

KARCINOGENOST I MUTAGENEZA: ANALIZA SOMATSKIH MUTACIJA

VERA GARAJ-VRHOVAC

*Institut za medicinska istraživanja i
medicinu rada, Zagreb*

Primljeno veljača 2000.

Za velik broj kemijskih i fizikalnih agenasa dokazano je da su mutageni i/ili karcinogeni. Mutageneza i karcinogeneza najčešće se razmatraju zajedno kao potencijalni rizici za ljudsko zdravlje. Za otkrivanje ranih učinaka karcinogena na profesionalno izloženim osobama rabe se citogenetičke metode biomonitoringa, koje uključuju utvrđivanje mikroskopski vidljivih oštećenja kromosoma u somatskim stanicama u uvjetima in vitro. Povećani broj kromosomskih oštećenja može služiti kao indikator izloženosti genotoksičnim agensima i upućivati na potencijalni rizik od pojave raka na razini pojedine izložene skupine. Brojna istraživanja dokazala su da se kromosomske nepravilnosti mogu dovesti u vezu s pojavom i razvojem raka. Poznato je da su displazije i premaligna stanja često praćena kromosomskom nestabilnosti i da su specifične kromosomske aberacije povezane s pojedinim tipovima raka. Kromosomske aberacije u limfocitima periferne krvi najosjetljiviji su biomarker za procjenu rizika od pojave raka, s obzirom na to da odražavaju rane biološke učinke genotoksičnih karcinogena na nasljedni materijal te individualnu osjetljivost prema nastanku raka.

Ključne riječi:
analiza kromosomskih aberacija, karcinogeni,
molekulama epidemiologija, mutageni, rani predznaci raka

Indukcija oštećenja u molekuli DNK te sekundarni učinci poput mutacija i kromosomskih rearanžmana, koji iz nje proizlaze, primarni su mehanizmi uključeni u nastanak raka. Rezultati novijih istraživanja pokazali su da su ti događaji uključeni u aktiviranje mirujućih onkogeni i inaktiviranje tumor-supresorskih gena (1, 2).

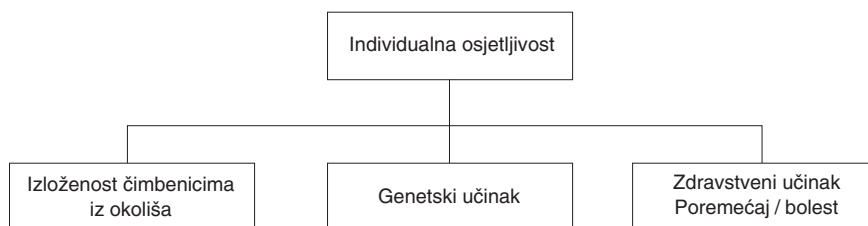
Većina čimbenika rizika iz okoliša uzrok je više od polovice slučajeva raka, a određena je načinom života (pušenje, prehrana i dr.), odnosno uvjetima u radnoj i životnoj sredini (izloženost različitim fizikalnim i kemijskim agensima).

Za velik broj kemijskih i fizikalnih agenasa dokazano je da su mutageni i/ili karcinogeni. Mutageneza i karcinogeneza najčešće se razmatraju zajedno kao potencijalni rizici za ljudsko zdravlje. Otkrivanje mehanizama razvoja raka uključuje razmatranje hipoteze o

somatskim mutacijama na osnovi široke rasprostranjenosti kromosomskih nepravilnosti u stanicama raka.

Epidemiološka istraživanja o pojavi raka nužna su za procjenu rizika. Međutim, klasični epidemiološki pristup ima neka ograničenja: mogu se otkriti samo relativno visoki rizici, a uočene promjene mogu biti posljedica izlaganja koja su se dogodila i nekoliko desetljeća prije.

