



U.O.V.S. - BIBLIOTEK

198605477201220000019



HIERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER
GEEN OMSTANDIGHEDE UIT DIE
BIBLIOTEK VERWYDER WORD NIE

SUSTERCHROMATIEDUITRUILE IN LIMFOSIETE VAN VROUENS
MET VROEE MAMMAKARSINOM

deur

ERNESTUS JACOBUS VISSER

MB ChB (Pret) MSc (Pret)

'n Proefskrif voorgelê ter vervulling van die vereistes
vir die graad

MD (FISIOLOGIE)

(DOCTOR IN DIE GENEESKUNDE)

In die Departement Fisiologie

Fakulteit Geneeskunde

Universiteit van die Oranje-Vrystaat

Bloemfontein

Promotor: Prof Dr Jan M C Oosthuizen

Medepromotor: Prof Dr J D Anderson

30 Mei 1986

"U het alles in wysheid geskep"

Psalm 104 vers 24

Vir my moeder

DANKBETUIGINGS

My opregte dank aan:

1. Professor J M C Oosthuizen, my promotor, vir sy opregte belangstelling, bekwame leiding en hulp. Dit het rigting aan hierdie navorsingsprojek gegee.
2. Professor J D Anderson, my medepromotor, vir sy vriendelike en gewaardeerde hulp wanneer ek by hom aangeklop het.
3. Professor P W du Toit, Departementshoof Fisiologie, vir sy belangstelling en hulp om navorsing in die departement aan te moedig.
4. Professor C J C Nel en Dr R S du Toit van die Departement Chirurgie, vir hulle belangstelling en hulp deur die voorsiening van bloedmonsters van mammakarsinoompasiënte.
5. Professor L Goedhals van die Departement Onkoterapie, vir sy belangstelling en hulp in verband met die verkryging van bloedmonsters van pasiënte in sy departement.

6. Professor P C Minnaar van die Departement Biofisika, vir sy voortdurende belangstelling en aanmoediging. Ek het dit baie waardeer.
7. Dr S Jansen van die Departement Anatomiese Patologie, dat ek van sy ervaring - veral in verband met die metode en tegniek van SCU-bepalings - gebruik kon maak.
8. Dr W P J van den Berg, chirurg van Bloemfontein, vir die voorsiening van bloedmonsters van sy pasiënte, veral op 'n tydstip toe mammakarsinoompasiënte taamlik skaars geraak het.
9. Dr J I de Wet, Biostatikus, vir die ontleding en verwerking van die resultate. Ek is hom baie dank hiervoor verskuldig.
10. Die dames van die Frik Scott Biblioteek, Onderwyserskollege, verpleegpersoneel, damestudente en lede van die publiek, wat vrywillig vir hierdie navorsingsprojek kom aanmeld het. Ek het dit baie waardeer.
11. Die inwoners van Mooihawe Ouethuis en ander bejaardes wat so gewillig was om ook deel te neem.

12. Mevrouw A Viljoen vir die tik en verwerking van die teks, wat op so 'n voortreflike wyse gedoen is.
13. Dankie ook aan my stukrag by die huis: Rina, Maryn en Nelia.

Ernestus J. Visser

INLEIDING

Die stabiliteit en integriteit van die DNA-molekuul is lewensbelangrik vir die onderhouding van normale self funksie.

Onstabiliteit en veranderinge in die DNA-struktuur van chromosome lei tot mutasievorming ("drukfoute"), asook ander moontlike veranderinge in hierdie uiters komplekse molekuul. Dit verhoog die risiko vir maligne transformasie van die sel.

In hierdie navorsingsprojek is daar gepoog om DNA-veranderinge te kwantifiseer deur verskillende parameters te monitor, wat almal 'n moontlike direkte of indirekte verband met DNA-onstabiliteit vertoon.

"Veranderinge" in die DNA-struktuur behels nie noodwendig net mutasievorming nie.

Die doel van hierdie studie was om vas te stel of:

1. DNA-onstabiliteit en -veranderinge met ouderdom toeneem;
2. Persone wat as gevolg van 'n positiewe familiegeskiedenis 'n hoër risiko vir die ontwikkeling van

mammakarsinoom het, ook 'n groter mate van DNA-onstabiliteit vertoon;

3. Persone wat 'n mammakarsinoom ontwikkel het, 'n sekere minimumgraad van DNA-veranderinge en -skade reeds besit.

Susterchromatieduitruile (SCU) is dié belangrikste parameter wat in hierdie ondersoeke gebruik is. Dit is 'n erkende, betroubare en baie sensitiewe barometer vir DNA-veranderinge en -skade. Dit is egter relatief onlangs (1974) eers beskryf. SCU is 'n meer sensitiewe indikator vir modifikasie en veral vir chemiese skade aan die DNA-molekuul, as enige van die ander bekende metodes wat vir 'n soortgelyke doel gebruik word (Ames-Salmonellatoets vir die aandui van mutasies, die mikronukleïtoets vir DNA-skade, asook ondersoeke vir chromosoomaberrasies).

Vir die genoemde doelstellings van hierdie projek, is susterchromatieduitruile en verwante ondersoeke, soos % puntuitruile, % interstisiële uitruile, mitotiese indeks (as %) en reikwydtes van uitruile, op die volgende groepe vroulike proefpersone uitgevoer:

Groep 1: Gesonde, normale, vroulike persone van verskillende ouderdomsgroepe, wat streng geselekteer is om alle moontlike tydelike veranderinge en skade aan die DNA,

sover prakties moontlik uit te skakel. Hierdie groep persone het as kontrolegroep gedien en terselfdertyd kon die SCU-waardes van normale, gesonde persone, in verskillende ouderdomsgroepe met mekaar vergelyk word.

Groep_2: Gesonde, normale, vroulike persone wat 'n positiewe familiegeskiedenis (naby of ver) van mammakarsinoom gehad het. Hierdie persone het waarskynlik as gevolg van genetiese faktore, 'n groter risiko om mammakarsinoom te ontwikkel.

Groep_3: Vroue wat bewysde, vroeë mammakarsinoom gehad het (ondersoekmodel).

Groep_4: Herhaling van die SCU-bepalings op persone van Groep 3, vier weke post-operatief.

Die bevindings wat uit die ondersoeke verkry is, is statisties verwerk en die resultate word in die vorm van rekenaaruitdrukke, -diagramme en -histogramme aangebied.

'n Positiewe korrelasie is tussen DNA-veranderinge (soos deur SCU en verwante ondersoeke gekwantifiseer) en maligne transformasie in vroulike persone met mammakarsinoom, gevind. 'n Duidelike positiewe verband is ook ten opsigte van ouderdom en SCU gevind, terwyl daar goeie aanduiding is dat vrouens met 'n positiewe familiegeskiedenis van

mammakarsinoom, 'n groter mate van DNA-onstabiliteit ver-
toon.

INHOUDSOPGAWE

Bladsy

HOOFSTUK_1

Literatuuroorsig

1.1	Historiese oorsig	1
1.2	Die biologiese belang van SCU	3
1.3	Die meganisme van SCU	7
1.4	SCU in verskillende seltipes	20
1.5	Die invloed van variasies in tegniek en metode op SCU	24
1.6	Chemiese stowwe wat SCU beïnvloed	30
1.7	SCU as indikator van DNA-herstelvermoë	32
1.8	Die invloed van bestaling op SCU	35
1.9	Chemiese inhibisie van SCU	36
1.10	Die invloed van vitamene op SCU	37
1.11	Ouderdom en SCU	40
1.12	Die invloed van hormone op SCU	42
1.13	Die invloed van virusse op SCU	44
1.14	Genetiese toestande en SCU	45
1.15	SCU in nie-neoplastiese toestande	47
1.16	SCU in maligne toestande	48
1.17	Opsomming van die belangrikste bevin- dings uit die literatuur in verband met SCU	52

HOOFTUK_2

Doel en uiteensetting van die projek 54

HOOFTUK_3

Proefpersone 57

HOOFTUK_4

Metode en tegniek 65

HOOFTUK_5

Resultate 76

HOOFTUK_6

Statistiese ontleding van resultate 125

HOOFTUK_7

Bespreking van resultate 152

HOOFTUK_8

Finale gevolgtrekkings 161

BRONNELYS 162

HOOFSTUK_I

LITERATUUROORSIG

1.1 HISTORIESE OORSIG

So ver terug as 1938 het McClintoc [1] die moontlikheid geopper dat genetiese materiaal tussen susterchromatiede moontlik mag uitruil. Dit was slegs 'n postulaat, want daar was nog geen metode beskikbaar om susterchromatiede van mekaar te onderskei nie. In 1957 het Taylor [2,3] egter 'n tegniek ontwikkel waar susterchromatiede met outoradiografie van mekaar onderskei kon word, deur van tritiumgemerkte timidien gebruik te maak. Gedurende DNA-replikasie kompeteer die ³H-timidien met gewone timidien vir inkorporasie in die nuutgevormde DNA-molekuul. Na twee seldelings bevat een susterchromatied dubbel soveel ³H-timidien as die ander een en kan hulle outoradiografies onderskei word. Vir die eerste keer kon toe aangetoon word dat daar homologe fragmente tussen suster-chromatiede uitruil en dat McClintoc se postulaat van byna 20 jaar vroeër, inderdaad korrek was. Laasgenoemde baanbrekerswerk het Taylor en sy medewerkers [4] op plantchromosome (Vicia faba en Bellevialia) uitgevoer, maar later is dieselfde

3
verskynsel ook in dierselle aangetoon. Die ^3H -timidien-differensiasietegniek was 'n belangrike ontwikkeling, maar het ook tekortkominge gehad. Die uitstraal van beta-partikels deur tritium, het slegs 'n beperkte resolusievermoë toegelaat. Verder was dit nie duidelik tot hoe 'n mate die radioaktiwiteit self, vir die onstabiliteit in die DNA-struktuur verantwoordelik was nie.

In 1972 het Zakharov en Egolina [5] 'n tegniek beskryf waar 'n timidienanaloo, 5-bromo-2-deoksi-uridien (BrdU), in die kultuurmedium van verdelende selle bygevoeg is. Die metafasechromosome is met 'n Giemsa-tegniek gekleur en goeie differensiasie tussen susterchromatiede is verkry. Hierdie tegniek is verder deur Perry en Wolff [6] en Wolff en Perry [7] in 1974 aangepas en verbeter. Kato [8] ontwikkel in dieselfde jaar 'n semi-permanente visualiseringstegniek van chromatiede, deur gebruik te maak van 'n fluoresserende kleurstof, akridienoranje, wat duidelike differensiasie van die susterchromatiede onder ultravioletlig veroorsaak. (DNA fluoressseer geel/groen en die RNA rooi/oranje). Indien 'n meer permanente kleurmetode verlang word, kan die fluoressensie- en Giemsategniese gekombineer word.

1.2 BIOLOGIESE BELANG VAN SCU

Susterchromatieduitruile (SCU) is 'n sensitiewe barometer vir DNA-onstabiliteit en/of DNA-skade [10,11,12,27]. Dit is verenigbaar met sellewe [20] en kan 'n omkeerbare proses wees, mits die sel daarin slaag om die DNA-skade tydig en effektief te herstel [12]. SCU is 'n kwantifiseerbare indikator van DNA-onstabiliteit, wat veral deur die volgende faktore teweeg gebring word:

1. Mutagene [13,15,16,20]
2. Karsinogene [14,15,16,20]
3. Teratogene [26]
4. Klastogene [45,10]
5. Sitostatika [35]
6. Bestraling [21,22,32,34,61]

Carrano en medewerkers [17] het 'n lineêre verband tussen SCU en die aantal mutasies in die DNA-molekuul gevind. Verskillende mutagene kan ook in hul vermoë om SCU te induseer, verskil. SCU het 'n nouer verband met mutasievorming, as met chromosoomaberrasies [18] en is nog meer sensitief vir genotoksiese stowwe as die mikro-nukleustoets [9,19]. In die literatuur is oorweldigende getuienis dat SCU 'n baie sensitiewe indikator vir muta-

genisiteit/karsinogenisiteit van verbindings in_vitro [28, 29,30,33], sowel as in_vivo is [31,33]. Alle chemiese karsinogene veroorsaak 'n dosisafhanklike toename in SCU en seltransformasie [33].

In dieselfde persoon bly die aantal susterchromatieduitruile redelik konstant [43] en daar word dan ook dikwels na verwys as die sogenaamde basislynuitruile vir die betrokke persoon. Aangesien basislyn-SCU vir 'n spesifieke persoon dus min oor die korttermyn varieer, kan dit sinvol met dié van ander persone vergelyk word.

Die verband tussen die invloed van teratogene en karsinogene op SCU, is nie duidelik nie. Alhoewel daar teratogene is, wat, net soos karsinogene, SCU beduidend verhoog (byvoorbeeld die alkileermiddels), is daar weer ander teratogene wat geen effek op SCU het nie. Die meganismes wat mutasies en malformasies veroorsaak, is dus waarskynlik nie altyd dieselfde vir verskillende teratogene nie [26]. Elbling en Colot [23] het gevind dat SCU-bepalings in parentale eritrosiete 'n goeie indikator van transplacentale mutagene en karsinogene invloede is. Sodanige ondersoeke kan waarskynlik van groot belang wees om die genotoksiese effek van sekere teratogene stowwe waaraan die fetus via die moeder blootgestel was, aan te toon. In

1983 het Cole en medewerkers [44] ook op die belang en doeltreffendheid van SCU-bepalings op die moeder, as 'n indikator van genetiese skade aan die fetus, gewys.

SCU kan verhoog wees sonder dat seloorlewing daardeur in gedrang raak. Navorsers het ook gevind dat die SCU-frekwensies lineêr en sonder 'n plafonwaarde saam met die dosis van die genotoksiese stof verhoog [24]. Hoe groter die DNA-skade dus, hoe meer word die uitruile tussen susterchromatiede. Die frekwensie van mutasievorming daarenteen, verhoog ook aanvanklik lineêr saam met die dosis van die mutagene stof. Dit bereik egter naderhand 'n plafon, waar enige verdere verhoging in dosis, nie noodwendig 'n verdere styging in mutasiefrekwensie veroorsaak nie. Ames et al. [25] het etlike honderde karsinogene met die Ames-Salmonellatoets ondersoek en só 'n noue verband tussen mutagene en karsinogene stowwe se invloede gevind, dat hy tot die gevolgtrekking geraak het: "Carcinogens are mutagens." [25]

Die belang van SCU as 'n moontlike aanwyser van verhoogde vatbaarheid vir kanker, is 'n aspek waaroor huidiglik nog baie meningsverskil bestaan. Heelwat bykomstige navorsing in dié verband sal nog gedoen moet word, ten einde die geldigheidsprobleem bevredigend op te los. Groot belang-

stelling in hierdie veld, is reeds gaande gemaak deur die bevindings van verskeie navorsers:

1. Ghidoni en medewerkers [36] het in 1983 drie families, wat 'n familieneiging het om maligne melanoom van die vel te ontwikkel, ondersoek. Al die persone wat reeds melanome gehad het, het ook 'n verhoging van SCU vertoon. 'n Paar "gesonde" bloedverwante, het ook 'n verhoogde SCU gehad, terwyl die res van die familie normale waardes vertoon het. Dit het die vraag laat ontstaan of 'n styging in SCU in die "gesonde" persone, nie aanduidend van 'n hoë risiko vir die ontwikkeling van velkanker is nie. Prospektief sal oor hierdie punt besin word.

2. In Bloom se sindroom is daar 'n verhoogde neiging vir die ontwikkeling van maligniteite [37]. Persone met hierdie toestand vertoon ook 'n verhoging in SCU [38].

3. Dit is bekend dat persone met Down se sindroom 'n neiging het om leukemie te ontwikkel [39]. Major en medewerkers [40] het in 1975 die limfosiete van kinders met Down se sindroom, asook limfosiete van normale kinders as kontrole, ondersoek. Die SCU is bepaal nadat die mutageen, metielcholantreen, aan die limfosiete toegevoeg is. Limfosiete van kinders met Down se sindroom het

statisties - beduidende hoër vlakke van SCU vertoon. Hierdie interessante bevinding dui daarop dat die DNA van persone met Down se sindroom, meer sensitief vir karsinogene invloede is en dat hierdie verhoogde sensitiwiteit/onstabiliteit met die bepaling van SCU vasgestel kan word.

4. In 1981 het Husum, Wulf en Niebuhr [41] perifere limfosiete van vroue met mammakarsinoom gekweek en ondersoek, maar kon geen statisties-betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde SCU-waardes van die pasiënte en dié van normale kontrolegevalle aantoon nie.

5. In 1983 het Livingston en medewerkers [42] egter aangetoon dat limfosiete wat van pasiënte met vroeë mammakarsinoom gekweek word, 'n hoër gemiddelde SCU-frekwensie vertoon.

Hierdie duidelike teenstrydige resultate, oor 'n kontensieuse onderwerp, het tot 'n groot mate aanleiding gegee daartoe, dat hierdie studie deur ons onderneem is.

1.3 DIE MOONTLIKE MEKANISMES VAN SCU

SCU is 'n sitologiese manifestasie van DNA-skade [46]. Dit behels 'n dubbelstringbreuk van die DNA-molekuul, op

waarskynlik homoloë loki van susterchromatiede, met die gelyktydige uitruil van die losgebreekte DNA-fragmente en herkombinante herstel [47,57]. Die presiese molekulêre meganisme van SCU-formasie in geheel, bly steeds onduidelik [48,49,66,67]. Heelwat is reeds bekend in verband met sekere aspekte van die uitruilmeganisme. Daar bestaan verskeie hipotese in verband met die molekulêre dinamika van SCU. Enige hipotese wat die presiese meganisme van SCU wil verduidelik, sal noodwendig rekening met die volgende stel feite moet hou [10]:

- a) SCU word by uitstek deur mutagene/karsinogene stowwe geïnduseer.
- b) Dit is na alle waarskynlikheid 'n manifestasie van die assosiasie of binding van 'n mutagene/karsinogene agens met die DNA-molekuul.
- c) Hoewel SCU 'n lineêre verband met mutasievorming het, korreleer dit nie kwantitatief direk daarmee nie.
- d) SCU kan ook geïnduseer word deur enige ander faktor wat 'n modifikasie van die DNA-molekuul veroorsaak, soos byvoorbeeld ultravioletstraling.
- e) SCU behels noodwendig een of meer gelyktydige breuke in die polinukleotiedketting.
- f) Segmente tussen susterchromatiede ruil onderling uit, klaarblyklik by homoloë loki.

g) Na uitruil van DNA-fragmente vind herstel van die breuk(e) plaas, sodat 'n "intakte" DNA-molekuul weer gevorm word.

h) SCU vind slegs in die S-fase van die selsiklus plaas. (Dit is dus noodwendig met die DNA-replikasieproses geassosieer).

i) Die tipiese DNA-veranderinge wat SCU tot gevolg kan hê, is skynbaar heeltemal verenigbaar met sellewe. (Mits die DNA-herstelmeganisme funksioneel is).

