

A spontán aneuploidia gyakorisága egészséges magyar populációban

Farkas Gyöngyi, Székely Gábor, Vass Nagyvezsda, Kiss Krisztina, Gundy Sarolta

Országos Onkológiai Intézet, Sugárterápiás Központ, Klinikai Sugárbiológiai és Diagnosztikus Onkocytogenetikai Osztály, Budapest

Az aneuploidiáknak a daganatok kialakulásában igen fontos szerepük van, akár veleszületett, akár szerzett mutációk következményei. Ahhoz, hogy különböző aneugének kedvezőtlen hatását reálisan megítélhessük, egy egészséges populációban előforduló spontán gyakoriság ismerete elkerülhetetlen. 2145 egészséges személy perifériás vér limfocitáinak spontán számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációit analizáltuk, a biológiai és életmódbeli faktorok (nem, életkor, dohányzás, különböző környezeti expozíciók) módosító szerepének tükrében. Az aneuploidia és a rákkockázat közötti kapcsolat vizsgálatához 1–23 évig követtük a vizsgált személyek rákmorbiditási adatait. Az összes vizsgált személy aneuploid sejteinek előfordulási átlaga $1,77 \pm 0,06\%$ volt, ami az életkor emelkedésével, az esetleges foglalkozási expozícióktól függetlenül is lineárisan nőtt ($r^2=0,81$). A biológiai tényezők közül a nemi hovatartozás nem befolyásolta az értékeket, az expozíciók vonatkozásában a dohányzás nem, a foglalkozási expozíciók azonban módosították a numerikus aberrációk gyakoriságát. A sugárveszélyes munkahelyen dolgozók legalacsonyabb értékeivel szemben ($1,44 \pm 0,10\%$), a legtöbb aneuploidiát a vegyiparban dolgozóknál ($1,89 \pm 0,05\%$) mértük. A számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációk között semmilyen vonatkozásban nem találtunk összefüggést. A daganatban megbetegedő személyeknél ($n=97$) 12 évnél hosszabb egészségesen eltöltött idő csak azoknál fordult elő, akiknél az aneuploidia aránya $\leq 2\%$. Ismereteink szerint ez a tanulmány eddig a legmagasabb esetszámú vizsgálat, amelynek eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy az aneuploidia – a szerkezeti kromoszómaaberrációkhoz hasonlóan – a genetikai instabilitás kiegészítő citogenetikai biomarkere. Magyar Onkológia 59:198–204, 2015

Kulcsszavak: spontán aneuploidia, kromoszómainstabilitás, rákkockázat, biomarker

Aneuploidy plays very important role in tumor development as the consequence of either congenital or acquired mutations. In order to evaluate the adverse effects of various aneugens, the knowledge of the spontaneous frequency of numerical chromosome abnormalities in healthy population is fundamental. In our study we analyzed the spontaneous rate of numerical and structural chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of 2145 healthy individuals, with special attention to the influence of biological (gender, age) and life-style factors (smoking, different occupational exposure). Correlation between aneuploidy and risk of cancer development were investigated according to National Cancer Registry data followed for 1–23 years. In the whole population the average frequency of aneuploid cells was $1.77 \pm 0.06\%$. This value increased by age linearly ($r^2 = 0.81$) regardless of occupational exposures. Gender (biological factor) or smoking (life style factor) did not influence the values, however, the occupation of individuals modified the frequency of numerical aberrations. Individuals who worked at workplaces with radiation hazard had the lowest ($1.44 \pm 0.10\%$), and those working in the chemical industry had the highest ($1.89 \pm 0.05\%$) values of aneuploidy, respectively. We could not find any correlation between numerical and structural chromosome aberrations. In our population studied 97 individuals developed cancer and only those who had $\leq 2\%$ aneuploidy survived more than 12 years in good health conditions. To our knowledge, this study has the highest case number investigated up to now. Our results support that aneuploidy, similarly to structural chromosomal aberrations, might be an additional cytogenetic biomarker of the genetic instability.

Farkas G, Székely G, Vass N, Kiss K, Gundy S. Rate of spontaneous numerical chromosome aberrations in Hungarian healthy population. Hungarian Oncology 59:198–204, 2015

Keywords: spontaneous aneuploidy, chromosomal instability, risk of cancer, biomarker

Levelezési cím: Farkas Gyöngyi, Országos Onkológiai Intézet, Sugárterápiás Központ.

Tel.: 06-1-224 8779, 06-1-224 8600/1379, e-mail: farkas.gyongyi@oncol.hu

Közlésre érkezett: 2015. február 3. • Elfogadva: 2015. március 11.

BEVEZETÉS

A kromoszómák pontos szétválását biztosító molekuláris mechanizmusok kulcsfontosságú szerepet játszanak az eukarióta sejtek kromoszómaszámának megőrzésében (1). Ha ebbe a folyamatba hiba csúszik, és a sejtekben ún. numerikus aberrációk (aneuploidiák) keletkeznek, ez a génfunkciók változásához vagy akár malignus transzformáció kialakulásához is vezethet (2). A mitotikus ellenőrzési pont funkcióvesztése, a centroszómák abnormális amplifikációja, a kinetokór-mikrotubulus kapcsolódás hibái vagy a kromoszómapárok azonos pólushoz való vándorlása destabilizálják a kromoszómaszegregációt (3, 4), és így az aneuploid sejtek a genom instabilitását váltják ki (5). Aneuploidia esetében nemcsak többszörös lehet a haploid kromoszómaszám, hanem a normális diploid készletnél vagy kevesebb, vagy néhány kromoszómával több is előfordulhat.