U istraživanja u ljudi uvode se sada novi parametri: izloženost se ne mjeri samo u okolišu već i u genetičkoj podlozi izloženih osoba; klinička dijagnostika bolesti ili uzročnika smrti integrirana je ili djelomice zamijenjena mjerenjem različitih bioloških događaja, odnosno međukoraka u uzročnom slijedu koji dovodi do nastanka bolesti; individualne značajke, primjerice polimorfizam metaboličkih gena, uzimaju se u obzir kao modifikatori učinka. Uzimanjem svih navedenih parametara u obzir, dolazimo do novog pristupa, koji uključuje individualnu osjetljivost i prisutnost različitih međukoraka u slijedu od izloženosti prema pojavi bolesti:



S obzirom na ograničenja epidemioloških istraživanja, nužno je koristiti se direktnim metodama za procjenu rizika od pojave raka koji proizlazi iz individualne izloženosti. Za otkrivanje ranih učinaka mogućih karcinogena na izloženim osobama rabi se procjena genetičkih učinaka, poput DNK adukata, mutacija gena ili oštećenja kromosoma. Oni se mogu iskoristiti i u predviđanju kasnijih zdravstvenih učinaka, a ujedno pružaju veliki potencijal za preventivne mjere (3).

Suvremeni pristup za otkrivanje ranih učinaka karcinogena zasniva se na mjerenju bioloških učinaka, koji se nalaze u slijedu između početnog uzročnog događaja, izlaganja nekom agensu iz životnog i radnog okoliša i rezultirajuće bolesti. Ove biološke učinke nazivamo zajedničkim imenom biomarkeri, odnosno biološki pokazatelji.

UPOTREBA BIOPOKAZATELJA (BIOMARKERA)

Epidemiološka istraživanja zasnovana na biomarkerima za mjerenje izloženosti, zdravstvenih učinaka ili individualne osjetljivosti nužno su dovela do promjena u provođenju istraživanja u ljudi. U novijim epidemiološkim istraživanjima kao jedan od pokazatelja uvodi se biološko mjerenje, a ta se istraživanja obično nazivaju molekularna epidemiologija (4, 5).

Glavne metodološke značajke istraživanja zasnovanih na proučavanju biomarkera ne razlikuju se od tradicionalnog epidemiološkog pristupa. Međutim, glavna je razlika u tome što istraživanje biomarkera može testirati hipoteze zasnovane na složenim modelima odnosa između bioloških događaja, za razliku od relativno jednostavne veze koja postoji između izloženosti agensima i posljedica koje iz nje proizlaze.

Za sada je većina istraživanja usmjerena na upotrebu biomarkera u procjeni izloženosti ili u otkrivanju osjetljivijih podskupina unutar promatrane populacije. Nadalje, prednost upotrebe biomarkera je njihovo upozoravanje na prisutnost bolesti mnogo prije nego se pojave prvi klinički znakovi (6). Iako su u kliničkoj praksi popularniji biomarkeri koji su vezani uz kasnije stadije bolesti (koji ujedno omogućuju i postavljanje rane dijagnoze), interes istraživača koji proučavaju čimbenike iz okoliša usmjeren je na biomarkere za procjenu ranih učinaka.

Dva biomarkera koje smatramo najboljim ranim predznacima raka, a najčešće se rabe u istraživanju populacija, jesu DNK adukti i kromosomske aberacije.

Uloga DNK adukata kao mogućih pokazatelja raka zasniva se na teoriji mutacijske karcinogeneze, a podupiru ih i neki dokazi: povezanost izloženosti karcinogenima i kovalentnih veza s DNK, rezultati istraživanja provedenih na životinjama; uočeni porast učestalosti DNK adukata u uzorcima tkiva uzetih od pacijenata koji boluju od različitih tumora (1, 7).

Za sada je količina raspoloživih literaturnih podataka o vezi DNK adukata i rizika od pojave raka još ograničena. Međutim, za razliku od DNK adukata, količina podataka o vezi kromosomskih aberacija, kao biomarkera, i rizika od pojave raka mnogostruko je veća i predmet je dugogodišnjih istraživanja (3, 8, 9).

UPOTREBA TESTA ZA ANALIZU KROMOSOMSKIH ABERACIJA U RANOM OTKRIVANJU RAKA

Uloga kromosomskih aberacija u procesu karcinogeneze uočena je i opisana već početkom 20. stoljeća. No, sustavno praćenje promjena na kromosomima u limfocitima periferne krvi tek je 1960-ih godina predloženo kao standardni pristup u procjeni rizika od izloženosti genotoksičnim spojevima (mutagenima i karcinogenima) iz životnog i radnog okoliša.

U prilog hipoteze da su kromosomske aberacije povezane s rakom govore sljedeće činjenice: kromosomski rearanžmani igraju važnu ulogu u aktiviranju protoonkogeni i inaktiviranju tumor-supresorskih gena; osobe s urođenim bolestima, poput Fanconijeve anemije, imaju abnormalno povišene vrijednosti kromosomskih aberacija te povećanu učestalost malignih bolesti; u tumorskim stanicama utvrđene su promjene kariotipa koje su često vrlo specifične za pojedine dijagnostičke kategorije; utvrđeno je da su mnogi karcinogeni kemijski spojevi ujedno i klastogeni (10).

