

# Η Γενετική και η Γονιδιακή Κατανόηση του Καρκίνου

Στέλλα Καραντάνα, Στέλλα Λογοθέτη, Αθηνά Γιαρίκα,  
Σπύρος Βλαχόπουλος, Βασίλειος Ζουμπουρλής

Μονάδα Βιοϊατρικών Εφαρμογών

Ινστιτούτο Βιολογικών Ερευνών και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

## Περίληψη

**Τ**α τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλά βήματα ως προς την κατανόηση της γενετικής του καρκίνου χάρη στην αλληλούχηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Έως τώρα έχουν ταυτοποιηθεί αρκετά γονίδια που φέρουν μεταλλάξεις και σχετίζονται με τον κληρονομικό καρκίνο. Παρ' όλα αυτά η συμβολή των πολυμορφισμών στην ανάπτυξη των σποραδικών μορφών καρκίνου παραμένει αδιευκρίνιστη. Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών παθογένεσης ορισμένων μορφών καρκίνου έχει καταλήξει σε νέες στρατηγικές θεραπείας. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες στατιστικές προσεγγίσεις για την ανάλυση της ευπάθειας ενός ατόμου στον καρκίνο καθώς και τη συμπεριφορά του όγκου.

## Εισαγωγή

Την τελευταία δεκαετία έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση της γενετικής βάσης των ασθενειών του ανθρώπου. Αναμφίβολα, η σημαντικότερη πρόοδος έχει σημειωθεί στη γενετική του καρκίνου. Σε ένα καρκινικό κύτταρο δεκάδες διαφορετικά γονίδια μπορεί να φέρουν βλάβες τόσο στη δομή όσο και στον αριθμό των αντιγράφων τους και εκατοντάδες ή χιλιάδες γονίδια διαφοροποιούνται ως προς το επίπεδο της έκφρασής τους. Έχει ταυτοποιηθεί ένας αριθμός γονιδίων που ενέχονται στον κληρονομικό καρκίνο και φέρουν μεταλλάξεις υψηλής διεισδυτικότητας. Ωστόσο, η συμβολή των πολυμορφισμών στην ανάπτυξη των σποραδικών μορφών καρκίνου παραμένει αδιευκρίνιστη.

Η αντίληψή μας για τη γενετική προδιάθεση σε κοινές μορφές καρκίνου έχει αλλάξει τα τελευταία δέκα χρόνια. Η προέλευση κοινών μορφών καρκίνου θεωρούνταν κυρίως περιβαλλοντική μέχρι τη δεκαετία του '80. Η άποψη αυτή βασίζονταν σε μελέτες που έγιναν τις δεκαετίες του '60 και '70 οι οποίες συνέκριναν τη συχνότητα εμφάνισης ορισμένων μορφών καρκίνου μεταξύ των πληθυσμών γηγενών και μεταναστών. Οι μελέτες αυτές έδειξαν συγκεκριμένα ότι οι μετανάστες αποκτούσαν ανάλογο μοίρο προδιάθεσης στον καρκίνο με αυτό του τόπου πληθυσμού της χώρας στην οποία εγκαθίσταντο. Αυξη-

μένη έμφαση στον ρόλο της γενετικής προδιάθεσης σε κοινές μορφές καρκίνου άρχισε να δίνεται τη δεκαετία του '80. Επιδημιολογικές μελέτες πληθυσμών οδήγησαν σε μια εξήγηση της κληρονομικότητας έχοντας ως βάση γενετικά πρότυπα αντί για περιβαλλοντικά. Η καταγραφή πολυμορφισμών σε αλληλουχίες DNA έσβησε και τις τελευταίες αμφιβολίες σχετικά με τη συμβολή της γενετικής προδιάθεσης σε κοινές μορφές καρκίνου, καθώς το 1990 αποδείχτηκε γενετική σύνδεση σε οικογένειες με καρκίνο του μαστού.

## Μοντέλο κληρονομικής προδιάθεσης στον καρκίνο

Τα πρώτα γονίδια προδιάθεσης που ταυτοποιήθηκαν ήταν σπάνια μεταλλαγμένα αλληλόμορφα υψηλού κινδύνου για καρκίνο όταν κληρονομούνται μέσω της γενετικής γραμμής. Τα μεταλλαγμένα αυτά γονίδια θεωρούνται υπεύθυνα για τον μεγάλο αριθμό περιστατικών της νόσου σε συγγενικά μέλη οικογενειών. Η ταυτοποίηση αυτών των γονιδίων έγινε με τεχνικές, όπως η γενετική σύνδεση και η κλωνοποίηση θέσης. Το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (RB1), το οποίο αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους μοχλούς της κυτταρικής μεταγωγής σήματος, θεωρήθηκε γονίδιο πρότυπο σε οικογένειες τύπου καρκίνου. Άλλο γονίδιο που αρχικά ταυτοποιήθηκε ως σημαντικός στόχος σωματικών μεταλλάξεων μέσα σε όγκους και κατόπιν βρέθηκε ότι λειτουργεί ως γονίδιο προδιάθεσης για καρκίνο όταν κληρονομείται μέσω της γενετικής γραμμής είναι το TP53, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53, με επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στην κυτταρική μεταγωγή σήματος.

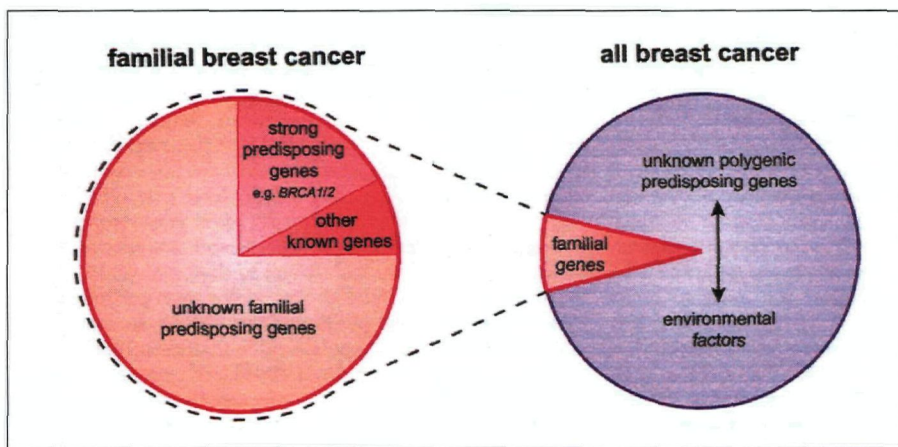
Η ταυτοποίηση, στη συνέχεια, αλληλόμορφων υψηλής διεισδυτικότητας, τα οποία σχετίζονται με καρκίνο, έχει ρίξει φως στην κατανόηση πολλών θεμάτων της βιολογίας του καρκίνου. Για παράδειγμα, βρέθηκε ότι το γονίδιο APC (adenomatosis polyposis coli) είναι υπεύθυνο για κάποιες μορφές καρκίνου, διαλευκάνθηκαν τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος της β-κατενίνης και του Tcf4, ενώ η φωσφατάση PTEN συσχετίστηκε με το σύνδρομο Cowden και την ανάπτυξη πολλών διαφορετικών μορφών καρκίνου. Βρέθηκε ακόμη ότι μεταλλαγές στο γονί-

διο VHL, το οποίο κωδικοποιεί μια λιγάνση οσμικού όξυ-νης που στοχεύει στην πρωτεΐνη του επαγόμενου από υποξία παράγοντα HIF, συντελώντας έτσι στην αγγειογένεση, προκαλούν το σύνδρομο Von Hippel Lindau (μια κληρονομήσιμη μορφή καρκίνου). Τέλος, υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί που έχουν ταυτοποιηθεί και ελέγχουν σημαντικές λειτουργίες, όπως είναι η επιδιόρθωση του DNA ή/και η σταθερότητα του γενώματος. Σε αυτούς τους μηχανισμούς εμπλέκονται τα γονίδια BRCA1 και BRCA2, τα οποία συνδέονται με καρκίνο του μαστού.

