

# Szabad DNS-alapú vastagbél-daganat-szűrés perifériás vérből: a metilált szeptin-9 génmarker lehetőségei

TÓTH KINGA DR.<sup>1</sup> ■ GALAMB ORSOLYA DR.<sup>1,2</sup> ■ SPISÁK SÁNDOR<sup>1,2</sup>  
WICHMANN BARNABÁS<sup>1</sup> ■ SIPOS FERENC DR.<sup>1</sup>  
LEISZTER KATALIN DR.<sup>1</sup> ■ MOLNÁR JEANNETTE DR.<sup>1</sup> ■ MOLNÁR BÉLA DR.<sup>1,2</sup>  
TULASSAY ZSOLT DR.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika, Budapest

<sup>2</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Molekuláris Medicina Kutatócsoport, Budapest

A DNS-metiláció szerepet játszik a daganatképződés korai szakaszában. Kimutatása szövetből, székletből és perifériás vérből egyaránt lehetséges. A szeptin-9 érzékeny metilációs jelző, amelyet több daganatban, mint emlő- és petefészekrákban, valamint neurológiai és hematológiai betegségekben is vizsgáltak. A szeptinproteinek fontos szerephez jutnak a sejtváz organizációjától az embrionális mintázat kialakulásáig. Napjainkban intenzív kutatások folynak a szeptin-9 fokozott metilációja és a vastagbélrák kialakulása közötti összefüggés felderítésére.

**Kulcsszavak:** vastagbélrák, metiláció, szeptin-9, szabad DNS, perifériás vér

## Free circulating DNA based colorectal cancer screening from peripheral blood: the possibility of the methylated septin 9 gene marker

DNA methylation acts in early tumorigenesis. Its detection is possible either from tissue, stool or peripheral blood. Septin 9 is a sensitive methylation marker, which has been studied in several cancers such as breast and ovarian tumors and in neurological or hematological diseases. Septin proteins have an important role from cytoskeleton organisation to development of embryonal pattern. Nowadays intensive researches are going on about the relation between the septin 9 gene hypermethylation and colorectal cancer development.

**Keywords:** colorectal cancer, methylation, septin 9, free circulating DNA, peripheral blood

(Béérkezett: 2009. március 31.; elfogadva: 2009. április 29.)

### Rövidítések

APC = adenomatosus polyposis gén; CpG = citozin-foszfoguanin dinukleotid; CRC = (colorectal cancer) vastagbélrák; DCC = (deleted in colorectal carcinoma) vastagbélrákban kieső gén; DNMT = DNS-metiltranszferáz; LOH = (loss of heterozygosity) heterozigótaság elvesztése; MAP4 = mikrotubulus-asszociált protein-4; MLL = (mixed linkage leukaemia) myeloid/lymphoid vagy kevert leukémia kapcsolat; MSF = (MLL septin-like fusion) MLL-fúziós szeptin, szeptin-9; MSI = mikroszatellita-instabilitás; PCR = (polymerase chain reaction) polimeráz-lánreakció; RIA = (radioimmunoassay) radioimmun-vizsgálat; ssDNA = egyszálú DNS; SEPT = (septin) szeptin

A vastagbélrák a Nemzeti Rákregiszter alapján a második leggyakoribb halálok a daganatos betegségek okozta halálozásban. Szűrése nem megoldott. A vastagbélvizsgálat hatékony módszere az invazív kolonoszkópia. Ezért széles körű kutatások folynak megfelelő, nem invazív módszer kifejlesztésére.

Az elmúlt években a perifériás vérvizsgálatok kerültek előtérbe. A perifériás vérben keringő szabad DNS felfedezésével vizsgálatok kísérelték meg a daganatok és a ke-

ringó DNS összefüggéseinek felderítését. Kimutatták, hogy különböző tumoros betegségben szenvedő betegek vérében nagyobb mennyiségű keringő DNS van jelen, mint egészséges egyéneknél. A szabad DNS mutációi jellemzők lehetnek különböző daganatokra, így például a vastagbélrákra is. Számos eltérést, pontmutációt, hipermetilációt, mikroszatellita-instabilitást vagy a heterozigotáság elvesztését (LOH) észleltek a szabad DNS-ben is [1]. Az egyik ilyen vastagbél-daganatra specifikus, perifériás vérből kimutatható jelző lehet a szep-*tin-9* gén hipermetilációja, amely néhány éve került a figyelem középpontjába.

Dolgozatunk célja a szabad DNS, a metilált DNS és a szep-*tin-9*-vizsgálatok alkalmazási lehetőségeinek áttekintése daganatos megbetegedésekben.

Hazánkban a vastagbél-szűrés az 55 évesnél idősebb, átlagos kockázatú, panaszmentes népesség részére ajánlott. Egylépcsős szűrés esetén kolonoszkópiát végzünk, amelyet szükség szerint polypectomiával egészítünk ki. Negatív lelet esetén a szűrt személy 10 évig biztonságban van, ezt követően azonban célszerű megismételni a vizsgálatot. Kétlépcsős szűréskor okkultvér-meghatározást végzünk a székletből, majd ennek pozitívasságakor kolonoszkópiát. Ha az okkult vérvizsgálat negatív, évente, illetve két évente szükséges megismételni.

A vastagbél-szűrés elsődleges célját a vastagbél-tükrözés valósítja meg, a rákelőző állapotok, a polipok, adenomák felismerését. A szűrőprogramok legnagyobb nehézsége a betegek együttműködésének megnyerése [2].

## Mutált DNS

A genetikai és epigenetikai változások felhalmozódása a vastagbélhám daganatos átalakulásához vezethet. E hibák esetén a sejtműködés szabályozásaiban zavar támad, amely a daganatok kialakulását, növekedését, terjedését segíti elő. A daganatsejtek elszaporodásához a sejtproliferáció szabályozásának zavara miatti fokozott, szabályozatlan sejtosztódás és a programozott sejthalál, az apoptózis elmaradása vezet. A mutációk érinthetik a DNS-hibajavító géneket, tumorsuppresszor géneket és onkogéneket.