Die model van Painter [50] as 'n moontlike meganisme vir SCU, geniet die meeste aanhang en sal vervolgens in meer besonderhede bespreek word: (Sien ook bladsy 18).

Die uitruil van dubbelstring DNA-segmente tussen struktureel identiese chromatiede, kan op minstens drie moontlike wyses verklaar word:

1) Uitruile geskied tussen segmente waar breuke in twee onafhanklike chromatiede op presies identiese loki ontstaan het. Vanselfsprekend kan bogenoemde baie moeilik aanvaar word. Verder sou dit ook verwag word dat so 'n uitruilmeganisme 'n dosisresponskurwe moet lewer wat 'n dubbelaanslag op die twee chromatiede sou reflekteer. Bestaande kennis dui egter daarop, dat daar 'n lineêre

verband tussen SCU-induksie en dosis van die mutageen bestaan [15,17].

2) 'n Herstelmeganisme vir DNA-skade wat gedurende DNA-replikasie funksioneel is.

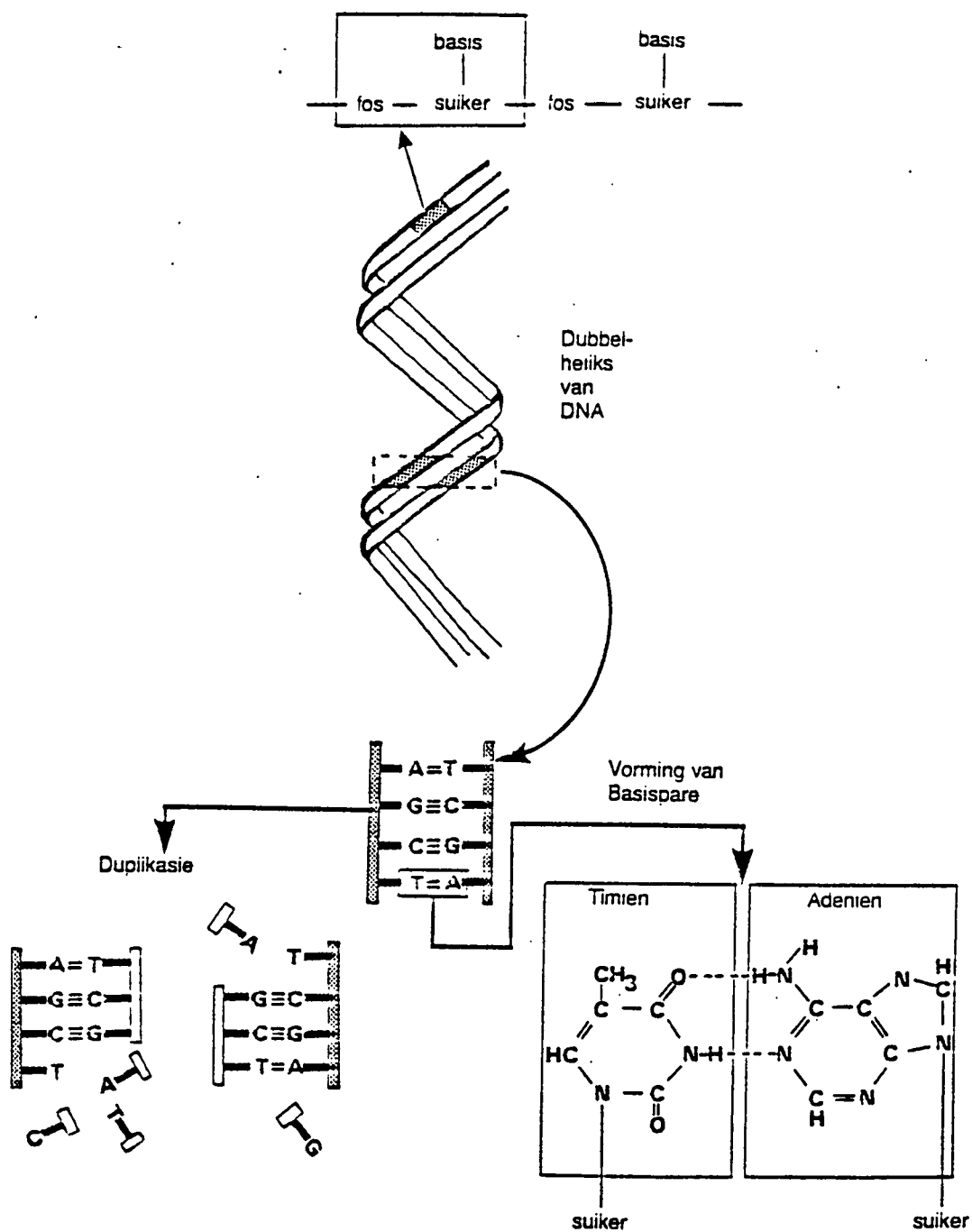
3) 'n Afwyking iewers in die proses van DNA-replikasie.

Die laaste twee moontlikhede kan wel in redelikheid oorweeg word. Daar is voldoende bewyse dat SCU 'n verskynsel is wat in die S-fase ontstaan (die DNA-replikasiefase van die selsiklus [34]. DNA-replikasie is dus 'n voorvereiste vir die induksie van SCU en dit impliseer dat SCU nie 'n manifestasie van eksisieherstel is nie, want eksisie van foute in die DNA word ensiematies dwarsdeur die selsiklus bewerkstellig en is nie beperk tot selle wat in 'n verdelingsfase verkeer nie. Eksperimente van De Weerd-Kastelein et al. [51] het bewys dat daar in normale selle en in selle wat 'n defek in eksisieherstelvermoë het (Xeroderma pigmentosum), geen verskil in hul vermoë om SCU te ontwikkel na blootstelling aan ultravioletlig, bestaan nie. Hierdie bevindings dui onweerlegbaar daarop dat SCU, nie 'n sitogenetiese manifestasie van eksisieherstel is nie. Die derde moontlikheid lyk dus die waarskynlikste, naamlik dat SCU gedurende die DNA-replikasieproses ontstaan [60].

Stetka en ander het daarop gewys dat SCU ontstaan wanneer 'n DNA-ketting, waarin BrdU geïnkorporeer is, as 'n templaar dien vir nuwe DNA-sintese [49,140]. Dit gaan dus nie in die eerste plek oor inkorporering van BrdU in die DNA-molekuul nie, maar oor die "abnormale" DNA-ketting (timidien met BrdU vervang) wat gedurende die S-fase moet repliseer.

DNA: Struktuur, replikasie en SCU

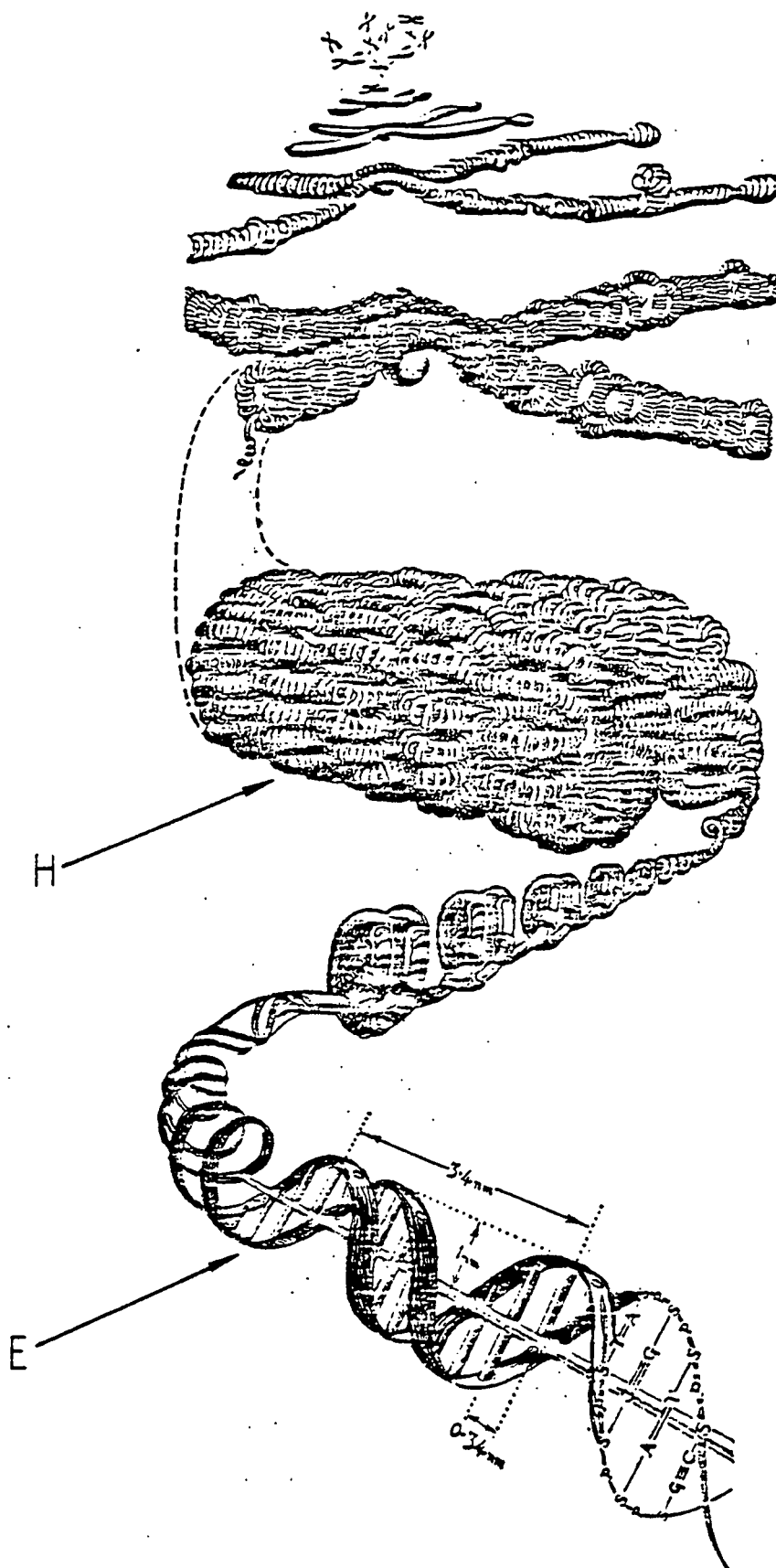
Volgens Meyer [52] word 'n chromatieddraad opgebou uit 'n DNA-molekuul, histone (basiese proteïene), nie-histone (suurproteïene) en 'n klein hoeveelheid RNA. Die histone dien as stut vir die DNA-molekuul, terwyl die suurproteïene waarskynlik by die regulering van geen-aktiwiteit betrokke is. Daar bestaan vyf bekende histone, naamlik H1, H2A, H2B, H3 en H4. Die dubbelstring DNA-molekuul word herhalend op gesette afstande om 'n histonepit (nukleosoom) gedraai. In die nukleosoom van alle eukariotiese selle is daar altyd basispare om elke histonepit gedraai. Die pit is weer op sy beurt uit 8 histoonmolekule saamgestel om sodoende 'n oktameer ($2 \times \text{H2A} + 2 \times \text{H2B} + 2 \times \text{H3} + 2 \times \text{H4}$) te vorm. Aan die buitekant van 'n nukleosoom sit die histoon H1 wat met sowel die DNA as die histonepit geassosieer is. Elektronmikroskopie vertoon die chroma-



FIGUUR 1

Skematiese voorstelling van die ultrastruktuur van DNA om die dubbelheliks en basisse aan te dui.

Volgens Theron J J {245}



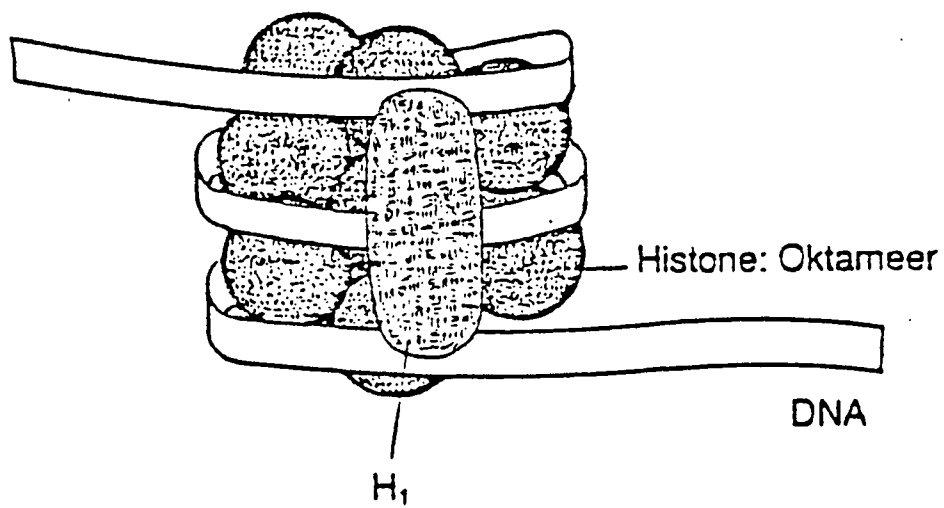
FIGUUR 2

DNA-molekuul om spiralisering aan te duid.

H = Heterochromatien

E = Euchromatien

Volgens Williams P L en Warwick R {244}



FIGUUR 3

Skematiese voorstelling van 'n chromatiendraad met nukleosome.

H_1 = Histoon aan die buitekant van die nukleosoom wat met
sowel die DNA as die histonepit geassosieer is.

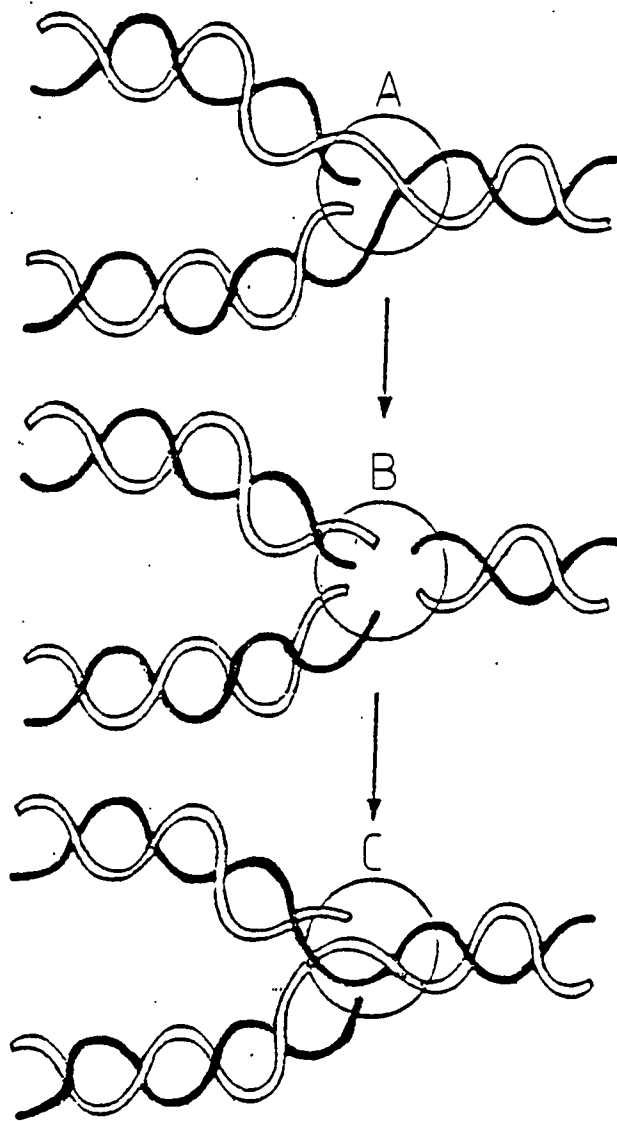
Volgens Meyer B J {52}

tieddraad met die nukleosome dus soos 'n string krale. Nukleosoomvorming verteenwoordig die eerste fase van DNA-kondensering en op hierdie wyse verkort 'n DNA-molekuul ongeveer 7 maal. 'n Tweede orde DNA-verkortings is ook bekend en blykbaar rol 6 nukleosome weer op om 'n sole nofede (klosstruktuur) te vorm. As gevolg van hierdie twee ordes van spiralisering, word 'n 20-30 nm dik DNA-vesel gevorm, wat met die elektronmikroskoop waargeneem kan word. Dit is die struktuur van euchromatien in die interfasekern en dit verteenwoordig die aktiewe deel van DNA. Op hierdie gedeelte van die DNA-molekuul vind transkripsie (bRNA-, tRNA- en rRNA-sintese) plaas. Heterochromatien verteenwoordig weer die ligmikroskopies-sigbare deel van chromatien en verskil van euchromatien daarin dat dit verdere spiralisering en opbondeling ondergaan, sodat dit gemaklik met 'n ligmikroskoop as chromatienkorrels waargeneem kan word. In die opgebondelde toestand is die DNA nie aktief koderend nie. Gedurende die S-fase van die selsiklus, verdubbel die DNA-heliks sowel as die histone in die nukleosome. Die DNA-molekuul repliseer op 'n semi-konserwatiewe manier; dit wil sê ná replisering bevat elke dogter-DNA-molekuul 'n dubbele DNA-heliks (een nuwe en een ou DNA-ketting). Die histone dupliseer op 'n ander (nie-konserwatiewe) wyse. Die oorspronklike nukleosome bly met

die moeder-DNA geassosieer, terwyl die dogter-DNA nuwe histone kry om nukleosome te vorm. Gedurende die S-fase verdubbel die chromatiedrade dus van 46 tot 92. Die duplikaatchromatiedrade bly oor 'n kort afstand van hulle totale lengte stewig aan mekaar vasgeheg by die sentromeer [52].