Citogenetičke metode imaju široku primjenu u analizi humanih kromosoma i proučavanju učinaka mutagena na humanim somatskim stanicama u uvjetima *in vivo*. Standardne citogenetičke metode koje se rabe u biomonitoringu humanih populacija uključuju utvrđivanje mikroskopski vidljivih oštećenja kromosoma u humanim somatskim stanicama, najčešće u limfocitima periferne krvi. Temeljna pretpostavka koja se rabi u

ovom pristupu jest da stupanj genetičkog oštećenja u neciljnim tkivima odražava zbijanja u stanicama koja se događaju tijekom procesa karcinogeneze. Nadalje, kromosomski rearanžmani imaju važnu ulogu u aktiviranju protoonkogeno, što indirektno upućuje na njihovu vezu s pojavom raka (2, 9).

Kromosomske aberacije

U kromosomske aberacije ubrajamo lomove i rearanžmane kromosoma koji se mogu uočiti na metafaznim kromosomima. Primjena analize kromosomskih aberacija najuspješnija je u dokazivanju djelovanja agenasa koji izazivaju lomove u dvostruko uzvojnici DNK, a takvi su ionizirajuće zračenje i raznovrsne kemikalije s radiomimetičkim djelovanjem (npr. bleomicin) (3, 11). Tip aberacija izazvan pod utjecajem tih agenasa ovisi o tome u kojoj se fazi staničnog ciklusa stanica nalazila za vrijeme tretmana. Ionizirajuće zračenje izaziva uglavnom jednolančane i dvolančane lomove u DNK, oštećenja baza i križno povezivanje između DNK i proteina. Kritična vrsta lezija koje dovode do pojave kromosomskih aberacija jesu dvolančani lomovi u DNK. U humanim limfocitima nakon izlaganja ionizirajućem zračenju najčešće se detektiraju bicentrični kromosomi, translokacije, prstenasti kromosomi i acentrični fragmenti. Kontinuiranom primjenom analize strukturnih aberacija kromosoma u laboratoriju za mutagenezu Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada za ispitanike profesionalno izložene ionizirajućem zračenju prati se incidencija i učestalost pojedinih strukturnih oštećenja kromosoma u odnosu na kontrolnu populaciju (12–16). Navedena citogenetička metoda pruža nam podatke i o oštećenju genoma somatskih stanica pod utjecajem mikrovalnog zračenja u uvjetima *in vivo* i *in vitro* (17–22) i u osoba profesionalno izloženih raznim kemijskim mutagenima, kao što su vinil klorid monomer, benzen, antitumorski lijekovi (23–26, 31, 32). Važno je naglasiti da izlaganje povišenim koncentracijama navedenih kemijskih spojeva izaziva strukturna oštećenja kromosoma.

Budući da su bicentrični kromosomi nestabilne aberacije, eliminiraju se tijekom kasnijih staničnih dioba (3). Za razliku od njih, translokacije smatramo stabilnim aberacijama jer se ne eliminiraju u kasnijim diobama. Translokacije se ujedno detektiraju teže od bicentričnih kromosoma, a u tome nam pomažu različite specifične tehnike bojenja, kao što su G ili Q-pruganje te FISH. Primjenom fluorescencijske hibridizacije *in situ* (FISH) s pomoću specijalnih DNK proba mogu se otkriti kompleksne kromosomske aberacije nastale kao posljedica većeg broja lomova i translokacija koje uključuju više od dva kromosoma (27, 28).