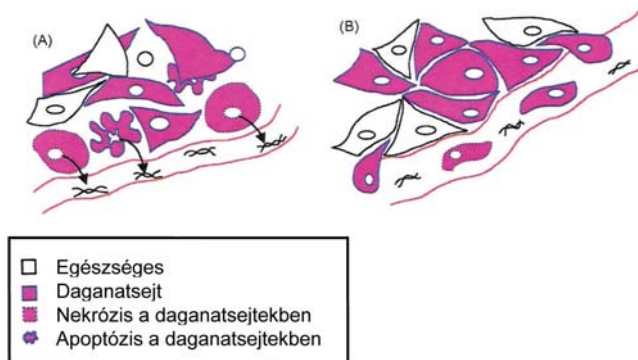
A tumorsuppresszor gének feladata a sejtproliferáció gátlása, működésvesztéssel járó (loss of function) mutációik fokozott sejtosztódást okoznak. Ezek a hibák recesszíven öröklődnek, ezért a génhiba megjelenéséhez mindkét allélnak károsodnia kell. Kivétel a p53 hibája, mivel ez domináns hatása miatt elnyomhatja a normális allél működését. A családban öröklődő daganatoknál az egyik allél hibája öröklött, így ez a szervezet összes sejtjében megtalálható. Daganat akkor alakul ki, ha a másik allél is károsodik. Ez szerzett mutációval jön létre, ami sporadikus is lehet. Ha egyik allél sem károsodott, a működésvesztéshez két mutációnak kell bekövetkeznie. Az allélvesztés a polimorfizmus elvesztését is jelenti, tehát a heterozigotáság elvesztését (loss of heterozygosity; LOH). Ezt a jelenséget ma már jelzőnek (markernek) is

lehet használni, amely megmutatja, hogy a genom bizonyos régiójában a szuppresszor gén működése károsodott-e [3]. A p53 transzkripció faktor mutációja a humán tumorok 50%-ában kimutatható. A p53 a genom stabilitásának fenntartásában játszik szerepet, a sejtciklus-előrehaladás (progresszió) és az apoptózis ellenőrzésével [4]. A DNS károsodása a sejtciklus felfüggesztését okozza, azért hogy a DNS-hibajavítás megtörténhessen. Ha azonban a hibát nem javítja ki, apoptózis alakul ki. Ezért a p53 tumorsuppresszor gént a genom őrének is nevezik. Vizsgálatok szerint a p53-mutációjú vastagbél-rákos betegek túlélési esélye kisebb azokénál, akikben nem található meg ez a mutáció [3]. A p53 gén mutációja a sporadikus colorectalis rákok 50%-ában megtalálható [5]. Colonadenomákban mutációját nem mutatták ki, ami arra utal, hogy a p53-mutáció az adenoma-carcinoma szekvencia késői szakaszában jelenik meg.

A 18q a második leggyakoribb kromoszómarégióvesztés, amely a vastagbél-rákos esetek mintegy 70%-ában fordul elő. E kromoszómarégió kiesése az adenomák korai, kismértékű dysplasiájában 10–30%-ban figyelhető meg, míg súlyos dysplastikus adenomák 60%-ára jellemző [6]. Ezen a kromoszómán található a vastagbél-rákban kieső DCC (deleted in colorectal carcinoma) tumorsuppresszor gént kódoló szakasz is. *Jen és mtsai* kimutatták, hogy a 18q-vesztéssel (LOH = heterozigotáság elvesztése), DCC-mutációjú II. stádiumú daganatos betegek túlélési esélyei hasonlóak a III. stádiumú betegekéhez, akikben ezeket a hibákat nem mutatták ki [7]. A 18q-vesztése és a DCC-mutáció önálló kórhatalmi tényező lehet, jelenléte 2,5–3-szoros kockázatot jelent CRC-re [5].

Az onkogének a protoonkogének génhibái révén alakulnak ki. A mutációk a protoonkogének aktivitását segítik elő, ami fokozza a sejtproliferációt. A létrejött onkogének serkentik a proliferációt és gátolhatják az apoptózist. Így a szabályozástól független működések alakulhatnak ki (gain to function). Ezen károsodott gének esetében olyan géntermékek jönnek létre, amelyek a jelátviteli szabályozás különböző pontjaiba szólhatnak bele. A k-ras az egyik leggyakoribb protoonkogén a vastagbél-rák kialakulásában. Szerepet játszik a normális proliferációs és differenciációs szabályozó útvonalakban. Mutációja a daganatképződés viszonylag kezdeti szakaszában jelenik meg. *Vogelstein és mtsai* kimutatták, hogy a k-ras mutációjának előfordulása az adenoma méretével és dysplasiájával egyenes arányban növekszik. A k-ras-mutáció átlagosan 40–50%-os gyakoriságú, és már a korai kismértékű dysplasiát tartalmazó adenomában megjelenik [4, 5].

Az APC gén a 5q21 kromoszómarégió helyezkedik el. A colorectalis daganatok kialakulásának legkorábbi szakaszában jelenik meg, ezért kapuőr (gatekeeper) géneknek is szokták nevezni. A sporadikus vastagbél-rákok 75–80%-ában kimutatható. Csírvonalbeli mutációként familiáris adenomatosus polyposishoz vezet, szomatikus mutációként a sporadikus colonrák kifejlődését segíti [3]. A DNS-hibajavító gének a DNS-illeszkedési



1. ábra | A szabad DNS eredetének két lehetséges magyarázata.  
 A) Az apoptózison vagy nekrozison átesett daganatsejtek DNS-e kerül a véráramba.  
 B) A daganatos sejtek lépnek be a véráramba, ahol szétesnek, és így szabadul fel belőlük a DNS [1]

hibajavító gének, a replikáció alatt kialakult hibákat ismerik fel és javítják ki. Legfontosabbak az MLH1 és az MSH2, de előfordulnak mások is, mint MSH3, PMS1, PMS2 és MSH6 [8]. Ha a hibajavító rendszer rosszul működik, a mikroszatellita-ismétlődések száma DNS-ismétlődési hiba következtében megváltozik, mikroszatellita-instabilitás (MSI) jön létre. Ez károsodott sejtekben fordul elő és a daganatokban klonális növekedést okozhat.

Ezek az eltérések a székletben található DNS-ből is kimutathatók. A vastagbél nyálkahártyája 3–5 naponta újul meg, így az egészséges vagy a tumoros felszínről leléködött, a széklettel távozó sejtekből izolált DNS átfogó képet nyújthat a vastagbél felszínéről. A széklet-DNS segítségével APC, k-ras és p53 gének pontmutációi és mikroszatellita-instabilitás jelenléte igazolható. Ha a teszt pozitív, vastagbélűkrözés szükséges. Szenzitivitása négyszer nagyobb, mint a széklet okkult vérkimutatási tesztnek (PreGen-Plus, EXACT Sciences). Ezzel a nem invazív módszerrel egyszeri minta is elegendő, előkészítést és diétát nem igényel. Költséghatékonysága ma még nem ismert, és az sem, hogy milyen időszakonként érdemes alkalmazni. Hazánkban ilyen típusú teszteket még nem alkalmaznak.

## Szabad DNS

Az elmúlt években nagy érdeklődés bontakozott ki a vastagbél-daganat korai kimutatására, perifériásvér-alapú molekuláris biomarkerek felfedezésére.

Számos tanulmány foglalkozik a daganatos betegek plazmájában keringő szabad DNS-sel. A DNS vérbe jutásának módja még nem ismert, de több feltevés is született. Az egyik szerint apoptózis vagy nekrozis hatására a daganatos szövetből felszabadult DNS jut a vérbe, vagy maguk a sejtek lépnek be a véráramba, ahol feloldódnak, és a vérben DNS szabadul fel belőlük. A makrofágok szerepe feltehetőleg fontos abban, hogy a DNS a sejtekből a véráramba jusson. A másik elmélet szerint az elsődle-

ges tumorból felszabaduló ép sejtek lépnek be a véráramba. A biomarkerként használható keringő DNS előnye az, hogy mérése nem invazív módszerrel történik, könnyen kimutatható és évekig megőrzi állandóságát (1. ábra) [1].