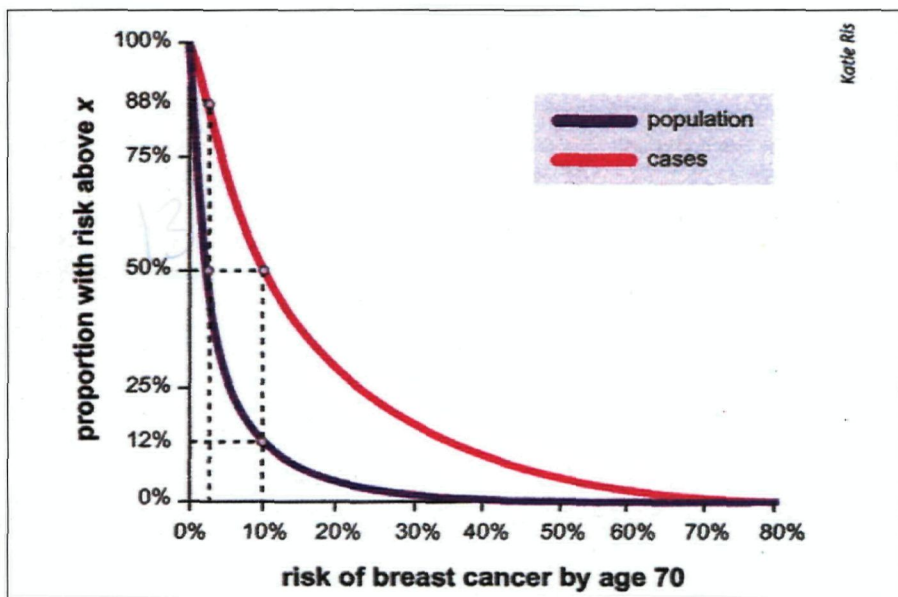
Ωστόσο, η γνώση αυτή αφορά μόνο στα γεγονότα που σχετίζονται με την ανάπτυξη ενός καρκινικού κυττάρου. Η εξήγηση που παρέχεται για το πώς εξελίσσεται ο καρκίνος είναι ατελής γιατί δεν γνωρίζουμε κανένα μηχανισμό που να εξηγεί την αιτία που πολλά από τα κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου προσβάλλουν ορισμένους μόνο ιστούς. Βέβαια, το πώς ρυθμίζονται ή απορρυθμίζονται οι ενδοκυτταρικοί μηχανισμοί είναι μόνο ένα τμήμα της κατανόησης του καρκίνου. Πιο δύσκολη αλλά και πολλά υποσχόμενη είναι η προσπάθεια να κατανοήσουμε τους νόμους που διέπουν την οργάνωση των κυττάρων μέσα σε έναν ιστό, καθώς και τη φύση του κυτταρικού περιβάλλοντος που είτε καταστέλλει είτε προωθεί την εμφάνιση ενός καρκινικού κυττάρου.

## Μοντέλο πολυγονιδιακής προδιάθεσης στον καρκίνο

Ο συνδυασμός περιβαλλοντικών παραγόντων με γονίδια που ενοχοποιούνται για διάφορες μεταλλαγές αποτελεί πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο στη δημιουργία προδιάθεσης καρκίνου σε σχέση με τα αλληλόμορφα υψηλής διεισδυτικότητας. Αυτή η άποψη στηρίζεται σε επιστημονικά δεδομένα που αφορούν στον καρκίνο του μαστού. Έτσι, δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι μόνο το 15-20% των περιστατικών κληρονομικού καρκίνου του μαστού φέρει μετάλλαξη υψηλής προδιάθεσης ειδικά στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2 (Εικόνα 1). Το υπόλοιπο 80-85% θεωρητικά έχει είτε περιβαλλοντική είτε άλλη γενετική αιτία. Μελέτες του τρόπου κληρονομικότητας της ασθένειας σε οικογένειες με κληρονομικό καρκίνο του μαστού υποδηλώνουν ότι ένα μόνο γονίδιο ισχύ-



Εικόνα 1. Γονίδια ευπάθειας στον καρκίνο του μαστού. Ο οικογενειακός καρκίνος του μαστού αποτελεί μόνο το 5 με 10% των συνολικών περιστατικών καρκίνου. Τα γονίδια (BRCA1 και BRCA2) που είναι γνωστή η σχέση τους με τον κληρονομικό καρκίνο του μαστού είναι υπεύθυνα μόνο για το 20% των κληρονομικών περιστατικών. Οι περισσότερες γενετικές παραλλαγές που συντελούν στον κίνδυνο εμφάνισης σποραδικών μορφών καρκίνου του μαστού είναι άγνωστες. Πολλές από αυτές μπορεί να αλληλεπιδρούν με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως είναι η ακτινοβολία η οποία είναι γνωστό από επιδημιολογικές και πειραματικές μελέτες ότι προκαλεί καρκίνο.



Εικόνα 2. Η κατανομή κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού στον πληθυσμό. Η μπλε καμπύλη δείχνει ότι το 12% του πληθυσμού έχει περίπου 10% ή περισσότερο κίνδυνο να εμφανίσει καρκίνο του μαστού μέχρι την ηλικία των 70 ετών. Ωστόσο, κάπου 50% όλων των περιστατικών καρκίνου του μαστού προσβάλλουν αυτήν ακριβώς τη μερίδα του πληθυσμού (κόκκινη καμπύλη). Αντιθέτως, το 50% του γενικού πληθυσμού έχει κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού της τάξης του 3% ή λιγότερο. Και αυτός ο υποπληθυσμός αποτελεί μόνο 12% όλων των περιστατικών καρκίνου του μαστού. Το συμπέρασμα είναι ότι ο κίνδυνος για τον καρκίνο απειλεί σημαντικά ένα σχετικά μικρό τμήμα του γυναικείου πληθυσμού.

ρής προδιάθεσης σε καρκίνο δεν είναι αρκετό για να δημιουργήσει μεγάλη πιθανότητα καρκινογένεσης. Η δημιουργία του καρκίνου εξηγείται καλύτερα από συνδυασμένη δράση πολλών γενετικών παραγόντων οι οποίοι μεμονωμένοι έχουν πολύ χαμηλή επίδραση στην πιθανότητα καρκινογένεσης, αλλά αν λειτουργήσουν αθροιστικά έχουν ως αποτέλεσμα αυτή να αυξάνεται κατακόρυφα. Με άλλα λόγια, το μεγαλύτερο μέρος της κληρονομικής προδιάθεσης στον καρκίνο του μαστού (αλλά και σε άλλες κοινές μορφές καρκίνου) οφείλεται μάλλον σε συνδυασμούς γενετικών παραλλαγών σε ένα πλήθος γενετικών τόπων, παρά σε κληρονομήσιμες μεταλλαγές υψηλής προδιάθεσης για καρκίνο.