Izmjene sestrinskih kromatida (SCE)

Izmjene sestrinskih kromatida (SCE) uključuju lom dvostruke uzvojnice DNK u obje kromatide nakon kojeg slijedi njihova izmjena. To se događa tijekom S-faze, pa SCE najuspješnije izazivaju kemikalije koje stvaraju kovalentne adukte na DNK, narušavaju stabilnost uzvojnice ili interferiraju s metabolizmom preteča DNK ili mehanizmom popravka. Vizualizacija izmjene sestrinskih kromatida moguća je nakon ugradnje analoga timina, 5-bromodeoksiuridina u jednu od kromatida, koja će se zbog toga obojiti svjetlije od druge sestrinske kromatide (29, 30). SCE je osjetljiva citogenetička tehnika koja omogućuje detekciju učinka i vrlo niskih koncentracija različitih kemikalija na humani genom, koje se ne mogu detektirati standardnom analizom kromosomskih aberacija. Tako se primjenom analize izmjena sestrinskih kromatida (SCE) ustanovila prisutnost oštećenja genoma

somatskih stanica pod utjecajem kemijskih agenasa iz radnog i životnog okoliša (23, 24, 26). Kontinuiranim višegodišnjim praćenjem ispitanica koje su profesionalno izložene antitumorskim lijekovima utvrđeno je povišenje izmjena sestrinskih kromatida (31, 32). Značajni porast učestalosti oštećenja utvrđen je i u limfocitima periferne krvi osoba zaposlenih u proizvodnji pesticida i benzena (24, 33).

Mikronukleusni test na binuklearnim limfocitima periferne krvi

Mikronukleusi potječu od acentričnih kromosomskih fragmenata ili čitavih kromosoma koji se tijekom diobe stanice nisu ugradili u jednu od glavnih jezgara. Tehnika mikronukleusnog testa brza je i osjetljiva te ima niz prednosti pred klasičnom analizom kromosomskih aberacija. Omogućuje detekciju oštećenja i kromosoma i diobenog vretena u stanici, odnosno otkrivanje agenasa s klastogenim i aneugenim učinkom (34).

Kako je mikronukleus rezultat kromosomskih lomova, ali i oštećenja diobenog vretena, vrijednost mikronukleusnog testa je potvrđena kako u bazičnim tako i u kliničkim istraživanjima. Primjenom mikronukleusnog testa u kombinaciji sa specifičnim tehnikama bojenja istraženo je oštećenje stanice izazvano djelovanjem ultrazvuka (21, 35). Istodobnom primjenom osjetljivih i reproducibilnih citogenetičkih tehnika u biomonitoringu značajno se poboljšava mogućnost korelacije dobivenih citogenetičkih parametara i izloženosti fizikalnim ili kemijskim mutagenima. Korelacija između kromosomskih aberacija i učestalosti mikronukleusa opisana je praćenjem oštećenja genoma kod populacije izložene i fizikalnim i kemijskim mutagenima u uvjetima *in vivo* i u kontroliranim uvjetima *in vitro* (17, 19, 23, 25, 33). Citogenetičko oštećenje somatskih stanica procjenjuje se povišenjem strukturnih oštećenja kromosoma, učestalosti izmjena sestrinskih kromatida i povećanom incidencijom mikronukleusa u populaciji profesionalno izloženoj genotoksičnim spojevima iz životnog i radnog okoliša (17-24, 32, 33).

ZNAČAJNOST KROMOSOMSKIH OŠTEĆENJA

Povećani broj kromosomskih oštećenja može poslužiti kao pokazatelj izloženosti genotoksičnim agensima i upućivati na potencijalni rizik od pojave raka na razini pojedine izložene skupine. Brojna istraživanja dokazala su da se kromosomske nepravilnosti mogu dovesti u vezu s pojavom i razvojem raka. Tako je poznato da su displazije i premaligna stanja često praćeni kromosomskom nestabilnošću, a dokazano je i da su specifične kromosomske aberacije povezane s pojedinim tipovima raka.

Na osnovi individualnih razlika u ravnoteži između oštećenja i popravka genetičkog materijala Knudson (1985.) predlaže razlikovanje četiriju skupina s rizikom od nastanka raka, tzv. onkodeme (36).

U prvu skupinu ubrajamo osobe kod kojih rak nastaje kao posljedica somatskih mutacija uzrokovanih čimbenicima koji su izvan našeg utjecaja, primjerice kozmičkih zraka i pogrešaka u sustavu enzima za popravak i replikaciju DNK. U drugu skupinu ubrajamo osobe u kojih se tumori razvijaju kao odgovor na izlaganje mutagenima u količinama većim od neke osnovne razine. Organizam ne može popraviti oštećenja nastala izlaganjem povećanim količinama mutagena i kao posljedica toga razvija se

rak. U treću skupinu ubrajamo osobe u kojih se rak razvija kao posljedica relative genetičke insuficijencije prema toleriranju izloženosti karcinogenim tvarima. Zbog općenite nemogućnosti popravljivanja oštećenja razvija se rak. U četvrtu skupinu ubrajamo osobe u kojih rak nastaje kao posljedica autosomalnih dominantnih kromosomskih sindroma. Rak se u tih osoba razvija kao posljedica genetičkih defekata, dok je utjecaj okoliša na njegovu pojavu zanemariv.