A sejten kívül keringő, szabad DNS-molekulák kimutatásáról először 1948-ban Mandel és mtsa számolt be. Vizsgálatuk nem vált széles körben ismertté. A későbbi tanulmányokban autoimmun betegségekben, rheumatoid arthritisben vagy szisztémás lupus erythematosusban (SLE) szenvedők szérumában nagy mennyiségű keringő DNS jelenlétét írták le. Ezen egyszerű DNS-molekulák (ssDNA) elleni ellenanyagok (anti-DNS) termelődését feltételezték [9, 10].

1975-ben Steinman egészséges humán plazmában és szérumban hasonlította össze a szabad DNS mennyiségét. Eredményei azt mutatták, hogy a plazmában mérhetően alacsony a DNS-szint, míg szérumban magasabb. Így a plazmában mért DNS-mennyiséget kórosnak értelmezte [11].

Anker és mtsai a szabad DNS eredetét vizsgálva megfigyelték, hogy humán lymphocyták indukálás nélkül in vitro DNS-t bocsátanak környezetükbe. Ez a DNS feltételezésük szerint nem az elpusztult sejtekből származik, mivel mennyisége nem függött össze sem a sejtpusztulás arányával, sem a tenyésztési idő hosszával [12].

A keringő szabad DNS és a daganatok közti összefüggést elsőként Leon és kutatócsoportja vizsgálta 1977-ben. Százhetvenhárom daganatos (tüdő-, emlő-, vastagbél-, fej-nyak, központi idegrendszeri, genitális, urológiai daganat, leukémia) és 55 egészséges egyén szérumának szabad-DNS-szintjét hasonlították össze radioimmunassayvel (RIA). Az egészségesek szérumának DNS-tartalma 0–50 ng/ml közötti volt, míg a daganatos betegek szabad-DNS-szintje részben az egészséges tartományba esett, részben ennél nagyobb volt (50–5000 ng/ml). A mért DNS-mennyiség és a daganat mérete, helye között nem találtak összefüggést, viszont áttét eseteiben nagyobb szabad-DNS-szintet észleltek. Sugárkezelést követően a szabad-DNS-szint csökkent, amelyet a kezelés hatására javult klinikai feltételeknek – mint a csökkent tumorméret és a fájdalom – tulajdonítottak (2. ábra) [13]. Stroun és mtsai a plazmában található szabad DNS mennyisége és a malignitás közötti összefüggést vizsgálták. Tanulmányukban 37 daganatos beteg plazmájában mutattak ki keringő DNS-molekulát, 450–36000 ng/ml koncentrációban, míg 50 egészséges plazmájában nem találtak szabad DNS-t [14]. Boni és mtsai 67 vastagbél-daganatos és 67 egészséges személy plazmájából izolált DNS mennyisége között jelentős (szignifikáns) különbséget tapasztaltak. Az ép plazmaminták átlagos DNS-mennyisége 0,85 ng/ml, míg a daganatos mintáké 4771 ng/ml volt [7].

A vérben keringő szabad DNS mennyiségén túl az extracelluláris DNS eredete került a figyelem középpontjába. Morozkin és mtsai azt tapasztalták, hogy a leukocyták és a humán köldökzsinórsejtek képesek DNS-t

szekretálni a sejtproliferáció előtt és annak kezdeti szakaszában is [15]. *Vlassov és mtsai* az extracelluláris DNS eredetét keresték. Feltételezésük szerint a szabad DNS legnagyobb része apoptózis során kerül a keringésbe. Ez azonban nem magyarázza meg azt, hogy a daganatos betegek vérében miért nagyobb a DNS-szint, noha a daganatos megbetegedésekre az apoptotikus folyamatok gátlása a jellemző. Ezért azt feltételezik, hogy a daganatsejtek DNS-t szekretálnak. Erre abból is következtethetünk, hogy már a daganatok kezdeti szakaszában is, amikor nagyfokú apoptózis és nekrozis még nem jellemző, magasabb DNS-szint mutatható ki a vérben, mint a kontroll egészséges csoportban [16]. *Chen és mtsai* feltevése szerint a daganatsejtekből származó szabad DNS ép sejtekbe is beléphet, és átalakítja azokat, elősegítve ezzel szomszédos vagy távoli áttétek, esetleg egy másik elsődleges tumor kialakulását. Így tehát a daganat „fertőzésre” hajlamos lehet. A feltételezés további két pontja a kezelés, illetve a tumor spontán visszajelődése és a keringő szabad DNS közötti összefüggést magyarázza. Ha az ép keringő szabad DNS citokin-szekvenciát tartalmaz, a terápiás citokin termelése révén belső DNS vakcinaként viselkedhet. Ha azonban az ép szabad DNS nem mutált onkogén vagy tumorszuppresszorgén-szekvenciát tartalmaz, a daganat genommal való homológ rekombináció során a mutált onkogén vagy tumorszuppresszor gén is kieshet, ami a daganat spontán visszajelődéséhez vezethet [17].

A szabad-DNS-kutatások eredményei segítségünkre lehetnek számos daganat perifériásvér-alapú, nem invazív korai kórisméjének, valamint kórjóslati és utánkötéses vizsgálatának megteremtésében. Daganatos betegek plazmamintáiban, az elsődleges tumorban lévő szöveti DNS-re jellemző genetikai és epigenetikai eltérések mutathatók ki, így például az onkogének vagy a tumorszuppresszor gének mutációi, a mikroszatellita-módosulások vagy a hipermetiláció. Vastagbél-daganatban szenvedők véréből izolált DNS-ben a ras géncsalád mutációit, köztük a k-ras gén mutációját is kimutatták [18].

## DNS-metiláció

A keringő szabad DNS mennyiségi vizsgálatai a daganatok szűrésére nem eléggé érzékenyek, ezért olyan epigenetikai módosulás, a DNS-metiláció került az előtérbe, amely az egyes daganatokra érzékeny lehet.

A DNS-metiláció során metilcsoportok épülnek be a DNS nukleotid bázisaiba. Több metilációs célpont is létezik a DNS-en: az N-6 helyzetű adenin vagy az N-4 helyzetű citozin, de a leggyakoribb metilációs célpont a citozin bázisok 5. szénatomján található. A nukleotid bázisok metilációját a DNS-metiltransferázok (DNMT) segítik. Az eukaryotasejtekben 3 DNMT család található (1, 2 és 3). A DNMT1 és DNMT3 fehérjék egy katalizáló és egy szabályozó alegységből épülnek fel, míg a DNMT2 csak egy doménből, a katalizáló részből áll.