Painter [50] het die volgende model vir SCU voorgestel: Agense soos mitosisien-C, ultravioletlig en benzopireenediol-epoksies, onderdruk DNA-sintese hoofsaaklik omdat hulle kettinguitstrekkings (-verlenging) blokkeer en die effek daarvan geskied in sogenaamde DNA-replikonstreke, wat in verskillende stadiums van voltooiing is. Dit vertraag die repliseringsproses in daardie replikonstreke waar die proses nog aan die gang is. Dit het weer tot gevolg dat die blootstellingstyd verleng word waar replikonstreke met voltooide DNA-replikasie, met replikonstreke waar die replikasie nog nie voltooi is nie, skakel. By die aansluitings tussen replikonstreke heers dan die toestand dat 'n gerepliseerde DNA-ketting vir 'n abnormaal lang tyd met 'n nie-gerepliseerde deel geassosieer is. Dit is byna dieselfde toestand wat normaalweg in die S-fase aangetref word, waar euchromatien en heterochromatien aaneenlopend is. Die heterochromatien repliseer stadiger as die meer uitgestrekte (afgerolde) euchro-

matien. Die kanse vir dubbelstringbreuke in die DNA-molekuul by hierdie skakelingspunte verhoog aansienlik as die DNA-replisering om een of ander rede abnormaal lank duur [24]. Painter stel voor dat wanneer hierdie breuke voorkom, stringe van die DNA-molekuul van die nuutgevormde dogterchromatiede, in die herstelproses, onder invloed van die ensiem topoisomerase II, [53] verkeerdom geheg kan word aan die moederlike (nog nie gerepliseerde) DNA-molekuul. (Normaalweg vind die herstelproses natuurlik in die regte orde plaas). Wanneer die DNA-stringe van die gerepliseerde DNA verkeerdom geheg word aan die nie-gerepliseerde DNA-stringe, sal 'n susterchromatieduitruil ontstaan as die moederlike DNA dan ook repliseer. So-doende sal daar identiese fragmente in die dogterchromatiede met mekaar uitgeruil wees. Uitruile op hierdie wyse vereis dus net een dubbelstringbreuk en is dus verenigbaar met die veronderstelling dat SCU 'n lineêre funksie met die dosis van mutagene/karsinogene stowwe het [15,17,24]. Die feit dat SCU dikwels by aansluitings tussen euchromatien en heterochromatien ontstaan [58,59], pas goed in by bogenoemde beskouing van die meganisme van SCU. Ook die feit dat SCU slegs in die S-fase van die selsiklus ontstaan, dui daarop dat dit 'n meganisme is, wat noodwendig met DNA-replikasie geassosieer is. Dit is ook



FIGUUR 4

Die meganisme van SCU-vorming. Susterchromatieduitruile ontstaan gedurende DNA-replisering. By punt (A), waar daar 'n ophoud in replisering plaasvind, ontstaan breuke in die DNA-molekuul (B). Gedurende die herstelproses kan kettings omgeruil word, soos aangedui word in (C).

Volgens Painter, R B {50}

in ooreenstemming met die bevindings van Hand en German [54], dat daar verskillende (2) tempo's van DNA-strekking onder bovermelde omstandighede (Painter-teorie) is. In omtrent een-derde van die replikonstreke is daar 'n normale tempo van strekking van die DNA-stringe, maar in die res is daar 'n stadiger tempo.

Die Paintermodel verklaar ook die hoë aantal SCU wat in Bloom se sindroom gevind word, waar daar waarskynlik 'n defek in een of ander komponent van die DNA-replikasiemechanisme is. Die DNA-replikasiemodel van Painter [50] impliseer dus dat enige agens wat met die DNA-molekuul assosieer of bind en wat tot gevolg het dat die normale DNA-strekking daardeur beïnvloed word, potensiele SCU-induseerders is, omrede daar dan naasliggende replikonstreke is waar gerepliseerde en nie-gerepliseerde DNA-kettings met mekaar in verbinding is. Onder sulke omstandighede vorm die DNA-ketting dus 'n vurk (Y-vorm) en breuke (SCU) kan ontstaan by die aansluiting van die steel van die vurk met die twee tande [62]. Soms word na hierdie model as die DNA-vurkmodel verwys.

Meiotiese oorkruisings en SCU verteenwoordig verskillende vorme van DNA-herkombinasies [56,61]. Oorkruisings behels uitruile tussen nie-susterchromatiede van homologe chromosome en dit geskied waarskynlik in die profase. Anders as

in die geval van meiotiese oorkruisings, gaan SCU nie gepaard met 'n verandering in die oenetiese inhoud van die chromosoom nie [34]. Susterchromatieduitruilings word dus nie deur dieselfde meganismes as oorkruisings veroorsaak nie [65]. Die meganisme vir sogenaamde "spontane" SCU en geïnduseerde SCU, blyk dieselfde te wees [63]. Ook wat die distribusiepatroon vir SCU in die verskillende chromatiëde betref, is daar 'n merkwaardige ooreenkoms [64]. Kanda (1982) het SCU in_vivo ondersoek in verskillende organe van dieselfde dier (muis) en gevind dat die waardes vir selle van die beenmurg, milt, lewer en spermatogonia identies is [68]. Dit geld slegs vir spontane uitruile, dit wil sê die basislynwaardes sonder die invloed van enige bekende oorsakende faktore. Dit is 'n baie belangrike bevinding, want dit dui daarop dat elke persoon 'n basislyn vir SCU het wat waarskynlik in al die seltypes van sy liggaam ongeveer dieselfde waarde het. Daar is egter ander navorsers wat nie bogenoemde bevinding onderskryf nie (sien later).

1.4 SCU IN VERSKILLENDE SELTIPES

Susterchromatieduitruile kan in verdelende selle in_vitro [14,15,29] sowel as in_vivo [79,80,81,82] bepaal word.

In elke geval moet 'n timidienanalooë (byvoorbeeld Bromodeoksi-uridien) aan die verskillende seltipes beskikbaar gestel word. Vir *in_vitro* studies kan enige seltipe wat gekweek kan word, gebruik word. Mees algemeen word die volgende seltipes gebruik: limfosiëte (veral T-limfosiëte), beenmurgselle, fibroblaste, epiteelselle, ovariale kiemselle (Chinese hamsters), en hepatosiëte.

Vir *in_vivo* bepalinge kan die merkerstof (BrdU) intraveneus, subkutaan, intraperitoneaal of via ander roetes toegedien word. Enige seltipe waar daar mitotiese aktiwiteit bestaan, kan dan ondersoek word vir SCU, byvoorbeeld beenmurgselle [85,86,87], kiemselle [79], regenererende hepatosiëte [88,89], asook fetale seltipes [86]. Limfosiëte bly een van die mees praktiese seltipes wat vir kwekings en SCU-bepalinge gebruik kan word. Die T- (klein) limfosiëte word tot mitose geprikkel deur toevoeging van phytohemagglutinin (PHA) [71]. Annette Lindblad en Bo Lambert [69] het gevind dat SCU hoër is in seltipes wat vinnig prolifereer. Die tempo van selproliferasie blyk dus ook belangrik te wees in die frekwensie van SCU. T-limfosiëte het 'n stadiger proliferasietyd as B-limfosiëte [69] en dit verklaar moontlik ook die verskil in SCU-waardes onderling. Santesson *et al.* [70] verklaar die laer SCU in B-limfosiëte op grond van die feit dat B-limfosië-

te 'n laer BrdU-opname gedurende kweking vertoon. Dieselfde navorsers het limfosietkwekings van 20 persone oor 'n tydperk van drie jaar herhaal, met intervale van ongeveer drie maande, en geen statisties beduidende verskille in SCU in 17 uit die 20 persone gevind nie [70]. Dit wil dus voorkom of die SCU-basislyn vir elke persoon vir relatiewe lang periodes min of meer konstant bly. T-limfosiete is meer kwesbaar vir ultraviolestrale as B-limfosiete. Die rede hiervoor mag gesetel wees in die feit dat T-limfosiete 'n stadiger proliferasievermoë as B-limfosiete het [83]. In vivo kon geen verskille in SCU in alveolêre makrofage en regenererende lewerselle van dieselfde proefdier aangetoon word nie. Daar is egter 'n opvallend laer SCU in die beenmurgselle teenwoordig [72]. Sandberg het ook aangetoon dat SCU in normale beenmurgselle opvallend laer is as in T-limfosiete van dieselfde individu [20]. Dit wil dus voorkom asof die SCU van verskillende seltypes nie met mekaar vergelyk kan word nie. Hieruit kan afgelei word dat verskillende seltypes nie dieselfde sensitiwiteit teenoor 'n bepaalde mutageen (soos BrdU) vertoon nie. Sozzi et al. het gevind dat dieselfde karsinogene verskillende SCU-waardes in twee verskillende muissoorte uitlok [73]. Dit dui dus daarop dat selle van verskillende proefdiere (in hierdie geval muis), verskillende sensitiwiteit teen dieselfde karsi-

nogeen kan openbaar. Die BrdU-dosisrespons vir SCU-waardes verhoog direk eweredig in die limfosiete van muis, maar die mitotiese indeks daal met 'n verhoging in BrdU-konsentrasie. O'Neill en medewerkers [74] het gevind dat mutasies en SCU geïnduseer word deur replikasie van die DNA-molekuul as die timidien daarin verplaas is deur die timidienanalooë, 5-Bromo-2-deoksi-uridien (BrdU). Verder is ook gevind dat 5-chloro-2-deoksi-uridien 7 tot 8 maal meer SCU induseer as BrdU [74]. Die gehalogeneerde timidienanalooë is dus in eie reg ook mutagene. Daar is 'n statisties beduidende verskil in SCU-waardes van limfosiete wat as heelbloed gekweek word en limfosiete wat na isolasie gekweek word [76,132]. Dit mag die eritrosiete of ander onbekende faktore in die heelbloed wees wat die limfosiete tot 'n mate teen die effek van die mutageen beskerm, of minder sensitief daarvoor maak. In 1985 het Parkes en medewerkers gevind dat daar verskillende populasies van T-limfosiete is wat ook, wat proliferasietempo betref, verskil en wat verskillende SCU-waardes vertoon [77]. Kankerselle wat stadig prolifereer, het 'n effens laer SCU-waarde as vinnigprolifererende kankerselle [78] en hierdie feit moet in ag geneem word by die bepaling van SCU in maligne selle.

1.5 DIE INVLOED VAN VARIASIES IN TEGNIEK OP SCU

Die basiese tegniek vir differensiële kleuring van susterchromatiede is in 1974 deur Perry en Wolff ontwikkel [6]. Dit berus op die beginsel dat 'n timidienanaloo (BrdU) die timidien in die DNA-molekuul gedurende replikasie van DNA vervang. Wanneer 'n verdelende sel dan deur twee selsiklusse roteer het, bevat die twee susterchromatiede nie dieselfde hoeveelheid BrdU nie. Aangesien kleurstowwe soos Giemsa en akridienoranje nie so geredelik aan die timidienanaloo as aan egte timidien self bind nie, bevat die twee chromatiede na twee seldelings dus nie dieselfde hoeveelheid kleurstof nie en kan hulle mikroskopies maklik van mekaar onderskei word. Indien akridienoranje gebruik word, sal die twee susterchromatiede met verskillende intensiteite fluoresseer onder ultravioletlig [8, 14]. SCU-waardes vir dieselfde persoon kan wissel van laboratorium tot laboratorium. Die rede hiervoor is dat geringe variasies in die metode en tegniek 'n invloed op die SCU-getalle mag hê. Dit is dus van die allergrootste belang dat SCU-bepalings altyd in dieselfde laboratorium met 'n standaardtegniek onder identiese omstandighede uitgevoer word. (Vanselfsprekend moet dieselfde handelsmerk chemikalieë in identiese konsentrasies ook voortdurend gebruik word). Die volgende faktore, wat 'n invloed

op SCU-bepalings kan hê, is in die literatuur beskryf: Schneider en Lewis [84] het gevind dat sekere mutagene in vivo meer potent is om SCU te veroorsaak, terwyl ander weer in vitro meer oorheersend is. Resultate van in vivo- en in vitro-bepalings kan dus nie sondermeer met mekaar vergelyk word nie. Verder is gevind dat wanneer bepalinge in vivo gedoen word, dehalogenering van die timidien-analoog in die lewer plaasvind [91,92], wat dan die beskikbaarheid van die analoog benadeel en gevolglik ook die SCU-waardes. Om hierdie probleem te oorbrug, is verskeie metodes gevolg om 'n konstante BrdU-vlak in die proefdier te handhaaf, te wete; (a) deur inspuitings van BrdU herhalend toe te dien [93,94,95]; (b) voortdurende intraveneuse toediening [96,97]; (c) implant van BrdU-tablette onder die vel (subkutaan), ten einde geleidelike vrystelling te bewerkstellig [98,99]. Met genoemde in vivo-metodes is laer basislynwaardes verkry as met in vitro-metodes [81,100]. Bromo-deoksi-uridien is die timidien-analoog wat verreweg die algemeenste gebruik word om differensiasie tussen susterchromatiede te bewerkstellig. Ander gehalogeneerde uridien kan egter ook gebruik word naamlik, jodo-deoksi-uridien en chloro-deoksi-uridien. Al drie hierdie analoë is egter mutagenies op sigself en veroorsaak 'n verhoging in SCU in die volgende volgorde:

chloro-deoksi-uridien, bromo-deoksi-uridien en jodo-deoksi-uridien [120]. Bewyse in die literatuur vir die mutagenisiteit van BrdU op verskillende selsoorte is oortuigend. Huberman en Heidelberger [121] het alreeds in 1974 aangetoon dat pirimidien-nukleo-siedanaloe^{si} mutagenies op V79-hamster-selle is. Verdere bewyse vir die mutagenisiteit van BrdU vir ander seltypes is: ovariale selle van Chinese hamsters [122,123,124]; fibroblaste [125]; menslike limfoblaste [126,127,128]. Moontlik berus die mutagene effek van BrdU daarop dat die metielgroep in timidien vervang word met 'n elektronegatiewe broomatoom wat 'n verandering in die DNA-proteïeninteraksie tot gevolg het [129].

Gewone volspektrum lig, beïnvloed SCU-waardes. Verskeie navorsers het 'n toename in SCU gevind, as die selkulture oormatig aan gewone lig blootgestel was [101,102]. Die SCU-waardes is direk eweredig aan die hoeveelheid 5-bromo-2-deoksi-uridien wat in die DNA-moedermolekuul ingebou word gedurende DNA-replikasie [136]. CldU induseer omtrent sewe maal meer uitruile as BrdU, in dieselfde dosis [137]. Becher en Sandberg het bevind dat wanneer die BrdU-konsentrasie laag gehou word (onder 10 μ g/ml kultuur-medium), die SCU-frekwensie in beenmurgselle en limfosiete nie daardeur statisties beduidend beïnvloed word nie

[139]. Fotolise van BrdU wat reeds deur die DNA-molekuul opgeneem is, vind by golflengtes plaas wat in of naby die ultravioletspektrum geleë is (± 300 nm) [103,104,105]. Sorg moet dus gedra word dat kulture nie oormatig aan lig wat van fluoressensiebuis afkomstig is, blootgestel word nie [106]. Alle monsterhouers moet met metaalfoelie toegedraai word gedurende die kultuurproses. Daar bestaan ook die moontlikheid dat SCU deur fotosensitiserende stowwe wat in die serum van die kultuurmedium kan voorkom, veroorsaak mag word [107]. Voorbeelde van sulke stowwe sluit in: tetrasikliene, riboflavin en fenolrooi. Voor-siening moet dus gemaak word, dat geen fotosensitiserende stowwe soos tetrasikliene, riboflavin of fenolrooi, in die kultuurmedium teenwoordig is nie. Sulke stowwe mag natuurlik, sowel as kunsmatig (toediening), in die bloed van die persoon wie se selle gekweek word, voorkom.

Die kultuurmedium wat gebruik word om die limfosiete in te kweek het ook 'n invloed op die SCU-waardes [81,108,109]. Kultuurmedia bevat nie almal dieselfde bestanddele nie en dit is dus belangrik dat vir 'n bepaalde projek altyd dieselfde medium gebruik word. Ham F10 is 'n voorbeeld van 'n prototipe kultuurmedium. Die teenwoordigheid van timidien en/of foliensuur in die kultuurmedium is ook faktore waarmee rekening gehou moet word. Timidien kompeteer

met die timidienanaloo (BrdU) vir inkorporering in die DNA-molekuul. Hoër beskikbaarheid van egte timidien verdring dus tot 'n mate die BrdU, sodat minder van laasgenoemde in die DNA ingebou word, met gevolglike laer uitruilwaardes, sowel as swak chromatiedifferensiasie. Foliensuur speel 'n belangrike rol in die biosintese van timidien-nukleosiede. Beskikbaarheid van foliensuur voorsien dus hoër konsentrasies van natuurlike timidien met die gevolg dat minder BrdU weereens ingebou word en laer SCU-waardes verkry word. Wanneer die kultuurmedium arm aan timidien en/of foliensuur is, word die analoo (BrdU) tot 'n groter mate in die DNA-molekuul opgeneem en in so 'n geval kan laer konsentrasies BrdU vir differensiële merking gebruik word [109].

Die tempo van mitose, sowel as die mitotiese indeks, varieer met die gebruik van verskillende kultuurmedia [110,111]. Die frekwensie van SCU word hoër in stadig-verdelende selle, as in selle wat 'n kort selsiklus besit [69,134]. Wanneer 'n mutageen by limfosietkulture gevoeg word, word gevind dat die limfosiete wat 'n relatiewe langer selsiklus besit, 'n hoër gemiddelde frekwensie van SCU vertoon [131]. Wanneer fetale bloedserum by die selkulture gevoeg word, versnel die verdelingstempo [113, 114] en direk as gevolg daarvan kan die SCU ook beïnvloed

word. Gosh en Nand het outoloë serum gebruik en 'n verlaagde frekwensie van SCU aangetoon [115]. Moontlik het die betrokke serum een of ander faktor, soos foliensuur, bevat wat die inbou van BrdU in DNA kon inhibeer.

Veranderinge in temperatuur gedurende die kultuurperiode beïnvloed ook SCU-vlakke [116,117,118]. Peter E Crossen^o het gevind dat selkulture by 35 C opvallend laer SCU-vlakke^o vertoon het as selle wat by 39 C gekweek is. Selkulture^o by die laer temperatuur (35 C), het ook langer sel-siklusse vertoon [119]. In 'n vergelykende studie van SCU-induksie deur BrdU in die mens, bees en vark het McFee en Sherrill gevind dat menslike limfosiëte meer sensitief vir die mutagene effek van BrdU is, as limfosiëte van die bees en die vark [114]. Heartlein et al. het gevind dat SCU-induksie deur BrdU en CldU in direkte verhouding is tot die hoeveelheid timidien wat deur hierdie stowwe in die DNA-molekuul verplaas word [130]. Mutasies en SCU word geïnduseer wanneer replikasie van die DNA, waarin BrdU en CldU ingebou is, plaasvind [133]. Das en Sharma het gevind dat indien limfosiëte sonder serum gekweek word, die uitruile gemiddeld hoër is. Wanneer die limfosiëte egter sonder serum en ook sonder antibiotika (penisillien en streptomisien) gekweek word, is die SCU-waardes baie laer in verhouding [133]. Die redes vir hierdie verskynsel is

nie duidelik nie. Moontlik onderdruk sekere antibiotika selgroei en verleng dus kunsmatig só die selsiklus. (Laasgenoemde faktor is bekend daarvoor dat dit SCU kan verhoog) [110,111]. Dit is belangrik dat die oestyd van limfosietskulture konstant gehou moet word. Ardito en medewerkers het gevind dat limfosietskulture wat na 60 uur geoes word, laer SCU-waardes vertoon het as dié wat korter as 60 uur gekweek is [135]. Optimumwaardes word met 'n kultuurtyd van 60 uur verkry. Die basislyn SCU-waardes word ook laer as selle eers vir 60 uur gekweek is, voordat BrdU bygevoeg word [138].

