

Received: 27.07.2017
Accepted: 30.01.2018
Published: 18.06.2018

Wybrane uwarunkowania genetyczne zapadalności na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi z uwzględnieniem niektórych genów kontroli cyklu komórkowego i naprawy DNA

Selected genetic determinants of head and neck squamous cell carcinoma including of some genes for cell cycle control and DNA repair

Karolina Gołąbek, Jadwiga Gaździcka, Zofia Ostrowska

Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Streszczenie

Raki płaskonabłonkowe narządów głowy i szyi, występujące w różnych strukturach anatomicznych, w tym w jamie ustnej, gardle i krtani, stają się poważnym problemem klinicznym ze względu na wciąż rosnącą liczbę zachorowań, jak i trudności w leczeniu pacjentów. Wśród czynników ryzyka związanych z tą grupą nowotworów dobrze opisano czynniki egzogenne, takie jak: ekspozycja na kancerogeny obecne w dymie tytoniowym, spożywanie alkoholu, niewłaściwe nawyki dietetyczne, nieprawidłowa higiena jamy ustnej, jak i zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego oraz wirusem Epsteina-Barr. Drugą grupą potencjalnych czynników ryzyka są czynniki endogenne, do których należą m.in. uwarunkowania genetyczne i zaburzenia funkcjonowania układu immunologicznego. Od niedawna, ze względu na rozwój technik z zakresu biologii molekularnej, tematem badań stały się polimorfizmy licznych genów kodujących białka o różnych funkcjach. W artykule omówiono problemy związane z podłożem molekularnym rozwoju raka płaskonabłonkowego narządów głowy i szyi. Skupiono się zwłaszcza na polimorfizmach pojedynczego nukleotydu i mutacjach genów uczestniczących w kontroli cyklu komórkowego (*TP53*, *p73*, *CDKN1A*, *CDKN2A*, *MDM2*, *E2F1*, *E2F2* i *EGFR*) oraz w różnych mechanizmach naprawy DNA (*XPA*, *XPB*, *XPC*, *XPD*, *XPF*, *XPG*, *ERCC1*, *OGG1*, *XRCC1*, *NBS1*, *RAD51*, *BRCA2*, *XRCC2*, *XRCC3*, *XRCC5* i *XRCC6*). Przedstawione wyniki badań wskazują na niejednorodny obraz uwarunkowań genetycznych nowotworów głowy i szyi. Można jednak zauważyć, że wystąpienie tylko jednego polimorfizmu konkretnego genu w umiarkowanym stopniu wpływało na patogenezę omawianych nowotworów. Dopiero jednoczesne współistnienie kilku polimorfizmów zwiększa ryzyko zachorowania w istotny sposób. Jednak, niezaprzeczalnie należy stwierdzić, że poruszane zagadnienia powinny podlegać dalszym analizom.

Słowa kluczowe:

rak płaskonabłonkowy • SNP • cykl komórkowy • naprawa DNA

Summary

The head and neck squamous cell carcinoma, which are located in different anatomical structures like: oral cavity, throat and larynx, are becoming a major clinical problem due to the ever increasing number of cases and also due to difficulty with treating patients. Among the risks factors associated with that group of cancers the exogenous factors such as: exposure to carcinogens in tobacco smoke, alcohol abuse, impropriety dietary habits, poor oral hygiene

as well as infection with the human papillomavirus and infection with Epstein-Barr virus, are well-known and had been described. The second potential group of the risk factors are endogenous factors such as genetic predisposition and disorder immune system. Recently, in view of technical progress of molecular biology, the aim of researches became the polymorphisms the most of genes encoding proteins with a wide variety of functions. In the present study we comprehensively discussed the problems associated with the molecular basis of development the head and neck squamous-cell carcinoma. More specifically, this study investigated the single nucleotide polymorphisms and mutations of genes involved in cell cycle control (*TP53*, *p73*, *CDKN1A*, *CDKN2A*, *MDM2*, *E2F1*, *E2F2* and *EGFR*) and in different pathways of DNA repair (*XPA*, *XPB*, *XPC*, *XPD*, *XPF*, *XPG*, *ERCC1*, *OGG1*, *XRCC1*, *NBS1*, *RAD51*, *BRCA2*, *XRCC2*, *XRCC3*, *XRCC5* and *XRCC6*). The results of studies indicate a mixed picture of genetic predisposition of the head and neck cancers. Nevertheless, it can be observed that a single polymorphism of specific gene moderately influence on the pathogenesis of that cancers. Commonly, coexistence of few polymorphism at the same time may increase the cancer risk significantly. It is undeniable that the issues discussed in that article should be the subject of further analysis.

Keywords: HNSCC • SNP • cell cycle • DNA repair

GICID 01.3001.0012.1150
DOI: 10.5604/01.3001.0012.1150
Word count: 4998
Tables: –
Figures: 3
References: 89

Adres autorki: dr n. med. Karolina Gołąbek, Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jordana 19, 41-808 Zabrze-Rokitnica; e-mail: kgołabek@sum.edu.pl

Wykaz skrótów: **A** – adenina; **AP** – miejsce apurynowe; **Arg** – arginina; **Asn** – asparagina; **BAX** – białko związane z Bcl2 (Bcl-2-associated X protein); **BER** – naprawa DNA przez wycinanie zasad (base excision repair); **C** – cytozyna; **CDK4/6** – kinazy zależne od cyklin (cyclin-dependent kinases 4/6); **CDKN1A** – inhibitor kinaz zależnych od cyklin 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A); **CDKN2A** – inhibitor kinaz zależnych od cyklin 2A (cyclin dependent kinase inhibitor 2A, P16-INK4A); **Cys** – cysteina; **D1-CDK4/6** – kompleks cykliny D1 z kinazami cyklinozależnymi 4 i 6; **DSBs** – podwójne pęknięcia DNA (double-strand breaks); **DR5/KILLER** – receptor śmierci 5 (death receptor 5); **EBV** – wirus Epsteina-Barr (Epstein-Barr virus); **EGF** – nabłonkowy (naskórkowy) czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **EGFR** – receptor nabłonkowego (naskórkowego) czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor); **ERCC** – grupa białek szlaku NER (excision repair cross-complementing); **ERCC1** – białko naprawy DNA w szlaku NER (excision repair cross-complementation group 1); **G** – guanina; **GADD45** – białko zatrzymania cyklu komórkowego indukowane uszkodzeniem (DNA growth arrest and DNA damage inducible gene); **Gln** – glutamina; **Gly** – glicyna; **HNSCC** – rak płaskonabłonkowy głowy i szyi (head and neck squamous cell carcinoma); **HPV** – wirus brodawczaka ludzkiego (human papilloma virus); **HR** – rekombinacja homologiczna (homological recombination); **IHC** – metoda immunohistochemii (immunohistochemistry); **Leu** – leucyna; **Met** – metionina; **MDM2** – murine double minute 2; **MMR** – naprawa niesparowanych zasad (mismatch repair); **NER** – naprawa DNA przez wycinanie nukleotydów (nucleotide excision repair); **NHEJ** – łączenie niehomologicznych zakończeń (non homologous end joining); **PCNA** – jądrowy antygen komórek proliferujących (proliferating cell nuclear antigen); **Pro** – prolina; **PUMA** – białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (p53-upregulated modulator of apoptosis); **Ser** – seryna; **SNP** – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism); **T** – tymina; **TFIIH** – czynnik transkrypcyjny (transcription factor II human); **Thr** – treonina; **TP53** – białko TP53 (tumor protein P53); **Val** – walina (valine).

WSTĘP

Nowotwory narządów głowy i szyi to grupa nowotworów występujących w różnych strukturach anatomicznych, w tym w jamie ustnej, gardle i krtani. Spośród tej grupy 90% to raki płaskonabłonkowe (head and neck squamous cell carcinoma – HNSCC) [76]. HNSCC stanowią coraz to poważniejszy problem kliniczny i społeczny, ponieważ co roku na całym świecie notuje się ponad 600 tys. nowych przypadków [29, 64, 76] i związanych z nimi zgonów (ponad 350 tys.) [76].

Wśród czynników egzogennych związanych z HNSCC można wymienić ekspozycję na kancerogeny obecne w dymie tytoniowym, spożywanie alkoholu, niewłaściwe nawyki dietetyczne oraz nieprawidłową higienę jamy ustnej [33, 76]. Czynnikiem ryzyka jest również zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego (human papilloma virus – HPV), zwłaszcza typem 16, 18, 31 i 33 [76] oraz wirusem Epsteina-Barr (EBV) [26]. Niektóre badania wskazują na łagodniejszy przebieg i dłuższy czas przeżycia chorych HPV-pozytywnych w porównaniu z analogiczną grupą HPV-negatywnych, niezależnie od sposobów leczenia [60].

Druga grupa potencjalnych czynników ryzyka to czynniki endogenne, do których należą m.in. uwarunkowania genetyczne i zaburzenia funkcjonowania układu immunologicznego. Hipotetyczny model kancerogenezy w raku płaskonabłonkowym przedstawiono na ryc. 1 [55].

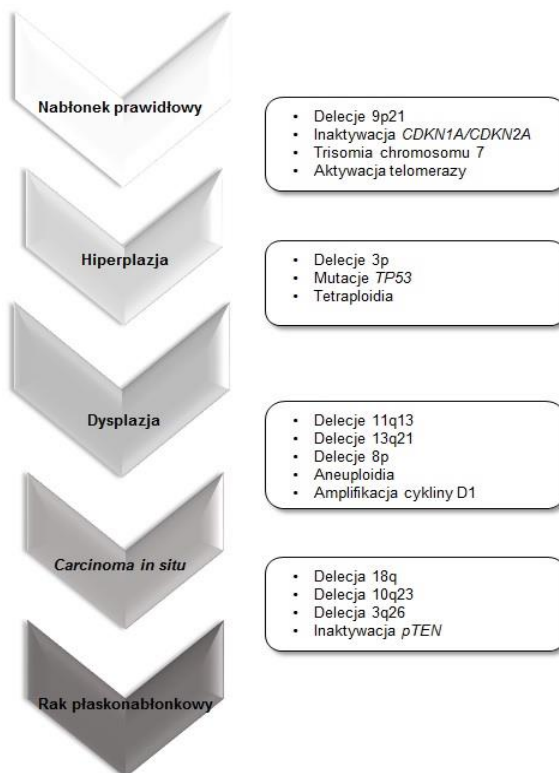
Autorzy skupili się na wybranych uwarunkowaniach genetycznych, związanych z polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism – SNP) i mutacjami genów uczestniczących w kontroli cyklu komórkowego i naprawie DNA.