A metiláció katalitikus folyamatként megy végbe, ahol a metilcsoportot az AdoMet kofaktor vagy más néven S-adenozil-metionin nyújtja. Emlősökben a metiláció szinte kizárólag a CpG dinukleotid szekvencián megy végbe, ahol a citozinbázisokat guanin követi egy foszfátkötésen keresztül. Az evolúció során ezen CpG dinukleotidok előfordulási aránya csökkent, az emberi DNS-ben mintegy 5–10%. Azokat a területeket, ahol ezeknek a dinukleotidoknak aránya nagy, CpG-szigeteknek nevezük. Emlőssejtekben a DNS-metiláció szerepe fontos a normális embrionális fejlődésben és a daganatok kialakulásában. Az elmúlt években sok tanulmány vált ismertté a vastagbél-daganatok kialakulásának metilációs elméleteiről. A DNS-metilációs mintázat megváltozásának szerepe lehet a tumorok keletkezésében. A daganatok előrehaladásában (progressziójában) az általános genomális hipometiláció, a fokális hipermetiláció és a fokozott DNS-metiltransferáz-aktivitás is szerepet játszhat. A daganatos sejtekben gyakran előforduló hipometiláció pontos szerepe még nem tisztázott. A fokális hipermetiláció célpontja a gén promoterén található, ahol a CpG-szigetek ép, egészséges esetben nem metiláltak. A fokozott metiláció összefüggésbe hozható az átírás (transzkripció) gátlásával. A hipermetiláció a daganatok kialakulásában tehát úgy játszhat szerepet, hogy tumorszuppresszor gének átírását akadályozza. Egyes gének a demetiláció által részlegesen reaktiválódhatnak. Egészséges esetben a metilálatlan CpG-szigetek védve vannak a túlzott metilációs eseményektől. A daganatos sejtekben feltehetően a tartósan nagy DNS-metiltransferáz-aktivitás miatt ez a védelem már nem elégséges [19].

A daganatspecifikus DNS-metilációs mintázat kimutatására a metilációs-specifikus PCR alkalmas. Előnye az, hogy nem invazív, nem időigényes és bizonyos markerekre érzékenyen és fajlagosan végezhető. Hátránya, hogy biszulfítkonverziót igényel. Ezzel a kezeléssel a metilálatlan citozinbázisok uracillá történő átalakulása érhető el, míg a metiláltcitozin-bázisok változatlanok maradnak. PCR-rel ezt a szekvenciaváltozást észleljük. Technikai nehézségei közé tartozik az is, hogy időigényes és nem automatizálható, így szakképzett személyzetet igényel.

## Szeptincsalád

A septicincsalád az evolúció során fennmaradt, P-hurokkal rendelkező GTPáz szupercsaládba tartozó, GTP-kötő és filamentumképző fehérjék csoportja. Eredetileg az élesztőgombákban mutatták ki mint a sejtosztódási ciklus szabályozásában részt vevő molekulákat. Ma már azonban ismert, hogy magasabb rendű élőlényekben is megtalálhatók és több sejtfolyamatban is szerepet játszanak, így a sejtpolaritás meghatározásában, a citoskeleton átrendezésében, a membrándinamikában, a vezikulatranszportban és az exocitosisban. A septicinek a sejtosztódásban részt vevő sejtek közötti síkban, az úgynevezett osztódási barázdában helyezkednek el. Eddig

12 humán szeptin gén ismert. A SEPT2 és SEPT9 feltehetőleg a citokinesisben játszik szerepet, míg a SEPT5, SEPT6 és SEPT9 a tumorképződésben [20, 21].

A szeptingének a gerincesekben is fennmaradtak, sőt, számuk valószínűleg a génkettőződésnek köszönhetően növekedett. Ahogy az emlősökben, az emberekben is legalább 12 különböző szeptingén található meg, közülük néhány nélkülözhetetlen a mitózishoz, míg mások elsősorban a mitózis utáni eseményekben játszanak szerepet. A szeptinek emberben a diffúziós barrier kialakításán kívül részt vesznek a vezikulatranszportban, az apoptózisban és a sejtmozgásban is [22].

Számos szeptin mRNS-variánsai a különböző kihalítás (alternatív splicing) folyamán jönnek létre. A szeptin-9 gén 18 különböző transzkriptuma 15 polipeptidet kódol, hosszú (SEPT9\_v1, v2 és v3), közepes (SEPT9\_v5) és rövid formában (SEPT9\_v4). A szeptin-9 mRNS-változatai közül kettő ugyanazt a polipeptidet kódolja (SEPT9\_4 és SEPT9\_4\*). A 18 lehetséges variáns a következőképpen adódik: a szeptin-9 gén különböző kihalítása során 6, különböző 5' végű (alfa, béta, gamma, delta, epsilon és zéta) mRNS keletkezik, valamint a 12. exonon belüli kihalítás (splicing) tovább növeli a szeptin-9 gén mRNS-átíródásának (transzkripciójának) összetettségét 3 eltérő 3' nem átíródó szekvencia létrehozásával [23]. Ezen különböző mRNS-variánsok aránya változó a daganatokban. Ép sejtekben a v4 transzkriptum jelenléte jellemző, míg daganatokban a v4\* variáns a domináns [20, 24].

### Neurológiai eltérések

A humán szeptinek egy része az idegrendszerben expresszálódik, és alapvető szerepet játszik az exocitosisban és a vezikulatranszporton keresztül történő szekrécióban. Ez magyarázza a szeptinek és az idegrendszeri betegségek kapcsolatát. A SEPT1, a SEPT2 és a SEPT4 a tau-alapú helikális filamentumokhoz képes kötődni, ezáltal szerepük lehet az Alzheimer-betegségben jellemző neurofibrillaris plakkok kialakításában. A SEPT2 az exocitotikus komplex része, GTP-kötő képességének gátlása módosult neuritok képződéséhez vezet. Túlműködését kimutatták agydaganatokban. A SEPT5 a parkinsonizmussal és a Down-szindrómával hozható kapcsolatba. Autoszomális recesszív juvenilis parkinsonizmusban szenvedők agyszövetében felhalmozódását mutatták ki. SEPT5-hiányos egerekben észlelték, hogy ez a gén a normális fejlődéshez és sejtműködéshez nem szükséges. Idegi differenciációban fokozott SEPT3-működést tapasztaltak. Ezekre a szeptinekre a pszichogén gyógyszerek is hatással lehetnek [20].

A SEPT2/6/7 komplex a mikrotubulusok állandóságában (stabilizálásában) részt vevő MAP4 fehérjéhez (mikrotubulus-asszociált protein-4) kapcsolódhat. A SEPT2/6/7-tel komplexet alkotó MAP-4 nem képes a mikrotubulusok stabilizálására, tehát a szeptinek közvetett hatásúak lehetnek a mikrotubulusok stabilitására

és dinamikájára. A szeptin-MAP kapcsolódás magyarázat lehet a szeptinfehérjék Alzheimer-kórban betöltött szerepére, mivel a betegségben észlelt kóros tau-aggregátumokban is (amelyek szintén mikrotubulus-asszociált proteinek) megtalálhatóak bizonyos szeptinfehérjék [25].

### Daganatok

A szeptinfehérjék és a daganatok kapcsolatát számos tanulmányban leírták már (1. táblázat).