1.6 CHEMIESE STOWWE WAT SCU BEÏNVLOED

'n Groot aantal chemiese stowwe is bekend daarvoor dat hulle een of ander vorm van DNA-skade veroorsaak en as gevolg daarvan die SCU-waardes verhoog. Voorbeelde hiervan behels die volgende:

A. Medikamente:

Fenasetien [141]

Fenasoon [141]

Kaffeeën [141]

Phenytolien [148]

Hidralazien [149]

Opiate [142];

B. Metaalsoute:

Loodchromaat [143]

Seleniumsoute (verlaag slegs SCU-waardes) [175];

C. Alkohol [144]

D. Insekdoders, swamdoders en gifstowwe:

Organofosfate [145,146]

Organochlorate [145]

Karbamate [145,167]

Mikotoksiene (Griseofulvin) [147];

E. Sitostatika:

Mitomisien-C [150]

Aktinomisien-D [150]

Eleomisien [150]

Dounomisien [150]

Adriamisien [150]

Siklofosfamied [157];

F. Gasse:

Suurstof [151,152]

Stikstofdiksied [153];

G. Tabak:

Rook [154,155]

Kou (pruim) [156].

Bogenoemde genotoksiese stowwe gee, met enkele uitsonderings, 'n verhoging in die basislyn SCU-waardes. Wanneer inname van, of blootstelling aan die betrokke agens gestaak word, keer die SCU-waardes gewoonlik binne 'n beperkte tydspan weer terug na die basale waardes.

1.7 SCU AS INDIKATOR VAN DNA-HERSTELVERMOË

Agense of faktore wat SCU induseer, veroorsaak DNA-skade wat nog nie ten tye van die S-fase herstel is nie. SCU reflekteer dus in wese ook die sel se DNA-herstelvermoë [12, 158,159,160]. DNA-skade en DNA-herstel vorm 'n integrale komponent by die induksie van susterchromatieduitruile, maar presies hoe laasgenoemde proses met die DNA-herstelmeganisme gekakel is, bly steeds onverreken. Volgens Ehrenberg en medewerkers [161] besit die sel die volgende drie meganismes waardeur foute (skade) aan die DNA-molekuul gekorrigeer kan word:

a) Uitsnyherstel

Dit is waarskynlik die algemeenste DNA-herstelmeganisme en behels 'n paar stappe van ensiemwerking. Eerstens word die

foutiewe basis of basisse deur 'n N-glikosilase-ensiem uitgesny en daarna word die fosfodiësterruggraat van die molekule deur 'n apuriniese of apirimidiniese endonuklease-ensiem geklief. Vervolgens word die uitgesnyde deel deur 'n DNA-polimerase-ensiem, wat die intakte een ketting van die DNA-heliks as templaar gebruik, gerekonstrueer. Die nuutgevormde fragment word dan in die regte posisie by die eindpunte deur 'n ligase-ensiem geheg. Meestal verloop die uitsnyherstelproses foutloos. Soms mag 'n mutasie egter op bogenoemde wyse ontstaan.

b) Replikasieherstel

Soms ontstaan gapings teenoor pirimidien-dimere en/of foutiewe basisse in die "oorspronklike" DNA-molekule as gevolg van invloede van buite (ultraviolette lig of chemiese stowwe). Gedurende replikasie word die gaping dan net met normale DNA opgevul, deurdat die intakte komplementêre ketting van 'n dogtermolekule as templaar gebruik word vir die sintese van 'n nuwe volledige ketting.

c) Induseerbare DNA-herstel (SOS-induksie)

Wanneer DNA-replikasie deur uitgebreide DNA-skade verhoed word, kan die sel as 'n teenmaatreël sekere gene wat in 'n toestand van repressie was, aanskakel (sogenaamde SOS-induksie van gene). Lewensbelangrike proteïene kan dan

op so 'n wyse wel gesintetiseer word. Wanneer DNA-skade herstel word, keer die verhoogde SCU-waarde weer terug na die basislyn. Huff en medewerkers [162] het gevind dat ná toediening van 'n bolusdosis van die mutageen siklofosfamid, die SCU in konyne vinnig gestyg het. Na 5 dae was daar egter reeds 'n opvallende daling en 10 dae na toediening, was die SCU-vlakke terug na normaal. Die SCU styg ook 3 tot 4 maal in limfosiete na blootstelling aan mitomisien-C. Na twee opeenvolgende seldelings, is die DNA-skade egter reeds herstel en die SCU ook weer terug na normaal [164]. DNA-skade kan egter ook van meer permanente aard wees. Butter en Sanger het byvoorbeeld gevind dat in 'n alkoholis wat ophou om alkohol te gebruik, dit tot solank as een jaar neem om weer normale SCU-vlakke te bereik. Wanneer 'n persoon wat straf gerook het, die rookgewoonte staak, neem dit ook tot een jaar om die DNA-skade te herstel. Die basislyn SCU-vlakke vir elke persoon, het dus betrekking op die meer permanente tipe DNA-skade en kan deur verskeie faktore slegs tydelik beïnvloed word. In sekere siektetoestande waar daar 'n genetiese afwyking voorkom, is die DNA-molekuul minder stabiel en dus meer kwesbaar vir genotrope invloede en karsinogene ontaarding [165]. In Bloom se sindroom is daar byvoorbeeld 'n DNA-herstelgebrek en kenmerkend van die toestand is dan ook die uitgesproke toename in SCU [166]. In Xeroderma pig-

mentosum is daar weer 'n defek in die uitsnyherstelproses van DNA deur die ensiem endonuklease. Na DNA-skade deur ultravioletlig of chemiese stowwe, is daar gebrekkige herstel en die toestand word dan ook gekenmerk deur 'n buitensporige styging in SCU in die limfosiete van sulke persone wanneer 'n mutagene stof by die selkulture gevoeg word. Die SCU verteenwoordig dus die DNA-skade wat nie uitgesny kon word nie [160].

1.8 DIE INVLOED VAN BESTRALING OP SCU

Ultravioletlig is 'n potente induseerder van SCU [168]. Die onderliggende meganisme is waarskynlik dat ultravioletstraling, die vorming van pirimidien-dimere induseer [169].

Aangesien ultrasoniese golwe dikwels vir diagnostiese prosedures aangewend word, is dit kardinaal belangrik om te weet of klankgolwe DNA-skade kan veroorsaak. In 1979 het Liebeskind en medewerkers [170] rapporteer dat SCU gering verhoog het na blootstelling aan ultraklankgolwe. Hierdie bevindings is in 1981 bevestig deur ander navorsers [171]. In 1983 het Miller, Wolff en ander [172] egter geen verandering in SCU ná 30 minute toediening van 2 MHz ultraklank gevind nie. Daar bestaan dus nog nie duidelik-

heid oor die effek van ultraklank op SCU-vorming nie. Beta-strale (0.1 Ci) veroorsaak chromosoomaberrasies in menslike limfosiete, maar geen SCU nie [173]. Blootstelling aan 0.2 Ci veroorsaak egter chromosoomaberrasies, sowel as susterchromatieduitruile [173]. 'n Interessante waarneming is in 1984 deur Painter en Mathur [177] gemaak, toe hulle gevind het dat selle wat eers met x-strale behandel is, minder sensitief vir die effek van ultravioletstrale is, om SCU te veroorsaak. X-strale het 'n direkte effek op die uitstrek van die DNA-ketting en dit mag deels die meganisme verklaar [177].

1.9 CHEMIESE INHIBISIE VAN SCU

Daar is chemiese stowwe bekend wat susterchromatieduitruile, wat deur mutagene stowwe geïnduseer word, kan verminder. Die belang hiervan, indien enig, ^e is nie bekend nie.

Inhiberende stowwe op SCU:

- a) Indole (3AH) [174]
- b) Natriumseleniet (Na_2SeO_3) [175]
- c) Sulfhidrierverbindings (sistefen, sisteamien en sistamien) [176].

Dit sou interessant wees om na te gaan of hierdie stowwe DNA kan stabiliseer en só maligne ontaarding van selle kan inhibeer.

1.10 DIE INVLOED VAN VITAMIE NE OP SCU

Oor die algemeen is vitamie ne nodig vir ensiematiese prosesse in selle en vir normale selgroei. Uit die literatuur is dit duidelik dat sommige vitamie ne ook 'n invloed op DNA-stabiliteit (SCU) het.

a) Vitamien-A

Die belangrikste fisiologiese funksie van vitamien-A is om seldifferensiasie te beheer. Gebrekkige seldifferensiasie gee aanleiding tot karsinogene ontaarding van selle. Dit is dus te verwag dat vitamien-A 'n verband met karsinogene mag hê. Daar is dan ook talle bewyse dat voldoende inname van vitamien-A die insidensie van maligniteite aansienlik verminder [188,189]. Longkanker kan met soveel as 50% verminder word deur voldoende vitamien-A-inname [187]. Daar is ook bewys dat vitamien-A 'n beskermende funksie teen die ontwikkeling van die volgende tipes kanker het:

Blaaskanker [191]

Kanker van die boonste SVK [192]

Borskanker [190]

Beta-karotene wat in plante voorkom, word in die liggaam tot retinol afgebreek en daar is aanduidings dat retinol die aktiewe antikarsinogeen is. Ongelukkig is daar nog min bekend oor die invloed van retinol op SCU. Met ons huidige kennis sou dit verwag kan word dat vitamien-A (retinol) waarskynlik 'n vermindering in SCU tot gevolg behoort te hê. McCormick et al. het dan ook gevind dat die inhiberende effek van retinielasetaat op proliferasie van mammakarsinoom in muis, aantoonbaar is [246].

Verdere navorsing is uiteraard nodig om die stabiliserende effek van vitamien-A op die DNA-molekuul bo twyfel te bevestig.

b) Vitamien B6

Piridoksien (vitamien-B6) verhoog SCU in menslike limfosiete wat gekweek word [179]. Hieruit kan gepostuleer word dat dit moontlik karsinogenese kan bevorder. Tryfiates en medewerkers het dan ook in 1981 gevind dat inaktivering van piridoksien in 'n tumor in situ, regressie daarvan veroorsaak [180]. Vitamien-B6 kom biologies in drie vorme voor: Piridoksien, piridoksaal en piridoksamien. Al drie hierdie vorme word na die koënsiem piridoksaal-5-fosfaat gemetaboliseer/gefosforileer. Die eindme-

taboliet van piridoksaal-5-fosfaat is 4-piridoksiensuur. Slegs piridoksien is egter, sover bekend, vir 'n verhoging in SCU verantwoordelik [179].

c) Vitamien-C

Die effek van askorbiensuur op SCU is nog nie opgeklare nie. Vitamien-C is 'n sterk reduseermiddel en daar is bewyse dat dit antimutagene en antiklastogene eienskappe besit [181,182]. Hierdie siening korreleer met die bevindings van Speit en medewerkers dat vitamien-C nie SCU in sekere seltipes in_vivo induseer nie en dat dit selfs die SCU wat deur N-metiel-N-nitro-nitrosoguanidien geïnduseer word, kan inhibeer [183]. Teenstrydig met laasgenoemde het Galloway en Painter [184] weer bevind dat vitamien-C die SCU in_vitro verhoog en dus moontlik mutagenies/karsinogenies vir die mens kan wees. Ander navorsers [185,186] het ook gevind dat askorbaat moontlik mutagenies en klastogenies kan wees. Moontlik lê die verklaring daarin dat die H_2O_2 en vry O -radikale wat vanaf oksidasie van askorbien-
suur gevorm word, verantwoordelik is vir die klaarblyklike mutagene en karsinogene effek (styging in SCU). Onder normale omstandighede (in_vivo) word die suurstofradikale deur katalase-ensieme opgeruim. Abnormaal lae inname van vitamien-C word in Ierland geassosieer met maagkanker [192] en met kanker van die esofagus in Iran [193]. Ame-

rikaanse Negers wat 'n lae vitamien-C-inname het, ontwikkel twee maal soveel esofaguskarzinome as persone met 'n normale inname [194].

d) Vitamien-E

Net soos vitamien-C, is vitamien E ook 'n belangrike intrasellulêre anti-oksidant [195]. In sommige bakterieë kan dit die aantal mutasies op die DNA-molekuul beduidend verminder [196]. Die antimutagene/-karsinogene effek van vitamien-E in die mens is nog nie behoorlik ondersoek nie.

1.11 SCU EN OUDERDOM

In die literatuur is daar teenstrydige bevindings ten opsigte van die effek van veroudering op die ontstaan van SCU. Schneider en Gilman [197] kon geen verskille in uitruilwaardes in verskillende ouderdomsgroepe aantoon nie. Hulle het trouens selfs beweer dat daar 'n afname in uitruile in mitosisien-C-geïnduseerde SCU, in menslike fibroblaste was.

Hedner en medewerkers [198] het limfosiete van 'n honderd proefpersone ondersoek, maar kon ook geen toename in SCU met toenemende ouderdom aantoon nie. Hulle het egter bevestig dat chromosome van ouer mense meer geneig is om

aberrasies te ontwikkel. Schneider et al. [199] het SCU in rotte en muise bepaal en kon ook geen verskil in SCU aan ouderdom alleen koppel nie. Walter Vormittag het dertig vroulike proefpersone ondersoek en kon ook geen verskil in SCU met toenemende ouderdom aantoon nie [200]. In teenstelling met bogenoemde bevindings is daar egter verskeie ander navorsers, wat veral in die jongste tyd, presies die teenoorgestelde resultate gerapporteer het. S6 het Waksvik et al. [201] 'n geringe toename in SCU met toenemende ouderdom aangetoon. In 1984 het Stella en medewerkers [178] 'n lineêre verband tussen SCU en ouderdom gevind. (Hulle het 'n reeks van 21 gesonde proefpersone nagegaan). Dunkelberg en Krames rapporteer ook in 1984 [202] dat daar 'n opvallende verskil in SCU-waardes tussen skaapooie en hul pasgebore lamms bestaan.

Das en Sharma [248] induseer SCU en chromosoomaberrasies met x-strale in jong sowel as ou muntjacs en vind dat jong diere se SCU laag, maar die aberrasies hoog is. Met toenemende ouderdom neem die uitruile geleidelik toe, terwyl die aberrasies verminder. Op heeltemal gevorderde leeftyd, kom daar 'n afplatting van SCU, sowel as van chromosoomaberrasies voor. Mikronukleol is asentriese chromosoomfragmente wat nie in die hoofkern gedurende seldeling geïnkorporeer word nie. Dit is 'n aanvaarde toets vir muta-

geengeïnduseerde DNA-skade [203]. Fenech en Morley [204] het in 1985 gevind dat daar ongeveer 'n viervoudige toename in mikronukleï van limfosiëte is, vanaf geboorte tot op 82-jarige ouderdom.

Vergelykbare, ooreenstemmende resultate is ook deur Högstedt verkry [205]. De Arce [247] het 18 individue in drie verskillende ouderdomsgroepe (0 tot 10, 30 tot 40 en 60 tot 70 jaar) se limfosiëte gekweek en die SCU bepaal. Hy het toe gevind dat daar 'n statisties beduidende ($p < 0.05$) toename van SCU met toenemende ouderdom is (SCU 0-10 < 60 tot 70 jaar).

Uit die literatuur is bewyse oorwegend in die guns van 'n toename in SCU (asook in mikronukleï) met toenemende ouderdom. Die meeste bevindings dui dus daarop dat met toenemende ouderdom, die onherstelbare skade aan die DNA-molekuul toeneem, wat op sy beurt die kanse vir seltransformasies, natuurlik laat toeneem.

1.12 DIE INVLOED VAN HORMONE OP SCU

Daar is nog relatief beperkte hoeveelhede navorsingswerk oor die invloed van hormone op DNA-stabiliteit en susterchromatieduitruile gedoen.

Die invloed van hormone op DNA-stabiliteit (en SCU) kan baie gekompliseerd wees, soos die volgende bevindings uit die literatuur dan ook aandui: Hill en Wolff [207] het bevind dat die sintetiese estrogeen, di-etiel-stilboestrol, 'n opvallende verhoging in SCU in limfosiete van swanger en premenopousale nie-swanger vrouens induseer, maar dat dit byna geen effek op SCU-frekwensies in limfosiete van mans en postmenopousale vrouens het nie. Waarskynlik speel die beskikbaarheid van selreseptore onder verskillende fisiologiese omstandighede ook hier 'n rol, wat moontlik die variasies in SCU-waardes mag verklaar.

Dit is goed bekend dat estrogene die groei van prostaatkarsinoom kan demp en so kan androgene dan ook weer die groei van mammakarsinoom inhibeer. Aangesien steroïedhormone aan reseptore in die selkern bind en sodoende hul invloed uitoefen, voel dit geregverdig om te postuleer dat hierdie groep hormone waarskynlik meer geneig sal wees om modifikasies en/of mutasies in die DNA van selle te veroorsaak as peptiedhormone (wat aan membraanreseptore bind).

Muthy en Prema [206] het gevind dat vrouens wat orale kontraseptiewe middels oor lang tydperke gebruik het, 'n 75% toename in SCU-waardes vanaf basaal, vertoon het. Die-

selfde outeurs het in 1983 verder ook gevind [208] dat vrouens wat estrogeen-progesteroonkombinasie terapie gebruik, 'n duidelike verhoging in SCU vertoon. Die waardes het vir drie maande na staking van die kontraseptiewe middel hoog gebly en daarna het dit geleidelik begin daal. 'n Verdere bevinding was dat vrouens wat slegs suiwer progesteron parenteraal ontvang het, geen verandering in SCU vertoon het nie. Teenstrydige bevindings in verband met die invloed van kontraseptiewe middels kom egter van Husum en medewerkers [209], wat geen verhoging in SCU kon aantoon nie.

1.13 DIE INVLOED VAN VIRUSSE OP SCU

In die literatuur is daar nie veel gerapporteer oor die invloed van virusse op SCU nie. Raposa [210] beskryf een geval, waar die antiliggamtiters teen die Epstein-Barr-virus parallel met die SCU-frekwensie gestyg het. 'n Verhoging in SCU is ook beskryf deur Knuutila en medewerkers in twaalf persone wat teen pokkies ingeënt was [211]. Ander navorsers het egter gedurende 1980 presies die teenoorgestelde gevind. SCU-bepalings is op 6 weke en 8 maande ná inentings gedoen [212]. 'n Verhoging in SCU is gerapporteer in virusinfeksies met onder andere:

- a) Hepatitis-A- en hepatitis-B-virusse [213].

- b) Leukemie-virus van Rauscher [214].
- c) Simiaanse virus SV40 [215].

In die volgende virustoeëteande is geen aanduiding van verandering in SCU-waardes gevind nie:

- a) Immunisasie teen masels [216].
- b) Poliomiëlitis [217].