Το ποσοστό των ατόμων με καρκίνο του μαστού που οφείλεται σε πολυγονιδιακή και όχι σε οικογενή προδιάθε-

ση είναι πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί. Ωστόσο, το μοντέλο της πολυγονιδιακής προδιάθεσης μπορεί να κάνει προβλέψεις σχετικά με την κατανομή κινδύνου σε έναν πληθυσμό. Για παράδειγμα, εάν σε ένα μοντέλο βασισμένο σε κληρονομικά πρότυπα καρκίνου του στήθους παραβλέψει κάποιος τους φορείς μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2 και συγκεντρώσει την προσοχή του στον υπόλοιπο πληθυσμό, γίνεται αντιληπτό ότι υπάρχει μια ευρεία κατανομή του κινδύνου στον πληθυσμό. Ενδεικτικό είναι ότι το 20% του πληθυσμού που διατρέχει τον υψηλότερο κίνδυνο να προσβληθεί από καρκίνο του μαστού μέχρι την ηλικία των 70 ετών (ανώτερο όριο καμπύλης) έχει 40 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα προσβολής από το 20% του πληθυσμού που διατρέχει τον μικρότερο κίνδυνο (κατώτερο σημείο καμπύλης). Το μοντέλο αυτό του καρκίνου

του μαστού υποδεικνύει επίσης ότι το 50% των περιστατικών καρκίνου του μαστού, προσβάλλει αποκλειστικά τα άτομα με την υψηλότερη προδιάθεση, τα οποία αποτελούν το 12% του γενικού πληθυσμού (Εικόνα 2).

Υπάρχουν δύο γενικά μοντέλα για την πολυγονιδιακή προδιάθεση στον καρκίνο. Το πρώτο υποστηρίζει ότι η ασθένεια δημιουργείται από αλληλόμορφα που δημιουργούν προδιάθεση σε καρκίνο και τα οποία εμφανίστηκαν μόνο μία φορά αρχικά στον πληθυσμό. Σε αυτό το μοντέλο εξετάζεται αν κάποια αλληλόμορφα γονιδίων υποψήφιων για καρκίνο έχουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης σε καρκινοπαθείς σε σχέση με τους υγιείς ανθρώπους. Στην ιδανική περίπτωση, τα υπό εξέταση αλληλόμορφα πρέπει να είναι εκείνα που άμεσα συσχετίζονται με τον μηχανισμό προδιάθεσης. Στην πράξη ωστόσο, οι γονιδιακές αυτές παραλλαγές δεν είναι γνωστές.

Γι' αυτό, χρησιμοποιείται μια σειρά πολυμορφισμών για να οριστεί απλότυπος κατά μήκος του γονιδίου που μας ενδιαφέρει. Σε αυτή την περίπτωση, η συχνότητα εμφάνισης κάθε απλότυπου συγκρίνεται ανάμεσα σε δείγματα από καρκινοπαθείς και υγιή άτομα. Το σημερινό ενδιαφέρον για την απλοτυπική σύνθεση του ανθρώπινου γονιδιώματος στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην ελπίδα χρήσης αυτών των πληροφοριών για να σχεδιαστούν αποτελεσματικές μέθοδοι αναζήτησης ολόκληρου του γονιδιώματος που θα επιτρέψουν να ανιχνευτούν συσχετισμοί με την ασθένεια και συνεπώς να ταυτοποιηθούν οι γονιδιακοί τόποι των αλληλόμορφων ευπάθειας στον καρκίνο.

Ο μοναδικός περιορισμός αυτής της προσέγγισης είναι η αδυναμία της να ανιχνεύσει αλληλόμορφα χαμηλής αποτελεσματικότητας όταν το δείγμα του πληθυσμού δεν είναι αρκετά μεγάλο.

Κατά το δεύτερο μοντέλο πολυγονιδιακής προδιάθεσης, οι μεταλλάξεις που μπορούν να προκαλέσουν τις κοινές μορφές της ασθένειας είναι πολλές και διάφορες. Οι πιο σημαντικές παραλλαγές γονιδίων που προκαλούν προδιάθεση είναι σπάνια αλληλόμορφα πρόσφατης προέλευσης, σύμφωνα με αυτή τη θεωρία. Επίσης, συχνά ένα ορισμένο αλληλόμορφο προέρχεται από διάφορες ανεξάρτητες πηγές. Αν αυτό αληθεύει, η προσέγγιση συσχετισμού που περιγράφηκε προηγουμένως θα αποτύχει. Πολλές εκατοντάδες παραλλαγμένων αλληλόμορφων ίσως συντελούν στον καρκίνο και η ταυτοποίησή τους θα είναι πολύ δύσκολη. Για να καταλάβουμε καλύτερα τη φύση της γενετικής προδιάθεσης χρειαζόμαστε πολύ περισσότερες και λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη φύση και την προέλευση της παραλλαγής στο ανθρώπινο γονιδίωμα και για τη σχέση περίπλοκων γονοτύπων και φαινοτυπικού αποτελέσματος.

Ο θεμελιώδης κανόνας ότι οι συνδυασμοί κοινών αλληλόμορφων μπορούν να ασκούν σημαντική επίδραση πάνω στην ευπάθεια στον καρκίνο, φαίνεται καθαρά σε μοντέλα ευπάθειας ποντικών στον καρκίνο. Σε ένα απλό πείραμα αναστροφής διασταύρωσης, μετά από έκθεση σε καρκινογόνα, η κατανομή αριθμού όγκων δείχνει ότι πολλά ποντικά έχουν μόνο μερικούς όγκους ή κανένα, ενώ ένας μικρός αριθμός ποντικών έχουν 30 όγκους ή περισσότερους οπότε και ανήκουν σε κατηγορία πολύ υψηλού κινδύνου. Εξ ορισμού, η συχνότητα του κάθε αλληλό-

μορφου σε έναν πληθυσμό ανάστροφης διασταύρωσης μεταξύ δύο αμιγών στελεχών είναι 50-100%, και ο αριθμός των διαφορετικών γονιδίων που μπορούν να αποδώσουν τη διαφοροποιημένη ευπάθεια ποντικών ενός στελέχους είναι σχετικά υψηλός. Μέθοδοι επιλογής έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό σε ορισμένους συνδυασμούς αλληλομορφών που ελέγχουν έναν ορισμένο φαινότυπο. Για παράδειγμα, επιλεκτική διασταύρωση από ένα μίγμα οκτώ πατρικών αμιγών στελεχών έδωσε δύο πληθυσμούς ποντικών που έχουν μεταξύ τους περισσότερο από 100 φορές διαφορά στην ευπάθεια σε καρκινογόνα δέρματος. Αυτό φαίνεται ανάλογο με το μοντέλο της πολυγονιδιακής ευπάθειας που έχει προταθεί για ανθρώπους.