Számos szeptingén (SEPT5 [26], SEPT6 [27], SEPT9 [28, 29, 30] és az MLL (myeloid/lymphoid vagy mixed-lineage leukemia) reciprok áthelyeződését (transzlokációját) figyelték meg leukémiás betegek 11. kromoszómáján [20, 21]. Knock-in egérmockokban bizonyították, hogy az MLL és különböző génmarkerek fúziós fehérjei szerepet játszhatnak a leukémia kialakulásában. Ezeknek a fúziós onkogéneknek a bejuttatását követően egerekben leukémia fejlődött ki. Így az MLL/szeptin fúziós fehérje is részt vehet a tumorképzésben [31].

*Osaka és mtsai* akut myeloid leukémiás beteg leukémiás sejtjeiben t(11;17)(q23;q25) áthelyeződést mutattak ki. A fúzióban részt vevő másik gén vizsgálatával kiderült, hogy a szeptincsalád egyik tagjáról van szó, amelyet MSF-nek (MLL septin-like fusion) vagy más néven szeptin-9-nek neveznek. A leukémiában MLL-lel fúziós fehérjét alkotó szeptin-9 gén a 17. kromoszómán helyezkedik el [28].

Egy másik kutatócsoport szintén a t(11;17)(q23;q25) áthelyeződést vizsgálta akut myeloid leukémiás betegekben. A 17. kromoszómán kimutattak egy MLL-lel fuzionáló, AF17q25 fehérjét, amely számos szeptinfehérjével azonos, mint például a szeptin-2, a szeptin-4 és a szeptin-7. Eredményeik szerint az AF17q25 olyan szeptincsaládot jelent, amely részt vesz a 11q23-asszociált leukémia kialakulásában [29]. A szeptinfehérjék szerepét számos más betegségben, így például myelodysplasiás szindrómában [32] és örökletes neuralgikus amyotrophiában [33] is vizsgálták.

*Sorensen és mtsai* állatkísérletekben igazolták, hogy az SL-3 retrovírus képes a szeptin-9 gén 5' végéhez illeszkedni (integrálódni) [a szeptin-9-et korábban Sint1-nek (SL3-3 integration site 1) is nevezték]. A retrovírus-beépüléssel kapcsolatba hozható egértumorok adatbázisának felhasználásával megállapítható, hogy a fenti hely jól meghatározott onkogénbeépülési hely [34].

A szeptinfehérjék szerepét malignus agydaganatokban is kimutatták. A szeptin-2 fokozott expresszióját az összes vizsgált agydaganatmintában és -sejtvonalban kimutatták, leginkább az osztódási ciklus G2 fázisában. Mutáns szeptin-2-fehérje jelenlétében az astrocytomasejtek G2-M sejtciklus gátlását figyelték meg. A szeptin-3 expresszióját medulloblastomákban észlelték, míg astrocytomákban nem [35].

*Tanaka és mtsai* a szeptin-4 expresszióját vizsgálták urológiai daganatokban. Monoklonális antitesteket hasz-

1. táblázat | A szeptinféhrjék és a daganatok kapcsolatáról megjelent közlemények

Tanulmány	Megjelenés éve	Daganat típusa
Russell és mtsai, Oncogene	1990	Petefészek- és emlődaganat
Corral és mtsai, Cell [31]	1996	Leukémia
Megonigal és mtsai, Proc. Natl. Acad. Sci. USA	1998	Leukémia
Taki és mtsai, Cancer Res. [29]	1999	Leukémia
Osaka és mtsai, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [28]	1999	Leukémia
Kalikin és mtsai, Genomics [38]	2000	Petefészek- és emlődaganat
Russell és mtsai, Cancer Res. [37]	2000	Petefészek- és emlődaganat
Ayton és mtsai, Oncogene	2001	Leukémia
Tatsumi és mtsai, Genes Chromosomes Cancer [26]	2001	Leukémia
Borkhardt és mtsai, Genes Chromosomes Cancer	2002	Leukémia
Ono és mtsai, Cancer Res.	2002	Leukémia
Slater és mtsai, Oncogene	2002	Leukémia
Yamamoto és mtsai, Int. J. Hematol.	2002	Leukémia
Kim és mtsai, Genes Chromosomes Cancer [27]	2003	Leukémia
Fu és mtsai, Genes Chromosomes Cancer	2003	Leukémia
So és mtsai, Cancer Cell	2003	Leukémia
Hsu és mtsai, Cancer Cell	2003	Leukémia
Burrows és mtsai, J. Pathol. [39]	2003	Petefészek-daganat
Montagna és mtsai, Cancer Res. [42]	2003	Emlődaganat
Tanaka és mtsai, Med. Sci. Monit. [36]	2003	Urológiai daganatok
Kojima és mtsai, Leukemia [30]	2004	Leukémia
Kim és mtsai, Neoplasia [35]	2004	Agydaganatok
Ebert és mtsai, Gastroenterology [43]	2006	Vastagbélrák
Gonzalez és mtsai, Cancer Res. [41]	2007	Emlődaganat
Model és mtsai, Mol. Cancer Res. [44]	2007	Vastagbélrák
Lofton-Day és mtsai, Clin. Chem. [45]	2008	Vastagbélrák
Grützmann és mtsai, PLoS ONE [46]	2008	Vastagbélrák

nálva fehérrjékimutatást végeztek vizeletből. Több mint 70%-os pozitívítást észleltek prosztatá-, húgyhólyag- és vesedaganatos betegekben. A daganatra fajlagos szeptin-4-expresszió kimutatása biztonságos, gazdaságos és gyors szűrőmódszer lehet [36].

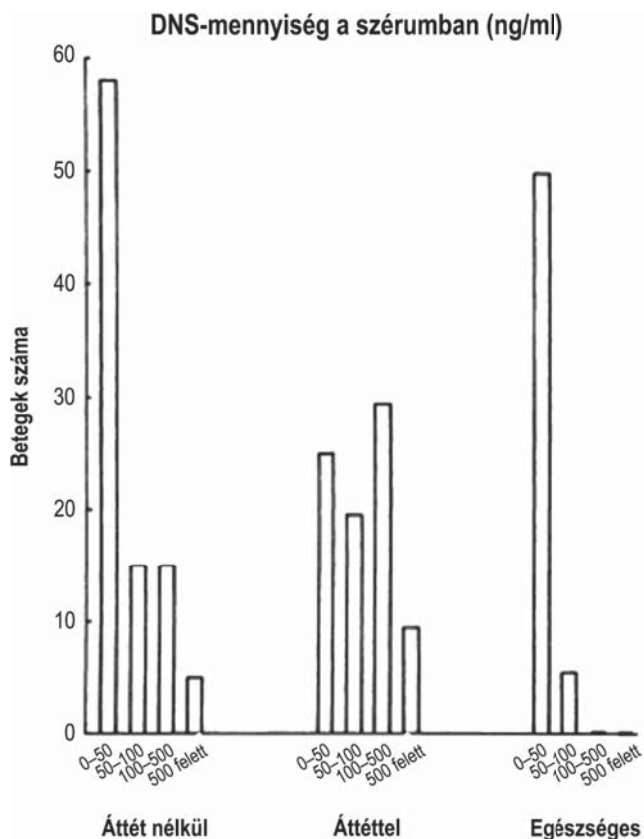
*Russell és mtsai* petefészek-daganatokban vizsgálták az allélvesztések gyakoriságát. A 17-es kromoszóma hosszú karján a daganatok körülbelül 77%-ban mutattak ki teljes vagy részleges allélvesztést. Ugyanezen kromoszóma rövid karján 31%-ban mutattak ki ilyen eltéréseket. Ezért a 17. kromoszómán található szeptin-9 gént Ovarian/Breast (Ov/Br) szeptingénnek nevezték el [37].