1.14 GENETIESE TOESTANDE EN SCU

Daar bestaan verskeie siektetoeëteande waar 'n kongenitale onstabiliteit van die DNA-molekuul voorkom [218,219]. Dië afwykings mag primêr in die struktuur van die DNA voorkom, maar dit mag ook op 'n defektiewe DNA-herstelmeganisme dui. Onder bogenoemde toeëteande resorteer:

- a) Bloom se sindroom
- b) Anemie van Fanconi
- c) Ataxia telangiëktase
- d) Xeroderma pigmentosum
- e) Cockayne se sindroom
- f) Down se sindroom.

Bogenoemde toeëteande het 'n paar baie belangrike gemeenskaplike kenmerke [220]:

- a) Kongenitale onstabiliteit van die DNA

- b) 'n Groter gevoeligheid vir DNA-beskadigende agense soos mutagene en/of karsinogene
- c) 'n Uitgesproke neiging tot karsinogene transformasie
- d) 'n Verhoging in die SCU.

Sommige van hierdie toestande vertoon 'n verhoogde basislyn-SCU, terwyl ander eers 'n merkbare verhoging toon na blootstelling aan 'n mutageen [38].

Daar bestaan bewyse dat die sensitiwiteit of gevoeligheid (kwesbaarheid) van normale, gesonde persone se DNA (in limfosiete) vir verskillende mutagene/karsinogene varieer. Dikawa en medewerker's [221] het SCU in limfosiete van 53 normale, volwasse persone ondersoek nadat hulle aan dieselfde konsentrasies van drie verskillende mutagene/karsinogene blootgestel was. Die selle van twee van hierdie 53 persone was besonder sensitief vir die karsinogene stowwe en het deurgaans erg verhoogde, geïnduseerde SCU-waardes vertoon. Verder het hierdie navorsers ook die bevindings van Morgan en Crossen [222] bevestig dat die gemiddelde basislyn-SCU-waardes ("spontane" SCU) vir normale, gesonde persone, binne 'n klein spektrum van waardes val en min fluktueer. Die persone met 'n kongenitale verhoogde sensitiwiteit vir karsinogene stowwe, vertoon dus hoë geïnduseerde SCU-waardes en sal waarskynlik makliker maligniteit ontwikkel, aangesien onstabiliteit van die DNA-molekuul

die kans vir karsinogene transformasie verhoog [221]. In Down se sindroom is die SCU primêr normaal. Wanneer die mutageen, mitomisien-C, by die limfosiet-kulture gevoeg word, styg die nou geïnduseerde SCU-waardes statisties beduidend ten opsigte van kontrolewaardes [223]. Dit is dan ook bekend dat persone wat aan Down se sindroom ly, meer vatbaar is vir akute leukemie [228], asook vir virus-siektes [223]. Dearfield en medewerkers [225] het die basislyn ("spontane") SCU-frekwensie in twee spesies rotte (Fisher 344 en Sprague-Dawley) bepaal. In die perifere limfosiete sowel as in beenmurgselle van Fisherrotte, het hulle deurgaans hoër SCU-waardes aangetoon. Dit is dan ook algemeen bekend dat Fisherrotte tien maal meer vatbaar is vir leukemie [225]. Uit bogenoemde is dit dus duidelik dat daar baie kongenitale toestande bekend is waar daar 'n verhoogde sensitiwiteit vir mutagene bestaan en dat hierdie gevalle sonder uitsondering ook met verhoogde SCU-waardes ("spontaan" of geïnduseerd) voordoën. Hierdie vermelde toestande het almal dus ook 'n hoër risiko vir die ontwikkeling van maligniteite.

1.15 SCU IN NIE-NEOPLASTIESE (BENIGNE) TOESTANDE

SCU verteenwoordig DNA-skade van verskillende oorsaak en

aard, wat nie deur die sel se DNA-herstelmeganismes uitgesny is nie [12,158,159,160,161]. Hierdie DNA-skade kan tot mutasievorming en karsinogene transformasie aanleiding gee (nie noodwendig nie) [20]. Alhoewel daar 'n lineêre verband tussen SCU en mutasievorming bestaan [17], beteken 'n toename in SCU nie dat die sel noodwendig karsinogene transformasie sal ondergaan nie [20]. Daar bestaan dus ook nie-neoplastiese toestande wat met 'n verhoogde SCU geassosieer word.

Benigne toestande geassosieer met verhoogde SCU:

- a) Veelvuldige sklerose [226]
- b) Sekere virussiektes [227]
- c) Megaloblastiese anemieë [228]
- d) Refraktêre anemie [229]
- e) Progeria [230]
- f) Werner se siekte [230]
- g) Kwashiorkor [231]
- h) Alkoholisme [163].

1.16 SCU IN MALIGNIE TOESTANDE

In 1982 het Wiencke en medewerkers [233] limfosiete van 22 onbehandelde pasiënte met bewysde, uiteenlopende maligniteite gekweek. Terselfdertyd is limfosietkwekings ook van

normale, gesonde persone gedoen (as kontrole). Twee potente mutagene/karsinogene, naamlik Mitomisien-C en Benzo(a)-pireen, is in dieselfde konsentrasies by die twee groepe limfosiete in vitro toegevoeg. Daar is gevind dat die SCU wat in die siek persone se limfosiete geïnduseer is, statisties beduidend hoër was, as dié van kontroles. Die DNA van persone met kanker, was dus meer sensitief en kwesbaar vir mutagene/karsinogene as die DNA van normale, gesonde persone [233]. Heerema en ander [232] het beenmurgselle van agt kinders met akute limfatiese leukemie ondersoek en gevind dat ses verhoogde SCU-waardes vertoon het. Persone wat 'n hoë risiko vir velkanker het (melanoom uitgesluit), is gewoonlik lig van vel, hare en oë. Hulle het dikwels sproete, brand gou seer in die son en verbruin nie maklik nie.

f Jung en medewerkers [234] het 21 van hierdie tipe persone, wat alreeds verskeie vorme van velkanker gehad het, se limfosiete gekweek en vir SCU ondersoek. Hulle het gevind dat hierdie klinies gediagnoseerde hoë risikogevalle vir velkanker, se basislyn-SCU, sowel as die ultraviolet-geïnduseerde-SCU, beduidend verhoog is in vergelyking met die kontrolegevalle [234]. Dit is bekend dat persone wat niertransplantate ondergaan het, maklik velkanker ontwikkel [235]. Kelly en Sheil [236] het dertig van hierdie

pasiënte se limfosiete vir SCU ondersoek. Terselfdertyd het hulle ook sewe van hierdie pasiënte wat reeds velkanker ontwikkel het, ondersoek. Hulle het die gemiddelde SCU-waardes as volg aangeteken: Normale persone, gemiddeld 9.2; pasiënte met niëroorplantings, 10.3 en niëroorplantingspasiënte wat reeds velkanker ontwikkel het, 14.3. Dit is belangrik om daarop te let dat die persone wat 'n hoë risiko vir velkanker gehad het, se SCU reeds primêr, matig verhoog was. Die wat wel velkanker ontwikkel het, het nog 'n verdere styging in SCU getoon [236]. Ghidoni *et al.* [36] het in 1983 drie families ondersoek waarin daar 'n hoë insidensie van kutane, maligne melanoom was. Persone wat reeds melanome ontwikkel het, het deurgaans chirurgie ondergaan, maar geen van hulle het chemoterapie ontvang nie. Al die pasiënte het verhoogde SCU-waardes vertoon. Interessant was die bevinding dat 'n paar van die steeds "gesonde" familieleden, ongeveer dieselfde verhoogde SCU-waardes vertoon het [36]. Die navorsers spekuleer dat laasgenoemde persone in die familie 'n hoë risiko dra om ook 'n maligne melanoom later te ontwikkel [36]. SCU-waardes is ook verhoog in pasiënte met maligne limfome, Hodgekin se siekte, nie-Hodgekin limfome en limfoblastiese leukemie [237,238]. Daar is egter geen afwyking in pasiënte met limfadenitis gevind nie [237]. In 1982 het Mitra en sy medenavorsers [239] limfosiete van dertien vrouens met

servikskarsinoom gekweek en SCU-bepalings uitgevoer. Hulle maak toe die belangrike gevolgtrekking dat die gevalle met servikskarsinoom, 'n uitgesproke verhoogde SCU in vergelyking met normale kontrolegevalle het (gemiddeld 10.05 teenoor 6.95).

'n Ander span navorsers [241] het in 1982 ook SCU-bepalings in vivo op beenmurgselle van muise, wat adenokarsinoom van die mamma gehad het, uitgevoer. Hulle het 'n statisties beduidende verhoging in SCU in die muise met mammakarsinoom aangetoon, in vergelyking met gesonde kontrolegevalle (gemiddeld 9.83 teenoor 5.79). Livingston en medewerkers rapporteer in 1983 dat hulle in vrouens met aktiewe mammakarsinoom 'n opvallende verhoging in SCU-waardes, in vergelyking met normale vrouens, kon aantoon [240]. Hulle het SCU-bepalings in vitro op limfosiete van dertien vrouens met mammakarsinoom gedoen. Daar is gebruik gemaak van die fluoressensietegniek van Wolff en Perry [7]. In 1985 het Manhoran en Banerjee [242] volledige mammas uit jong muise verwyder en die susterchromatieduitruile direk in die alveolêre selle bepaal. Daarna het hulle 'n chemiese stof, N-metiel-N-nitroso-ureum (NNU) (wat daarvoor bekend is dat dit karsinogene transformasie van mammaselle veroorsaak) by die kulture gevoeg. Na transformasie van die alveolêre selle, is SCU-bepalings

weer herhaal en is gevind dat die uitruile drie maal verhoog het, in vergelyking met die waardes van normale alveolêre selle. Hierdie werkers bewys dan dat karsinogene transformasie van mammaselle in muis, met 'n verhoging in SCU gepaard gaan.

Daar is egter ook teenstrydige bevindings in verband met die styging van SCU in mammakarsinoom pasiënte in die literatuur gerapporteer. Husum en medewerkers [243] kon geen betekenisvolle verandering in SCU-waardes, in limfosiëte van vrouens met mammakarsinoom, opspoor nie. Hulle kon egter ook geen veranderinge in SCU met ouderdomsverskille aantoon nie.

1.17 OPSOMMING VAN DIE BELANGRIKSTE BEVINDINGS UIT DIE LITERATUUR IN VERBAND MET SUSTERCHROMATIEDUITRUILE

1. SCU is die mees sensitiewe kwantifiseerbare indikator van DNA-skade.
2. SCU-waardes is eksperimenteel hoogs herhaalbaar en vergelykbaar.
3. Die basislyn-SCU-waardes is baie konstant vir 'n bepaalde persoon ("spontane" SCU).
4. SCU het 'n lineêre verband met die aantal mutasies (drukfoute) in die DNA-molekuul.

5. Karsinogene veroorsaak deurgaans 'n styging in SCU.
6. Maligne transformasie van selle (veral mamma) gaan met 'n styging in SCU gepaard.
7. SCU kan tydelik verhoog word deur mutagene, karsinogene en bestraling.
8. Die spontane- of basislyn-SCU verteenwoordig blywende DNA-skade wat nie deur die sel se DNA-herstelmeganisme gekorrigeer kon word nie.

HOOFSTUK_2

DOEL EN UITEENSETTING VAN DIE PROJEK

Die doel van hierdie navorsingsprojek was om vas te stel:

a) Tot hoe 'n mate DNA met toenemende ouderdom meer onstabiel raak en mutasievorming styg.

b) Of vrouens wat 'n positiewe familiegeskiedenis van mammakarsinoom het (waarskynlik 'n hoër risiko), aantoonbare verandering in die DNA besit, wat op onstabiliteit daarvan dui.

c) Of vrouens wat bewysde vroeë mammakarsinoom het, 'n toename in die aantal mutasies in die DNA-molekuul vertoon.

Daar bestaan in die literatuur nie eenstemmigheid oor die volgende aspekte nie:

a) of DNA-skade wel noodwendig met ouderdom toeneem;

b) of SCU in mammakarsinoompasiënte statisties beduidend verhoog is;

c) of 'n verhoogde SCU moontlik 'n groter risiko vir maligne transformasie van die sel aandui.

Met hierdie projek is daar dus gepoog om groter duidelikheid oor bogenoemde drie belangrike aspekte te bekom.

Uit die literatuur wat behandel is, was dit duidelik dat susterchromatieduitruile 'n betroubare en sensitiewe barometer vir DNA-onstabiliteit is en dat dit 'n lineêre verband met mutasievorming in die DNA-molekuul het. 'n Toename in mutasievorming verhoog noodwendig die kanse tot maligne transformasie van die sel. Alle karsinogene verhoog die aantal mutasies (en SCU) in die DNA en gevolglik die kanse tot maligne ontaarding van selle.

Vir die doel van hierdie projek, is susterchromatieduitruile dus gebruik as indikator van DNA-onstabiliteit/-skade. Vir hierdie doel is T-limfosiete gekweek en chromosoomondersoeke (vir SCU, enosovoorts), op 224 vroulike persone uitgevoer. Hierdie proefpersone het drie eksperimentele groepe verteenwoordig:

- a) Gesonde, normale vroulike persone van verskillende ouderdomme;
- b) Vrouens wat 'n positiewe familiegeskiedenis van mammakarsinoom het;
- c) Vrouens wat bewysde vroeë mammakarsinoom reeds ontwikkel het.

Chromosoomondersoeke het telkens die volgende bepalings ingesluit:

- i) Die totale aantal susterchromatieduitruile per meta- fase;
- ii) Die persentasie puntuitruile (SCU op "punte" van chromatiede);
- iii) Die persentasie interstisiële uitruile (SCU in die "been" van chromatiede);
- iv) Die mitotiese indeks;
- v) Die "spektrum" of reikwydte van die SCU-waardes vir elke persoon (2 maal standaardafwyking).

Bogenoemde parameters is vir elke metafase genoteer (daar is 50 metafases van elke persoon se limfosiete ondersoek).

Al die ingesamelde inligting is in 'n rekenaar ingevoer, statisties verwerk en word later as rekenaaruitdrukke, -diagramme en -histogramme aangebied onder die opskrif, "Resultate en statistiese verwerking."

HOOFSTUK 3

PROEFPERSONE

In totaal is bloedmonsters bekom by 224 vroulike persone. T-limfosiete is gekweek en die chromosome is vir suster-chromatieduitruile ondersoek. Hierdie getal van 224, sluit 57 pasiënte met vroeë mammakarsinoom in. Die res (167) het bestaan uit normale, gesonde vroulike persone wat, op 'n vrywillige basis, aan die navorsingsprojek deelgeneem het. Hierdie vrywilligers het hoofsaaklik uit die volgende sosiale/beroepsgroepe bestaan:

- a) Damestudente;
- b) Biblioteek- en doseerpersoneel;
- c) Bloedskenkers;
- d) Lede van die wye publiek;
- e) Seniorburgers van tehuse vir bejaardes, asook ander senior lede van die publiek;
- f) Pasiënte met vroeë mammakarsinoom.

Uit die literatuur blyk dit duidelik dat daar veelvuldige faktore is, wat die SCU-waardes kan verhoog. Vir hierdie betrokke projek, was ons veral gefinteresseerd in die ba-

sislynwaardes van SCU vir elke individu en nie in tydelike verhogings wat deur een of ander eksogene faktor veroorsaak kon word nie.

Om hierdie rede moes die proefpersone uiters streng geselekteer en in eksperimentele modelgroepe ingedeel word. 'n Volledige kliniese geskiedenis is geneem en 'n inligtingsbrosjyre is opgestel en aan elke proefpersoon beskikbaar gestel. Daarin is diskwalifiserende praktyke/toestande, onder moontlike proefpersone se aandag gebring.

Faktore wat persone gediskwalifiseer het vir insluiting as proefpersone:

1. Rook;
2. Alkoholgebruik;
3. Gereelde gebruik van enige medikamente;
4. Die gebruik van hormone (kontraseptiewe middels uitgesluit). Dit is bekend dat kontraseptiewe hormoonpreparate, slegs 'n geringe verskil, indien enige, aan SCU-waardes (basislyn) veroorsaak. Verder was dit onprakties om groot getalle vrouens te werf, wat nie orale kontraseptiewe middels gebruik het nie;
5. Akute of kroniese siektes;
6. Endokriene afwykings;
7. Enige virussiekte die voorafgaande drie maande;
8. Enige inentings of immuniserings die afgelope drie

maande;

9. Blootstelling aan bekende kankerwekkende omgewingsfaktore (asbestof, nywerheidsrook, mynstof, fosfor, teerstowwe, of harse);
10. Radioterapie of enige ander bestraling;
11. Behandeling met sitostatika;
12. Spesiale dieet.