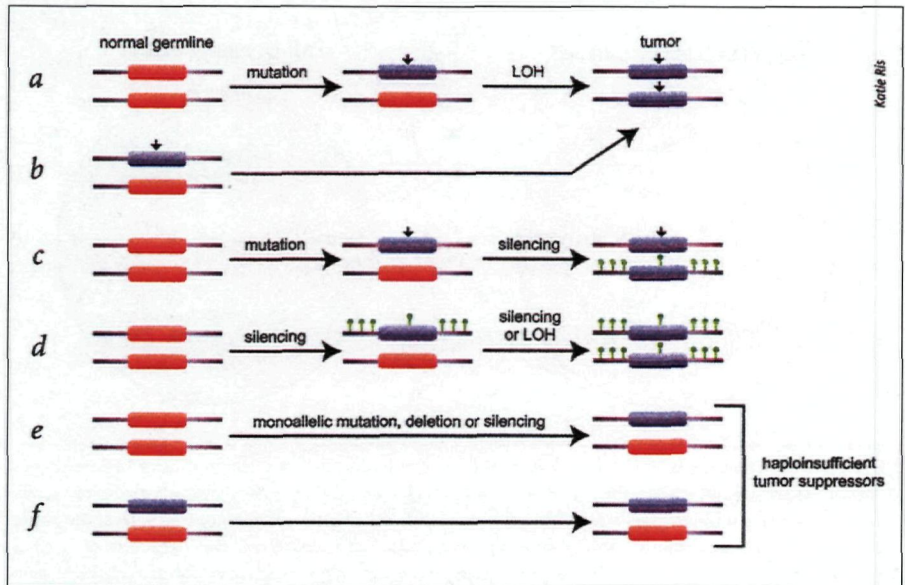
Ένα σημαντικό πλεονέκτημα αυτών των μοντέλων ποντικών είναι ότι καθιστούν δυνατή τη μελέτη γενετικών αλληλεπιδράσεων με τρόπους που είναι ανέφικτοι, χρησιμοποιώντας στοιχεία από ανθρώπους πληθυσμούς. Το μοντέλο που αναδύεται από αυτές τις μελέτες είναι αυτό της σημαντικής ετερογένειας. Δύο άτομα μπορούν να έχουν τον ίδιο φαινότυπο ευπάθειας στον καρκίνο αλλά για εντελώς διαφορετικές γενετικές αιτίες. Η ταυτοποίηση αυτών των διαφορετικών συνδυασμών αλληλεπιδρώντων αλληλομορφών είναι ένα σημαντικό εμπόδιο στην ανάλυση των βασικών παραμέτρων ευπάθειας των ανθρώπων στον καρκίνο. Απλές μελέτες σύνδεσης ίσως βρουν τις κυρίως επιδράσεις αλλαγών σε ένα ορισμένο γονίδιο αλλά δεν θα ταυτοποιήσουν αλληλεπιδράσεις παραλλαγών σε δύο ή περισσότερα γονίδια εκτός και εάν δοκιμαστούν και οι κατάλληλοι αλληλεπιδρώντες γονιδιακοί τόποι.

Εκτός από την περίπτωση όπου υπάρχουν φανερά υποψήφια αλληλόμορφα, θα πρέπει είτε να βασιστούμε σε δοκιμή ομάδων αλληλεπιδρώντων γονιδίων ταυτοποιημένων από μοντέλα ποντικών και ανάλυση όγκων (βλ. παρακάτω) είτε να περιμένουμε έως ότου αναπτυχθούν μέθοδοι ολικής ανάλυσης γονιδιώματος ενός μεγάλου αριθμού ατόμων από καλά χαρακτηρισμένους ανθρώπους πληθυσμούς. Κατά τη δεύτερη επιλογή, οι στατιστικές δυσκολίες στο να ανιχνευτούν αληθινές επιδράσεις εν μέσω του τεράστιου αριθμού πιθανών παραλλαγών σε αλληλόμορφα θα είναι σοβαρές, και θα χρειαστεί να βρεθούν μέθοδοι αντιμετώπισης αυτής της περιπλοκότητας.

### Σωματικές γενετικές αλλαγές σε καρκινικά κύτταρα

Ένα κεντρικό χαρακτηριστικό σχεδόν όλων των καρκινικών κυττάρων είναι η γονιδιακή αστάθεια, η οποία προκαλείται από μεταλλάξεις είτε κληρονομικές, σε γονίδια που παρακολούθουν την ακεραιότητα του γονιδιώματος, είτε επίκτητες σε σωματικά κύτταρα κατά την ανάπτυξη όγκου. Οι γενετικές αλλαγές που εκπληγάζουν μπορούν να εμφανιστούν σε διάφορα επίπεδα, π.χ. σε νουκλεοτίδια, σε μικρά τμήματα DNA (μικροδορυφροί) σε ολόκληρα γονίδια, σε δομικά συστατικά των χρωμοσωμάτων ή ολόκληρα χρωμοσώματα. Η αστάθεια σε νουκλεοτίδια, μικροδορυφρούς ή χρωμοσώματα, ονομάζεται αντίστοιχα NIN, MIN ή CIN.

Όσον αφορά στην αστάθεια MIN, μεταλλάξεις εντός γενετικών ή σωματικών κυττάρων στα γονίδια επισκευής



Εικόνα 3. Απόλεια λειτουργίας ογκοκατασταλτικού γονιδίου στον καρκίνο.

*a, b.* Το κλασικό μοντέλο Knudson έχει ένα αρχικό μεταλλακτικό γεγονός (βέλος κάθετο) που οδηγεί σε απενεργοποίηση του γονιδίου κατά τη διάρκεια ανάπτυξης όγκου. Οι μπλε σκιασμένες ράβδοι είναι απενεργοποιημένα γονίδια. Απόλεια ετεροζυγωτίας LOH λόγω μη αποχωρισμού (non-disjunction), μιτωτικού ανασυνδυασμού ή απώλειας, οδηγεί σε λειτουργική απενεργοποίηση και των δύο αλληλομορφών. Αν η πρώτη μετάλλαξη κληρονομείται μέσω της γεννητικής γραμμής, άτομα που φέρουν αυτή τη μετάλλαξη έχουν συχνά ισχυρή προδιάθεση για ανάπτυξη όγκου.  
*c.* Το μεταλλακτικό γεγονός μπορεί να ακολουθήσει σίγηση του γονιδίου μέσω μεθυλίωσης του υποκινητή (πράσινες κάθετες ράβδοι) χωρίς LOH.  
*d.* Διααλληλομορφική σίγηση και των δύο αντιγράφων του γονιδίου δίχως LOH ή γενετική μετάλλαξη.  
*e, f.* Απλοσυνεπάρκεια ογκοκατασταλτικά γονίδια που λειτουργούν μόνον σε ομοζυγωτική κατάσταση δεν χρειάζεται να χάσουν και τα δύο λειτουργικά αντίγραφα για να συντελέσουν σε αύξηση του κινδύνου καρκίνου. Απόλεια ενός μόνου αντιγράφου του γονιδίου μπορεί να συμβεί με μετάλλαξη, απώλεια, ή «αποσκόπηση», ενώ το άλλο λειτουργικό αλληλόμορφο μπορεί να διατηρηθεί. Σε κάποιες περιπτώσεις (f) μερικής ή ολικής μη λειτουργικό αλληλόμορφο μπορεί να κληρονομηθεί μέσω της γαμετικής γραμμής, προδιάθετοντας το άτομο στην ανάπτυξη όγκου δίχως να χρειάζεται LOH ή ολική λειτουργική απενεργοποίηση. Κάποια γονίδια ευπάθειας «χαμηλής διεισδυτικότητας» ίσως ανήκουν σε αυτή την κατηγορία.