*Kalikin és mtsai* is kimutatták, hogy a kromoszómális régió, ahol az MSF-et (szeptin-9-et) kódoló gén található, hiányzik néhány petefészek- és emlődaganatban. A különböző daganatokban való kiesése (deletiója) miatt feltételezhető, hogy a szeptin-9 tumorszuppresszor géneként viselkedik [38]. A szeptin-9 gén és a petefészek-, illetve emlődaganatok kapcsolatáról számos más tanulmány is megjelent. Sporadikus ovarium- és emlődaga-

natokban a 17. kromoszóma 17q25.3 régiójában gyakori a génkiesés. Mutációkat nem észleltek a SEPT9 nyitott leolvasási keretben, de SEPT9-expressziós különbségeket mutattak ki egér- és humán tumorokban. Néhány SEPT9 mRNS-változat metiláció miatt mutat csökkent expressziót a daganatsejtekben [20].

*Burrows és mtsai* a szeptin-9 gén mRNS-variánsainak megváltozott expresszióját figyelték meg petefészek-daganatokban és -sejtvonalakon. A szeptin-9 gén zéta-típusú mRNS-e a tumorok nagy részében kimutatható volt. Azt is megállapították, hogy a béta-transzkriptum expressziója 5-azacitidin-kezeléssel újra aktiválható tumoros sejtvonalakban, ami a szeptin-9 gén expressziójának DNS-metiláció általi szabályozására utal [39].

A szeptin-9-mRNS-variánsok expressziójának szintjéről petefészek-daganatokban más tanulmányok is születtek. *Scott és mtsai* a SEPT\_v1 és a SEPT\_v4\* fokozott működését figyelték meg petefészekrákos epitheliumban. Legnagyobb expressziós szintet a serosus és mucinosus borderline tumorokban észleltek, a SEPT\_1 serosus és



2. ábra A szérumban szabad-DNS-mennyisége daganatos megbetegedésekben. Metasztatikus és távoli szervei áttéttel nem rendelkező daganatos (tüdő-, emlő-, vastagbél-, fej-nyak, központi idegrendszeri, genitális, urológiai daganat, leukémia) betegek szérumban-DNS-mennyisége egészségesekkel összehasonlítva. A csoportonkénti legnagyobb mennyiség 500–5000 ng/ml közötti [13]

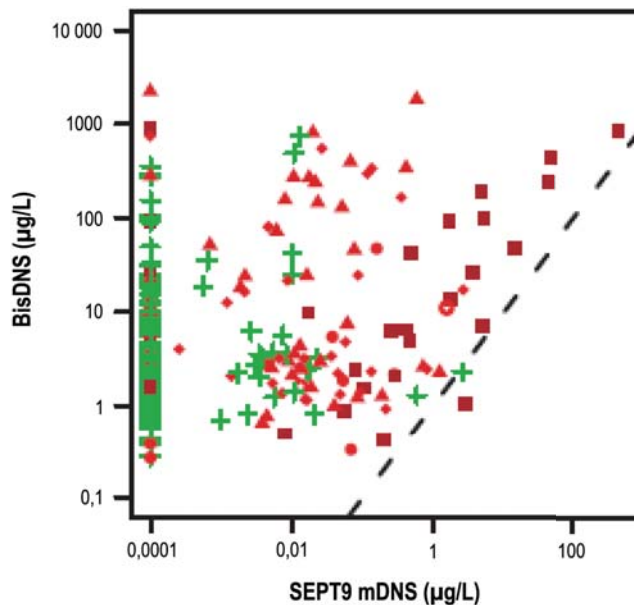
mucinosus carcinomákban is erősen expresszálódott [40].

A szeptin-9-variánsok expresszióját emlődaganatban is vizsgálták. *Gonzalez és mtsai* a SEPT9\_v1 variáns fokozott expresszióját figyelték meg emlődaganatsejtekben. E variáns fokozott szintjét elsődleges emlődaganatmintákban is kimutatták immunhisztokémiai vizsgálatokkal [41].

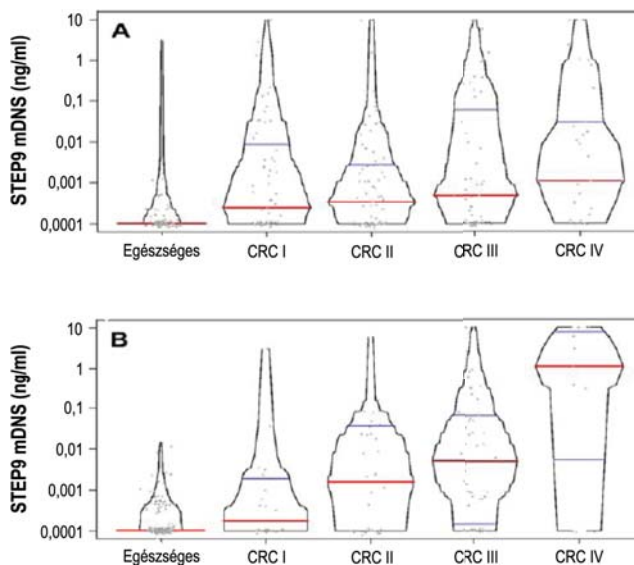
*Montagna és mtsai* emlődaganatos egérmodellekben a szeptin-9 gén fokozott működését tapasztalták, és 9 humán mellrákos sejtvonalból 6-ban észleltek magas szeptin-9-expressziós szintet [42].

### Szeptin-9

A szeptin-fehérjecsald tagjai közül a szeptin-9-nek kiemelten fontos szerepe lehet a különböző betegségek kialakulásában. Erre utal az, hogy az emlő- és az ováriumtumorokban fokozott az expressziója, és AML-ben az MLL-lel alkot fúziós fehérjét. Ezért fontos a különböző fehérjék és a szeptin-9 közötti kapcsolat vizsgálata, továbbá működésének értelmezése.



3. ábra Biszulfít-konvertált DNS és a metilált szeptin-9 DNS összefüggése plazmamintákban. Zöld kereszt: egészségesek, piros pont: I. stádiumú CRC, piros rombusz: II. stádiumú CRC, piros háromszög: III. stádiumú CRC, piros négyszög: IV. stádiumú CRC [45]



4. ábra A metilált szeptin-9 koncentrációja egészségesek és vastagbélrákos betegek plazmájában. A piros vonal az átlagos DNS-koncentrációt, a kék vonalak a 25 és a 75%-os DNS-koncentrációkat jelentik. A szürke pontok az egyes méréseket ábrázolják [46]

### Szeptin-9 és a vastagbél-daganat

*Ebert és Model* metilációs vizsgálatokkal összehasonlították egészséges, hiperplastikus polippal rendelkező, adenomás és vastagbél-daganatos betegek szöveti és plazmamintáiból a vérplazma és a szöveti metilációs mintázatokat. *Ebert és mtsai* az ALX4 homeobox gén fokozott metilációját mutatták ki vastagbélrákos szöveti és plazmamintákban. *Model és mtsai* a vastagbél-daganatos bete-

gekben fokozott metilációjú markergéncsoportot azonosítottak. Ezek segítségével különbséget mutattak ki az egészséges és a korai daganatos elváltozások között [43, 44].