HNSCC A GENY REGULACJI CYKLU KOMÓRKOWEGO

W prawidłowym przejściu komórek eukariotycznych przez fazy cyklu komórkowego ważną rolę odgrywają cyklinozależne kinazy białkowe, ich endogenne białkowe regulatory, podjednostki regulatorowe tych kinaz – cykliny, a także produkty genów supresorowych [74]. Schemat kontroli cyklu komórkowego przedstawiono na ryc. 2.

Gen TP53

Gen *TP53* (tumor protein P53) u człowieka znajduje się na chromosomie 17p13.1, koduje główny czynnik transkrypcyjny – p53, który kontroluje ekspresję genów zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego, apoptozę i naprawę DNA. Przykładami takich genów są: gen *CDKN1A* (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, p21/Waf1/Cip1, inhibitor kinaz zależnych od cyklin 1A) – kodujący białko p21Waf1/Cip1, decydujące o zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie G1, *GADD45* (growth arrest and DNA damage inducible gene, białko zatrzymania cyklu komórkowego indukowane uszkodzeniem) oraz liczne geny, których produkty są zaangażowane

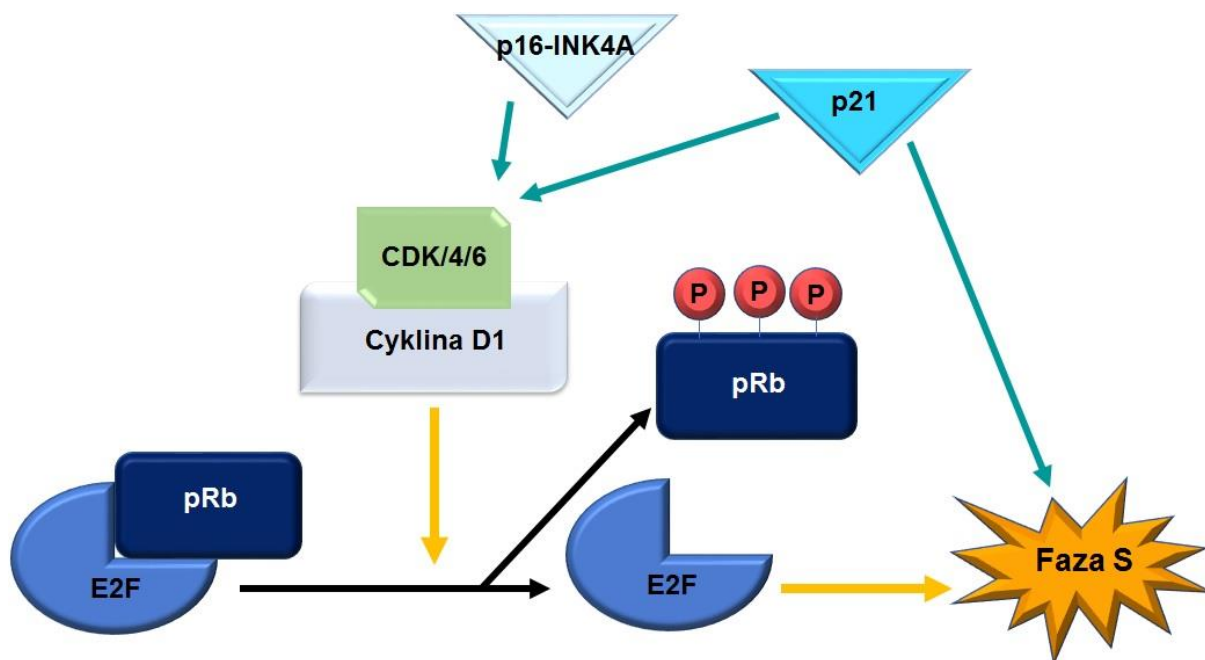


Ryc. 1. Hipotetyczny model kancerogenezy raka płaskonabłonkowego (wg [55] zmodyfikowano)

w proces apoptozy, np.: *BAX* (Bcl-2-associated X protein, białko związane z Bcl2), *DR5/KILLER* (death receptor 5, receptor śmierci 5) oraz *PUMA* (p53-upregulated modulator of apoptosis, białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only) [24]. Indukowanie ekspresji *TP53* następuje pod wpływem czynników zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych, takich jak np.: uszkodzenie DNA, aktywacja onkogenów, hipoksja oraz zmiany poziomu reaktywnych form tlenu [87]. W przypadku *HNSCC* zanotowano trzy główne mechanizmy zaburzające prawidłowe funkcjonowanie białka p53. Mechanizmy te są związane z:

- mutacjami somatycznymi genu kodującego to białko;
- degradacją białka wynikającą z tworzenia kompleksów z onkogennym białkiem E6 HPV
- degradacją białka w proteosomach, związaną z negatywnym regulatorem p53 – białkiem MDM2 (murine double minute 2) [3].

Mutacje *TP53* stwierdza się w 40-50% guzów *HNSCC*; 79% mutacji odnotowywanych w tych nowotworach to mutacje typu missens. Najczęściej mutacje stwierdza się w eksonach 5-8, w których znajdują się tzw. hot spots [54]. Przykładami mutacji typu missens są mutacje: Arg175His, Asn239Tyr, Arg248Gln, Arg273His i Arg-



Ryc. 2. Schemat kontroli cyklu komórkowego (wg [27] zmodyfikowano)

282Gln, które mogą wpływać na nieprawidłowe wiązanie się białka p53 z DNA, zaburzając w ten sposób hamowanie proliferacji podjętej przez komórkę [5, 10, 65].

Warto również zaznaczyć, że gen *TP53* jest wysoce polimorficzny; znanych jest co najmniej 13 polimorfizmów z nim związanych [18]. Najlepiej poznanym SNP w HNSCC jest polimorfizm występujący w eksonie 4 w kodonie 72 (rs1042522, G/C) prowadzący do zmiany argininy (Arg) w prolinę (Pro). Większość przeprowadzonych badań nie wykazała wpływu wystąpienia wariantu z proliną na wzrost ryzyka zachorowania na HNSCC [7, 21, 48, 62, 63]. Natomiast w badaniu przeprowadzonym przez Li i wsp. [40] w dużej liczbie pacjentów (1271) wykazano, że wariant polimorficzny, w którym występuje prolina, zwiększa ryzyko wystąpienia drugiego pierwotnego ogniska nowotworowego. Zjawisko to dotyczyło kilku podgrup pacjentów, w szczególności: mężczyzn powyżej 57. roku życia, zwłaszcza palących i spożywających alkohol, pacjentów w zaawansowanym stadium choroby oraz pacjentów, którzy otrzymali leczenie związane z uszkodzeniami DNA. U niektórych badanych stwierdzono również, że zmiana polimorficzna związana z proliną zwiększa ryzyko wystąpienia HNSCC, w przypadku infekcji HPV 16, szczególnie u osób, które nie paliły [40, 57]. Ponadto Braakhuis i wsp. [4] zaobserwowali występowanie dużych aberracji chromosomowych (dotyczących m.in. ramienia 17p) niemal wyłącznie u pacjentów HPV-negatywnych. Wykazali również brak mutacji genu *TP53* u pacjentów HPV-pozytywnych i występowanie tych mutacji w 75% przypadków pacjentów HPV-negatywnych.

Innymi przykładami SNP genu *TP53* badanych pod kątem ryzyka wystąpienia HNSCC są polimorfizmy występujące w intronie 3 (rs17883323, powtórzenie 16 pz) i intronie 6 (rs1625895, G/A). Gali i wsp. [18] przeprowadzili badania u 283 chorych na HNSCC polegające na określeniu ryzyka zachorowania na HNSCC związanego z wystąpieniem polimorfizmów genu *TP53*: rs17883323, rs1042522, rs1625895 oraz dinukleotydowego polimorfizmu genu *p73* (białko kodowane przez gen *p73* jest strukturalnym i funkcjonalnym homologiem białka p53) eksonu 2 (rs2273953-rs1801173, G4C14-A4T14). Badania wykazały, że osoby z wariantami polimorficznymi genu *TP53* w eksonie 4 i intronie 6 mają obniżone ryzyko zachorowania na HNSCC. Natomiast obecność dinukleotydowego wariantu polimorficznego genu *p73* w eksonie 2 w połączeniu z polimorfizmem genu *TP53* w intronie 3 to ryzyko zwiększało.

Wiadomo również, że nadekspresja genu *TP53* w niezmiennym marginesie otaczającym zmianę nowotworową może wpływać na zwiększone ryzyko powstania drugiego pierwotnego nowotworu [26].

Zaburzenia funkcjonowania białka p53 związane z jego negatywnym regulatorem – białkiem MDM2, opisano w dalszej części pracy.

Gen *CDKN1A* (*p21/Waf1/Cip1*)

Gen *CDKN1A* koduje białko będące inhibitorem kinaz zależnych od cyklin, działając jako regulator cyklu komórkowego w fazie G1. Białko to jest kontrolowane

przez p53 [39]. Dotąd poznano dwa polimorfizmy omawianego genu, które próbowano łączyć ze wzrostem ryzyka zachorowania na HNSCC. Do polimorfizmów tych należą: rs1059234 (C70T) i rs1801270 (C98A, Ser31Arg). Badania przeprowadzone przez Lei i wsp. [39] u 1282 chorych na HNSCC wykazały, że pacjenci z genotypami CT/TT i CA/AA mieli istotnie większe ryzyko rozwoju drugiego pierwotnego ogniska nowotworowego w porównaniu z pacjentami typu homozygotycznego CC obu polimorfizmów. Podobne wyniki uzyskali również inni badacze, badając grupę 1292 chorych na HNSCC [77].

Gen CDKN2A (P16-INK4A)

Gen *CDKN2A* (cyclin dependent kinase inhibitor 2A) koduje dwa białka: p16-INK4A i p14-ARF. Białko p16-INK4A, będąc inhibitorem kompleksu cykliny D1 z kinazami cyklinozależnymi 4 i 6 (D1-CDK4/6), blokuje fosforylację białka pRB, zatrzymując tym samym cykl komórkowy w fazie G1. Białko p14-ARF jest natomiast produktem alternatywnej ramki odczytu i odpowiada za regulację cyklu komórkowego zależną od białka p53 przez oddziaływanie z białkiem MDM2 [3].