Postoje i sindromi povećane lomljivosti kromosoma, koji se nasljeđuju na autosomalno-recesivni način, a povezani su s povećanim rizikom od pojave raka. Ovamo se ubrajaju Bloomov sindrom (BS), Fanconijeva anemija (FA) i ataxia telangiectasia (AT). U osoba s tim sindromima uočena je povećana konstitutivna osjetljivost na lom kromosoma i kromosomske rearanžmane u odnosu na kontrolnu populaciju (37). Osobe s BS-om imaju najveći rizik od razvoja raka u odnosu na sve prije navedene sindrome. U oko 25% oboljelih razvit će se neki oblik neoplazije, najčešće akutna limfocitna i nelimfocitna leukemija, ne-Hodgkinov limfom i drugi karcinomi. Osobe s FA imaju povećani rizik od akutne nelimfocitne anemije, tumora jetre i kože te karcinoma. U oko 10% osoba s AT-om razvijaju se maligne bolesti, većinom ne-Hodgkinov limfom, akutna limfocitna leukemija, različiti karcinomi i Hodgkinova bolest (38). Osim u slučajevima naslijeđene osjetljivosti kromosoma koja rezultira pojavom raka, nedvojbeno je dokazano da su neki drugi tipovi raka povezani s određenim stupnjem kromosomske nestabilnosti kako je prikazano na tablici 1.

Tablica 1. *Primjeri tipova tumora s povećanom nestabilnosti kromosoma u oboljelih osoba koje nisu bile podvrgnute nikakvoj terapiji*

Tip tumora	Literatura (broj referencije)
Adenomi debelog i završnog crijeva	(39 – 42)
Rak grlića maternice	(43 – 45)
Kronična limfatička leukemija	(46)
Rak jajnika	(47)
Karcinom bubrežnog parenhima	(48, 49)
Rak pluća	(50 – 53)
Retinoblastom	(54)
Karcinom štitne žlijezde	(55, 56)
Kaposijev sarkom	(57)

Valja naglasiti da razmjeri genetičkih oštećenja utvrđenih u limfocitima periferne krvi odražavaju slične procese u ciljnim tkivima. Opsežna istraživanja kromosomskih aberacija u limfocitima periferne krvi, kao ranih pokazatelja rizika od pojave raka provedena su na dvije skupine zdravih ispitanika u Italiji i sjevernoj Europi. Dobiveni su vrlo slični rezultati, koji upozoravaju na veliki rizik od pojave raka u osoba koje su imale najveći broj utvrđenih kromosomskih aberacija (58, 59). Na temelju dobivenih rezultata pretpostavlja se da je vjerojatnost od pojave raka u ispitanika koji imaju dvostruko veću učestalost kromosomskih aberacija od kontrole veća za 20-25%.

Također je uočeno da čimbenici poput vremena kad je bilo provođeno testiranje, dobi ispitanika ili njihova podrijetla ne utječu na vezu između kromosomskih aberacija i raka.

ZAKLJUČAK

Primjenom suvremenih citogenetičkih metoda moguće je utvrđivanje veza između rizika od nastanka pojedinih tipova tumora i oštećenja određenih kromosoma. Ove su metode u širokoj primjeni u procjeni individualne predispozicije i rizika od nastanka i razvoja raka. Rabe se u analizi humanih kromosoma i testiranju različitih mutagena i njihovih izravnih učinaka na humanim somatskim stanicama u uvjetima *in vivo*. Brojna istraživanja potvrdila su postojanje pozitivne korelacije između frekvencije kromosomskih aberacija i povećanog rizika od raka.

Najosjetljiviji biomarker za procjenu rizika od pojave raka jesu kromosomske aberacije u limfocitima periferne krvi, s obzirom na to da odražavaju rane biološke učinke genotoksičnih karcinogena na nasljedni materijal te individualnu osjetljivost prema nastanku raka. Osim kromosomskih aberacija, na povećani rizik od pojave raka u određenoj mjeri mogu upućivati i drugi biomarkeri – SCE i pojava mikronukleusa. Osobitu važnost ovakva testiranja imaju u monitoringu populacija koje su profesionalno izložene pojedinim mutagenima iz radnog okoliša, čiji su nam mehanizmi djelovanja poznati, a dovode se u izravnu vezu s malignom transformacijom i pojavom raka.