*Lofton-Day és mtsai* vastagbél-daganatos és egészséges szövetminták metilációs mintázatának meghatározására restrikciósenzim-alapú módszert alkalmaztak, amelynek eredményeként 56 jellemző metilációs változást azonosítottak. Ezt microarray és/vagy valós idejű PCR-vizsgálatokkal 6-ra szűkítették. Ebből a 6 megváltozott metilációjú génből 3-at (TMEFF2, NGFR, SEPT9) erősítették meg 133 vastagbél-daganatos és 179 egészséges egyén plazmamintáin. A legjobb eredményeket a SEPT9 mutatta, amelynek metilációját a vastagbélrákos minták 69%-ában észlelték, míg az egészséges kontrollminták 86%-ában nem mutattak ki szeptin-9-metilációt (3. ábra) [45].

*Grützmann és mtsai* a szeptin-9-metilációt vastagbélrákos betegek plazmájából izolált DNS-en vizsgálták. A klinikai vizsgálatok beállításához 102 kontroll, 117 polipos és 252 vastagbélrákos plazmamintát használtak, az eredmények megerősítését pedig 183 kontroll, 51 polipos (34 1 cm-nél kisebb, 17 1 cm-es vagy annál nagyobb) és 126 CRC-s plazmából álló független mintacsoporton végezték. Négyszáztizenegy, nem vastagbélbetegségben szenvedő (például hasnyálmirigy-, húgyhólyag- vagy tüdődaganat, illetve gastritis, 2-es típusú cukorbetegség, pancreatitis) beteg plazmáját is megvizsgálták. A validált egészséges minták 10%-a (18/183), az 1 cm-es vagy annál nagyobb polipok 18%-a (3/17) és a vastagbélrákos minták 72%-a (90/126) mutatott pozitívítást. A CRC-s mintákban a betegség előrehaladtával egyre nagyobb szeptin-9-hipermetilációs arányt figyeltek meg (I. stádium 50%, II. stádium 69%, III. stádium 79%, IV. stádium 91%). Más daganatos betegségben szenvedők (11/96) és a nem daganatos betegek (41/315) plazmamintáiban a szeptin-9-hipermetiláció csökkent volt (4. ábra) [46].

## Következtetés

A DNS-mutációk felfedezésével a molekuláris biológia szerepe fokozódott a daganatkutatásban, és ma is intenzív vizsgálatok folynak a daganatok molekuláris hátterének felderítésére. Ezáltal a korai stádiumú daganatok felismerése válhat valóra, és így a személyre szabott, célzott kezelésre is több lehetőség adódik.

A keringő szabad DNS kimutatásával új lehetőség nyílt a daganatkutatásban. Segítségével a diagnosztikai beavatkozások invazivitását csökkenthetjük. A DNS-metilációs vizsgálatokkal olyan epigenetikai változásokra derülhet fény, amelyek a daganatok kialakulásában fontos szerepet játszanak, és a markergének metilációs státusának vérből történő meghatározásával korai diagnosztikai szűrőmódszert fejleszthetünk ki. A jövőben a DNS-metilációs vizsgálatokhoz szükséges biszulfidkezelés automatizálásával a klinikai gyakorlatban is elér-

hetővé válhat egy új, pontos daganatfajlagos DNS-metilációs változásokat kimutató diagnosztikai módszer.

## Irodalom

- [1] *Gormally, E., Caboux, E., Vineis, P. és mtsai*: Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutat. Res.*, 2007, 635, 105–117.
- [2] *Péter Z., Tulassay Zs.*: A kolonoszkópia a vatagbél-szűrés elsődleges módszere. *Orv. Hetil.*, 2009, 150, 299–304.
- [3] *Calvert, P. M., Frucht, H.*: The genetics of colorectal cancer. *Ann. Intern. Med.*, 2002, 137, 603–612.
- [4] *Grady, W. M., Markowitz, S. D.*: Genetic and epigenetic alterations in colon cancer. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2002, 3, 101–128.
- [5] *Kahlenberg, M. S., Sullivan, J. M., Witmer, D. D. és mtsai*: Molecular prognostics in colorectal cancer. *Surg. Oncol.*, 2003, 12, 173–186.
- [6] *Leslie, A., Carey, F. A., Pratt, N. R. és mtsai*: The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br. J. Surg.*, 2002, 89, 845–860.
- [7] *Boni, L., Cassinotti, E., Canziani, M. és mtsai*: Free circulating DNA as possible tumour marker in colorectal cancer. *Surg. Oncol.*, 2007, 16, 29–31.
- [8] *Jass, J. R., Walsh, M. D., Barker, M. és mtsai*: Distinction between familial and sporadic forms of colorectal cancer showing DNA microsatellite instability. *Eur. J. Cancer*, 2002, 38, 858–866.
- [9] *Tong, Y. K., Lo, Y. M.*: Diagnostic developments involving cell-free (circulating) nucleic acids. *Clin. Chim. Acta.*, 2006, 363, 187–196.
- [10] *Seligmann, M.*: Demonstration in the blood of patients with disseminated lupus erythematosus a substance determining a precipitation reaction with desoxyribonucleic acid. *C. R. Hebd. Seances. Acad. Sci.*, 1957, 245, 243–245.
- [11] *Steinman, C. R.*: Free DNA in serum and plasma from normal adults. *J. Clin. Invest.*, 1975, 56, 512–515.
- [12] *Anker, P., Stroun, M., Maurice, P. A.*: Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes as shown in an in vitro system. *Cancer Res.*, 1975, 35, 2375–2382.
- [13] *Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M. és mtsai*: Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.*, 1977, 37, 646–650.
- [14] *Stroun, M., Anker, P., Lyautey, J. és mtsai*: Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1987, 23, 707–712.
- [15] *Morozkin, E. S., Laktionov, P. P., Rykova, E. Y. és mtsai*: Extracellular nucleic acids in cultures of long-term cultivated eukaryotic cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2004, 1022, 244–249.
- [16] *Vlassov, V. V., Laktionov, P. P., Rykova, E. Y.*: Extracellular nucleic acids. *Bioessays*, 2007, 29, 654–667.
- [17] *Chen, Z., Fadiel, A., Naftolin, F. és mtsai*: Circulation DNA: biological implications for cancer metastasis and immunology. *Med. Hypotheses*, 2005, 65, 956–961.
- [18] *Anker, P., Mulcahy, H., Chen, X. Q. és mtsai*: Detection of circulating tumour DNA in the blood (plasma/serum) of cancer patients. *Cancer Metastasis Rev.*, 1999, 18, 65–73.
- [19] *Siedlecki, P., Zielenkiewicz, P.*: Mammalian DNA methyltransferases. *Acta Biochim. Pol.*, 2006, 53, 245–256.
- [20] *Hall, P. A., Russell, S. E.*: The pathobiology of the septin gene family. *J. Pathol.*, 2004, 204, 489–505.
- [21] *Kartmann, B., Roth, D.*: Novel roles for mammalian septins: from vesicle trafficking to oncogenesis. *J. Cell Sci.*, 2001, 114, 839–844.
- [22] *Pan, F., Malmberg, R. L., Momany, M.*: Analysis of septins across kingdoms reveals orthology and new motifs. *BMC Evol. Biol.*, 2007, 7, 103.