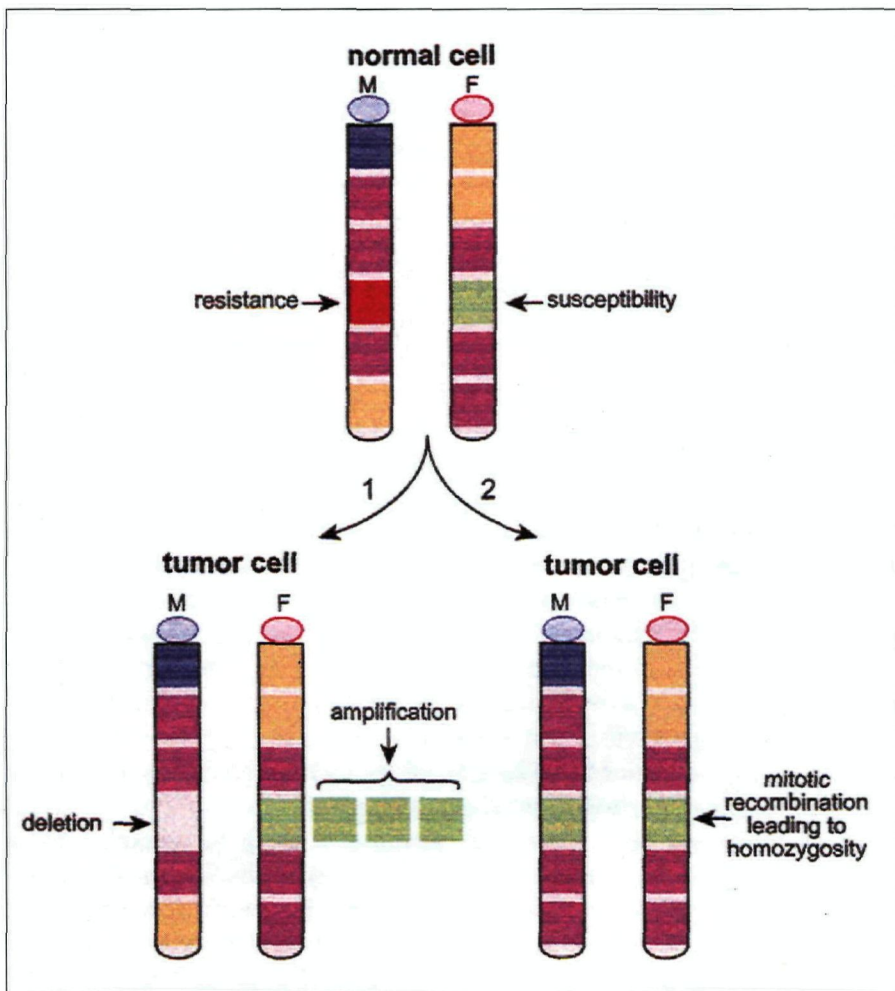
αταίριαστων αλληλοζυγίων, MLH1, MSH2 ή MSH6, μπορεί να έχουν σοβαρές συνέπειες. Αυτό, αν ένας ασταθής μικροδορυφρός βρίσκεται σε ένα σημαντικό γονίδιο σαν το BAX που ελέγχει την κυτταρική αύξηση και προκαλεί κυτταρικό θάνατο ή το γονίδιο του υποδοχέα τύπου II, για TGF-β, που ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Πολλά φαινόμενα έχουν συσχετιστεί με CIN. Τέτοια είναι η απώλεια λειτουργιών των τελομερών και οι γενετικές αλλαγές σε γονίδια που ελέγχουν τον αποχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά την κυτταρική διαίρεση. Τέτοια γονίδια είναι τα BUB1, MAD2, BUB1R, APC ή το γονίδιο που κωδικοποιεί την κίνηση των κεντροσωμάτων, STK6. Επίσης, μεταλλάξεις στο TP53, στα γονίδια ευπάθειας καρκίνου του μαστού BRCA1 και BRCA2 και στο γονίδιο αταξίας τελαγγειεκτασίας (ataxia telangiectasia) ATM επηρεάζουν τη γενετική σταθερότητα σε διάφορα επίπεδα.

Σε κλασικά μοντέλα πολυσταδιακής ανάπτυξης καρκίνου στον άνθρωπο και στον ποντικό, υποτίθεται ότι κάθε σημαντικό γεγονός –είτε είναι μια σημαντική μετάλλαξη μικρής έκτασης είτε μια χρωμοσωμική αλλαγή μεγάλης έκτασης– παρέχει ένα πλεονέκτημα επιλογής στον κλώνο (απόγονοι) του κυττάρου στο οποίο η μετάλλαξη συνέβη. Έτσι, προετοιμάζεται το έδαφος για το επόμενο στάδιο καρκίνου, που θα οδηγήσει σε κακοήθεια. Αλλά η σχέση μεταξύ αρχικού σταδίου και προχωρημένων σταδίων καρκίνου και ο ρόλος της γενετικής αστάθειας στην

εξέλιξη του καρκίνου παραμένουν ασαφή. Κάποιες γενετικές αλλαγές μπορεί να εντοπιστούν σε ιστούς τους οποίους η ιστολογική εξέταση χαρακτηρίζει φυσιολογικούς. Εκτεταμένες γενετικές αλλαγές εντοπίζονται σε στάδια που προηγούνται της εμφάνισης κακοήθους όγκου σε πολλούς ιστούς του ανθρώπου.

Ο βασικός συντελεστής της προόδου του καρκίνου μάλλον είναι η συγκέντρωση ορισμένων συνδυασμών γενετικών αλλαγών ή η εμφάνιση μεταλλάξεων σε ένα ορισμένο υποσύνολο κυττάρων-στόχων που έχουν υψηλότερη προδιάθεση προόδου προς κακοήθεια.