LITERATURA

1. Bishop JM. The molecular genetics of cancer. *Science* 1987;23:305–8.
2. Vineis P, Malats N, Porta M, Real FX. Human cancer, carcinogenic exposure and mutation spectra. *Mutat Res* 1999;436:185–94.
3. Natarajan AT. Mechanisms for induction of mutations and chromosome alterations. *Environ Health Perspect* 1993;101:225–29.
4. Schutle PA. A conceptual and historical framework for molecular epidemiology (I: Schutle PH, Perera FP, ur. *Molecular epidemiology: Principles and practice*. San Diego (CA): Academic Press; 1993. str. 3–44.
5. Rothman N, Stewart WF, Schulez PA. Incorporating biomarkers into cancer epidemiology: a matrix of biomarker and study design categories. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1995;4:301–11.
6. Bonassi S. Combining environmental exposure and genetic effect measurements in health outcome assessment. *Mutat Res* 1999;428:177–85.
7. La DK, Swenberg JA. DNA adducts: Biological markers of exposure and potential applications to risk assessment. *Mutat Res* 1996;365:129–46.
8. Sorsa M, Ojajarvi A, Salomaa S. Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: Preliminary experiences from a prospective cancer study in a cytogenetic cohort. *Teratog Carcinog Mutagen* 1990;10:215–21.
9. Anwar WA. Cytogenetic monitoring of human populations at risk in Egipat: Role of cytogenetic data in cancer risk assessment. *Environ Health Perspect* 1991;96:91–5.
10. Dave BJ, Hopwood VL, Spitz MR, Pathak S. Shared cytogenetic abnormalities in lung tumours and corresponding peripheral blood lymphocytes. *Int J Oncol* 1995;7:1297–305.
11. International Atomic Energy Agency (IAEA). Biological dosimetry chromosomal aberration analysis for dose assessment. Vienna: IAEA; 1986. str. 1–67. IAEA Technical Report Series No. 260.

12. Horvat Đ, Bauman A, Račić J. Genetic effect of low doses of radiation in occupationally exposed workers in coal mines and in coal fired plants. *Radiat Environ Biophys* 1980;18:91-7.
13. Kubelka D, Fučić A, Milković-Kraus S. The value of cytogenetic monitoring versus film dosimetry in the hot zone of a nuclear power plant. *Mutat Res* 1992;283:169-72.
14. Kašuba V, Šentija K, Garaj-Vrhovac V, Fučić A. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from control individuals. *Mutat Res* 1995;346:187-93.
15. Kubelka D, Garaj-Vrhovac V, Hebrang A, Šimpraga M. Possible discrepancies between dicentric chromosome frequencies and recorded ionizing radiation doses: in vivo study. *Am J Ind Med* 1999;36:469-74.
16. Rozgaj R, Kašuba V, Šentija K, Prlić I. Radiation-induced chromosomal aberrations and haematological alterations in hospital workers. *Occup Med* 1999;49:353-60.
17. Garaj-Vrhovac V, Fučić A, Horvat Đ. Comparison of chromosome aberrations and micronucleus induction in human lymphocytes after occupational exposure to vinyl chloride monomer and microwave radiation. *Mutat Res* 1990;92:411-6.
18. Garaj-Vrhovac V, Horvat Đ, Koren Z. The effect of microwave radiation on the cell genome. *Mutat Res* 1992;243:87-93.
19. Garaj-Vrhovac V, Fučić A, Horvat Đ. The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwave radiation *in vitro*. *Mutat Res* 1992;281:181-6.
20. Garaj-Vrhovac V, Fučić A, Pevalek-Kozlina B. The rate of elimination of chromosomal aberrations after accidental exposure to microwave radiation. *Bioelectrochem Bioenergetic* 1993;30:319-25.
21. Garaj-Vrhovac V, Fučić A, Kubelka D, Hebrang A. Assessment of genome damage in occupational exposure to ionising radiation and ultrasound. *Mutat Res* 1997;395:101-5.
22. Garaj-Vrhovac V. Micronucleus assay and lymphocytes mitotic activity in risk assessment of occupational exposure to microwave radiation. *Chemosphere* 1999;39:2301-12.
23. Fučić A, Horvat Đ, Dimitrović B. Mutagenicity of vinyl chloride in man: comparison of chromosome aberrations with micronucleus and sister chromatid exchange frequencies. *Mutat Res* 1990;242:265-70.
24. Karačić B, Horvat Đ, Skender Lj, Prpić-Majić D. Chromosome studies in workers occupationally exposed to benzene. *Biol Monit* 1990;1:55-64.
25. Fučić A, Garaj-Vrhovac V, Barković D, Kubelka D. The sensitivity of the micronucleus assay for the detection of occupational exposure to vinyl chloride monomer. *Mutat Res* 1994;325:53-6.
26. Fučić A, Garaj-Vrhovac V, Dimitrović B, Škara M. The persistence of sister-chromatid exchange frequencies in men occupationally exposed to vinyl chloride monomer. *Mutat Res* 1992;281:129-32.
27. Schrock E, Dumanior S, Veldman T, Schoell B, Wienberg J, Ferguson Smith MA i sur. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 1996;273:494-7.
28. Olive PL. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology. *Int J Radiat Biol* 1999; 75(4): 395-405.
29. Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 1975;258:121-5.
30. Latt SA, Schreck RR. Sister chromatid exchange analysis. *Am J Hum Genet* 1980;32: 297-313.
31. Milković-Kraus S, Horvat Đ. Chromosomal abnormalities among nurses occupationally exposed to antineoplastic drugs. *Am J Ind Med* 1991;19:771-4.
32. Kašuba V, Rozgaj R, Garaj-Vrhovac V. Analysis of sister chromatid exchange and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *J Appl Toxicol* 1999;19:401-4.