Vir die doel van hierdie navorsingsprojek, is proefpersone wat ondersoek is, aanvanklik in twee groepe ingedeel:

GROEP__I: Bestaande uit al die normale, gesonde persone. Op grond van ouderdom is hierdie groep onderverdeel in verskillende dekades van ouderdom:

- Groep A : 10 tot 20 jaar
- Groep B : 20 tot 30 jaar
- Groep C : 30 tot 40 jaar
- Groep D : 40 tot 50 jaar
- Groep E : 50 tot 60 jaar
- Groep F : 60 tot 70 jaar
- Groep G : 70 tot 80 jaar
- Groep H : 80 tot 90 jaar

GROEP__II: Die proefpersone in hierdie groep is as volg onderverdeel:

Gradering 1: Persone met geen positiewe familiege-

kiedenis van mammakarsinoom nie

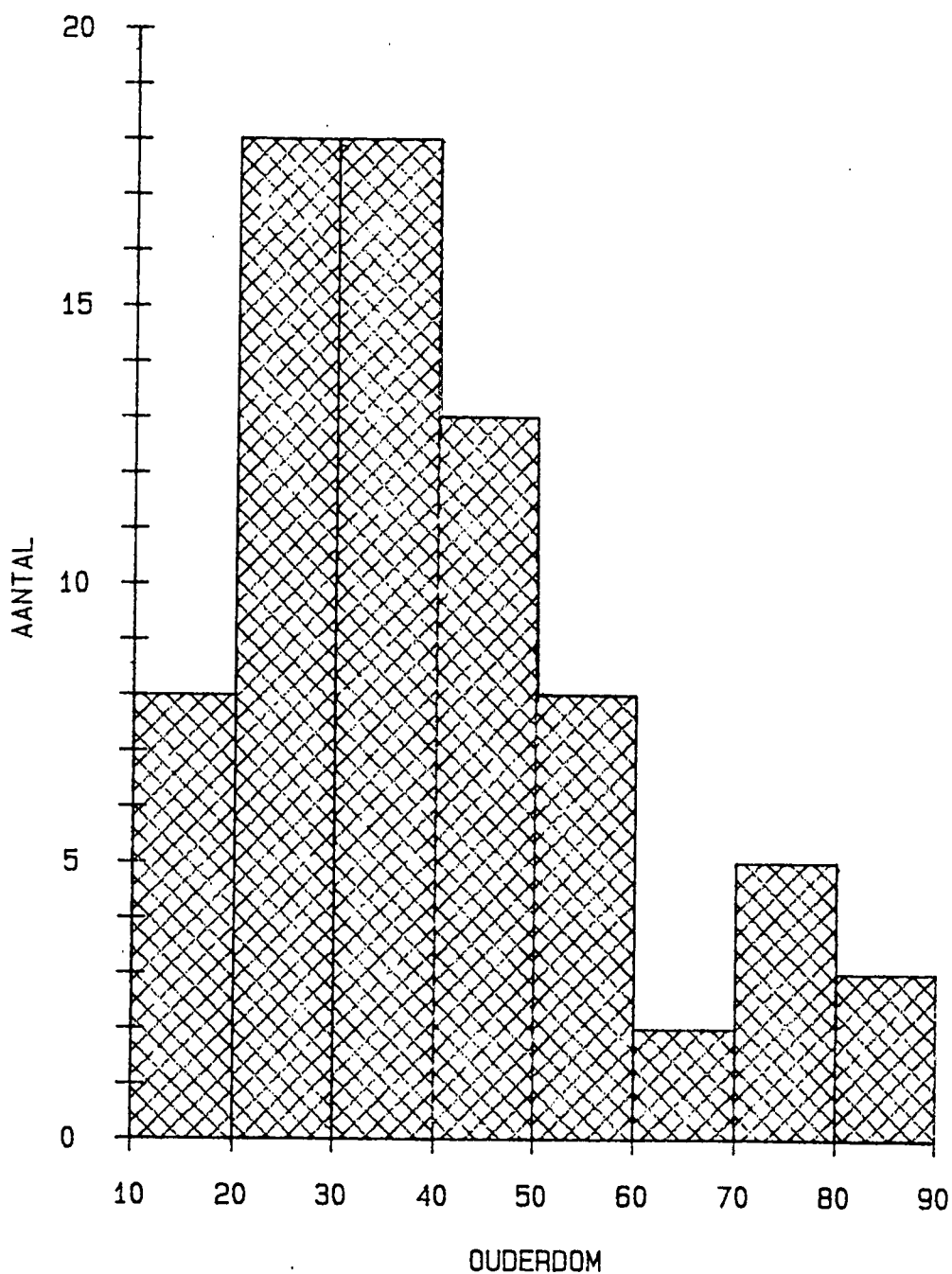
Gradering 2: Persone waar mammakarsinoom by 'n ouma, tante of niggie voorgekom het

Gradering 3: Persone waar die moeder mammakarsinoom het/gehad het

Gradering 4: Persone wat self mammakarsinoom het

Gradering 5: Persone, drie tot vier weke na "volledige" chirurgiese verwydering van 'n maligne mamma-tumor.

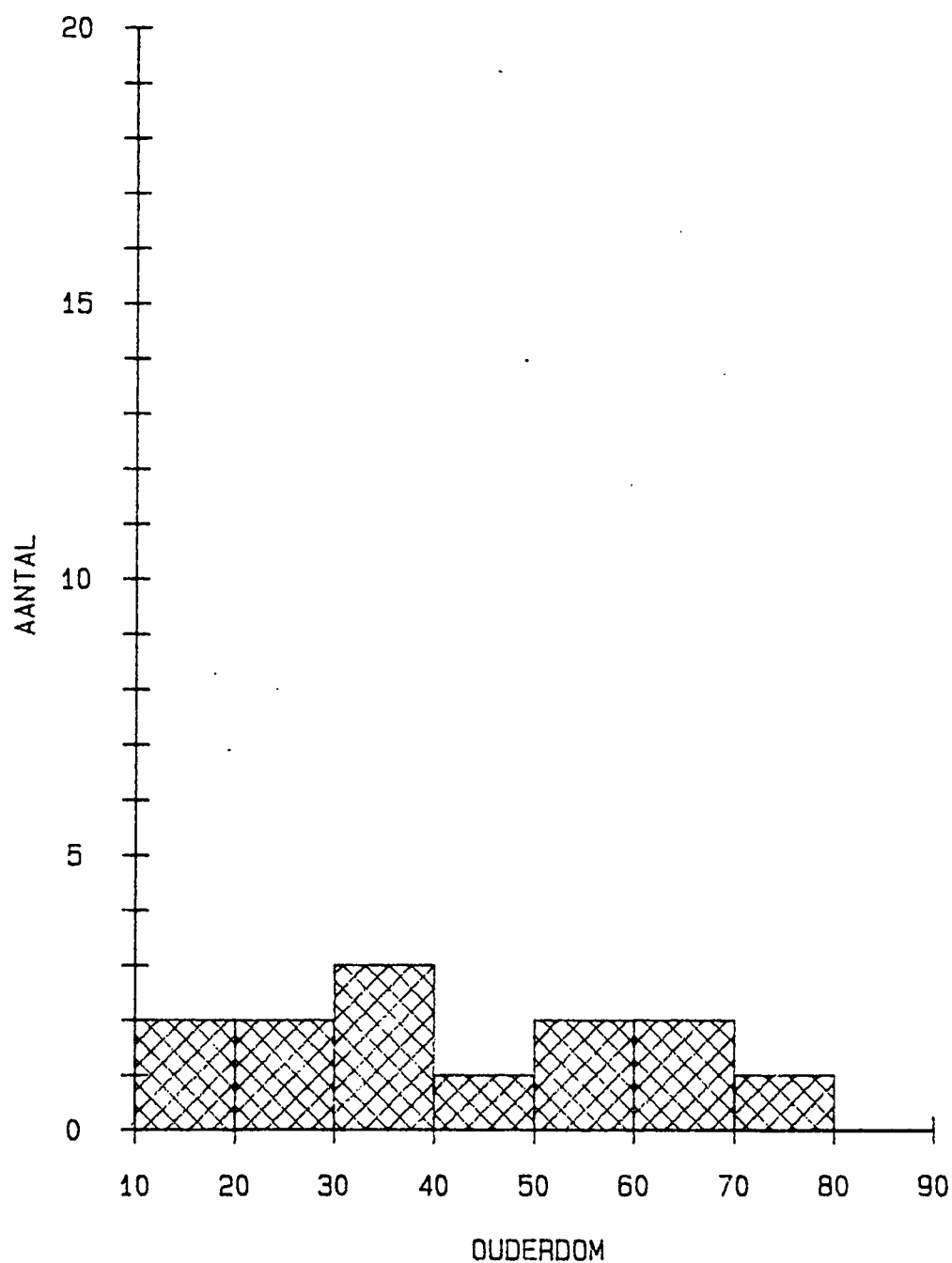
(Groep I dien as kontrole vir die verskillende graderings in Groep II.



GRADERING 1*

*DIE VERSPREIDING, IN VERSKILLENDEN OUDERDOMSGROEPE,
VAN DIE AANTAL GESONDE NORMALE PERSONE WAT GEEN
FAMILIEGESKIEDENIS VAN MAMMAKARSINOOM HET NIE

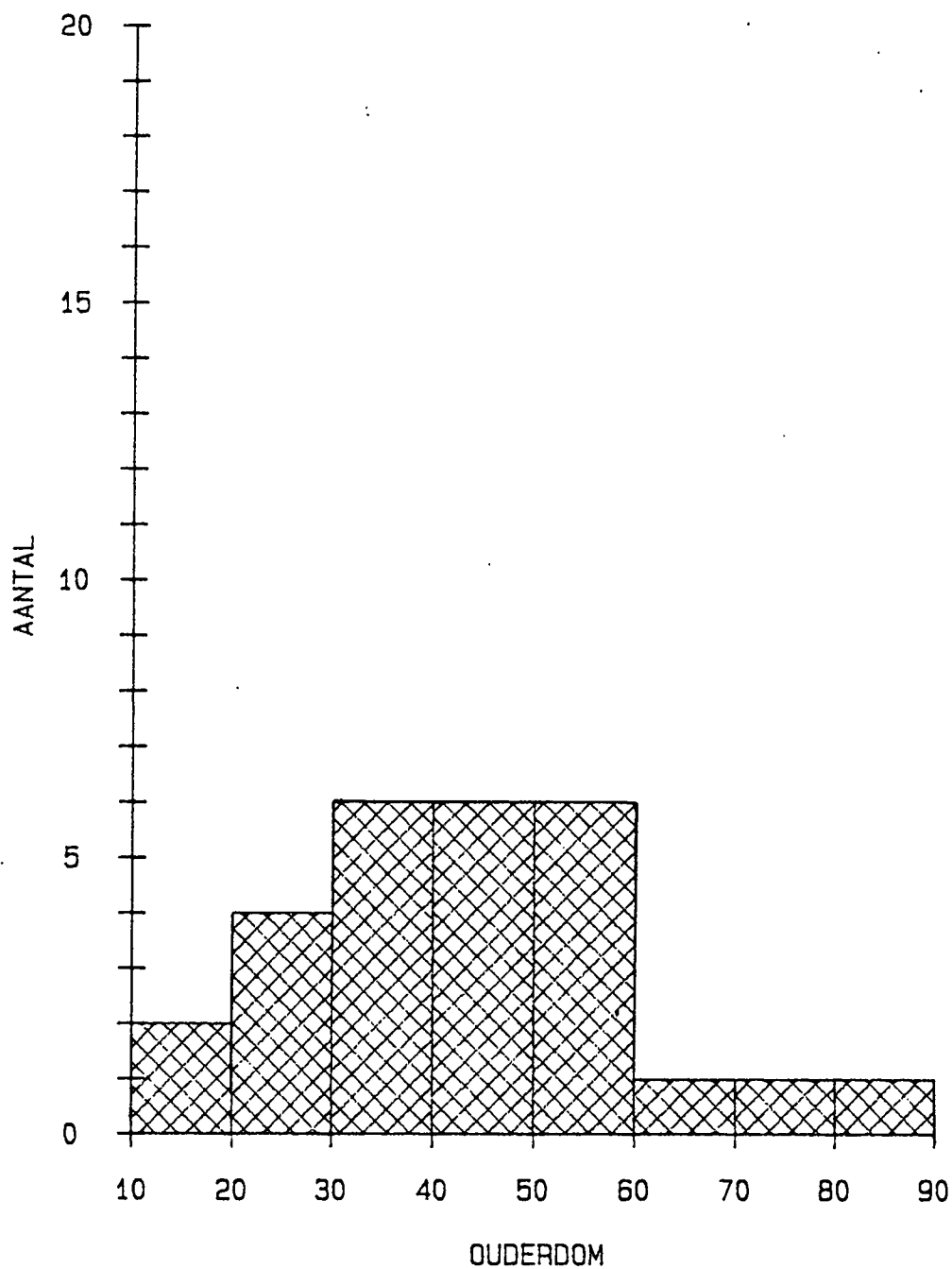
HISTOGRAM 1



GRADERING 2*

*DIE VERSPREIDING, IN VERSKILLENDIGE OUDERDOMSGROEPE,
VAN DIE AANTAL GESONDE NORMALE PERSONE WAT 'N FA=
MILIEGESKIEDENIS (VERDER AS EIE MOEDER) VAN MAMMA=
KARSINOOM HET

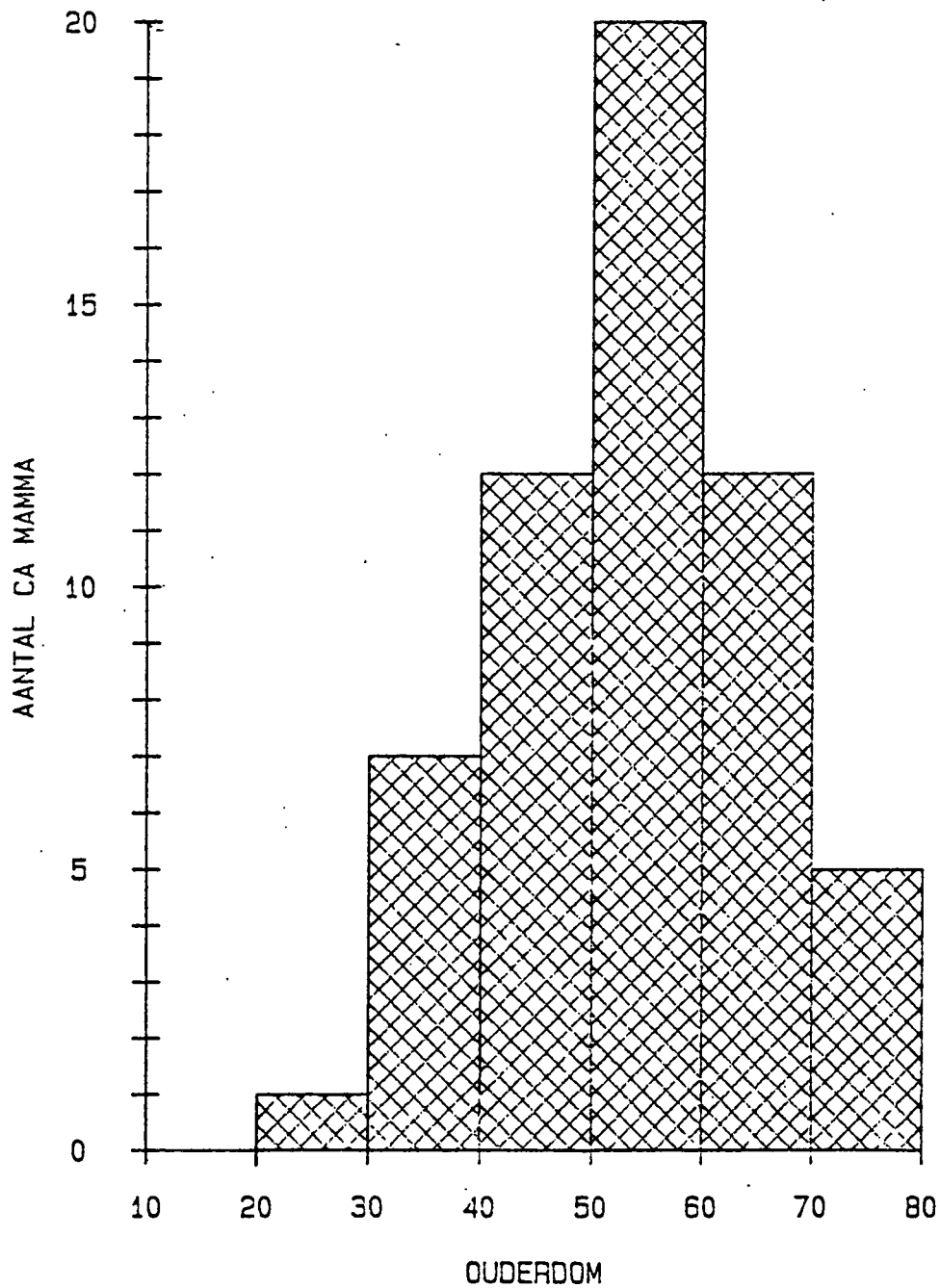
HISTOGRAM 2



GRADERING 3*

*DIE VERSPREIDING, IN VERSKILLENDEN OUDERDOMSGROEPE,
VAN DIE AANTAL GESONDE NORMALE PERSONE WAAR DIE
EIE MOEDER MAMMAKARSINOM HET/GEHAD HET

HISTOGRAM 3



DIE VERSPREIDING, IN VERSKILLENDIGE OUDERDOMSGROEPE,
VAN PASIËNTE WAT MAMMAKARSINOM HET

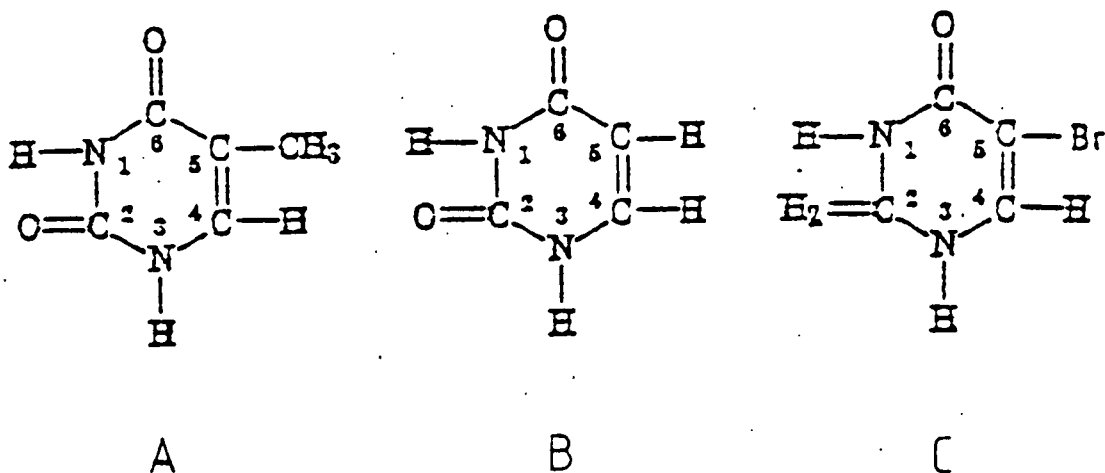
HISTOGRAM 4

HOOFSTUK_4

METODE EN TEGNIEK

Metode

Die metode wat vir die differensiasie van chromatiede gebruik was, is met uitsondering van enkele wysigings, dié van Wolff en Perry (1974) [7]. Dit berus op die beginsel dat 'n timidienanalooë, 5-bromo-2-deoksi-uridien (BrdU), gedurende die sintese van 'n nuwe DNA-molekuul, in laasgenoemde geïnkorporeer word. Elke keer wanneer DNA dus repliseer, bevat die nuwe ketting toegevoegde BrdU, in plaas van die normale timidien. Na die eerste seldeling, bevat die twee chromatiede dus dieselfde kwantiteite timidien en BrdU. Na die tweede seldeling (tweede generasie), bevat een chromatied dan dubbel (2 x) die hoeveelheid BrdU in vergelyking met die ander. Dit verskaf dan die moontlikheid om die twee chromatiede van tweedegenerasie-limfosiete van mekaar te kan onderskei. Die kleurstowwe, akridien-oranje en Giemsa, bind geredelik aan die metielgroep van timidien, maar glad nie aan die broomatoom van BrdU nie. Gevolglik fluoresseer (onder ultravioletlig) die een chro-



FIGUUR 4

A = Timien

B = Urasiel

C = 5-Bromo-2-deoksi-urasiel

5-Bromo-2-deoksi-urasiel + Ribose = BrdU

BrdU word in die plek van timidien (timien + deoksiribose) in die DNA-molekuul ingebou. Akridien-oranje bind maklik aan die metielgroep van timidien, maar nie maklik aan die Br-atoom van BrdU nie.

matied wat meer timidien en kleurstof bevat, helderder as die ander een wat meer BrdU en dus minder kleurstof bevat.