Wykorzystując w badaniach metodę sekwencjonowania, wykazano, że mutacje genu *CDKN2A* występują w około 7% nowotworów [1, 71]. Inaktywacja genu *CDKN2A* związana z mutacjami jest znacznie rzadsza niż inaktywacja wynikająca z delecji lub oddziaływań epigenetycznych. Wszystkie te mechanizmy prowadzą do nieprawidłowego funkcjonowania tego genu w 75% przypadków HNSCC [56, 59, 69]. Większość znanych mutacji genu *CDKN2A* dotyczy eksonu 2 [32]. Badania przeprowadzone przez Todorova i wsp. [73] z udziałem 108 pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym krtani wykazały mutacje tego genu u 16 pacjentów (14,2%). Większość ujawnionych zmian wpływało na strukturę białka p16-INK4A i dotyczyło aminokwasów 12-141, które są podstawowe dla wiązania CDK4/6. Pozostałe mutacje powodowały powstanie skrócenia sekwencji aminokwasowej p16-INK4A i często do utraty przez to jego funkcjonalności. Jedynym zbadanym polimorfizmem genu *CDKN2A* w odniesieniu do HNSCC jest polimorfizm rs11515 (C540G) zlokalizowany w eksonie 3. Badanie przeprowadzone u 96 pacjentów przez Pinheiro i wsp. [58] nie wykazało związku między występowaniem HNSCC a genotypami: CC, CG oraz GG. Nie zanotowano również wpływu tych genotypów na cechy kliniczne i patologiczne występujące u pacjentów.

Warto również zaznaczyć, że u pacjentów HPV-pozytywnych występuje inaktywacja szlaku kontroli cyklu komórkowego związanego z białkiem pRB w wyniku ekspresji białka HPV E7. Białko wirusowe, wiążąc się z białkiem pRB, powoduje brak inhibicji białka p16-INK4A. Z tego powodu oznaczanie ekspresji białka p16-INK4A w komórkach nowotworowych metodą immunohistochemii (IHC) może być markerem prognostycznym w nowotworach HPV-pozytywnych [30, 36].

Gen MDM2

Białko kodowane przez ten gen – MDM2 – jest E3 ligazą ubikwityny, która uczestniczy w ubikwitynacji białka p53 i tym samym prowadzi do jego degradacji [44, 85]. Pierwszym SNP badanym u pacjentów z HNSCC był polimorfizm promotora genu *MDM2* polegający na zmianie T na G w pozycji 309 (rs2279744, SNP309G). Wykazano, że zmiana ta może wpływać na silniejsze wiązanie się czynnika transkrypcyjnego SP1 w tym miejscu promotora i w ten sposób podwyższać poziom samej transkrypcji *MDM2* [44, 52, 84]. Do innych badanych SNP *MDM2* należą: rs3730485 (del1518+/-) i rs937283 (A2164G). Metaanaliza przeprowadzona przez Yu i wsp. [85] na podstawie 26 badań (na 7987 przypadków raka płaskonabłonkowego głowy i szyi, przełyku, płuc, skóry oraz szyjki macicy i 12954 kontrole) dowiodła, że genotyp GG *MDM2* rs2279744 w populacji azjatyckiej wiązał się z większym ryzykiem wystąpienia raka płaskonabłonkowego przełyku. Nie stwierdzono jednak takiego związku w przypadku wariantu z del1518+/- *MDM2* rs3730485 oraz genotypem GG *MDM2* rs937283. Chen i wsp. [8] badali związek rs2279744 (T309G) i rs937283 (A2164G) z zakażeniem HPV16 i ryzykiem zachorowania na raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. Autorzy stwierdzili pozytywną korelację między występowaniem genotypów GG, GT *MDM2* rs2279744 i GG, AG *MDM2* rs937283 oraz ich kombinacją a ryzykiem zachorowania na nowotwór, niezależnie od zakażenia HPV16. Ustalono również, że ryzyko wystąpienia choroby było większe u osób HPV-pozytywnych oraz niepalących i u osób niespożywających alkoholu [8].

Gen E2F1 i E2F2

E2F jest rodziną czynników transkrypcyjnych, których zadaniem jest regulacja ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w replikację DNA i cykl komórkowy. W skład tej rodziny wchodzi następujące białka: aktywatory transkrypcji – E2F1, E2F2 i E2F3a oraz represory transkrypcji – E2F3b, E2F4-8 [45].

Lu i wsp. [45] podczas analizy 1096 przypadków HNSCC dotyczącej dwóch SNP *E2F1*: rs3213182 (A/G), rs3213183 (C/G) oraz ośmiu SNP *E2F2*: rs3213180 (C/G), rs3218121 (A/G), rs2742976 (G/T), rs6667575 (G/A), rs3218203 (G/C), rs3218148 (A/G), rs3218211 (C/T), rs3218123 (G/T), wykazali, że żaden z badanych genotypów nie wiązał się ze wzrostem ryzyka wystąpienia nowotworu. Natomiast ryzyko to wzrastało w przypadku kombinacji występowania poszczególnych genotypów (tj. AA *E2F1* rs3213182, GG *E2F1* rs3213183, GG *E2F2* rs3213180, GG *E2F2* rs321318121, GT + TT *E2F2* rs2742976, GA + AA *E2F2* rs6667575, CC *E2F2* rs3218203, AA *E2F2* rs3218148, CC *E2F2* rs3218211, GT + TT *E2F2* rs3218123), szczególnie wśród mężczyzn (≤ 57 lat), nigdy niepalących papierosów, niespożywających alkoholu i osób, których krewni pierwszego stopnia chorowali na HNSCC.

Gen EGFR (epidermal growth factor receptor, ERBB1, Erb-B2 receptor tyrosine kinase 1, receptor naskórkowego czynnika wzrostu)

W skład rodziny nabłonkowego czynnika wzrostu wchodzi cztery kinazy tyrozynowe: EGFR, ErbB-2, ErbB-3 i ErbB-4, które będąc białkami transbłonowymi, stają się receptorem dla nabłonkowego czynnika wzrostu (EGF) [13].

Białko EGFR jest istotne w procesie proliferacji i różnicowania komórek. Przepływ sygnału ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki zależy od trzech czynników: wiązania liganda z receptorem, koncentracji receptora na powierzchni komórki oraz tworzenia przez EGFR homo- lub heterodimerów z receptorami z rodziny HER [61, 79]. Nadekspresja białka EGFR w komórkach nowotworowych jest szczegółowo opisywana. W HNSCC podwyższony poziom ekspresji białka wiąże się z gorszym rokowaniem. Przypuszcza się, że nadekspresja białka EGFR może być związana z polimorfizmem mikrosatelitarnej sekwencji występującej w 1 intronie genu *EGFR*. Sekwencja ta składa się z 9-23 powtórzeń CA i odgrywa ważną rolę w regulacji transkrypcji [61]. Etienne-Grimaldi i wsp. [14] zbadali polimorfizm powtórzeń sekwencji w grupie 91 pacjentów. Zauważyli, że zarówno w komórkach nowotworowych, jak i zdrowych najczęściej występującym genotypem (ponad 46%), była sekwencja 16-CA. Ważna okazała się odwrotna proporcjonalność między liczbą powtórzeń sekwencji w obrębie jednego genotypu (16CA) a ekspresją genu *EGFR*: wraz ze wzrostem długości sekwencji polimorficznej spadała ekspresja genu. Ponadto homozygoty z krótszymi sekwencjami polimorfizmu (np. 16-16 CA) cechowały się zwiększoną ekspresją genu w porównaniu z heterozygotami. Nie dostrzeżono natomiast powiązania między genotypem polimorfizmu a długością przeżycia. W innym badaniu Fung i wsp. [17] przeanalizowali polimorfizmy umiejscowione w intronach, jak i eksonach genu *EGFR*. Przeanalizowali genotypy AA, AG, GG dla polimorfizmów rs12535536 i rs6970262 oraz genotypy TT, TC, CC dla czterech polimorfizmów: rs2075110, rs1253871, rs845561 oraz rs2072454, wykazując ich powiązanie ze wzrostem ryzyka wystąpienia nowotworu głowy i szyi. Ponadto dowiedziono, że SNP: rs12538371 (genotyp CC), rs845561 (genotyp CC) oraz rs6970262 (genotyp GG) podnoszą ryzyko HNSCC u osób niepalących. Nagalakshmi i wsp. [51] przebadali polimorfizmy związane z eksonem 18 *EGFR*. Wykazali, że aż 44% osób z HNSCC cechowało jednoczesne występowanie dwóch genotypów: GC dla rs28929495 (G2155C, Gly719Cys) oraz GA dla rs483352805 (G2176A, Val726Met), które zwiększało ryzyko zachorowania na HNSCC. Genotypy te znacznie częściej występowały wśród kobiet. W wyniku analiz polimorfizmu występującego w eksonie 19 genu *EGFR* ustalono, że genotyp CG *EGFR* rs121913434 (C2188G, Leu730Val) zwiększał ryzyko HNSCC wśród osób spożywających alkohol i będących palaczami. Natomiast genotyp GA *EGFR* rs483352808 (G2471A) charakteryzował 65% grupy badanej.

Nadekspresja genu *EGFR* dotyczy osoby z nowotworami głowy i szyi oraz wiąże się ze złym rokowaniem [51, 61], ponieważ wzrost ekspresji genu *EGFR* wpływa na skrócenie czasu reemisji choroby i czasu przeżywalności [23]. Ponadto Nagalakshmi i wsp. [51] zauważyli, że polimorfizmy występujące w eksonach 18, 19 i 21 mogą odgrywać rolę w regulacji ekspresji *EGFR*. Na podstawie analizowanych przypadków HNSCC wykazano wzrost ekspresji ligandów dla białka EGFR, co źle rokowało na przebieg choroby. Zaproponowano, że ekspresja ligandów białka EGFR może być wykorzystana jako biomarker w prognozowaniu przebiegu kancerogenezy HNSCC [19].