Míg a normális diploid sejtekben *in vitro* körülmények között becslések szerint minden századik sejtosztódás során következik be hibás kromoszómaszétválás (6, 7), a szomatikus aneuploid sejtekben az *in vivo* észlelt szegregációs hiba aránya nem ismert. A különböző sejtípusok továbbá a sejt és a környezeti interakciók hatása külön-külön is befolyásoló tényezők lehetnek (8).

Az aneuploidiáknak a daganatok kialakulásában igen nagy jelentőségük van, akár veleszületett mutációk, akár szerzett mutációk következtében alakulnak ki. Az, hogy az aneuploidia oka vagy következménye a ráknak, a mai napig vitatott kérdés. A kutatók nagy többsége azonban úgy véli, hogy az aneuploidia elsődleges ok lehet a tumorigenezishez vezető genetikai instabilitásban (9–11).

A daganatok kialakulása mellett még két fiziológiás folyamattal is kapcsolatba hozható az aneuploidizáció, ez a szervfejlődés és az életkor. Például a máj és az agy ontogenezise során az aneuploidizáció normális folyamat, amikor a poliploid sejtekből aneuploid, majd diploid sejtek keletkeznek (12–14). Ezekben az esetekben az aneuploidia természetesen nem káros, hanem hasznos. Az aneuploidia és az életkor kapcsolata pedig különösen érdekes, hiszen a korrallal megemelkedő aneuploidia rizikófaktor lehet a krónikus betegségek kialakulásában is.

A biológiai adottságok mellett számos környezeti tényező vagy körülmény is indukálhat aneuploidiát. Ezeket az anyagokat aneugéneknek nevezzük. Több *in vitro* vagy *in vivo* alkalmazott citogenetikai tesztet ismerünk, amivel az aneugén hatás kimutatható (15–23), mint pl. a különféle sejtosztódásgátlók, mitózisblokkoló szerek stb. testi vagy ivarsejtekre gyakorolt, numerikus aberrációkat indukáló hatása.

A reprodukciós és szomatikus sejtek kromoszómaszámának fenntartása tehát fontos tényező a genom stabili-

tásában. Annak megállapításához, hogy egy egészséges populációban milyen gyakoriság tekinthető kórosnak, és az aneuploidiát okozó káros körülmények ellen miként védekezhetünk, az aneuploidia alacsony gyakoriságának ismerete elkerülhetetlen.

A citogenetikai biomarkerek közül a szomatikus (testi) sejtek szerkezeti kromoszómaaberrációi a leggyakrabban használt markerek, amelyek a genotoxicitás hatásának mérésére, sőt, a rákkockázat becslésére is alkalmasak (24). Ezzel szemben az aneuploidiák markerszerepe az egészséges populációkban előforduló spontán frekvencia ismerete nélkül nem teljes (25). Mindez vonatkozik olyan szubpopulációkra is, ahol az aneugénnel való kontaktus nem zárható ki, vagy ahol a spontán és indukált aneuploidia és a rákkockázat közötti kapcsolat még nem teljesen feltárt.

Tanulmányunkban 2145 egészséges személy numerikus és szerkezeti kromoszómaaberrációit analizáltuk a következő szempontok tisztázására:

- a spontán aneuploidia gyakoriságának megállapítása
- biológiai és életmódbeli faktorok (nem, életkor, dohányzás, különböző foglalkozási expozíciók) módosító szerepének tanulmányozása
- a számbeli és strukturális kromoszómaaberrációk közötti összefüggés vizsgálata, valamint
- az aneuploidia gyakorisága és a rákkockázat közötti esetleges kapcsolat feltárása.

ANYAG ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZER

Vizsgált személyek

Tanulmányunkban kontrollszemélyek, illetve különböző expozíciós munkakörben dolgozó 2145 egészséges személy citogenetikai vizsgálatát végeztük el 1989 és 2010 között. A vizsgált személyek citogenetikai értékei a „Rákkockázat Biomarkerei” (Cancer Risk Biomarkers) című, EU által támogatott QLK4-CT-2002-02831 kutatási téma magyar adatbázisából és annak etikai bizottsági engedélyével kerültek feldolgozásra. Az európai konzorciumi tanulmány (26) az aneuploidiák szerepének vizsgálatára nem tért ki, tekintettel arra, hogy a részt vevő országok nem mindegyike rendelkezett az erre vonatkozó adatokkal.

Az egészséges kontrollok budapesti és Budapest környéki, munkahelyi alkalmassági vizsgálaton részt vevő, adminisztrációs munkakörben dolgozó személyek vagy véradók voltak, akik a szokásos lakossági expozíciós terhelésen kívül egyéb expozícióban nem érintettek. Mind a kontrollok, mind a foglalkozási exponáltak a citogenetikai vizsgálatot követő 1 éven belül még daganatmentesek voltak, anamnézisében speciális gyógyszeres és sugárterápia, ill. a fertőző betegségek kizáró okként szerepeltek.