33. Garaj-Vrhovac V, Želježić D. Chromosomal aberrations and frequency of micronuclei in workers employed in pesticide production. *Biologia* 1999;54:705–10.
34. Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res* 1985;147:29–36.
35. Garaj-Vrhovac V, Kopjar N. Incidence of micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes of medical personnel occupationally exposed to ultrasound. *Neoplasma* 1999;46:377–83.
36. Knudson AG. Heredity cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Cancer Res* 1985;45:1437–43.
37. German J. Patterns of neoplasia associated with the chromosome breakage syndromes. U: German J, ur. Chromosome mutation and neoplasia. New York (NY): Alan R. Liss Inc.; 1983. str. 97–134.
38. Heim S, Johansson B, Mertens F. Constitutional chromosome instability and cancer risk. *Mutat Res* 1989;221:39–51.
39. Delhanty JDA, Davis MB, Wood J. Chromosome instability in lymphocytes fibroblasts, and colon epithelial-like cells from patients with familial polyposis coli. *Cancer Genet Cytogenet* 1983;8:27–50.
40. Heim S, Greff Johansen S, Kolnig A, Strombeck B. Increased levels of spontaneous and mutagen-induced chromosome aberrations in skin fibroblasts from patients with adenomatosis of the colon and rectum. *Cancer Genet Cytogenet* 1985;17:333–46.
41. Gebhart E, Romahn R, Schneider A, Hoffmann M, Rau D, Tittelbach H. Cytogenetic studies in lymphocytes of patients with rectal cancer. *Environ Health Perspect* 1993;101 suppl. 3:169–75.
42. Dave BJ, Hopwood VL, Hughes JI, Jakson GL, Melillo D, Pathak S. Cytogenetic abnormalities in colon cancer patients – a comparison of T-lymphocytes and B-lymphocytes. *Anticancer Res* 1993;13:433–8.
43. Murty VWS, Mitra AB, Luthra UK. Spontaneous chromosomal aberrations in patients with precancerous and cancerous lesions of the cervix uteri. *Cancer Genet Cytogenet* 1985;17:347–54.
44. Capalash N, Sobti RC. Spontaneous genomic fragility and cell cycle progression in lymphocytes of patients with cervical. *Cancer Genet Cytogenet* 1996;88:30–4.
45. Dhillon VS, Kler RS, Dhillon IK. Chromosome instability and sister chromatid exchange (SCE) studies in patients with carcinoma of cervix uteri. *Cancer Genet Cytogenet* 1996;86:54–7.
46. Dierlamm J, Michaux L, Criel A, Wlodarska I, Vandenberghe H, Hossfeld DK. Genetics abnormalities in chronic lymphocytic leukemia and their clinical and prognostic implications. *Cancer Genet Cytogenet* 1997;94:27–35.
47. Dhar PK, Devi S, Rao TR, Kumar U, Joseph A, Kumar MR i sur. Significance of lymphocytic sister chromatid exchange frequencies in ovarian cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet* 1996;89:105–8.
48. Moriyama-Gonda N, Sumi H, Shiina H, Himeno Y, Ishibe T. Unstable chromosome aberrations in bladder and renal cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1991;56:65–72.
49. Gunawan B, Bergmann F, Braun S, Hemmerlein B, Ringert RH, Jakse G i sur. Polyploidization and losses of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, and 17 in three cases of chromophobe renal cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;110:57–61.
50. Cheng TJ, Christiani DC, Wiencke JK, Wain JC, Xu XP, Kelsey KT. Comparison of sister chromatid exchange frequency in peripheral lymphocytes in lung cancer cases and controls. *Mutat Res* 1995;348:75–82.
51. Dave BJ, Hopwood VL, King TM, Ziang H, Spitz MR, Pathak S. Genetic susceptibility to lung cancer as determined by lymphocytic chromosome analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4:743–9.
52. Anderson D, Hugher JA, Nizankowska E i sur. Factors affecting various biomarkers in untreated lung cancer patients and healthy donors. *Environ Mol Mut* 1997;30:205–16.