Należy również wspomnieć, że u chorych na HNSCC stwierdza się występowanie delecji (801bp) obejmującej eksony 2-7 *EGFR*. Delecja ta powoduje powstanie trzeciej wersji *EGFR* (*EGFR* v. III) i białka pozbawionego części zewnątrzblonowej. *EGFR* v.III występuje u około 40% chorych na HNSCC i może być wykorzystana jako biomarker lepszego kontrolowania choroby niezależnie od stosowanego leczenia erlotynibem [6].

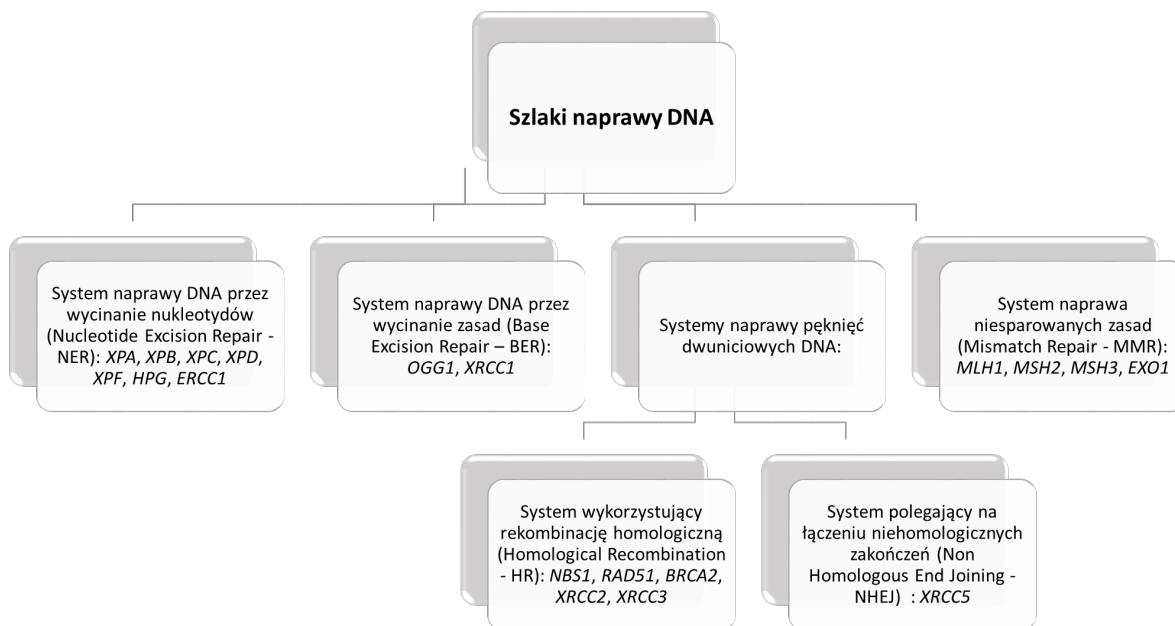
HNSCC A SZLAKI NAPRAWY DNA

Aktywność genów mutatorowych wpływa na jakość pracy systemów naprawczych DNA. Nieprawidłowości w ich funkcjonowaniu mogą być przyczyną powstania trwałych zmian w genomie, wywołujących kancerogenezę. Ponadto liczne badania wskazują, że polimorfizmy występujące w genach mutatorowych wiążą się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory, w tym również na HNSCC [61].

Należy również dodać, że celem stosowanej skojarzonej radio- oraz chemioterapii w HNSCC jest uszkodzenie materiału genetycznego komórki nowotworowej. Uszkodzenie to ma spowodować nakierowanie jej na proces apoptozy. Jednak sprawne działanie systemów naprawczych DNA może znacząco utrudniać efektywność takiej terapii przeciwnowotworowej. Schemat przedstawiający podział mechanizmów naprawy DNA z uwzględnieniem białek w nich uczestniczących przedstawiono na rys. 3.

System naprawy DNA przez wycinanie nukleotydów (nucleotide excision repair – NER)

Uszkodzenia zasad w DNA są usuwane przez kilka systemów naprawczych. Jednym z nich jest system NER, który odpowiada głównie za usuwanie uszkodzeń powstałych w wyniku działania czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie UV czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. Skutkiem działania promieniowania UV jest powstanie fotoproduktów: np. cyklobutylovych dimerów pirymidynowych oraz pirymidyno(6-4) pirymidyn. Wielopierścieniowe związki aromatyczne, łącząc się z DNA, tworzą addukty – połączenia kancerogenu z DNA. Szlak NER odpowiada zatem za usuwanie uszkodzeń powodujących zniekształcenie podwójnej helisy DNA [12, 15]. System NER składa się



Ryc. 3. Schemat podziału mechanizmów naprawy DNA z uwzględnieniem białek w nich uczestniczących (wg [2, 15, 34, 38, 53, 61, 70, 88] zmodyfikowano)

z siedmiu białek z grupy ERCC (excision repair cross-complementing lub inna nazwa białka XP – xeroderma pigmentosum) oznaczonych od A do G, których funkcja naprawcza polega na wycinaniu uszkodzeń w DNA. Ponadto w naprawie biorą udział: kompleksy XPC-RAD23B i ERCC1-XPF, białko replikacyjne RPA oraz czynnik transkrypcyjny II (TFIIH) z helikazami XPB i XPD [15].

Mechanizm systemu NER polega na rozpoznaniu miejsca uszkodzenia DNA przez kompleks białek XPC-RAD23B, który nakierowuje w to miejsce czynnik transkrypcyjny TFIIH. Czynnik składa się m.in. z dwóch helikaz: XPB (ERCC3) oraz XPD (ERCC2) [70]. Helikazy rozwijają nić DNA w pobliżu uszkodzenia: XPB w kierunku 3'→5', a XPD w kierunku odwrotnym. Do rozwiniętej nici DNA przyłącza się białko XPA, którego obecność jest kluczowa dla dalszych procesów szlaku NER. Następny etap polega na przyłączeniu się białka RPA, które stabilizuje otwartą sekwencję DNA i pomaga w przyłączeniu endonukleaz wycinających uszkodzenie. Pierwszą z nich jest białko XPB nacinające DNA od strony 3', a drugą – kompleks ERCC1-XPF, który wykonuje nacięcie od strony 5'. W wyniku nacięć zostaje usunięty fragment DNA o długości 24-32 nukleotydów. Ostatni etap polega na resyntezie brakującego fragmentu DNA oraz ligacji [12].

Gen XPA (xeroderma pigmentosum group A, XPAC, XP1)

Gen XPA koduje białko odgrywające główną rolę w przemieszczaniu się kompleksu ERCC1-XPF w miejsce uszko-

dzenia. Zaburzenie wzajemnego oddziaływania tych białek powoduje zahamowanie naprawy DNA [15].

Analiza polimorfizmu rs1800975 (A23G) nie wykazała związku żadnego związku z możliwych genotypów (GG, GA, AA) ze wzrostem ryzyka rozwoju HNSCC [28]. Podobny wynik otrzymali Wu i wsp. [80], przeprowadzając metaanalizę na podstawie 8 badań wykonanych u 2409 osób z HNSCC z kontrolną grupą 3082 zdrowych osób. Natomiast inna metaanaliza dotycząca tego samego polimorfizmu wykonana przez Liu i wsp. [43] na podstawie 30 badań wykazała, że ryzyko kancerogenezy rośnie jedynie w przypadku wystąpienia genotypu GG.

Badając poziom ekspresji genu XPA u chorych na HNSCC, zauważono, że nie odbiega od poziomu ekspresji u zdrowych osób [22]. Odmienne wyniki uzyskali natomiast Wei i wsp. [78].

Gen XPB (ERCC3, RAD25, xeroderma pigmentosum group B complementing, BTF2, ERCC excision repair 3, TFIIH core complex helicase subunit)

Białko XPB jest jedną ze składowych czynnika transkrypcyjnego TFIIH. Jako ATP-zależna helikaza jest zdolna do odwijania nici DNA w kierunku 3' → 5' [12].

Przykładem polimorfizmu związanego z XPB jest polimorfizm rs4150403 polegający na zmianie G na A. Na podstawie metaanalizy wykonanej przez Wyss i wsp. [81], obejmującej 1227 przypadków raka płaskonabłonkowego i 1325 grupy kontrolnej, wykazano, że

u osób o genotypie AA lub AG ryzyko wystąpienia HNSCC było większe niż u osób z genotypem GG. Ponadto należy dodać, że niektórzy badacze wskazują na spadek ekspresji tego genu u chorych na HNSCC [9].

Gen XPC (XPCC, XP3, xeroderma pigmentosum complementation group C)

XPC jest białkiem odgrywającym ważną rolę w początkowej fazie naprawy DNA. Wraz z białkiem RAD23B tworzy kompleks, który rozpoznaje miejsce adduktu oraz nakierowuje i zarządza kolejnymi komponentami systemu naprawczego [61]. Z genem XPC jest związany polimorfizm rs2228000 (C1496T, Ala499Val). Badania przeprowadzone przez Farnebo i wsp. [16] wykazały związek między genotypem TT XPC rs2228000 a wzrostem ryzyka wystąpienia nowotworu głowy i szyi.

Yang i wsp. [82] odnotowali zmniejszenie ekspresji białka XPC u pacjentów z HNSCC. Zauważyli, że na poziom ekspresji nie wpływały takie czynniki jak: wiek, płeć, palenie tytoniu czy konsumpcja alkoholu. Zmiana ekspresji nie była też związana z polimorfizmem XPC-PAT (insercja poly(AT) wielkości 83bp połączona z delecją 5bp w pozycji 1457-1462). Kolejne analizy potwierdziły spadek ekspresji omawianego białka u pacjentów z HNSCC w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano, że poziom ekspresji genu XPC oddziałuje na ekspresję innych białek szlaku NER, takich jak: ERCC1, XPF i XPG [78].

Gen XPD (ERCC2, xeroderma pigmentosum complementary group D, ERCC excision repair 2, TFIIH core complex helicase subunit)

Proteina XPD jest podjednostką czynnika transkrypcyjnego TFIIH pełniącą funkcje helikazy, która w systemie naprawczym NER rozwija nić DNA od strony 3' adduktu.