Οι συνέπειες της γονιδιακής αστάθειας στον καρκίνο φαίνονται στις πολλές αλλαγές που ενεργοποιούν ή εξουδετερώνουν τα ποικίλα γονίδια που επηρεάζουν τη συμπεριφορά ογκοκυττάρων. Εργαλεία, όπως είναι η *in situ* φθορισχός υβριδοποίηση επιτρέπουν την άμεση ανίχνευση και τον γονιδιακό εντοπισμό δομικών αλλαγών σε διαχύσεις μεταφασικών χρωμοσωμάτων. Επίσης, επιτρέπουν την ανίχνευση μονοδικών αλλαγών και την εκτίμηση της απόκλισης του αριθμού αντιγράφων του γονιδιώματος από κύτταρο σε κύτταρο ως ένα δείκτη γονιδιακής αστάθειας. Η περιοριστική σάρωση γονιδιακών τόπων, η συγκριτική υβριδοποίηση γονιδιωμάτων (CGH), η ποσοτική PCR υψηλής απόδοσης και τεχνικές μοριακής αφάισης, όπως είναι η αντιπροσωπευτική αναλυτική παρουσίαση, επιτρέπουν την άμεση ανίχνευση και τον γονιδιακό εντοπισμό μεταβολών στον αριθμό αντιγράφων



Εικόνα 4. Η σχέση μεταξύ ανωμαλιών στη γεννητική γραμμή και τα σωματικά κύτταρα, που περιλαμβάνει γονίδια χαμηλής ευπάθειας στον καρκίνο. Κάποια γονίδια χαμηλής ευπάθειας ίσως επηρεάζουν γενετικά γεγονότα σε όγκους, προκαλώντας επιλεκτικό πολλαπλασιασμό αλληλόμορφων τα οποία συντελούν σε αυξημένο κίνδυνο καρκίνου ή την απώλεια αλληλόμορφων που συνεισφέρουν στην αντίσταση στον καρκίνο. Ο μιτατικός ανασυνδυασμός ίσως οδηγεί σε ομοζυγία όσον αφορά πολυμορφικότητα χαμηλής ευπάθειας ογκοκατασταλατικών γονιδίων ή υπερενεργών ογκογονιδίων, δίχως νέες σωματικές μεταλλάξεις. Τα γράμματα M και F δείχνουν χρωμοσώματα που έχουν κληρονομηθεί από τη μητέρα και τον πατέρα, αντίστοιχα. Ο μεγάλος αριθμός γενετικών παραλλαγών που επηρεάζουν την ευπάθεια σε σποραδικές μορφές καρκίνου ίσως συμβάλλει στην περιπλοκότητα των γενετικών παρεκκλίσεων που προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο.

του γονιδιώματος και μεταλλάξεων εντός του γονιδιώματος σε έναν όγκο. Παραλλαγές αυτών των τεχνικών επίσης επιτρέπουν την εκτίμηση της κατάστασης όσον αφορά στη μεθυλίωση του DNA.

Πρόσφατα έγινε φανερή η δυνατότητα ανίχνευσης μεταλλάξεων σε πιθανά ογκογονίδια, με σάρωση υψηλής απόδοσης. Η τεχνολογία μικροσυστοιχιών μπορεί με ανεπανάληπτη πληρότητα να ανιχνεύσει τα μεταγραφικά χαρακτηριστικά των όγκων. Το ίδιο μπορεί να γίνει και με ποσοτική PCR υψηλής απόδοσης.

Τα πρωτεωμικά χαρακτηριστικά των όγκων μπορούν να εκτιμηθούν με φασματοσκοπία μάζας και με τεχνικές μικροσυστοιχιών. Συνδυασμένη χρήση αυτών των τεχνικών δίνει μια εικόνα των λειτουργιών σε συγκεκριμένους όγκους με όλο και περισσότερη λεπτομέρεια.

Όγκοι που παρουσιάζουν όμοια εικόνα μέσω κλινικής εξέτασης αποδεικνύονται συχνά πάρα πολύ διαφορετικοί όσον αφορά στα αίτια. Οι τύποι των αλλαγών που γίνονται περιλαμβάνουν μεταλλάξεις σε αλληλοχίτες ελέγχου ή κωδικοποιούσες, αλλαγές στην πλοειδία, μικρές αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων γονιδιώματος (όπως

πρόσθεση ή απώλεια ενός μοναδικού αντιγράφου γονιδιώματος), υψηλό αριθμό αντιγράφων του αλληλόμορφου, δομική ανακατάταξη, ομοζυγοτική απώλεια, και απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) που συμβαίνει όταν χασθεί το ένα αλληλόμορφο ενός γονιδίου και αναδιπλασιαστεί το άλλο αλληλόμορφο.

#### Τα γονίδια του καρκίνου είναι στόχος θεραπείας του

Οι περισσότερες προσπάθειες εντοπισμού πιθανών θεραπευτικών στόχων έχουν εστιάσει σε ογκογονίδια που ενεργοποιούνται συγχρόνως ή υπερεκφράζονται εντός ογκοκυττάρων. Γονιδιακές αλλαγές, όπως μεταλλάξεις, μεταποιώσεις και πολλαπλασιασμοί οδήγησαν στην ταυτοποίηση τέτοιων γονιδίων. Πολλοί υποδοχείς αζεπτικών παραγόντων μεταδίδουν σήματα προς το εσωτερικό του κυττάρου μέσω φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών με τις οποίες αλληλεπιδρούν σε κατάλοιπα τυροσίνης. Αυτές οι κινάσες τυροσίνης ήταν στόχος μεγάλου ενδιαφέροντος διότι η ανάπτυξη αναστολέων φανόταν εύκολη. Οι κινάσες τυροσίνης που κωδικοποιούνται από τα γονίδια ABL

και ERBB2 είναι από τις πρώτες που ταυτοποιήθηκαν. Η κινάση τυροσίνης του ABL γονιδίου, που φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες στον πυρήνα του κυττάρου, είχε βρεθεί ότι ενεργοποιείται από μετατόπιση του BCR. Αυτό το γεγονός συμβαίνει σε 100% των περιστατικών χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας και σε χαμηλότερη συχνότητα σε άλλες λευχαιμίες.

Η λειτουργική σημασία αυτής της μετατόπισης έχει επιβεβαιωθεί τόσο από μελέτη μοντέλων όσο και από την αποτελεσματικότητα του αναστολέα κινάσων τυροσίνης imatinib mesylate (Gleevec) στην καταπολέμηση της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας στον άνθρωπο.

#### Απενεργοποίηση ογκοκατασταλατικών γονιδίων και απλοανεπάρκεια

Παλαιότερες προσπάθειες για ταυτοποίηση ογκοκατασταλατικών γονιδίων ακολούθησαν την υπόθεση του Knudson της διαλληλομορφικής απενεργοποίησης ενός γονιδίου (Εικόνα 3a, b). Τυπικά εστιάστηκαν στην αλληλεπίδραση μεταξύ μιας γονιδιακής αλλοίωσης και μιας μετάλλαξης στη γεννητική σειρά, που είχαν προκαλέσει απενεργοποίηση του άλλου αλληλόμορφου. Ο μεγάλος αριθμός περιοχών με LOH και συγχρόνως η φυσική απώλεια τμημάτων χρωμοσωμάτων μέσα σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα που ταυτοποιήθηκαν τα τελευταία 10-15 χρόνια, προκάλεσε αισιοδοξία ότι η κλωνοποίηση γενετικών θέσεων (positional cloning) θα οδηγούσε στον εντοπισμό πολλών άλλων ογκοκατασταλατικών γονιδίων. Η πρόοδος, ωστόσο, ήταν αργή, μάλλον επειδή πολλά σημαντικά γονίδια σε εκείνες τις περιοχές των χρωμοσωμάτων δεν λειτουργούν κατά τρόπο που προϋποθέτει ότι και τα δύο αλληλόμορφα ενός γονιδίου πρέπει να απενεργοποιηθούν για να υπάρξει πρόοδος του καρκίνου.