1. táblázat. Egészséges személyek demográfiai adatai

Vizsgált csoportok		Személyek száma		Életkor (átlag±SD)
		N	%	
Nem	Összes	2145	100	38,4±11,3
	Férfi	1097	51,1	36,9±11,4
	Nő	1048	48,9	39,9±11,1
	Kontroll férfi	330	15,4	39,7±13,2
	Kontroll nő	636	29,7	39,9±11,2
	Exponált férfi	767	35,8	35,6±10,3
	Exponált nő	412	19,2	40,0±10,5
Dohány- zás	Nem	1327	61,9	39,0±11,7
	Igen	790	36,8	37,1±10,7
	Nincs adat	28	1,3	43,9±11,2
Expozíció	Kontroll	966	45,0	39,8±11,9
	Ionizáló sugárzás	155	7,2	42,1±11,0
	Kémiai laboratórium	165	7,7	42,1±11,1
	Vegyipar	859	40,0	35,3±10,0
Követési időn belül daganatos lett		97	4,5	45,9±13,0

2. táblázat. Az aneuploidia előfordulása és a daganatok kialakulása közötti kapcsolat

Vizsgált csoport	Normális kariotípus 46 XX vagy 46 XY Személy N (%)	Aneuploidia 46 ± 2 kromoszóma Személy N (%)	Összesen
Összes személy	455 (21,21%)	1690 (78,78%)	2145 (100%)
Daganatos lett	21 (21,65%)	76 (78,35%)	97 (100%)

A foglalkozási exponált kategóriákban a következő csoportokat különítettük el:

- sugárveszélyes munkakör (155 fő): orvosok, fizikusok, aszisztensek, terápiás sugárforrásokat kezelők, izotóplaboratóriumi munkatársak, akik a mindenkori sugárvédelmi rendszabályoknak megfelelően az évi foglalkozási dóziskorlátot (<20 mSv effektív dózist) soha nem lépték túl;
- szerves és szervetlen vegyszerrel dolgozó klinikai és kutató kémiai laboratóriumi személyzet (165 fő);
- vegyipari dolgozók: a műanyaggyártásban (poliuretán, PVC) gyártó részlegekben dolgozók (859 fő).

A résztvevők demográfiai jellemzőit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

A vizsgált személyek rákmorbilitását 1990-től 2012-ig követtük a Nemzeti Rákregiszter adatai alapján. A betegségek osztályozásához az ICD-10 kódokat (BNO) használtuk. A bőrdaganatok előfordulását a rosszindulatú melanoma kivételével nem vettük számításba (27).

A limfociták tenyésztése, a kromoszómapreparálás és -értékelés körülményei

A vizsgált személyektől Li-heparinnal alvadástátolt vénás vért használtunk és teljes vért tenyésztettünk borjúsavóval és antibiotikumokkal kiegészített RPMI-1640 tápfolyadékban. A limfocitatenyészetekből a kromoszómák preparálása az IPCS ajánlások alapján történt (28).

Személyenként minimum 100 metafázist (>5% aberráció esetén 200 metafázist) értékeltünk, 2000-szeres fénymikroszkópos nagyítás mellett. Az aneuploid sejtek és a szerkezeti kromoszómaaberrációk értékelése ugyanazon metafázisokból történt. Az értékelés alapján százalékos megoszlásban:

- A 46 XX, vagy 46 XY kariotípustól ± 2 kromoszómaszámmal eltérő numerikus aberrációkat tartalmazó, csak egyértelműen kör vagy ovális alakú metafázisokat értékeltünk. Az egy vizsgált csoportra jellemző aneuploid sejtek átlagát százalékban adtuk meg.
- A szerkezeti eltérések alapján kromatid típusú törések (kromatid törés, kromatidkicsereklődés, exchange), ill. kromoszóma típusú törések és átrendeződések (páros fragment, dicentrikus, ring, transzlokáció) kerültek azonosításra. A kromoszómákat ért genotoxikus hatások eloszlása általában random jellegű, ezért nem feltétlenül fontos a kromoszómák azonosítása (sávozás) ahhoz, hogy képet nyerjünk a genotoxikus károsodás mértékéről. Így viszont nem tudjuk megállapítani, hogy a transzlokációk, ill. törések melyik kromoszómához tartoznak. Aberráns sejtnek értékeltük azokat a sejteket, amelyek valamilyen strukturális aberrációt (kromatid vagy kromoszóma típusú) hordoztak, és ezeknek értékét százalékban adtuk meg. Szintén a vizsgált csoport tagjai összes aberrációs értékét (aberrációként) elosztottuk a csoport tagjainak számával. Az értékelést az ICPENC előírásainak megfelelően végeztük (25, 27–29).

Statisztikai elemzés

Az adatok statisztikai feldolgozása Student-féle t-próbával, χ^2 -tesztel, valamint regresszióanalízissel történt. A szignifikáns eltéréseket a kontrollal szembeni 95%-os konfidenciaintervallum figyelembevételével állapítottuk meg. Az adatok elemzéséhez GraphPadInStat 3, és GraphPadPrism 5 programcsomagokat használtunk (30).

EREDMÉNYEK

Az összes vizsgált 2145 személy közül 455 személynél nem találtunk aneuploid sejteket. 1690 személynél pedig 1-11% között volt az aneuploid sejtek aránya (2. táblázat).