W badaniach przeprowadzonych przez Śliwińskiego i wsp. [67] nie wykazano zależności między genotypami AA, AC, CC XPD rs13181 (A225C, Lys751Gln) a ryzykiem wystąpienia nowotworu głowy i szyi. Natomiast Gugatschka i wsp. [20] dowiedli, że genotyp AA XPD rs13181 znacząco obniża ryzyko wystąpienia HNSCC. Badania Farnebo i wsp. [16] nie potwierdziły tej obserwacji, wykazały natomiast, że genotyp AA był istotnym czynnikiem rokowniczym wpływającym na przeżywalność. W badaniach zaobserwowano, że homozygoty AA cechowały się dłuższym czasem przeżycia (średnio 57 miesięcy), a heterozygoty AC i homozygoty CC krótszym czasem (odpowiednio 25 i 27 miesięcy). Rozbieżności mogą być związane z zastosowanymi przez badaczy technikami genotypowania oraz z liczebnością grupy badanej. Gugatschka i wsp. [20] badania oparli na metodzie RT-PCR z wykorzystaniem sond TaqMan, a grupę badaną tworzyło 294 osób. W badaniach Farnebo i wsp. [16], jak i Śliwińskiego i wsp. [67] wykorzystano natomiast metodę PCR-RFLP, a liczebność grup badanych wyniosła odpowiednio: 112 i 265.

Innym znanym polimorfizmem genu XPD jest SNP rs1799793 (G934A, Asp312Asn). Nie wykazano jednak związku między poszczególnymi genotypami (GG, GA, AA) związanymi z tym polimorfizmem a wzrostem ryzyka wystąpienia HNSCC [19].

Gen XPF (ERCC4, RAD1, xeroderma pigmentosum group F-complementing protein, ERCC excision repair 4, rnonuclease catalytic subunit)

Białko XPF wraz z ERCC1 tworzy kompleks systemu NER. Jego rola polega na wykonaniu nacięcia nici DNA od strony 5' adduktu, w wyniku czego na końcu 3' nici DNA pozostaje wolna grupa hydroksylowa. Powstała grupa nie ulega dodatkowym modyfikacjom przed rozpoczęciem następnego etapu naprawy, jakim jest synteza [12].

Z genem XPF związanych jest kilka polimorfizmów, m.in. rs2276466 (C971G), rs3136038 (T644C), rs1799798 (zmiana A na G w intronie) oraz rs1800067 (A/G, Arg-415Gln). W badaniach przeprowadzonych przez Yu i wsp. [86] wykazano, że występowanie genotypu GG XPF rs2276466 oraz TT XPF rs3136038 wiązało się z obniżeniem ryzyka powstania HNSCC. Nie udowodniono natomiast związku między możliwymi genotypami związanymi z dwoma kolejno wymienionymi polimorfizmami a ryzykiem kancerogenezy.

Badając poziom ekspresji genu XPF w liniach komórkowych HNSCC (UPCI-15A, UPCI-15B, UPCI-4B, UM-SCC22B, UM-SCC1, UM-SCC10A oraz linii 1483), zaobserwowano jego wzrost w szerokim zakresie (7-97%). W innych badaniach ponadto wykazano, że w nowotworach jamy ustnej w porównaniu z nowotworami krtani i części ustnej gardła ekspresja genu XPF znacząco wzrastała [75]. Yu i wsp. [86] odnotowali wzrost ekspresji omawianego genu także u homozygot GG XPF rs2276466 oraz homozygot TT XPF rs3136038. Odmienne wyniki otrzymali Han i wsp. [22]. Dalsze analizy potwierdziły spadek poziomu ekspresji genu XPF, co wiązało się również ze zmniejszoną ekspresją innych białek szlaku NER, takich jak: XPA, XPG oraz XPD [78].

Gen XPG (ERCC5, ERCC excision repair 5, endonuclease, xeroderma pigmentosum, complementation group G)

Rolę endonukleazy 3' w systemie NER pełni białko XPG. Przykładami SNP genu XPG są polimorfizmy: rs2094258 (C/T), rs2296147 (T/C), rs4771436 (T/G), rs1047768 (T/C), rs2227869 (G/C), rs873601 (G/A), rs4150351 (A/C), rs4150355 (C/T), rs4150383 (G/A), rs4150393 (A/G), rs4150386 (A/C) oraz rs17655 (G/C). Na podstawie prowadzonych badań wykazano, że żaden z analizowanych genotypów nie wiązał się z ryzykiem wystąpienia kancerogenezy w regionie głowy i szyi. Natomiast u chorych z genotypem AC i CC XPG rs4150351 zaobserwowano wzrost ekspresji białka XPG [46].

Gen ERCC1 (excision repair cross-complementation group 1, ERCC excision repair 1, endonuclease non-catalytic subunit)

Produkt genu *ERCC1* z białkiem XPF tworzy heterodimer będący składową systemu NER. Heterodimer ma właściwości endonukleazy i inicjuje wycięcie adduktu DNA. Sturgis i wsp. [72] wykazali, że genotyp *CC ERCC1* rs3212986 (C8092A) wiąże się z niewielkim wzrostem ryzyka wystąpienia HNSCC. Zaobserwowano również, że jednoczesna obecność genotypu *CC ERCC1* rs3212986 oraz genotypu *GA* lub *AA XPD* rs1799793 znacząco zwiększała ryzyko wystąpienia kancerogenezy w regionie głowy i szyi. Następnym analizowanym przez badaczy polimorfizmem genu *ERCC1* był SNP rs11615 (G19007A, Asn118Asn). Jedno z badań wykazało częstsze występowanie genotypu *AA* u pacjentów z HNSCC. Wskazano również na wysoki poziom ekspresji tego genu u tych chorych. Nie zauważono jednak związku między tym polimorfizmem a ekspresją *ERCC1* [41].

SYSTEM NAPRAWY DNA PRZEZ WYCINANIE ZASAD (BASE EXCISION REPAIR – BER)

Uszkodzenia oksydacyjne DNA (polegające na alkilacji i utlenianiu zasad azotowych) są usuwane głównie przez mechanizm polegający na wycinaniu. Mechanizm inicjują glikozylazy DNA, których zadaniem jest rozpoznanie i wycięcie uszkodzonej zasady przez przecięcie wiązania β-N-glikozydowego. W procesie powstaje miejsce apurynowe (AP). Po stronie 5' uszkodzenia liaza AP hydrolizuje wiązania 5'-fosfodiesterowe. Następnie polimeraza β przyłącza się do powstałego wolnego końca 3' OH, gdzie usuwa 5' końcowy fosforan deoksyrybozy. Dalsza naprawa jest zależna od wielkości uszkodzenia. W przypadku niewielkich rozmiarów AP polimeraza β wstawia tam brakujący nukleotyd. Następny etap polega natomiast na scaleniu nici DNA przez ligazę DNA III oddziałującą z polimerazą za pomocą białka XRCC1. Jeżeli AP wymaga wstawienia większej liczby nukleotydów, polimeraza δ bądź ε syntetyzują nukleotydy, począwszy od miejsca AP w kierunku 5' → 3', powstaje tzw. odsłonięta nić, którą usuwają endonukleazy FEN1 oraz FEN2. Ten wariant naprawy wymaga dodatkowo obecności jądrowego antygeny komórek proliferujących (PCNA). W ostatnim etapie ligaza I DNA scala naprawioną nić [38].

Gen OGG1 (8-oxoguanine DNA glycosylase, OGH1, MUTM) oraz MUTYH (MYH, MutYHomolog (E. coli), MutY DNA glycosylase)

W ludzkim organizmie występuje 11 glikozylaz, wśród nich: OGG1 – usuwająca 8-oksoG połączoną z cytozyną oraz glikozylaza MYH (homolog MutY) wycinająca adeniny sparowane z 8-oksoG [66]. Analiza polimorfizmu *OGG1* rs1052133 wykazała, że u osób z genotypem *CG* lub *GG* ryzyko wystąpienia HNSCC rośnie. Ponadto zaobserwowano, że u palaczy cechujących się genotypami *CG* lub *GG OGG1* rs1052133, *GG MUTYH* rs34612342 oraz *AA XPD* rs13181 to ryzyko jeszcze dodatkowo wzrastało [67].

Gen XRCC1 (X-Ray repair cross complementing 1, DNA repair protein XRCC1, RCC)

Białko XRCC1 uczestniczy w naprawie sekwencji DNA w wyniku wycięcia pojedynczej zasady i oddziałuje m.in. z ligazą DNA III i polimerazą β. Znanych jest ponad 60 SNP genu *XRCC1* [31].

Jednym z lepiej przebadanych polimorfizmów genu *XRCC1* jest SNP rs25487 (G28152A, Arg399Gln) występujący w eksonie 10. Badania prowadzone w populacji kaukaskiej wykazały, że w grupie 295 chorych na HNSCC genotyp *AA* występował rzadziej w porównaniu z grupą kontrolną [35]. Odmienne wyniki uzyskano w innym badaniu, odnotowując wzrost ryzyka zachorowania na HNSCC u homozygot *AA* w populacji z północno-wschodnich Indii. Wariant *GA* nie wykazywał natomiast znaczącego powiązania z ryzykiem [11]. Przyczyną całkowicie odmiennych wyników tych analiz może być pochodzenie etniczne badanych grup.

Badania dotyczące ekspresji wykazały, że chorzy na HNSCC cechowali się obniżoną ekspresją białka XRCC1. W czasie analiz nie odnotowano zależności między ekspresją a płcią pacjenta, jego wiekiem, paleniem tytoniu czy konsumpcją alkoholu [37].

SYSTEMY NAPRAWY PĘKNIĘĆ DWUNICIOWYCH DNA

Uszkodzenia występujące na obu niciach DNA, tzw. DSBs (double-strand breaks), są naprawiane przez dwa procesy: rekombinację homologiczną (homological recombination – HR) zachodzącą w fazie S i G2 oraz przez łączenie niehomologicznych zakończeń (non homologous end joining – NHEJ) [61].

System HR

Początkowa faza procesu naprawy przez rekombinację jest inicjowana z udziałem kompleksu białek MRN, którego nazwa pochodzi od pierwszych liter białek wchodzących w jego skład, tzn.: MRE11, RAD50 oraz NBS1, a także dodatkowego białka BRCA1. W następnym etapie do kompleksu MRN przyłączają się białka BRCA2 oraz RAD51, które wraz z białkiem BRCA1 łączą krótkie fragmenty ssDNA z matrycą, czyli chromatydą siostrzaną [33].