Kultuurtegniek

Bloedkulture is deurgaans onder streng aseptiese toestande opgestel. Alle prosedures is in 'n steriele laminêre vloekabinet uitgevoer. Die volgende komponente is dan op hierdie wyse in die aangeduide volgorde, in 'n steriele kultuurflessie saamgevoeg:

1. 0.5 ml vars gehepariniseerde bloed, wat onder streng aseptiese omstandighede van die proefpersoon bekom is.
2. 1 ml fetale kalfserum.
3. 7 ml Ham-F10-kultuurmedium.
4. 0.2 ml Phaetohemaglutinien[®] (Wellcome).
5. 10 μ g BrdU/ml kultuuroplossing.

Die kulture (limfosiete) word in donker vir 60 uur in 'n inkubator, by 37 °C gekweek. Colcemid[®] (Ciba), 0.05 mg/ml kultuuroplossing, word na 60 uur bygevoeg om die mitoseproses in die metafases te arresteer.

Na twee uur word die gekweekte limfosiete, dan soos volg geoes:

5 ml KCl (0.075 M en 37 °C), word by elke kultuur gevoeg vir 20 minute. Kulture word nou in sentrifugeerbuisies

oorgegiet en die selkomponent word afgeswaai teen 1 500 opm vir 10 minute. Die supernatant word deur middel van suiging verwyder en die selneerslag word versigtig by 5 ml van 'n 3:1 metanol/ysasynmengsel gevoeg en gesuspendeer. Die eritrosiete fragmenteer in hierdie mengsel en die witbloedselle (limfosiete) word behoue gefikseer. Bogenoemde wasproses met metanol/ysasyn, word vyf keer herhaal totdat die limfosiete in suspensie, deursigtig vertoon. As 'n finale stap, word 'n oplossing van 6:1 metanol/ysasyn by die limfosiete gevoeg vir 12 uur.

Daarna word die selsuspensie weer gesentrifugeer en die helfte van die supernatant afgesuig. Die ander helfte word gesuspendeer en gebruik vir die maak van mikroskooppreparate.

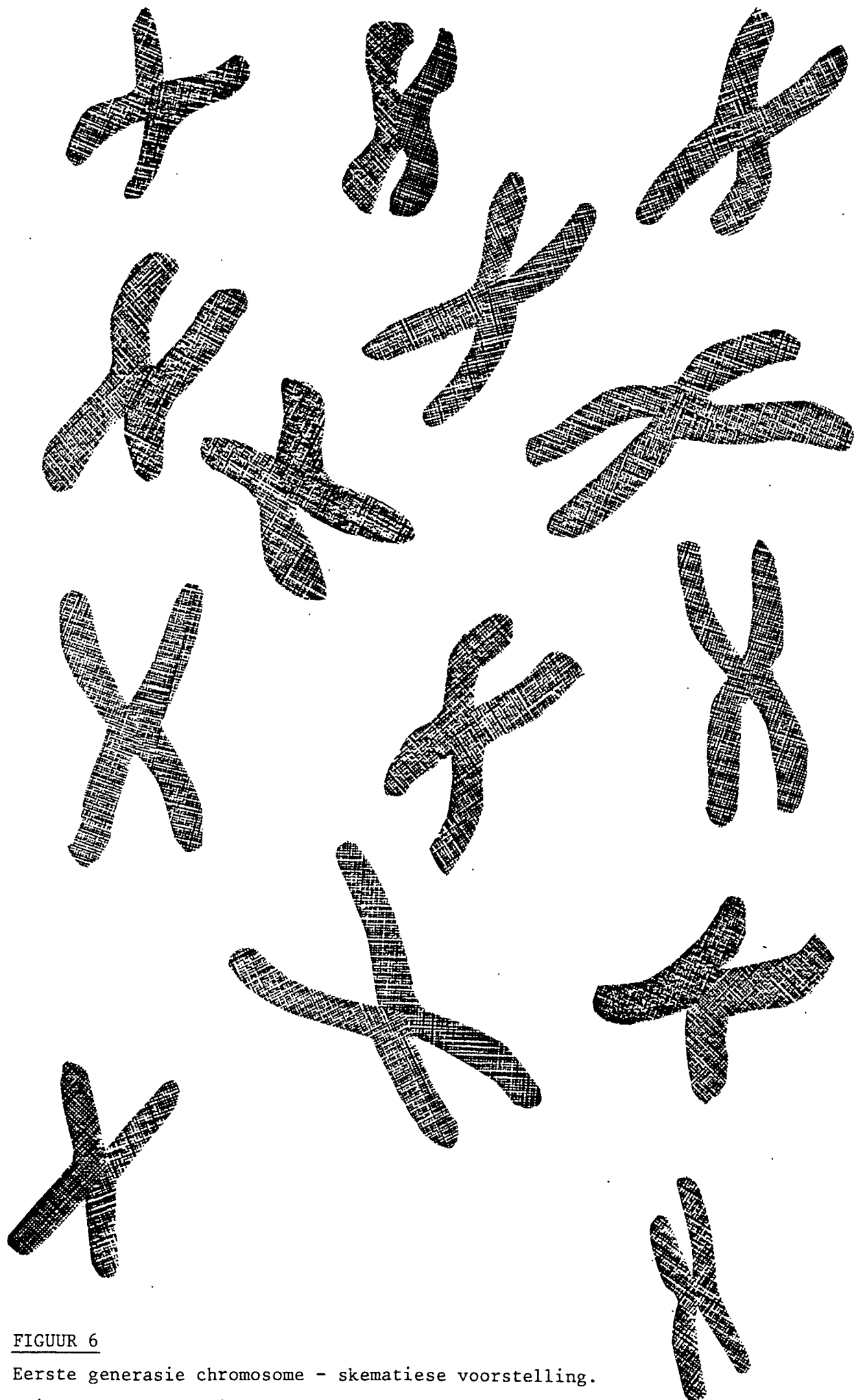
Tegniek vir mikroskooppreparate

Skoon droë voorwerpglasies word gevlam. Drie druppels van die selsuspensie word met 'n pasteurpipet vanaf 'n hoogte van 25 cm, op die voorwerpglasie gedrup. Die druppels sprei uit oor die glasiese oppervlak en word dan aan die brand gestee (sodat die alkohol afbrand en die selle op die voorwerpglasie fikseer). Die preparaat word verder lugdroog gemaak en is dan gereed vir kleuring.

Die preparate word vir 10 minute in 'n akridienoranje-oplossing geplaas (20 mg/ml akridienoranje in Beckman-fosfaatbuffer) (pH 6.8). Die preparate word dan vir 10 minute in stadiglopende kraanwater afgespoel en in skoon fosfaatbuffer geplaas vir 5 minute.

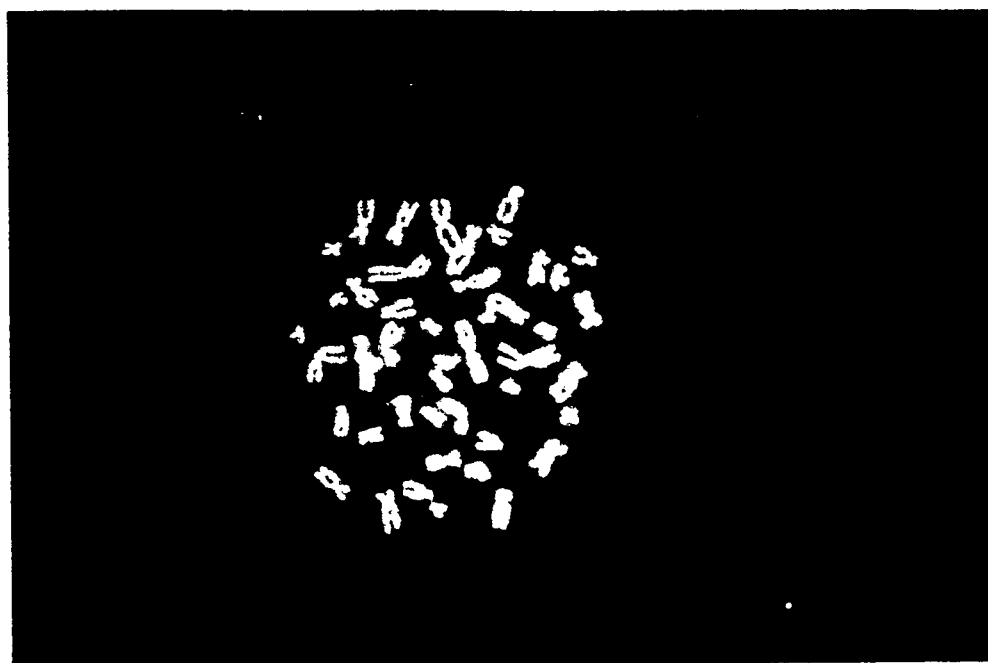
Na afloop van die prosedure, word die preparate in donker gestoor vir 24 uur en is dan gereed om met 'n fluoressensiemikroskoop ondersoek te word vir SCU. Indien die chromatiede te helder fluoresseer en differensiasie bemoeilik, kan die preparate vir 24 tot 48 uur langer gestoor word voor ondersoek.

In 'n ideale preparaat fluoresseer die DNA geel tot groen en die RNA helder rooi.



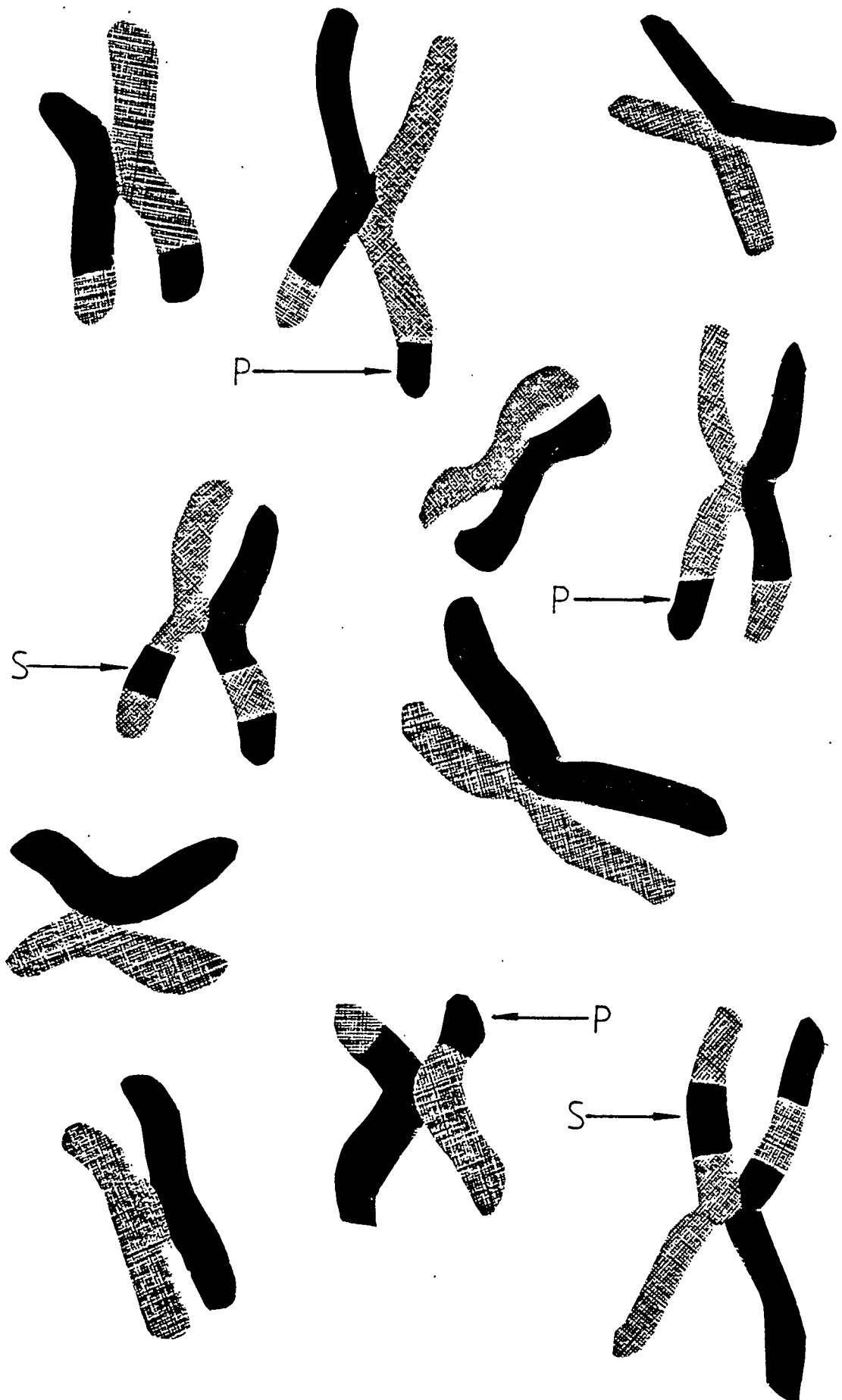
FIGUUR 6

Eerste generatie chromosome - skematiese voorstelling.
Beide susterchromatiede fluoresseer ewe helder.



FIGUUR 7

Chromosome - eerste generasie. Susterchromatiede fluoresseer met dieselfde intensiteit.

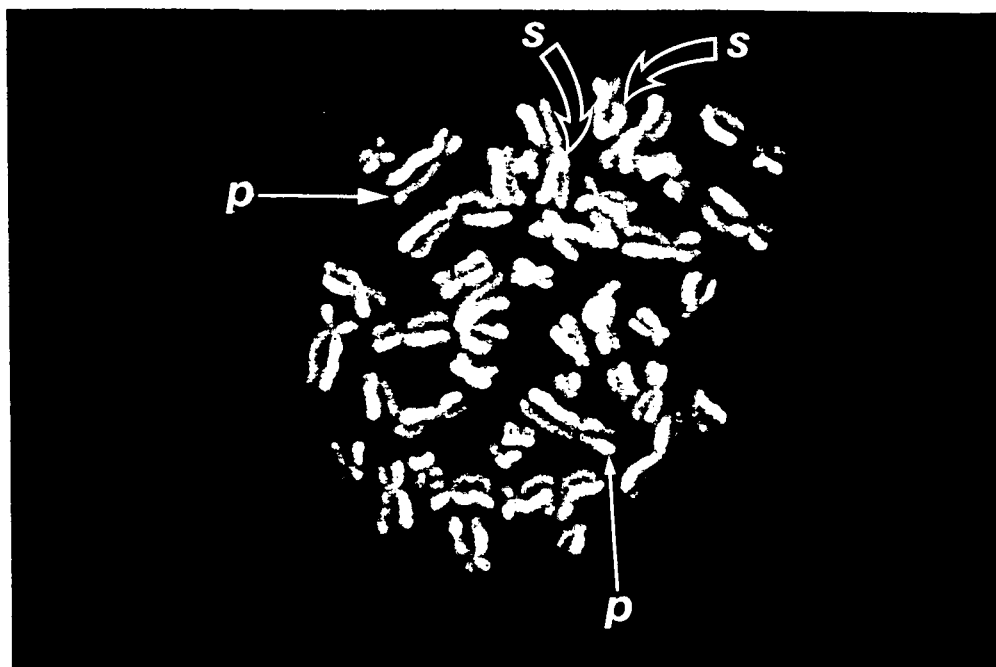


FIGUUR 8

Tweede generatie chromosome - skematiese voorstelling. Een susterchromatied fluoresseer helder en die ander een dof.

P = Puntuitruil

S = Interstisiële uitruil



FIGUUR 9

Chromosome - tweede generasie. Elke chromosoom bestaan uit een helder en een dowwe chromatied.

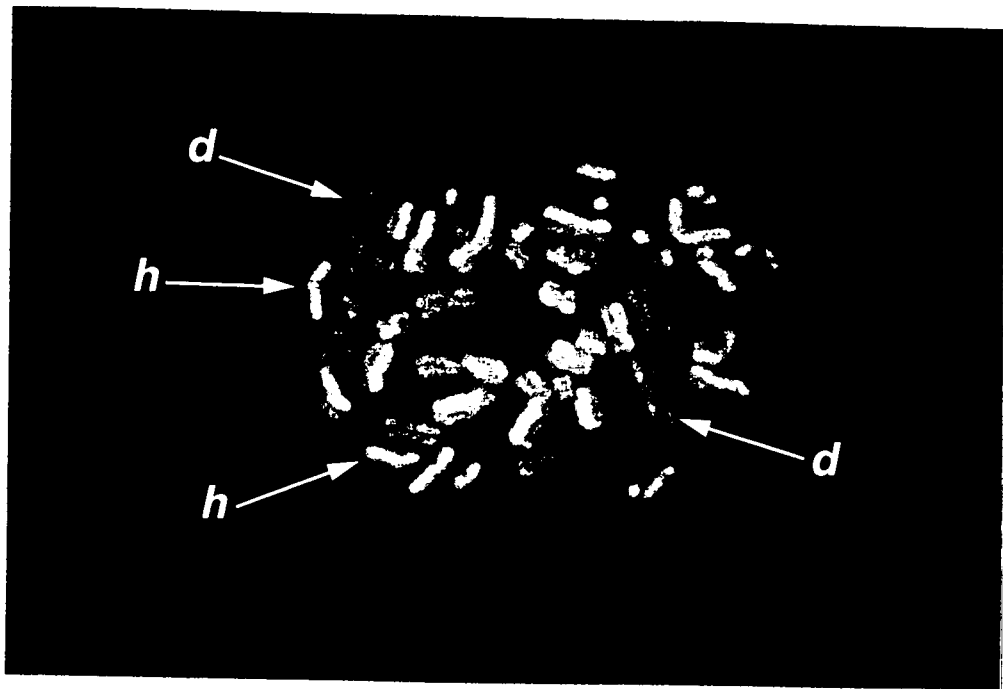
P = Puntuitruile

S = Interstisiële uitruile



FIGUUR 10

Derde generasie chromosome - skematiese voorstelling. Enkele susterchromatiede fluoresseer helder en die res dof. (Ver= houding 1:4 per metafase).