3. táblázat. Egészséges személyek számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációi a nemek, a dohányzási szokások és az expozíciók vonatkozásában

Vizsgált csoport	N	Számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációk (% , átlag±SE)							
		Aneuploid	Kromatid-törés	Kromoszómatörés	Dicentrikus + ring	Kicserélődés	Transzlokáció	Összes aberráció	Aberráns sejt
Összes személy	2145	1,77±0,06	1,30±0,03	0,27±0,02	0,11±0,008	0,02±0,005	0,01±0,004	1,71±0,04	1,58±0,04
Kontroll férfi	330	1,69±0,07	1,53±0,10 ^a	0,27±0,04	0,13±0,03	0,03±0,01	0,012±0,005	1,97±0,12 ^b	1,82±0,10 ^c
Kontroll nő	636	1,75±0,06	1,27±0,03 ^a	0,27±0,03	0,11±0,03	0,04±0,008	0,012±0,004	1,70±0,07 ^b	1,56±0,06 ^c
Exponált férfi	767	1,87±0,06 ^d	1,22±0,05	0,25±0,02	0,10±0,01	0,03±0,006	0,01±0,004	1,61±0,06	1,49±0,06
Exponált nő	412	1,68±0,07 ^d	1,28±0,07	0,32±0,04	0,10±0,02	0,04±0,01	0,02±0,07	1,75±0,09	1,64±0,08
Nem dohányzók	1327	1,78±0,04	1,19±0,04 ^e	0,25±0,02	0,10±0,01	0,01±0,004 ^f	0,01±0,003	1,56±0,06 ^g	1,46±0,04 ^h
Dohányzók	790	1,77±0,05	1,48±0,06 ^e	0,31±0,02	0,12±0,02	0,03±0,006 ^f	0,007±0,003	1,96±0,08 ^g	1,78±0,06 ^h
Nem exponált kontroll	966	1,73±0,05 ⁱ	1,35±0,05	0,27±0,02	0,12±0,01	0,03±0,006 ^{jk}	0,01±0,004	1,65±0,05	1,79±0,06
Ionizáló sugárzás	155	1,44±0,10 ⁱ	1,21±0,10	0,27±0,05	0,10±0,03	0,09±0,03 ^j	0,03±0,01	1,55±0,12	1,71±0,14
Kémiai laboratórium	165	1,73±0,12	1,32±0,10	0,24±0,05	0,15±0,04	0,07±0,02 ^k	0,03±0,01	1,67±0,12	1,79±0,14
Vegyipari expozíció	859	1,89±0,05 ⁱ	1,23±0,03	0,28±0,02	0,09±0,01	0,01±0,003	0,01±0,003	1,52±0,06	1,63±0,06

Szignifikancia: kontroll férfi vs. kontroll nő ^ap=0,011, ^bp=0,030, ^cp=0,014; exponált férfi vs. exponált nő ^dp=0,049; dohányzó vs. nem dohányzó ^ep<0,0001, ^fp=0,004, ^gp<0,0001, ^hp<0,0001; nem exponált vs. ionizáló sugárzás ⁱp=0,027, ^jp=0,002; nem exponált vs. kémiai laboratórium ^kp=0,017; nem exponált vs. vegyipar ^lp=0,024.

Az aneuploidia előfordulási átlaga 1,77±0,06%/személy volt (3. táblázat).

A biológiai tényezők közül az összes vizsgált személynél nem volt különbség a nemek között (1,82±0,05% vs. 1,73±0,05%). Ezzel szemben, ha az expozíciók hatását is tekintetbe vettük, az exponált férfiak aneuploid sejtjeinek átlaga (1,87±0,06%) szignifikánsan magasabb volt (p=0,049), mint az exponált nőké (1,68±0,07%). Az exponált és nem exponált csoportok között a nemi hovatartozás viszont nem befolyásolta az értékeket.

A dohányzás szintén nem meghatározó aneugén tényező, amennyiben az összes egészséges ember adatait néztük (dohányzó 1,77±0,05% vs. nem dohányzó 1,78±0,04%). Ugyancsak ezt találjuk, ha a dohányzás és az expozíció együttes hatását vizsgáljuk: a dohányzók és nem dohányzók értékei között szintén nincs különbség.

Csoportbontás nélkül az összes 1179 foglalkozási exponált (1,81±0,05%) nem mutatott különbséget a 966 nem exponált kontroll (1,73±0,05%) értékeivel összehasonlítva. Ha az egyes exponált kategóriákat külön-külön vizsgáljuk, akkor a sugárveszélyes munkahelyeken dolgozóknál a legalacsonyabb (1,44±0,10% vs. 1,73±0,05%, p=0,027), a vegyiparban dolgozóknál pedig a legmagasabb (1,89±0,05% vs. 1,73±0,05%, p=0,024) a numerikus aberrációk gyakorisága a nem exponáltakkal szemben.

Érdekes megvizsgálni, hogy az aneuploidia gyakoriságát befolyásoló tényezők mutatnak-e valamilyen összefüggést a szerkezeti elváltozásokkal. Az összes aberráció és az aberrációt hordozó sejtek gyakorisága a nem exponált férfiakban magasabb, mint a nem exponált nőkben (1,97±0,12% vs.

1,70±0,07%, p=0,030, ill. 1,82±0,10% vs. 1,56±0,06%, p=0,014). Ez a kromatid-törések közötti különbségekre vezethető vissza (1,53±0,10% vs. 1,27±0,03%, p=0,011), azonban a numerikus aberrációk tekintetében nem látunk különbséget.

Ugyanakkor az exponált férfiak aneuploidiagyakorisága szignifikánsan magasabb, mint a nőké, de a szerkezeti aberrációk tekintetében nincs különbség (p≥0,05) (3. táblázat).

A dohányzók szerkezeti kromoszómaaberrációi szignifikánsan különböznek a nem dohányzókéitól, mind a kromatid-törések (1,48±0,06% vs. 1,19±0,04%, p<0,0001), mind a kromatidkicserélődések (0,03±0,006% vs. 0,01±0,004%, p=0,004), az aberráns sejtek (1,78±0,06% vs. 1,46±0,04%, p<0,0001) és az összes aberráció (1,96±0,08% vs. 1,56±0,06%, p<0,0001) vonatkozásában, de ilyen összefüggés az aneuploid sejtek gyakoriságában nincs.