53. Wu XF, Zhao Y, Kemp BL, Amos CI, Siciliano MJ, Spitz MR. Chromosome 5 aberrations and genetic predisposition to lung cancer. *Int J Cancer* 1998;79:490-3.
54. De Nunez M, Penchaszadeh VB, Pimentel E. Chromosome fragility in patients with sporadic unilateral retinoblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1984;11:139-41.
55. Hsu TC, Pathak S, Samaan N, Hickey RC. Chromosome instability in patients with medullary carcinoma of the thyroid. *JAMA* 1981;246:2046-8.
56. Pathak S, Hsu TC, Samaan N, Hickey RC. Cytogenetic abnormalities in a patient with hypercalcemia and papillary thyroid carcinoma. *Hum Genet* 1982;60:291-3.
57. Scappaticci S, Cerimele D, Cottoni F, Pasquali F, Fraccaro M. Chromosomal aberrations in lymphocyte and fibroblast cultures of patients with the sporadic type of Kaposi sarcoma. *Hum Genet* 1986;72:311-7.
58. Hagmar L, Brogger A, Hansteen IL, Heim S, Hogstedt B, Knudsen L i sur. Cancer risk in humans predicated by increasing leveles of chromosome aberrations in lymphocytes: nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* 1994;54:2919-22.
59. Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Brogger A, Knudsen L, Norppa H i sur. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer – a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 1998;58:4117-21.

Summary

CARCINOGENESIS AND MUTAGENESIS: THE ANALYSIS OF MUTATIONS IN SOMATIC CELLS

Many chemical and physical agents are known mutagens and/or carcinogens. Mutagenesis and carcinogenesis are often considered together in the assessment of human health risks. Cytogenetic methods of biomonitoring are used to assess primary effects of carcinogens in occupationally exposed populations. Cytogenetic methods are widely employed in the analysis of human chromosomes and study of the mutagen effects on human somatic cells *in vitro*. Standard cytogenetic methods used in human biomonitoring include determination of microscopically visible chromosome lesions in human somatic cells, especially in the peripheral blood lymphocytes. Increased frequencies of chromosome lesions may serve as an indicator of genotoxic exposure and may suggest that chromosome irregularities are related to development of cancer. It is known that dysplasia and premalignant conditions are often accompanied by chromosome instability. Moreover, it was observed that some types of cancer such as adenomatosis of the colon and rectum, dysplastic nevus syndrom, basal cell carcinoma, cancerous lesions of cervix uteri, Kaposi's sarcoma, thyroid carcinoma, and lung cancer are characterised by specific chromosome aberrations. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes are among the most powerful biomarkers in cancer risk assessment because they betray early biological effects of genotoxic carcinogens on genetic material and reveal individual susceptibility to cancer.

Key words:

cancer risk, carcinogens, chromosomal aberration, molecular epidemiology, mutagens

Requests for reprints:

dr. sc. Vera Garaj-Vrhovac, dipl. ing. biologije
Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada
p.p. 291, Zagreb 10001
E-mail: Vera.Garaj-Vrhovac@imi.hr