Μια πιθανότητα είναι ότι στους όγκους διατηρούνται και τα δύο αντίγραφα των ογκοκατασταλατικών γονιδίων, αλλά γίνεται σίγηση ενός ή και των δύο με μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου. Στην πραγματικότητα, αλλαγές όσον αφορά στη μεθυλίωση πιθανόν να είναι εξίσου ικανές να τροποποιήσουν τη γονιδιακή έκφραση όσο αλλαγές στην αλληλοχία DNA ή στον αριθμό αντιγράφων. Εναλλακτικά, αυτά τα ογκοκατασταλατικά γονίδια της «νέας γενιάς» ίσως επηρεάζουν την πρόοδο του καρκίνου μέσω λειτουργικής απλοανεπάρκειας μιας διαδικασίας κατά την οποία η απώλεια του ενός αλληλόμορφου συμβάλλει σε πρόοδο του καρκίνου, έστω και αν παραμένει το άλλο φυσιολογικό αλληλόμορφο ανέπαφο (Εικόνα 3e, f). Αυτό έχει δείχτει για ποντίκια που φέρουν μόνο ένα απενεργοποιημένο αλληλόμορφο των γονιδίων P53, TGF-β1, 27Kip1 και DMPI. Στην κάθε περίπτωση, τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια έχουν προδιάθεση για εμφάνιση όγκου, αλλά ο όγκος συχνά διατηρεί ένα λειτουργικό άγριου τύπου αλληλόμορφο.

Η περίπτωση της σύνθετης απλοανεπάρκειας κάνει την αναζήτηση γενετικών αλλαγών που συμβάλλουν στην πρόοδο του καρκίνου ακόμη πιο δύσκολη. Κατά τη σύνθετη απλοανεπάρκεια διάφορα συνεχόμενα γονίδια που λειτουργούν σε αλληλεπικαλυπτόμενα μονοπάτια χάνονται όλα μαζί. Κατά την απώλεια τμήματος ενός χρωμοσώματος, εκτενής μελέτη αλλαγών στο ανθρώπινο χρω-

μόσωμα 3p κατά ένα περιστατικό καρκίνου των πνευμόνων, δείχνει ότι αρκετά ογκοκατασταλτικά γονίδια χάθηκαν κατά ένα γεγονός LOH ενώ τα υπόλοιπα αλληλόμορφα σπανιότατα παρουσιάζουν μετάλλαξη. Η σύνθετη απλοσυναιμία ίσως αφορά απώλειες του ενός αντιγράφου αλληλεπιδρώντων γονιδίων σε διαφορετικά χρωμοσώματα και αν αυτό είναι αλήθεια θα είναι πολύ δύσκολο να ταυτοποιηθούν οι γενετικές αλλαγές σε εκείνες τις περιοχές χρωμοσωμάτων.

Γονιδιακά, γενετικά και επιγενετικά φαινόμενα φαίνεται ότι διαπλέκονται όλο και περισσότερο στον σχηματισμό ενός όγκου—έστω και σε όγκους που φαίνεται να εμφανίστηκαν αυθόρμητα. Η συνδυαστική αλληλεπίδραση αλλαγών στη γονιδιακή δόση με σύνηθη γονιδιακή βλαστικότητα στη μεθυλίωση και με πολυμορφισμούς που προκαλούν μειωμένη λειτουργία γονιδίων, κάνουν την εύρεση αυτών των σημαντικών γονιδίων πολύ δύσκολη (Εικόνα 4).

### Κλινικές εφαρμογές και το μέλλον της έρευνας του καρκίνου

Η πρόληψη και η θεραπεία είναι σημαντικοί στόχοι της γενετικής μελέτης του καρκίνου, έστω και αν η «κατανόηση της βιολογίας» προβάλλεται συχνά ως απία μελέτης. Παρ' ότι βεβαίως χρειάζονται νέες και καλύτερες αγωγές θεραπείας, έχουμε επίσης να ωφεληθούμε αν οι πληροφορίες της γενετικής χρησιμοποιηθούν για να αξιοποιήσουμε τις ήδη υπάρχουσες μεθόδους θεραπείας πιο αποτελεσματικά. Η διάγνωση του καρκίνου σε πρώιμο στάδιο με ευαίσθητες και μη επιθετικές μεθόδους αναμένεται να αναπτυχθεί με χρήση νεοσποκτιθέντων γνώσεων. Παραδείγματα είναι η ανίχνευση μεταλλάξεων του DNA που είναι τυπικές για καρκίνο ή ανώμαλη μεθυλίωση του DNA σε υγρά δείγματα ατόμων που εξετάζονται ή η χρήση πρωτεϊνών αντιγραφής του DNA ως δεικτών προόδου του κυτταρικού κύκλου σε κύτταρα που αφαιρέθηκαν από όγκους ή προνεοπλαστικές αλλοιώσεις. Με βελτίωση της ειδικότητας ή με χρήση επαναληπτικών εξετάσεων, τέτοιες προσεγγίσεις ίσως αποτελέσουν έναν προσιτό τρόπο διάγνωσης για τον γενικό πληθυσμό. Ίσως επίσης αναπτυχθούν ευαίσθητες απεικονιστικές τεχνικές που παρέχουν πληροφορίες για ειδικές μοριακές αλλαγές, χαρακτηριστικές για τον καρκίνο.

Ένα σημαντικό πρόβλημα με τα σημερινά διαγνωστικά μέσα, όπως το PSA (ειδικό προστατικό αντιγόνο) για τον καρκίνο του προστάτη, είναι ότι οι πρώιμες αλλοιώσεις που ανιχνεύονται δεν εξελίσσονται πάντα σε καρκίνο. Μεγάλος αριθμός ανθρώπων υποφέρουν σημαντικά από τις παράπλευρες συνέπειες επεμβάσεων, όπως η προστατεκτομή ή η ριζική ραδιοθεραπεία, και αυτό θα

μπορούσε να αποφευχθεί αν προσδιοριστεί με ακρίβεια η πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου από την εξεταζόμενη αλλοίωση. Το ίδιο όμως ισχύει και για τη θεραπεία περιπτώσεων όπου ο καρκίνος διαγνώστηκε με βεβαιότητα. Για παράδειγμα, οι περισσότερες γυναίκες που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση για πρόωμη μορφή καρκίνου του μαστού υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία για να μειωθεί η πιθανότητα υποτροπής του καρκίνου. Αυτό γιατί, παρ' ότι η πιθανότητα υποτροπής είναι μικρή, η πρόωμη διάγνωση της είναι αδύνατη και έτσι χορηγείται χημειοθεραπεία για προληπτικούς λόγους. Εάν, όμως, τα λίγα περιστατικά υποτροπής του καρκίνου μπορούσαν να διαγνωστούν εγκαίρως, τότε η χημειοθεραπεία θα εφαρμόζονταν μόνο στα λίγα περιστατικά όπου πραγματικά χρειάζεται.

Το ίδιο στοχεύουμε να εφαρμοστεί για την επιλογή της θεραπείας που είναι η πλέον κατάλληλη για την περίπτωση του κάθε ασθενούς. Κοινές μορφές καρκίνου, όπως αυτές του μαστού, μάλλον θα κατηγοριοποιηθούν σε 10 ή 20 διαφορετικούς υποτύπους, ανάλογα με τους τύπους αλλοιώσεων των κυτταρικών μηχανισμών που έχουν.