Gen NBS1 (Nibrin, NBS, NBN, nijmegen breakage syndrome 1)

Badania dotyczące SNP *NBS1*: rs1805794 (G553C, Q185Q), rs1061302 (A2016G) rs1063054 (A/C), rs2234744 (C/T), rs709816 (A/G) oraz rs3736639 (A/T) nie wykazały, aby jakkolwiek z możliwych genotypów wiązało się z ryzykiem kancerogenezy [42, 89]. W badaniach przeprowadzonych przez Yang i wsp. [83] w grupie 81 chorych na HNSCC około 45% pacjentów charakteryzowało się nadekspresją *NBS1*.

Gen RAD51 (BRCC5, BRCA1/BRCA2-containing complex, subunit 5, RAD51 homolog A)

Ważnym komponentem systemu HR jest białko RAD51, które z białkami BRCA1 oraz BRCA2 łączy krótkie fragmenty DNA z nieuszkodzoną matrycą [34]. Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono, że genotyp GC *RAD51* rs1801320 (G135C) podnosił ryzyko zachorowania na HNSCC. Ponadto, jednocześnie występowały genotypów CT lub TT *XRCC3* rs861539 i GC *RAD51* rs1801320 zwiększało ryzyko kancerogenezy w regionie głowy i szyi [68]. Analiza kolejnych polimorfizmów genu *RAD51*, takich jak: rs11855560 (C/T), rs12593359 (G/T) oraz rs7180135 (A/G) nie wykazała ich oddziaływania na ryzyko HNSCC [42].

Gen BRCA2 (BRCC2, XRCC11, BRCA1/BRCA2-containing complex, subunit 2)

W odniesieniu do genu *BRCA2* znanych jest kilka SNP: rs15869 (A/C), rs11571836 (A/G) oraz rs7334543 (A/G). Zostały również przeanalizowane pod kątem powiązania z rozwojem HNSCC. Tylko genotyp CC *BRCA2* rs15869 podnosi ryzyko wystąpienia tego nowotworu. Poziom ekspresji genu *BRCA2* u pacjentów z HNSCC nie różnił się od poziomu obserwowanego u osób zdrowych [42].

Gen XRCC2 (X-ray repair cross complementing 2, RAD51-Like, FANCU)

Gen *XRCC2* odgrywa istotną rolę w naprawie DNA, gdyż koduje białko z rodziny RecA/Rad51, będące składową szlaku naprawy z udziałem HR. Analiza wpływu SNP rs3218536 (A563G, Arg188His) na wzrost ryzyka wystąpienia HNSCC przeprowadzona u 110 pacjentów przez Choudhury i wsp. [11] wykazała, że ryzyko to wiązało się z genotypem GA. Ponadto zauważono, że jednocześnie wystąpienie genotypu GA *XRCC2* rs3218536 z genotypem GA lub AA *XRCC1* rs25487 (G28152A) zwiększało dodatkowo ryzyko powstania nowotworu.

Gen XRCC3 (X-ray repair cross complementing 3, CMM6, RAD51-like)

Gen *XRCC3* podobnie jak gen *XRCC2* koduje białko z rodziny RecA/Rad51. Badanie przeprowadzone przez Kostrzewską-Poczekaj i wsp. [35] dotyczące SNP rs861539 (C722T, Thr241Met) wykazało, że chorzy na HNSCC charakteryzowali się znacznie częściej genotypem CT niż osoby zdrowe. Ponadto u młodych pacjentów z HNSCC genotyp ten był związany z granicznym wzrostem ryzyka rozwoju nowotworu w młodym wieku [35].

System NHEJ

Naprawa uszkodzeń DSBs w systemie NHEJ jest inicjowana przez rozpoznanie uszkodzenia za pomocą białka Ku70/80 (heterodimeru zbudowanego z podjednostek

70 i 80). Następny etap naprawy polega na przyłączeniu jednostki katalitycznej DNAPK do miejsca uszkodzenia. Powstały kompleks daje sygnał białku XRCC4 oraz liganzie DNA IV do naprawy uszkodzeń oraz ligacji DNA [88].

Gen XRCC5 (KU80, X-ray repair cross complementing 5, ATP-dependent DNA helicase II 80 KDa subunit)

Gen *XRCC5* koduje podjednostkę Ku80. Niektóre badania sugerują, że SNP *XRCC5* rs1051685 (A451G) może modyfikować ryzyko kancerogenezy. W populacji arabskiej zaobserwowano wzrost ryzyka zachorowania na HNSCC związanego z genotypami AG oraz GG [2].

SYSTEM NAPRAWY NIESPAROWANYCH ZASAD (MISMATCH REPAIR – MMR)

Mechanizm eliminujący uszkodzenia tworzone podczas replikacji DNA polega na naprawie niesparowanych zasad. W tym systemie główną rolę odgrywają następujące białka: MLH1, MSH2, MSH3 oraz egzonukleaza EXO1 [53].

Nogueira i wsp. [53], analizując polimorfizmy genów kodujących białka szlaku MMR: *MLH1* rs1800734 (A/G), *MSH2* rs2303426 (C/G/T), *MSH3* rs26279 (A/G) oraz *EXO1* rs1047840 (A/G), nie wykazali związku między żadnym z genotypów a ryzykiem kancerogenezy głowy i szyi.

SZLAK BIAŁEK NIEDOKRWISTOŚCI FANCONIEGO W NAPRAWIE DNA

Białka niedokrwistości Fanconiego (FA) uczestniczą w likwidacji wiązań krzyżowych obejmujących dwie nici DNA. Wiązania te są odpowiedzialne za blokowanie replikacji i transkrypcji [50]. Grupa ośmiu białek Fanconiego oznaczonych literami A, B, C, E, F, G, L oraz M tworzy kompleks jądrowy, który przeprowadza monoubikwitynację białek FANCD2 oraz FANCI. Wymienione białka odpowiadają za przyłączanie się do uszkodzonej chromatyny. Należy również zaznaczyć, że w procesie monoubikwitynacji uczestniczy też białko FANCL, wykazujące właściwości ligazy ubikwityny. Kompleks jądrowy przemieszczany jest wzdłuż nici DNA, umożliwiając w ten sposób lokalizację uszkodzenia i rekrutację w to miejsce białek innych procesów naprawczych, np. białek rekombinacji homologicznej. Przypuszcza się, że rolę transportera kompleksu jądrowego pełnią białka FANCM oraz FAAP24 [49, 50]. Inne białka należące do grupy białek FA nie uczestniczą w monoubikwitynacji, ale biorą udział w naprawie DNA za pośrednictwem rekombinacji homologicznej. Przykładami takich białek są: białko FANCD1 (znane również jako BRCA2) oraz białko FANCF (inna nazwa BRIP1) [50]. W literaturze szczegółowo analizowane są mutacje genów kodujących białka FA. Mutacje te są przyczyną rozwoju niedokrwistości Fanconiego – choroby genetycznej, która objawia się licznymi wadami wrodzonymi, niestabilnością chromosomalną oraz zwiększoną predyspozycją do zachorowania na

nowotwory, m.in. wątroby, przełyku, głowy i szyi [47]. Wśród polimorfizmów genów kodujących białka szlaku FA znane są polimorfizmy genu *BRCA2*, które zostały opisane już wcześniej.

Gen BRIP1 (FANCI, Fanconi anemia group J protein)

Gen *BRIP1* koduje białko o aktywności helikazy 5'→3' [50]. Badania przeprowadzone przez Liu i wsp. [42] w licznej grupie chorych na HNSCC (1090) wykazały, że homozygoty GG *BRIP1* rs7213430 cechowały się wzrostem ryzyka zachorowania na HNSCC.

PODSUMOWANIE

W ostatnim czasie, ze względu na rozwój technik z zakresu biologii molekularnej tematem badań stało

się występowanie wariantów polimorficznych genów uczestniczących w kontroli cyklu komórkowego i naprawie DNA. Przedstawione wyniki badań wskazują na niejednorodny obraz uwarunkowań genetycznych nowotworów regionu głowy i szyi. Można jednak stwierdzić, że wystąpienie tylko jednego polimorfizmu konkretnego genu w umiarkowanym stopniu wpływało na patogenezę omawianych nowotworów. Dopiero jednocześnie współistnienie kilku polimorfizmów podnosi ryzyko zachorowania w istotny sposób.