Vizsgáltuk az életkor és a numerikus aberrációk gyakorisága közötti összefüggést is (20–80 év), mégpedig ötvenkénti korcsoportos bontásban. A regressziós analízis adatai alapján az aneuploidia %-os aránya az életkor emelkedésével lineárisan nőtt (r²=0,81) (1. ábra). Ha 3 korcsoportot alakítottunk ki, akkor az 55 év felettek aneuploidiája mind a kontrollokban (2,06±0,16%), mind az exponáltakban (2,29±0,25%) szignifikánsan különbözött a fiatalabb csoportjaitól (1,55±0,07%, p=0,002, ill. 1,72±0,07%, p=0,012) (4. táblázat). Azonos korcsoporton belül az exponáltak és a kontrollok között az aneuploidia nem mutatott jelentős különbséget, bár 55 év felett az exponáltak kissé magasabb aneuploidiagyakorisága talán említést érdemel (2,29±0,25% vs. nem exponáltak 2,06±0,16%, p=0,417) annak ellenére, hogy a különbség nem szignifikáns.

Az aneuploidia és a rákkockázat közötti kapcsolat vizsgálatához a 2145 személy rosszindulatú daganatos morbiditását a citogenetikai analízis után 1 évvel kezdtük el követni. A Nemzeti Rákregiszter adatai alapján összesen 97 daganatos megbetegedés fordult elő (4,5%).

A daganatban megbetegedettek összes aneuploid sejtjeinek száma szignifikánsan magasabb volt, mint az illesztett (számban, korban, nemben, dohányzási szokásban) daganatmentes kontrolloké [177 vs. 140; OR: 1,269 (1,015–1,587), $p=0,041$] (5. táblázat). Érdekes, hogy a kromoszómaszámban is van különbség: a 44 kromozómát tartalmazó aneuploid sejtek aránya 4,8%-kal magasabb, a 47 kromozómát tartalmazó sejtek aránya viszont 5,7%-kal alacsonyabb a kontrollokénál.

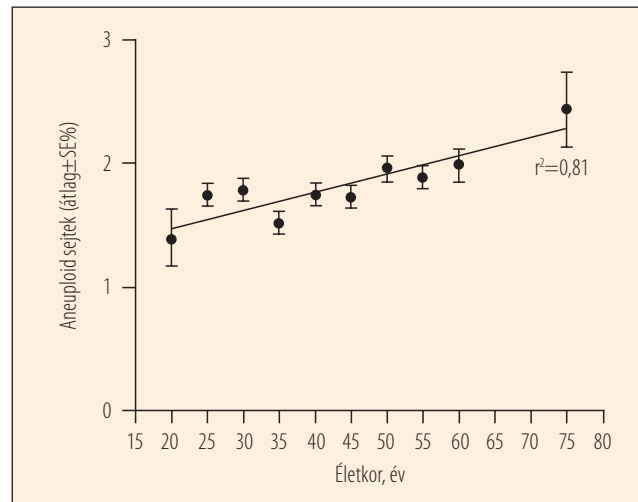
A vizsgálat időpontjában még egészséges személyek hipo- vagy hiperdiploidijára az életkornak nincs hatása. Mindegyik korcsoportban a 45 kromozóma a leggyakoribb: 58,1–59,9%, majd a 44 kromozóma következik: 31,3–34,2%, és legkevesebb a 47 kromozómával rendelkező esetek aránya: 7,7–9,5% (5. táblázat).

A továbbiakban a citogenetikai vizsgálatok időpontjától a daganat diagnosztizálásáig eltelt idő (1–23 év) és az aneuploidia előfordulási gyakorisága közötti kapcsolatot is vizsgáltuk (2. ábra). Az individuális gyakoriság 0–11%-nak bizonyult. Megállapítottuk, hogy minél kisebb az aneuploidia értéke, annál hosszabb az egészségben eltöltött idő. 12 évnél hosszabb egészségben eltöltött idő csak azokra volt jellemző, akiknél nem több mint 2% az aneuploid sejtek aránya.

MEGBESZÉLÉS

Kísérletes és epidemiológiai adatok bizonyítják a numerikus és strukturális aberrációk szerepét a karcinogenezisben (31–35). Ugyanakkor a biomarkerek modellrendszerében a perifériás vér limfociták kromoszómainak spontán számbeli gyakorisága és a rákkockázat közötti összefüggésről szinte

1. ábra. Az aneuploidia és az életkor közötti kapcsolat regressziós analízise



semmilyen információval nem rendelkezünk. Populációs vizsgálatokban az aneuploidiát általában kevésbé tekintették fontosnak, leginkább a hiperdiploidia jelenségét vizsgálták, korábban a hipodiploidiát viszont preparálási hibának tekintették (25). Bocskov 1971-ben megjelent tanulmányában egy egészséges populációban 0–17%-os aneuploidiarányt írt le (36). Ezt követően hosszú éveken át a spontán aneuploidia előfordulására nem találtunk információt. Munkacsoportunk 1977-ben publikált először a spontán aneuploidia gyakoriságáról, ez azonban mindössze 75 személy adatait tükrözte, nagy individuális eltérésekkel. A hiperdiploid sejtek aránya 0–4,2% volt, a hipodiploidoké 0–12,8%-os egyéni értékeket mutatott. A sugárveszélyes munkahelyen dolgozóknál pedig 0–16%-os előfordulást regisztráltunk (37).