Διαφορετικοί τύποι βιολογικών αλλοιώσεων θα ανακαλυφθούν—είτε επιστημονικά είτε εμπειρικά— και θα αξιοποιηθούν για την πρόγνωση ευαισθησίας ή αντίστασης σε διάφορες ουσίες. Αυτή η πρόγνωση θα χρησιμοποιείται για επιλογή θεραπειών. Ένα πιθανό μειονέκτημα είναι ότι η μοριακή ανάλυση θα κατηγοριοποιήσει κάθε κοινή μορφή καρκίνου σε πολλές υποκατηγορίες.

Η αξιολόγηση νέων φαρμάκων θα γίνει πιο γρήγορη και πιο αποτελεσματική. Μοριακά διαγνωστικά μέσα θα δείχνουν εάν σε υγιείς εθελοντές το φάρμακο πετυχαίνει τον ζητούμενο βιολογικό στόχο στη μικρότερη δυνατή δόση. Αλλά διαγνωστικά μέσα θα δίνουν ακαριαία πληροφορίες για την επίδραση του φαρμάκου επάνω στον όγκο ασθενούς.

Επιπρόσθετα, η ανάλυση για γονίδια προδιάθεσης θα επιτρέψει την ταυτοποίηση ατόμων με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου και μελλοντικά, την ανακούφιση σε εκείνους που δεν διατρέχουν υψηλό κίνδυνο. Αυτό έχει ήδη εφαρμοστεί κλινικά στην περίπτωση των κληρονομικών συνδρόμων καρκίνου υψηλής διεισδυτικότητας. Τα μεγαλύτερα προβλήματα που παραμένουν είναι η έλλειψη αποτελεσματικών μεθόδων πρόληψης χωρίς χειρουργική επέμβαση και η πρόωμη διάγνωση των περισσότερων μορφών καρκίνου. Αυτό δυστυχώς σημαίνει ότι η πιο κοινή συνιστώμενη επιλογή μετά από θετικό γενετικό τεστ είναι η χειρουργική αφαίρεση του ιστού που παρουσιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης όγκου. Η απόφαση για χειρουργική επέμβαση κωλύεται από το άγνωστο της ηλικίας προ-

βολής από καρκίνο και από το γεγονός ότι πολλές φορές προσβάλλονται διάφορα όργανα. Η αποτελεσματική πρόληψη μπορεί είτε να βασιστεί στον ειδικό μηχανισμό προδιάθεσης είτε (πιο πιθανό) να είναι γενική, όπως η χρήση αντιοιστρογόνων για την πρόληψη καρκίνου του μαστού. Σε κάθε περίπτωση, η σπανιότητα των συνδρόμων και οι μικροί αριθμοί των ατόμων σε κίνδυνο, επιβάλλουν συνεργασία τόσο σε εθνικό όσο και σε διεθνές επίπεδο για να δοκιμασθεί η αποτελεσματικότητα των μεθόδων πρόληψης.

Η πρόσφατη μοντελοποίηση της κατανομής κινδύνου, λόγω κοινών γενετικών παραλλαγών με χαμηλή διεισδυτικότητα στον πληθυσμό, προτείνει τη συναρπαστική πιθανότητα ότι σημαντικό ποσοστό των σποραδικών περιστατικών του καρκίνου ίσως συμβαίνει σε μια προδιαθετημένη μειονότητα του πληθυσμού. Εάν αυτό επιβεβαιωθεί, τότε αυτά τα μοντέλα κινδύνου θα επιτρέψουν τον σαφή σχεδιασμό ιατρικής επέμβασης στον πληθυσμό, κάτι που βασίζεται τόσο σε ιατρικά, όσο και σε οικονομικά κριτήρια.

Τα εμπόδια που είναι ακόμη ανυπέρβλητα, είναι πρώτον η ταυτοποίηση των γενετικών και μη γενετικών παραγόντων που προκαλούν προδιάθεση και δεύτερον η κατανόηση του τρόπου αλληλεπίδρασης μεταξύ τους, ώστε να δίνεται πρόγνωση του κινδύνου που αφορά ένα ορισμένο άτομο.

Η επόμενη δεκαετία αναμένεται να φέρει τεράστιο αριθμό πληροφοριών για τον καρκίνο όσον αφορά στη γενετική, επιγενετική, γονιδιακή και γονιδιακή έκφραση. Η πρόοδος στη χαρτογράφηση γονιδιακής παραλλαγής και την κατανόηση της προέλευσής της θα χρησιμοποιηθεί για την εύρεση γονιδίων που συντελούν σε προδιάθεση καρκίνου. Ο τεράστιος αριθμός πληροφοριών θα συμβάλει στην πληρέστερη κατανόηση των μονοπατιών που ελέγχουν την αλλαγμένη συμπεριφορά του κακοήθους κυττάρου.

Το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν τόσο μεγάλη αντίσταση σε συμβατικές μεθόδους θεραπείας, οφείλεται στην ανομοιογενή κατανομή διασυνδέσεων στο δίκτυο σημάτων που κυβερνούν τη λειτουργία του κυττάρου. Η επιλεκτική προσβολή, συνεπώς, του κακοήθους κυττάρου είναι αναγκαία να βασίζεται σε συστηματική κατανόηση του δικτύου σημάτων μέσω των οποίων ρυθμίζεται η λειτουργία και επιβίωση του κυττάρου.

Για να πετύχουμε αυτό, πρέπει πρώτα να διεκρινίσουμε τις περιπλοκές αλληλεπιδράσεις μέσα στο καρκινικό κύτταρο, ώστε να ταυτοποιηθούν τα κυριότερα ρυθμο-περιοριζόμενα σήματα που περνούν διαμέσου των κυτταρικών αξόνων λειτουργίας. ❖

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci US* 1971; 68: 820-823.  
2. Kinzler KW, Vogelstein B. Colorectal Tumors. In: *The Genetic Basis of Human Cancer* (ed. Kinzler K.W.) 583-612 (McGraw Hill, New York 2002).  
3. Venkataraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell* 2002; 108: 171-182.  
4. Kurose K et al. Frequent somatic mutations in PTEN and TP53 are mutually exclusive in the stroma of breast carcinomas. *Nat Genet* 2002; 32: 355-357.

5. Zhu Y, Ghosh P, Charney P, Burns DK, Parada LF. Neurofibromas in NF1: Schwann cell origin and role of tumor environment. *Science* 2002; 296: 920-922.  
6. Holtzman NA, Marteau TM. Will genetics revolutionize medicine? *N Engl J Med* 2000; 343: 141-144.  
7. Pharoah PD et al. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet* 2002; 31: 33-36.  
8. Botstein D, Rich N. Discovering genotypes underlying human pheno-

types; past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet* 2003; 33: 228-237.  
9. Friedberg EC. How nucleotide excision repair protects against cancer. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 22-33.  
10. Zardo G et al. Integrated genomic and epigenomic analyses pinpoint biologic gene inactivation in tumors. *Nat Genet* 2002; 32: 453-458.  
11. Albert R, Jeong H, Barabasi AL. Error and attack tolerance of complex networks. *Nature* 2000; 406: 378-382.