- [23] *McIlhatton, M. A., Burrows, J. F., Donaghy, P. G. és mtsai:* Genomic organization, complex splicing pattern and expression of a human septin gene on chromosome 17q25.3. *Oncogene*, 2001, 20, 5930–5939.
- [24] *McDade, S. S., Hall, P. A., Russell, S. E.:* Translational control of SEPT9 isoforms is perturbed in disease. *Hum. Mol. Genet.*, 2007, 16, 742–752.
- [25] *Kinoshita, M.:* Diversity of septin scaffolds. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2006, 18, 54–60.
- [26] *Tatsumi, K., Taki, T., Taniwaki, M. és mtsai:* The CDCREL1 gene fused to MLL in de novo acute myeloid leukemia with t(11;22)(q23;q11.2) and its frequent expression in myeloid leukemia cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*, 2001, 30, 230–235.
- [27] *Kim, H. J., Ki, C. S., Park, Q. és mtsai:* MLL/SEPTIN6 chimeric transcript from inv ins(X;11)(q24;q23q13) in acute monocytic leukemia: report of a case and review of the literature. *Genes Chromosomes Cancer*, 2003, 38, 8–12.
- [28] *Osaka, M., Rowley, J. D., Zeleznik-Le, N. J.:* MSF (MLL septin-like fusion), a fusion partner gene of MLL, in a therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;17)(q23;q25). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 6428–6433.
- [29] *Taki, T., Ohmishi, H., Shimohara, K. és mtsai:* AF17q25, a putative septin family gene, fuses the MLL gene in acute myeloid leukemia with t(11;17)(q23;q25). *Cancer Res.*, 1999, 59, 4261–4265.
- [30] *Kojima, K., Sakai, I., Hasegawa, A. és mtsai:* FLJ10849, a septin family gene, fuses MLL in a novel leukemia cell line CNLB1 derived from chronic neutrophilic leukemia in transformation with t(4;11)(q21;q23). *Leukemia*, 2004, 18, 998–1005.
- [31] *Corral, J., Lavenir, I., Impey, H. és mtsai:* An Mll-AF9 fusion gene made by homologous recombination causes acute leukemia in chimeric mice: a method to create fusion oncogenes. *Cell*, 1996, 85, 853–861.
- [32] *Kreuziger, L. M., Porcher, J. C., Ketterling, R. P. és mtsai:* An MLL-SEPT9 fusion and t(11;17)(q23;q25) associated with de novo myelodysplastic syndrome. *Leuk. Res.*, 2007, 31, 1145–1148.
- [33] *Kublenbäumer, G., Hannibal, M. C., Nelis, E. és mtsai:* Mutations in SEPT9 cause hereditary neuralgic amyotrophy. *Nat. Genet.*, 2005, 37, 1044–1046.
- [34] *Sorensen, A. B., Lund, A. H., Ethelberg, S. és mtsai:* Sint1, a common integration site in SL3-3-induced T-cell lymphomas, harbors a putative proto-oncogene with homology to the septin gene family. *J. Virol.*, 2000, 74, 2161–2168.
- [35] *Kim, D. S., Hubbard, S. L., Pevaud, A. és mtsai:* Analysis of mammalian septin expression in human malignant brain tumors. *Neoplasia*, 2004, 6, 168–178.
- [36] *Tanaka, M., Tanaka, T., Matsuzaki, S. és mtsai:* Rapid and quantitative detection of human septin family Bradeion as a practical diagnostic method of colorectal and urologic cancers. *Med. Sci. Monit.*, 2003, 9, 61–68.
- [37] *Russell, S. E., McIlhatton, M. A., Burrows, J. F. és mtsai:* Isolation and mapping of a human septin gene to a region on chromosome 17q, commonly deleted in sporadic epithelial ovarian tumors. *Cancer Res.*, 2000, 60, 4729–4734.
- [38] *Kalikin, L. M., Sims, H. L., Petty, E. M.:* Genomic and expression analyses of alternatively spliced transcripts of the MLL septin-like fusion gene (MSF) that map to a 17q25 region of loss in breast and ovarian tumors. *Genomics*, 2000, 63, 165–172.
- [39] *Burrows, J. F., Chanduloy, S., McIlhatton, M. A. és mtsai:* Altered expression of the septin gene, SEPT9, in ovarian neoplasia. *J. Pathol.*, 2003, 201, 581–588.
- [40] *Scott, M., McCluggage, W. G., Hillan, K. J. és mtsai:* Altered patterns of transcription of the septin gene, SEPT9, in ovarian tumorigenesis. *Int. J. Cancer*, 2006, 118, 1325–1329.
- [41] *Gonzalez, M. E., Peterson, E. A., Privette, L. M. és mtsai:* High SEPT9\_v1 expression in human breast cancer cells is associated with oncogenic phenotypes. *Cancer Res.*, 2007, 67, 8554–8564.
- [42] *Montagna, C., Lyu, M. S., Hunter, K. és mtsai:* The Septin 9 (MSF) gene is amplified and overexpressed in mouse mammary gland adenocarcinomas and human breast cancer cell lines. *Cancer Res.*, 2003, 63, 2179–2187.
- [43] *Ebert, M. P., Model, F., Mooney, S. és mtsai:* Aristaless-like homeobox-4 gene methylation is a potential marker for colorectal adenocarcinomas. *Gastroenterology*, 2006, 131, 1418–1430.
- [44] *Model, F., Osborn, N., Ablquist, D. és mtsai:* Identification and validation of colorectal neoplasia-specific methylation markers for accurate classification of disease. *Mol. Cancer Res.*, 2007, 5, 153–163.
- [45] *Lofston-Day, C., Model, F., Devos, T. és mtsai:* DNA methylation biomarkers for blood-based colorectal cancer screening. *Clin. Chem.*, 2008, 54, 414–423.
- [46] *Grützmann, R., Molnar, B., Pilarsky, C. és mtsai:* Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PLoS ONE*, 2008, 3, 3759.

(Tóth Kinga dr.,  
Budapest, Szentkirályi u. 46., 1088  
e-mail: drtothkinga@yahoo.com)

„Nem a baktériumok pusztája jelenléte, hanem a szervezet (szövetek és szervek) abnormális formái és reakciói eredményezik azt, amit betegségnek nevezünk”

(Ottomar Rosenbach)