A spontán aneuploidiában a biológiai faktorok közül a nemek vonatkozásában nem találtunk különbséget, vi-

4. táblázat. Számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációk kontrollszemélyekben és különböző exponált csoportokban, az életkor vonatkozásában

Vizsgált csoport (kor/év)	N	Számbeli és szerkezeti kromoszómaaberrációk (% , átlag±SE)							
		Aneuploid	Kromatid-törés	Kromoszóma-törés	Dicentrikus + ring	Kicserélődés	Transzlokáció	Összes aberráció	Aberráns sejt
Kontroll <35	400	1,55±0,07 ^{b,d}	1,37±0,08	0,19±0,02 ^{a,c,e}	0,09±0,017	0,03±0,008	0,02±0,008	1,70±0,09	1,59±0,09
Exponált <35	567	1,72±0,07 ^f	1,23±0,06	0,23±0,03 ^a	0,08±0,014	0,02±0,005 ^g	0,01±0,005 ^h	1,57±0,07	1,48±0,07
Kontroll 35–55	461	1,78±0,07 ^b	1,37±0,07	0,32±0,04 ^c	0,12±0,02	0,05±0,012	0,02±0,006	1,88±0,09	1,71±0,07
Exponált 35–55	549	1,84±0,06	1,25±0,06	0,31±0,03	0,11±0,02	0,04±0,009	0,02±0,006	1,72±0,08	1,58±0,07
Kontroll >55	105	2,06±0,16 ^d	1,25±0,13	0,37±0,13 ^e	0,16±0,05	0,05±0,02	0,03±0,008	1,82±0,18	1,64±0,18
Exponált >55	63	2,29±0,25 ^f	1,34±0,18	0,37±0,08	0,14±0,06	0,08±0,03 ^g	0,05±0,03 ^h	1,96±0,26	1,75±0,23

Szignifikancia: kontroll <35 vs. exponált <35 ^a $p=0,0008$; kontroll <35 vs. kontroll 35–55 ^b $p=0,021$, ^c $p=0,006$; kontroll <35 vs. kontroll >55 ^d $p=0,002$, ^e $p=0,021$; exponált <35 vs. exponált >55 ^f $p=0,012$, ^g $p=0,0009$, ^h $p=0,035$

5. táblázat. A hipo- és hiperdiploidia megoszlása az életkor és a daganatok kialakulásának függvényében

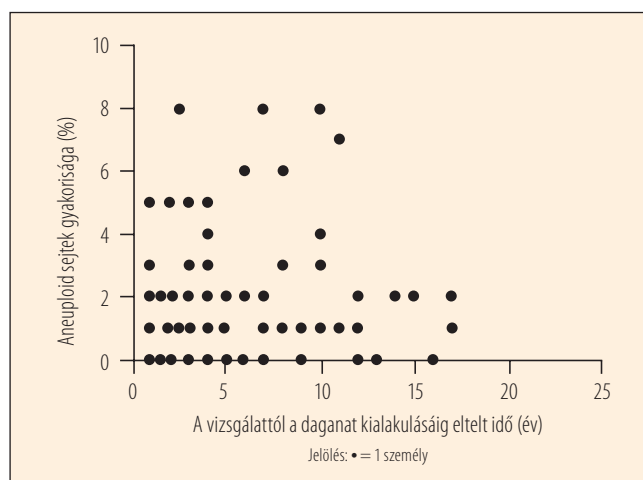
Kor	Vizsgált sejtek száma	Összes aneuploid sejt	Kromoszómaszámbeli eltérés gyakorisága, n (%)		
			44	45	47
Összes	214 500	3 443	1 123 (32,6)	2 022 (58,7)	298 (8,7)
≤35	96 700	1 492	510 (34,2)	867 (58,1)	115 (7,7)
35–55	101 000	1 609	506 (31,4)	950 (59,0)	153 (9,5)
≥55	16 800	342	107 (31,3)	205 (59,9)	30 (8,8)
Illesztett kontroll	9 700	140	47 (33,6)	77 (55,0)	16 (11,4)
Daganatos lett	9 700	177 ^a	68 (38,4)	99 (55,9)	10 (5,7)

^a OR: 1,269 (1,015–1,587), p=0,041

szont az életkor jelentősen befolyásolta az aneuploidia mértékét, különösen 55 év felett. A hipoploidia és az életkor közötti kapcsolatot többen vizsgálták, de az erre vonatkozó információk szintén az 1960-as évekből származnak (38–42). Neurath és munkatársai (43) 139 (2 hetes–93 éves korú) személy 7067 metafázisának értékelésekor szintén azt találták, hogy az aneuploid sejtek száma a korrall emelkedik. A kromoszómahiány és méret között fordított arányt állapítottak meg, minél kisebb volt a kromoszóma, annál könnyebben eliminálódott. Az előbbi megállapításokkal ellentétben Sandberg és munkatársai (44) 171 különböző korú személy aneuploidiaját vizsgálták, a nemek és az életkor vonatkozásában nem volt kimutatható korreláció. Ha korcsoportokat képeztek, a 65 évnél idősebb nőknél gyakrabban fordultak elő a hipodiploid sejtek.