Niezaprzeczalnie można jednak potwierdzić, że poruszone w publikacji zagadnienia powinny być poddane dalszym analizom.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Agrawal N., Frederick M.J., Pickering C.R., Bettegowda C., Chang K., Li R.J., Fakhry C., Xie T.X., Zhang J., Wang J., Zhang N., El-Naggar A.K., Jasser S.A., Weinstein J.N., Treviño L. i wsp.: Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science*, 2011; 333: 1154-1157
- [2] Al-Hadyan K.S., Al-Harbi N.M., Al-Qahtani S.S., Alsbeih G.A.: Involvement of single-nucleotide polymorphisms in predisposition to head and neck cancer in Saudi Arabia. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 2012; 16: 95-101
- [3] Ausoni S., Boscolo-Rizzo P., Singh B., Da Mosto M.C., Spinato G., Tirelli G., Spinato R., Azzarello G.: Targeting cellular and molecular drivers of head and neck squamous cell carcinoma: current options and emerging perspectives. *Cancer Metastasis Rev.*, 2016; 35: 413-426
- [4] Braakhuis B.J., Snijders P.J., Keune W.J., Meijer C.J., Ruijter-Schippers H.J., Leemans C.R., Brakenhoff R.H.: Genetic patterns in head and neck cancers that contain or lack transcriptionally active human papillomavirus. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2004; 96: 998-1006
- [5] Bullock A.N., Henckel J., DeDecker B.S., Johnson C.M., Nikolova P.V., Proctor M.R., Lane D.P., Fersht A.R.: Thermodynamic stability of wild-type and mutant p53 core domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 14338-14342
- [6] Chau N.G., Perez-Ordenez B., Zhang K., Pham N.A., Ho J., Zhang T., Ludkovski O., Wang L., Chen E.X., Tsao M.S., Kamel-Reid S., Siu L.L.: The association between EGFR variant III, HPV, p16, c-MET, EGFR gene copy number and response to EGFR inhibitors in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck Oncol.*, 2011; 3: 1-11
- [7] Chen K., Hu Z., Wang L.E., Zhang W., El-Naggar A.K., Sturgis E.M., Wei Q.: Polymorphic TP53BP1 and TP53 gene interactions associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 4300-4305
- [8] Chen X., Sturgis E.M., Lei D., Dahlstrom K., Wei Q., Li G.: Human papillomavirus seropositivity synergizes with MDM2 variants to increase the risk of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 2010; 70: 7199-7208
- [9] Cheng L., Sturgis E.M., Eicher S.A., Spitz M.R., Wei Q.: Expression of nucleotide excision repair genes and the risk for squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer*, 2002; 94: 393-397
- [10] Cho Y., Gorina S., Jeffrey P.D., Pavletich N.P.: Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations. *Science*, 1994; 265: 346-355
- [11] Choudhury J.H., Choudhury B., Kundu S., Ghosh S.K.: Combined effect of tobacco and DNA repair genes polymorphisms of XRCC1 and XRCC2 influence high risk of head and neck squamous cell carcinoma in northeast Indian population. *Med. Oncol.*, 2014; 31: 67
- [12] De Laat W.L., Jaspers N.G., Hoeijmakers J.H.: Molecular mechanism of nucleotide excision repair. *Genes Dev.*, 1999; 13: 768-785
- [13] De Luca A., Carotenuto A., Rachiglio A., Gallo M., Maiello M.R., Aldinucci D., Pinto A., Normanno N.: The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment. *J. Cell. Physiol.*, 2008; 214: 559-567
- [14] Etienne-Grimaldi M.C., Pereira S., Magne N., Formento J.L., Francoual M., Fontana X., Demard F., Dassonville O., Poissonnet G., Santini J., Bensadoun R.J., Szepietowski P., Milano G.: Analysis of the dinucleotide repeat polymorphism in the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in head and neck cancer patients. *Ann. Oncol.*, 2005; 16: 934-941
- [15] Fadda E.: Role of the XPA protein in the NER pathway. A perspective on the function of structural disorder in macromolecular assembly. *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, 2015; 14: 78-85
- [16] Farnebo L., Stjernström A., Fredrikson M., Ansell A., Garvin S., Thunell L.K.: DNA repair genes XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 are associated with risk and survival of squamous cell carcinoma of the head and neck. *DNA Repair*, 2015; 31: 64-72
- [17] Fung C., Zhou P., Joyce S., Trent K., Yuan J.M., Grandis J.R., Weissfeld J.L., Romkes M., Weeks D.E., Egloff A.M.: Identification of epidermal growth factor receptor (*EGFR*) genetic variants that modify risk for head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett.*, 2015; 357: 549-556
- [18] Galli P., Cadoni G., Volante M., De Feo E., Amore R., Giorgio A., Arzani D., Paludetti G., Ricciardi G., Boccia S.: A case-control study on the combined effects of p53 and p73 polymorphisms on head and neck cancer risk in an Italian population. *BMC Cancer*, 2009; 9: 137
- [19] Gao J., Ulekleiv C.H., Halstensen T.S.: Epidermal growth factor (EGF) receptor-ligand based molecular staging predicts prognosis in head and neck squamous cell carcinoma partly due to deregulated EGF-induced amphiregulin expression. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2016; 35: 151
- [20] Gugatschka M., Dehchamani D., Wascher T.C., Friedrich G., Renner W.: DNA repair gene ERCC2 polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Exp. Mol. Pathol.*, 2011; 91: 331-334

- [21] Hamel N., Black M.J., Ghadirian P., Foulkes W.D.: No association between P53 codon 72 polymorphism and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Br. J. Cancer*, 2000; 82: 757-759
- [22] Han P., Gao F., Liu H., Liu Z., Shi Q., Troy J.D., Owzar K., Lee W., Zevallos J.P., Sturgis E.M., Wei Q.: Reduced mRNA expression of nucleotide excision repair genes in lymphocytes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 2017; 38: 504-510
- [23] Hitt R., Ciruelos E., Amador M.L., Benito A., Sanchez J.J., Ballestin C., Cortes-Funes H.: Prognostic value of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and p53 in advanced head and neck squamous cell carcinoma patients treated with induction chemotherapy. *Eur. J. Cancer*, 2005; 41: 453-460
- [24] Hoh J., Jin S., Parrado T., Edington J., Levine A.J., Ott J.: The p53MH algorithm and its application in detecting p53-responsive genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 8467-8472
- [25] Homann N., Nees M., Conrad C., Dietz A., Weidauer H., Maier H., Bosch F.X.: Overexpression of p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients is associated with an increased incidence of second primary carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2001; 7: 290-296
- [26] Hunt J.L., Barnes L., Lewis J.S. Jr, Mahfouz M.E., Slootweg P.J., Thompson L.D., Cardesa A., Devaney K.O., Gnepp D.R., Westra W.H., Rodrigo J.P., Woolgar J.A., Rinaldo A., Triantafyllou A., Takes R.P., Ferlito A.: Molecular diagnostic alterations in squamous cell carcinoma of the head and neck and potential diagnostic applications. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2014; 271: 211-223
- [27] Hunter K., Parkinson E.K., Thakker N.: An overview of the molecular pathology of head and neck cancer, and its clinical implications. *Periodontol.* 2000, 2011; 57: 132-149
- [28] Jelonek K., Gdowicz-Kłosok A., Pietrowska M., Borkowska M., Korfanty J., Rzeszowska-Wolny J., Widlak P.: Association between single-nucleotide polymorphisms of selected genes involved in the response to DNA damage and risk of colon, head and neck, and breast cancers in a Polish population. *J. Appl. Genet.*, 2010; 51: 343-352
- [29] Jou A., Hess J.: Epidemiology and molecular biology of head and neck cancer. *Oncol. Res. Treat.*, 2017; 40: 328-332
- [30] Khanal S., Joh J., Kwon A.M., Zahin M., Perez C.A., Dunlap N.E., Silverman C.L., Tennant P.A., Potts K.L., Kloecker G.H., Bumpous J.M., Ghim S.J., Jenson A.B., Redman R.A.: Human papillomavirus E7 serology and association with p16 immunohistochemistry in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Exp. Mol. Pathol.*, 2015; 99: 335-340
- [31] Khlifi R., Rebai A., Hamza-Chaffai A.: Polymorphisms in human DNA repair genes and head and neck squamous cell carcinoma. *J. Genet.*, 2012; 91: 375-384
- [32] Kiwerska K., Rydzanicz M., Kram A., Pastok M., Antkowiak A., Domagała W., Szyfter K.: Mutational analysis of CDKN2A gene in a group of 390 larynx cancer patients. *Mol. Biol. Rep.*, 2010; 37: 325-332
- [33] Klein J.D., Grandis J.R.: The molecular pathogenesis of head and neck cancer. *Cancer Biol. Ther.*, 2010; 9: 1-7
- [34] Korwek Z., Alster O.: Rola szlaku indukowanego uszkodzenia DNA w apoptozie i starzeniu komórkowym. *Postępy Biochem.*, 2014; 60: 248-262
- [35] Kostrzewska-Poczekaj M., Gawęcki W., Illmer J., Rydzanicz M., Gajecka M., Szyfter W., Szyfter K.: Polymorphisms of DNA repair genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck in young adults. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 2013; 270: 271-276
- [36] Kouketsu A., Sato I., Abe S., Oikawa M., Shimizu Y., Takahashi T., Kumamoto H.: Detection of human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinoma: a cohort study of Japanese patients. *J. Oral Pathol. Med.*, 2016; 45: 565-572
- [37] Kumar A., Pant M.C., Singh H.S., Khandelwal S.: Reduced expression of DNA repair genes (XRCC1, XPD, and OGG1) in squamous cell carcinoma of head and neck in North India. *Tumour Biol.*, 2012; 33: 111-119
- [38] Kwiatkowski D., Śliwiński T.: Naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych w chorobie Alzheimerera. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 976-986
- [39] Lei D., Sturgis E.M., Liu Z., Zafereo M.E., Wei Q., Li G.: Genetic polymorphisms of p21 and risk of second primary malignancy in patients with index squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 2010; 31: 222-227
- [40] Li F., Sturgis E.M., Chen X., Zafereo M.E., Wei Q., Li G.: Association of p53 codon 72 polymorphism with risk of second primary malignancy in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer*, 2010; 116: 2350-2359
- [41] Lima L.M., de Souza L.R., da Silva T.F., Pereira C.S., Guimarães A.L., de Paula A.M., de Andrade Carvalho H.: DNA repair gene excision repair cross complementing-group 1 (ERCC1) in head and neck squamous cell carcinoma: analysis of methylation and polymorphism (G19007A), protein expression and association with epidemiological and clinicopathological factors. *Histopathology*, 2012; 60: 489-496
- [42] Liu H., Gao F., Dahlstrom K.R., Li G., Sturgis E.M., Zevallos J.P., Wei Q., Liu Z.: A variant at a potentially functional microRNA-binding site in BRIP1 was associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Tumour Biol.*, 2016; 37: 8057-8066
- [43] Liu J., Zhang Z., Cao X.L., Lei D.P., Wang Z.Q., Jin T., Pan X.L.: XPA A23G polymorphism and susceptibility to cancer: a meta-analysis. *Mol. Biol. Rep.*, 2012; 39: 6791-6799
- [44] Liu J., Zheng Y., Lei D., Liu D., Xu F., Jin T., Cao X., Zhao X., Yu X., Pan X.: MDM2 309T>G polymorphism and risk of squamous cell carcinomas of head and neck: a meta-analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2011; 12: 1899-1903
- [45] Lu M., Liu Z., Yu H., Wang L.E., Li G., Sturgis E.M., Johnson D.G., Wei Q.: Combined effects of E2F1 and E2F2 polymorphisms on risk and early onset of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Mol. Carcinog.*, 2012; 51, Suppl. 1: E132-E141
- [46] Ma H., Yu H., Liu Z., Wang L.E., Sturgis E.M., Wei Q.: Polymorphisms of XPG/ERCC5 and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Pharmacogenet. Genomics*, 2012; 22: 50-57
- [47] Mathew C.G.: Fanconi anaemia genes and susceptibility to cancer. *Oncogene*, 2006; 25: 5875-5884
- [48] McWilliams J.E., Evans A.J., Beer T.M., Andersen P.E., Cohen J.L., Everts E.C., Henner W.D.: Genetic polymorphisms in head and neck cancer risk. *Head Neck*, 2000; 22: 609-617
- [49] Meetei A.R., Medhurst A.L., Ling C., Xue Y., Singh T.R., Bier P., Steltenpool J., Stone S., Dokal I., Mathew C.G., Hoatlin M., Joenje H., de Winter J.P., Wang W.: A human ortholog of archaeal DNA repair protein Hef is defective in Fanconi anemia complementation group M. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 958-963
- [50] Moldovan G.L., D'Andrea A.D.: How the fanconi anemia pathway guards the genome. *Annu. Rev. Genet.* 2009; 43: 223-249
- [51] Nagalakshmi K., Jamil K., Pingali U., Reddy M.V., Attili S.S.: Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations as biomarker for head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Biomarkers*, 2014; 19: 198-206
- [52] Nakashima M., Kondo S., Shimizu Y., Wakisaka N., Murono S., Furukawa M., Yoshizaki T.: Impact of MDM2 single nucleotide polymorphism on tumor onset in head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol.*, 2008; 128: 808-813
- [53] Nogueira G.A., Lourenço G.J., Oliveira C.B., Marson F.A., Lopes-Aguiar L., Costa E.F., Lima T.R., Liutti V.T., Leal F., Santos V.C., Rinck-Junior J.A., Lima C.S.: Association between genetic polymorphisms in DNA mismatch repair-related genes with risk and prognosis of head and neck squamous cell carcinoma. *Int. J. Cancer*, 2015; 137: 810-818
- [54] Nylander K., Dabelsteen E., Hall P.A.: The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell carcinomas of the head and neck. *J. Oral Pathol. Med.*, 2000; 29: 413-425

