBI.

Dostupné na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&fap> (5.8.2009)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&hnpc#hnpc>  
(5.8.2009)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=pjs#pjs>  
(5.8.2009)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&jps> (5.8.2009)

## 11. Prílohy

**Tabuľka 1.**

Poruchy NER dráhy a mutácie v génoch, ktoré ich zapríčiňujú.

Klinická porucha	Génový symbol
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina A	XPA, XPAC
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina B	XPB, ERCC3
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina C	XPC, XPCC
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina D	XPD, ERCC2
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina E	XPE, DDB2 (p48), DDB1(p127)
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina F	XPF, ERCC4
Xeroderma Pigmentosum komplementačná skupina G	XPG, XPGC, ERCM2, ERCC5
Xeroderma Pigmentosum s normálnou DNA opravou	XPV, RAD 30A, POLH
Cockaynov Syndróm typ I	CSA, ERCC8, CKN1
Cockaynov Syndróm typ II	CSB, ERCC6
Trichothiodystrofia	neurčený
Trichothiodystrofia	ERCC2
Trichothiodystrofia - A	GTF2H5, TFB5

**Tabuľka 2.**

Nepriaznivé výsledky štúdií, ako zvyšovanie rizika CRC polymorfizmom, boli označené -1, neutrálne 0, a zníženie rizika 1. Pre každú alelu bol spravený vážený priemer, ktorý zohľadňuje počet relevantných článkov o danom polymorfizme. Dve alely jedného génu je možné porovnávať len v rámci jedného génu, pričom alela s kladným znamienkom má pozitívny vplyv na CRC, alely s označením 0 majú neutrálny alebo dosiaľ neobjasnený vplyv.