A dohányzásnak magában nincs hatása az aneuploidia-ára, viszont a vegyi expozíció jelenlétében már emelkedés volt tapasztalható. Véltetően ez abból adódik, hogy a vegyipari dolgozóknál a vegyszergyártási folyamat so-

2. ábra. Az aneuploidia gyakorisága és a daganat diagnosztizálása között eltelt idő kapcsolata



rán a dohányzással együtt valamilyen additív aneugén hatás is érvényesülhetett, ami a kromoszómaszámot valószínűleg igen, de a szerkezeti aberrációk számát nem befolyásolta. Előfordulhat a vegyi anyagok metabolitjainál is aneugén hatás. Számos olyan vegyi anyagot ismerünk, ami aneuploidiaát igen, de strukturális aberrációkat nem okoz. Hosszú éveken át pl. a trichlorfon peszticidet nem tekintették aneugénnek, de *in vivo* körülmények között kiderült, hogy a gametogenezis és a teratogenezis során potenciális aneugén (45).

Az ionizáló sugaras munkakörben dolgozók numerikus aberrációi bár szintén növekedtek a korrall, de szignifikánsan alacsonyabbak voltak a kontrollnál. Ezt azzal tudjuk magyarázni, hogy a dolgozók szigorúan betartják a munkavédelmi szabályokat, továbbá a munkakörülmények és biztonsági berendezések sokat javultak az elmúlt évtizedekben.

Általában elmondható, hogy az egészségesebb életmódot kisebb mértékű aneuploidia kíséri, ezáltal később jelennek meg az életkorral együtt járó diszfunkciók, ami az egészség élet hosszabbodásában is megnyilvánul (46–49).

A Nemzeti Rákregiszter nyilvántartása alapján 97 olyan személyt azonosítottunk, akiknek 1–23 éven belül daganatos betegsége alakult ki. Leggyakrabban vastagbél- (10 fő), tüdő- és emlődaganat (9–9 fő), melanoma (8 fő), húgyhólyagdaganat (7 fő), a többi daganattípusból 1–4 eset fordult elő. A daganat típusa és az aneuploidia mértéke között nem találtunk semmiféle összefüggést. A daganatban megbetegedő személyeknél 12 évnél több egészségesen eltöltött év csak akkor fordult elő, ha az aneuploidia aránya nem volt 2%-nál magasabb. Ez a megállapítás egybecseng a fenti feltételezésekkel (46, 48), vagyis egy komplex élettani és környezeti hatás mellett (kor, expozíció, karcinogenezis) az aneuploidia, bár nem kizárólagos, de egyik tényező lehet a daganatképződésben.

Tudomásunk szerint jelen tanulmányunk az irodalomban eddig közölt legnagyobb esetszámú vizsgálat a spontán aneuploidia előfordulására vonatkozólag. Az aneugén hatású vegyszerek vagy expozíciós körülmények kedvezőtlen hatása csak akkor értékelhető reálisan, ha az egy referenciapopuláció alapértékeihez köthető. Ezt a hiányt kívántuk tanulmányunkkal pótolni.

A fenti vizsgálatok alapján tehát feltételezhető, hogy az aneuploidia is – a szerkezeti kromoszómaaberrációkhoz hasonlóan – a genetikai instabilitás kiegészítő citogenetikai biomarkere lehet.