- [55] Perez-Ordoñez B., Beauchemin M., Jordan R.C.: Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J. Clin. Pathol.*, 2006; 59: 445-453
- [56] Perez-Sayans M., Suarez-Penaranda J.M., Gayoso-Diz P., Barros-Angueira F., Gandara-Rey J.M., Garcia-Garcia A.: p16(INK4a)/CDKN2 expression and its relationship with oral squamous cell carcinoma is our current knowledge enough? *Cancer Lett.*, 2011; 306: 134-141
- [57] Perrone F., Mariani L., Pastore E., Orsenigo M., Suardi S., Marcomini B., DaRiva L., Licitra L., Carbone A., Pierotti M.A., Pilotti S.: p53 codon 72 polymorphisms in human papillomavirus-negative and human papillomavirus-positive squamous cell carcinomas of the oropharynx. *Cancer*, 2007; 109: 2461-2465
- [58] Pinheiro U.B., de Carvalho Fraga C.A., Mendes D.C., Marques-Silva L., Farias L.C., de Souza M.G., Soares M.B., Jones K.M., Santos S.H., de Paula A.M., Velásquez-Meléndez G., Guimarães A.L.: p16 (CDKN2A) SNP rs11515 was not associated with head and neck carcinoma. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 6113-6118
- [59] Reed A.L., Califano J., Cairns P., Westra W.H., Jones R.M., Koch W., Ahrendt S., Eby Y., Sewell D., Nawroz H., Bartek J., Sidransky D.: High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 1996; 56: 3630-3633
- [60] Rothenberg S.M., Ellisen L.W.: The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122: 1951-1957
- [61] Rusin P., Markiewicz Ł., Majsterek I.: Uwarunkowania genetyczne nowotworów głowy i szyi. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 490-501
- [62] Scheckenbach K., Lieven O., Götte K., Bockmühl U., Zotz R., Bier H., Balz V.: p53 codon 72 polymorphic variants, loss of allele-specific transcription, and human papilloma virus 16 and/or 18 E6 messenger RNA expression in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2004; 13: 1805-1809
- [63] Shen H., Zheng Y., Sturgis E.M., Spitz M.R., Wei Q.: P53 codon 72 polymorphism and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control study. *Cancer Lett.*, 2002; 183: 123-130
- [64] Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.: Cancer statistics. 2016. *C.A. Cancer J. Clin.*, 2016; 66: 7-30
- [65] Sigal A., Rotter V.: Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res.*, 2000; 60: 6788-6793
- [66] Śliwinski T., Błasiak J.: Naprawa DNA przez wycinanie zasad. *Postępy Biochem.*, 2005; 51: 120-129
- [67] Sliwinski T., Przybyłowska K., Markiewicz L., Rusin P., Pietruszewska W., Zielinska-Blizniewska H., Olszewski J., Morawiec-Sztandera A., Mlynarski W., Majsterek I.: MUTYH Tyr165Cys, OGG1 Ser326Cys and XPD Lys751Gln polymorphisms and head neck cancer susceptibility: a case control study. *Mol. Biol. Rep.*, 2011; 38: 1251-1261
- [68] Sliwinski T., Walczak A., Przybyłowska K., Rusin P., Pietruszewska W., Zielinska-Blizniewska H., Olszewski J., Morawiec-Sztandera A., Jendrzeczyk S., Mlynarski W., Majsterek I.: Polymorphisms of the XRCC3 C722T and the RAD51 G135C genes and the risk of head and neck cancer in a Polish population. *Exp. Mol. Pathol.*, 2010; 89: 358-366
- [69] Smeets S.J., Brakenhoff R.H., Ylstra B., van Wieringen W.N., van de Wiel M.A., Leemans C.R., Braakhuis B.J.: Genetic classification of oral and oropharyngeal carcinomas identifies subgroups with a different prognosis. *Cell. Oncol.*, 2009; 31: 291-300
- [70] Stenzel-Bembenek A., Sagan D., Guz M., Stepulak A.: Polimorfizm pojedynczych nukleotydów u pacjentów chorych na raka płuca a leczenie cisplatyną. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 1361-1373
- [71] Stransky N., Egloff A.M., Tward A.D., Kostic A.D., Cibulskis K., Sivachenko A., Kryukov G.V., Lawrence M.S., Sougnez C., McKenna A., Shefler E., Ramos A.H., Stojanov P., Carter S.L., Voet D. i wsp.: The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science*, 2011; 333: 1157-1160
- [72] Sturgis E.M., Dahlstrom K.R., Spitz M.R., Wei Q.: DNA repair gene ERCC1 and ERCC2/XPD polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surgery*, 2002; 128: 1084-1088
- [73] Todorova T.A., Jordanov S.H., Stancheva G.S., Chalakov I.J., Melnicharov M.B., Kunev K.V., Mitev V.I., Kaneva R.P., Goranova T.E.: Mutational status of CDKN2A and TP53 genes in laryngeal squamous cell carcinoma. *Pathol. Oncol. Res.*, 2015; 21: 413-421
- [74] Tripathi Bhar A., Banerjee S., Chunder N., Roy A., Sengupta A., Roy B., Roychowdhury S., Panda C.K.: Differential alterations of the genes in the CDKN2A-CCND1-CDK4-RB1 pathway are associated with the development of head and neck squamous cell carcinoma in Indian patients. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2003; 129: 642-650
- [75] Vaezi A., Wang X., Buch S., Gooding W., Wang L., Seethala R.R., Weaver D.T., D'Andrea A.D., Argiris A., Romkes M., Niedernhofer L.J., Grandis J.R.: XPF expression correlates with clinical outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 5513-5522
- [76] Vigneswaran N., Williams M.D.: Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, 2014; 26: 123-141
- [77] Wang Z., Sturgis E.M., Zhang F., Lei D., Liu Z., Xu L., Song X., Wei Q., Li G.: Genetic variants of p27 and p21 as predictors for risk of second primary malignancy in patients with index squamous cell carcinoma of head and neck. *Mol. Cancer*, 2012; 11: 17
- [78] Wei Q., Wang L.E., Sturgis E.M., Mao L.: Expression of nucleotide excision repair proteins in lymphocytes as a marker of susceptibility to squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005; 14: 1961-1966
- [79] Wieduwilt M.J., Moasser M.M.: The epidermal growth factor receptor family: biology driving targeted therapeutics. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2008; 65: 1566-1584
- [80] Wu L., Gao X., Ye D., Ding Y., Yang X.I., Liu W.: Association of the XPA A23G polymorphism with the risk of head and neck carcinomas: Evidence from 5,491 subjects. *Mol. Clin. Oncol.*, 2015; 3: 649-654
- [81] Wyss A.B., Herring A.H., Avery C.L., Weissler M.C., Bensen J.T., Barnholtz-Sloan J.S., Funkhouser W.K., Olshan A.F.: Single-nucleotide polymorphisms in nucleotide excision repair genes, cigarette smoking, and the risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2013; 22: 1428-1445
- [82] Yang M., Kang M.J., Choi Y., Kim C.S., Lee S.M., Park C.W., Lee H.S., Tae K.: Associations between XPC expression, genotype, and the risk of head and neck cancer. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2005; 45: 374-379
- [83] Yang M.H., Chiang W.C., Chou T.Y., Chang S.Y., Chen P.M., Teng S.C., Wu K.J.: Increased NBS1 expression is a marker of aggressive head and neck cancer and overexpression of NBS1 contributes to transformation. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 507-515
- [84] Yang X.I., Zhu Y., Ye D., Liu Y., Sun H., Ruan M., Liu W.: Association of MDM2 promoter T309G polymorphism with oral cancer risk: A meta-analysis of 3,536 subjects. *Mol. Clin. Oncol.*, 2016; 5: 175-180
- [85] Yu H., Li H., Zhang J., Liu G.: Influence of MDM2 polymorphisms on squamous cell carcinoma susceptibility: a meta-analysis. *Onco. Targets Ther.*, 2016; 9: 6211-6224
- [86] Yu H., Liu Z., Huang Y.J., Yin M., Wang L.E., Wei Q.: Association between single nucleotide polymorphisms in ERCC4 and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *PLoS One*, 2012; 7:e41853

[87] Yue X., Zhao Y., Xu Y., Zheng M., Feng Z., Hu W.: Mutant p53 in cancer: accumulation, gain-of-function, and therapy. *J. Mol. Biol.*, 2017; 429: 1595-1606

[88] Zhou C., Tang H., Yu J., Zhuang D., Zhang H.: Blood-based DNA methylation of DNA repair genes in the non-homologous end-joining (NEJ) pathway in patient with glioma. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2015; 8: 9463-9467

[89] Ziółkowska I., Mosor M., Wierzbicka M., Rydzanicz M., Pernak-Schwarz M., Nowak J.: Increased risk of larynx cancer in heterozygous carriers of the I171V mutation of the NBS1 gene. *Cancer Sci.*, 2007; 98: 1701-1705

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.