IRODALOM

1. Yuen KW, Montpetit B, Hieter P. The kinetochore and cancer: what's the connection? *Curr Opin Cell Biol* 17:576–582, 2005
2. Ricke RM, van Deursen JM. Aneuploidy in health, disease, and aging. *J Cell Biol* 20:11–21, 2013
3. Saunders WS, Shuster M, Huang X, et al. Chromosomal instability and cytoskeletal defects in oral cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:303–308, 2000
4. Fukasawa K. Centrosome amplification, chromosome instability and cancer development. *Cancer Lett* 230:6–19, 2005
5. Ochi T. Methylmercury, but not inorganic mercury, causes abnormality of centrosome integrity (multiple foci of gamma tubulin) multipolar spindles and multinucleated cells without microtubule disruption in cultured Chinese hamster V79 cells. *Toxicology* 175:111–121, 2002
6. Thompson SL, Compton DA. Examining the link between chromosomal instability and aneuploidy in human cells. *J Cell Biol* 180:665–672, 2008
7. Cimini D, Tanzarella C, Degrassi F. Differences in malsegregation rates obtained by scoring ana-telophases or binucleate cells. *Mutagenesis* 14: 563–568, 1999
8. Gordon DJ, Resio B, Pellman D. Causes and consequences of aneuploidy in cancer. *Nature* 13:189–203, 2012
9. Geigl JB, Obenauf AC, Schwarzbraun T, et al. Defining 'chromosomal instability'. *Trends Genet* 24:64–69, 2008
10. Torres EM, Dephore N, Panneerselvam A, et al. Identification of aneuploidy-tolerating mutations. *Cell* 143:71–83, 2010
11. Ricke RM, van Ree JH, van Deursen JM. Whole chromosome instability and cancer: a complex relationship. *Trends Genet* 24:457–466, 2008
12. Rehen SK, McConnell MJ, Kaushal D, et al. Chromosomal variation in neurons of the developing and adult mammalian nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:13361–13366, 2001
13. Duncan AW, Hanlon Newell AE, Smith I, et al. Frequent aneuploidy among normal human hepatocytes. *Gastroenterology* 142:25–28, 2012
14. Ganem NJ, Godinho SA, Pellman D. A mechanism linking extra centrosomes to chromosomal instability. *Nature* 460:278–282, 2009
15. Allen JW, Liang JC, Carrano AV, Preston RJ. Review of literature on chemical-induced aneuploidy in mammalian male germ cells. *Mutat Res* 167:123–137, 1986
16. Cimino MC, Tice RR, Liang JC. Aneuploidy in mammalian somatic cells in vivo. *Mutat Res* 167:107–122, 1986
17. Dellarco VL, Mavournin KH, Waters MD. Aneuploidy Data Review Committee: summary compilation of chemical data base and evaluation of test methodology. *Mutat Res* 167:149–169, 1986
18. Galloway SM, Ivett JL. Chemically induced aneuploidy in mammalian cells in culture. *Mutat Res* 167:89–105, 1986
19. Mailhes JB, Preston RJ, Lavappa KS. Mammalian in vivo assays for aneuploidy in female germ cells. *Mutat Res* 167:139–148, 1986
20. Oshimura M, Hesterberg TW, Barrett JC. An early, nonrandom karyotypic change in immortal Syrian hamster cell lines transformed by asbestos: trisomy of chromosome 11. *Cancer Genet Cytogenet* 22:225–237, 1986
21. Parry JM, Parry EM, Asita A, et al. The origins and consequences of numerical chromosome changes in Syrian hamster dermal cultures. *Prog Clin Biol Res* 18:353–366, 1989
22. Ellard S, Parry EM, Parry JM. Use of multicolour chromosome painting to identify chromosomal rearrangements in human lymphocytes exposed to bleomycin: a comparison with conventional cytogenetic analysis of Giemsa-stained chromosomes. *Environ Mol Mutagen* 26:44–54, 1995
23. Aardema MJ, Albertini S, Arni P, et al. Aneuploidy: a report of an ECE-TOC task force. *Mutat Res* 410:3–79, 1998
24. Bonassi S, Znaor A, Norppa H, et al. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans, an epidemiological perspective. *Cytogenet Genome Res* 104:376–382, 2004
25. Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International programme on chemical safety. *Mutat Res* 463:72–111, 2000
26. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis* 29:1178–1183, 2008
27. Boffetta P, van der Hel O, Norppa H, et al. Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe. *Am J Epidemiol* 165:36–43, 2007
28. Gundy S, Varga LP. Chromosomal aberrations in healthy persons. *Mutat Res* 120:187–191, 1983
29. Carrano AV, Natarajan AT. International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. ICPEMC publication no. 14. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 204:379–406, 1988
30. GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95 és GraphPad Prism version 5.00, GraphPad Software, San Diego, CA, USA, www.graphpad.com
31. Sotillo R, Hernando E, Diaz-Rodríguez E, et al. Mad 2 overexpression promotes aneuploidy and tumorigenesis in mice. *Cancer Cell* 11:9–23, 2007
32. Weaver BAA, Silk AD, Montagna C, et al. Aneuploidy acts both oncogenically and as a tumor suppressor. *Cancer Cell* 11:25–36, 2007
33. Hanks S, Coleman K, Reid S, et al. Constitutional aneuploidy and cancer predisposition caused by biallelic mutations in BUB1B. *Nat Genet* 36:1159–1161, 2004
34. Gundy S, Baki M, Bodrogi I, Czeizel A. Persistence of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of testicular cancer patients. I. The effect of vinblastine, cisplatin and bleomycin adjuvant therapy. *Oncology* 47:410–414, 1990
35. Gundy S, Baki M, Bodrogi I, Czeizel A. Persistence of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of testicular cancer patients. II. The effect of chemotherapy and/or radiotherapy. *Oncology* 49:376–380, 1992
36. Bocskov NP. In: Hromoszomú cseloveka i obluccsenije. Atomizdat Moszkva, 1971
37. Gundy S. Vizsgálatok a kromoszóma doziméter használhatóságára. Doktori értekezés, Budapest 1977
38. Jacobs PA, Court Brown WM, Doll R. Distribution of human chromosome counts in relation to age. *Nature* 191:1178–1180, 1961
39. Jacobs PA, Brunton M, Court Brown WM, et al. Change of human chromosome count distribution with age: Evidence of sex difference. *197:1081–1082*, 1963
40. Jacobs PA, Brunton M, Court Brown WM. Cytogenetic studies in leucocytes of the general population. Subjects of ages of 65 years and more. *Ann Hum Genet* 27:353–365, 1964
41. Hamerton JL, Taylor AI, Angell R. Chromosome investigations of a small isolated human population: Chromosome abnormalities and distribution of chromosome counts according to age and sex among the population of Tristan Da Cunha. *Nature* 206:1232–1234, 1965
42. Court Brown WM, Jacobs PA, Buckton KE, et al. Chromosome studies in adults. *Eugenics Laboratory Memoirs XLII*. London: Cambridge University Press, 1966
43. Neurath P, Bell B, Jarvik L et al. Chromosome loss compared with chromosome size, age and sex of subjects. *Nature* 225:281–282, 1970
44. Sandberg AA, Ishihara T, Crosswhite LH, et al. Comparison of chromosome constitutions in chronic myelocytic leukemia and other myeloproliferative disorders. *Blood* 20:393–423, 1962
45. Czeizel AE, Elek C, Gundy S, et al. Environmental trichlorfon and cluster of congenital abnormalities. *Lancet* 341:539–542, 1993
46. Finkel T, Serrano M, Blasco MA. The common biology of cancer and ageing. *Nature* 448:767–774, 2007
47. Williams BR, Prabhu VR, Hunter KE, et al. Aneuploidy affects proliferation and spontaneous immortalization in mammalian cells. *Science* 322:703–709, 2008
48. Sheltzer JM, Blank HM, Pfau SJ, et al. Aneuploidy drives genomic instability in yeast. *Science* 333:1026–1030, 2011
49. Tang YC, Williams BR, Siegel JJ, et al. Identification of aneuploidy-selective antiproliferation compounds. *Cell* 144:499–512, 2011