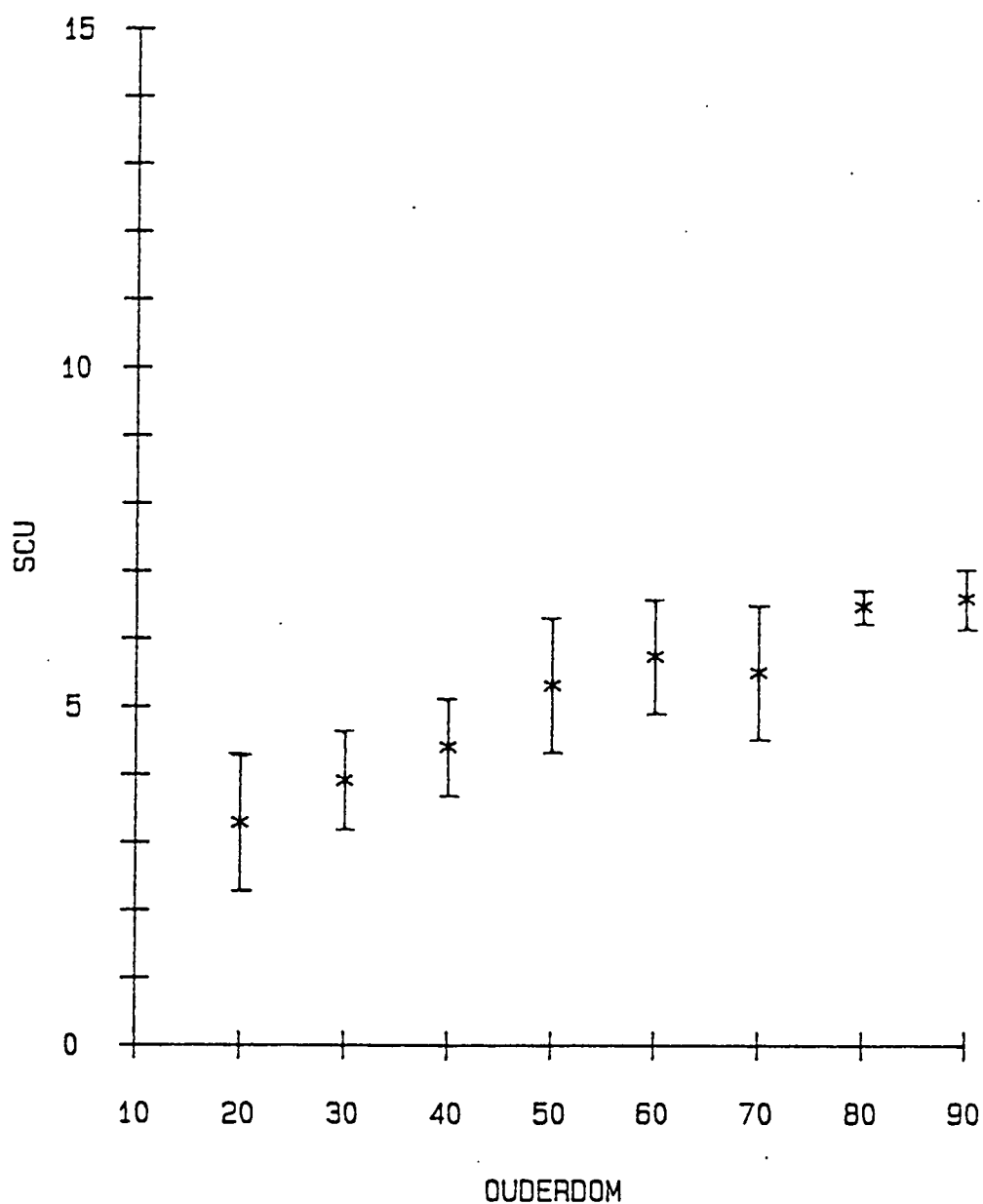
FIGUUR 11

Chromosome - derde generasie.

Sommige chromosome bestaan uit een helder en een dowwe chromatied (h). Die res van die chromosome bestaan uit twee dowwe chromatiede (d).

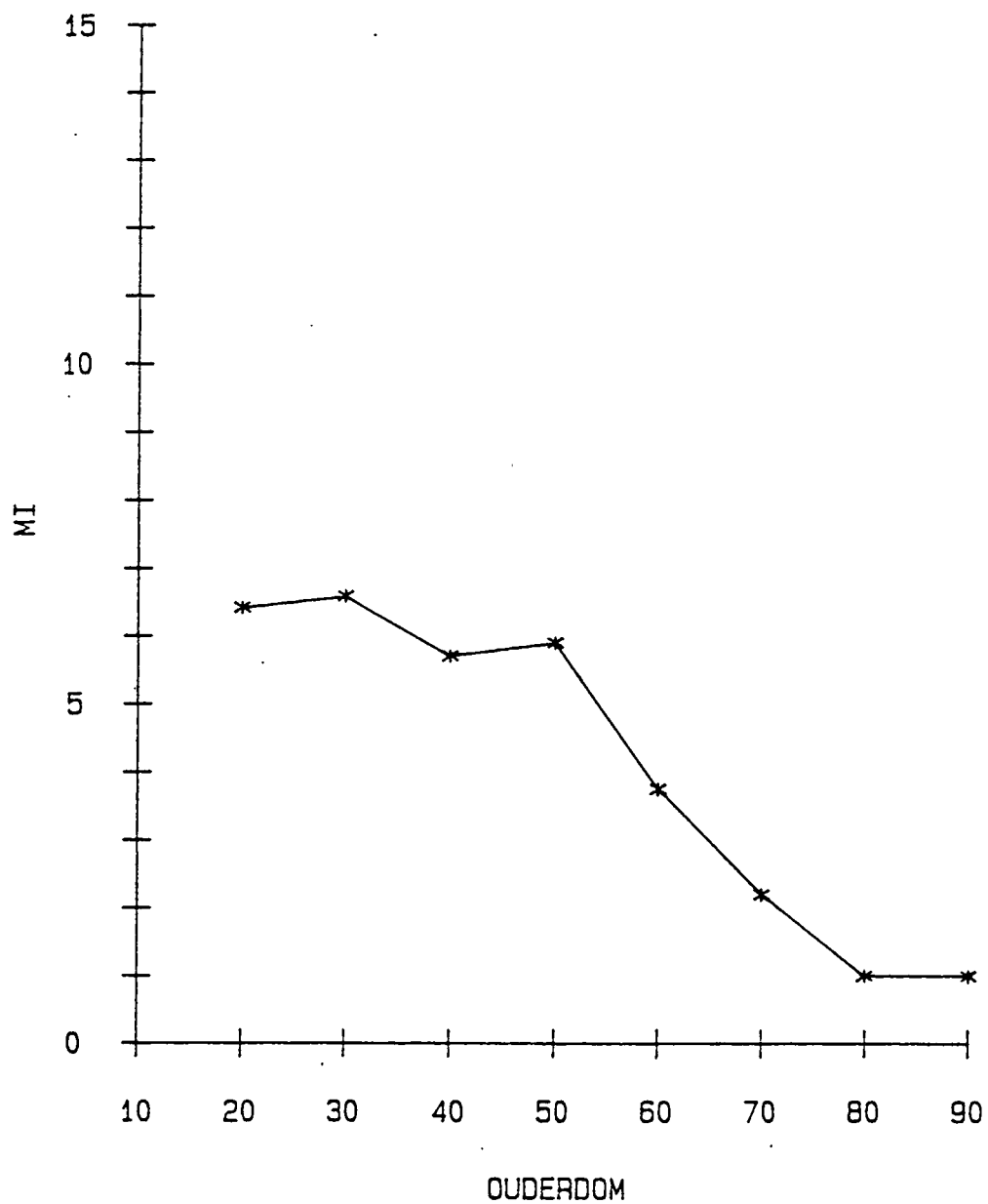
HOOFSTUK 5

RESULTATE



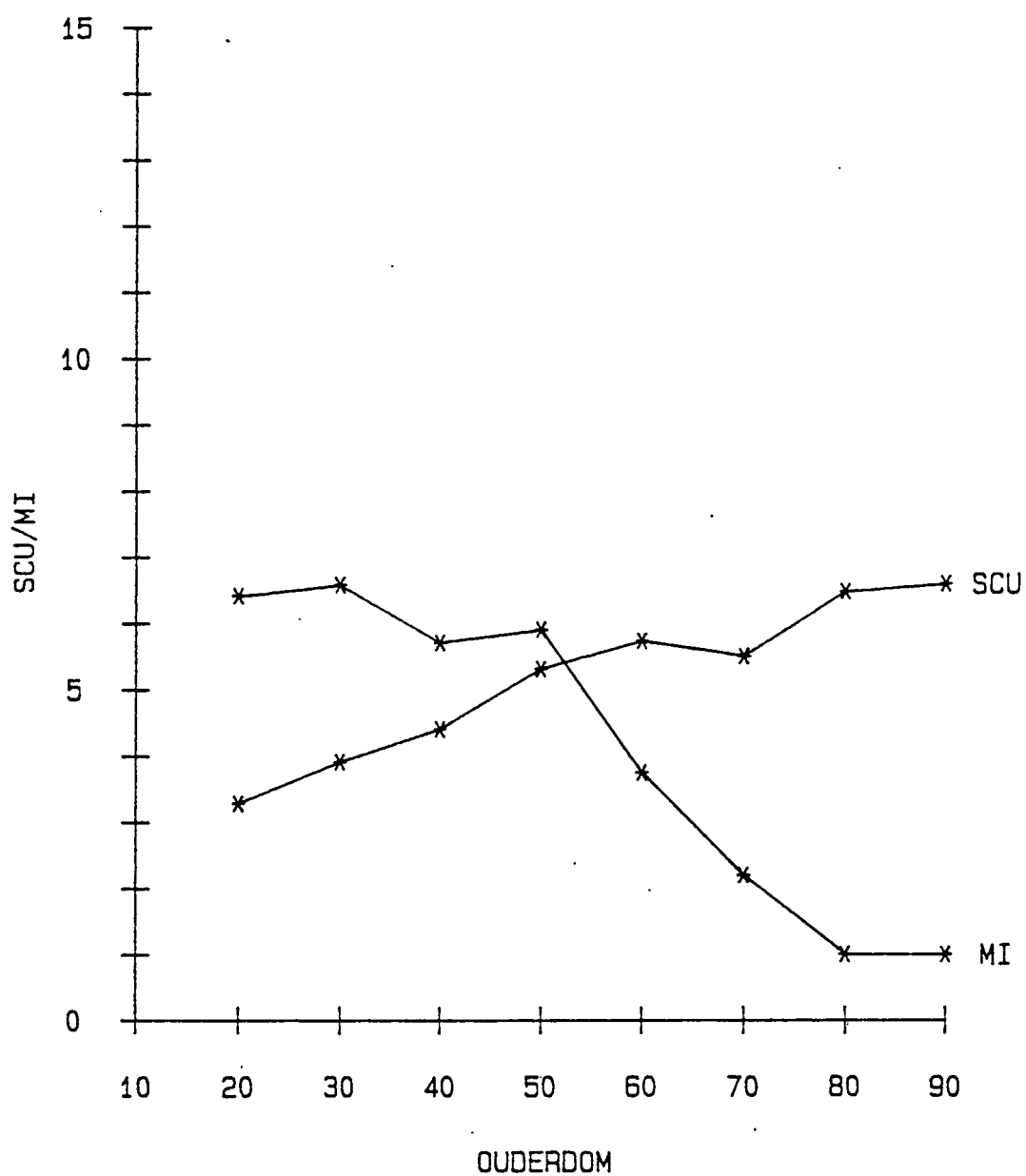
GKF = GEMIDDELDE KWADRAATFOUT = $\sum Si^2 / n$ WAAR Si DIE
STANDAARDAFWYKING VIR OUDERDOMSGROEP i IS

DIAGRAM 1



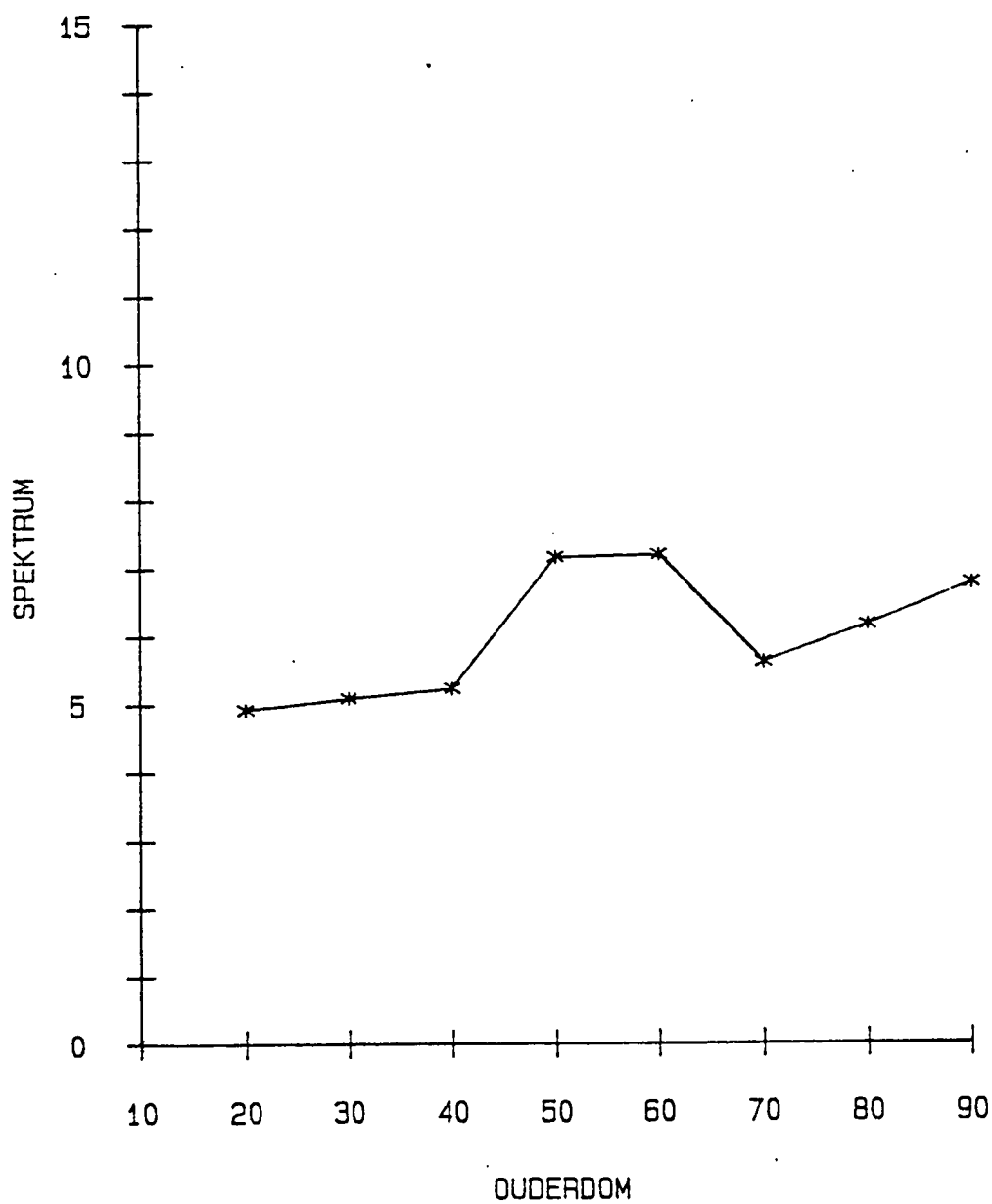
DIE MITOTIESE INDEKS (MI) VIR VERSKILLENDSE OUDERDOMS-
GROEPE VAN NORMALE GESONDE PERSONE

DIAGRAM 2



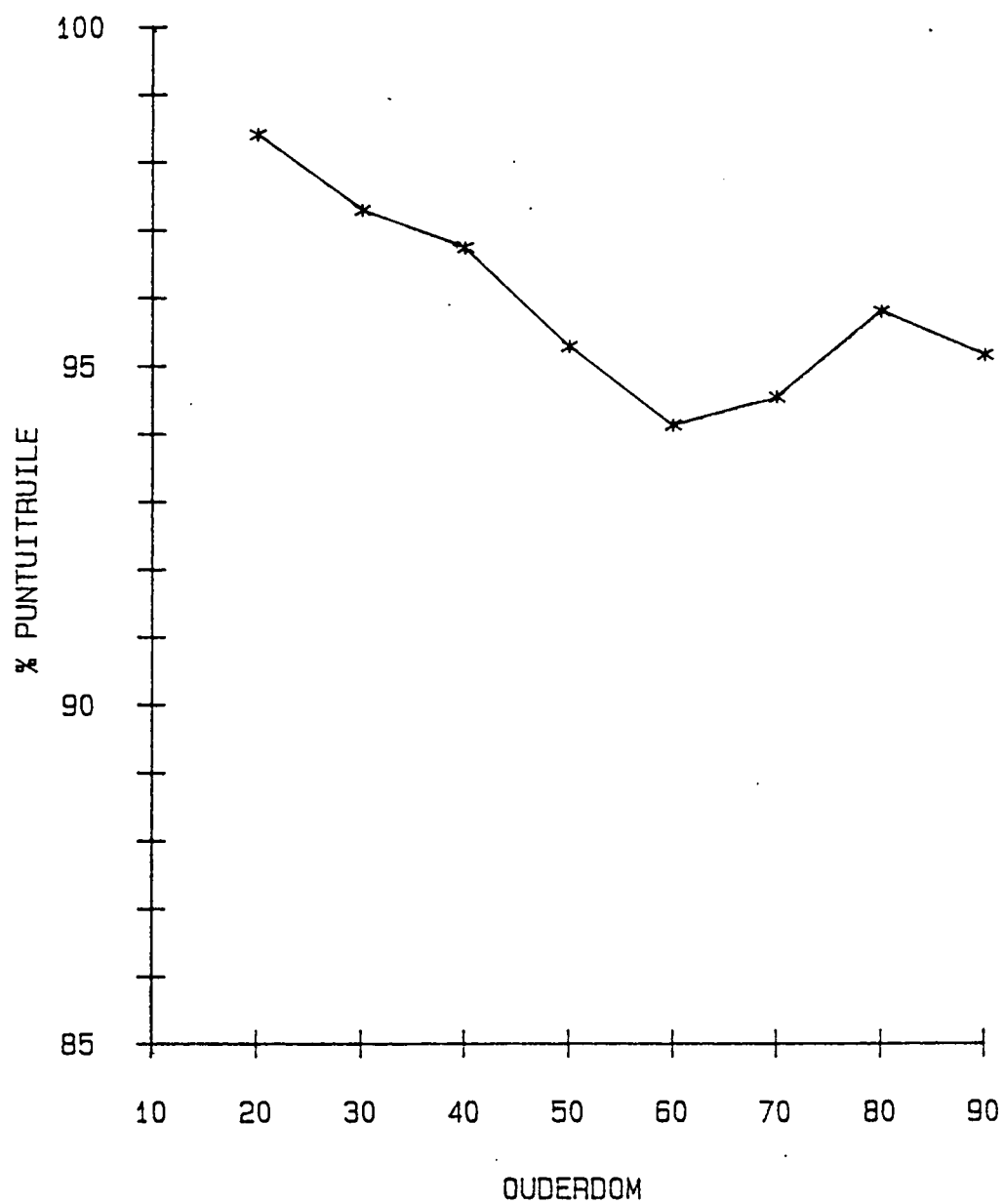
SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) EN MITOTIESE INDEKS (MI)
VIR VERSKILLEND OUDERDOMSGROEPE VAN NORMALE GESONDE
PERSONE

DIAGRAM 3



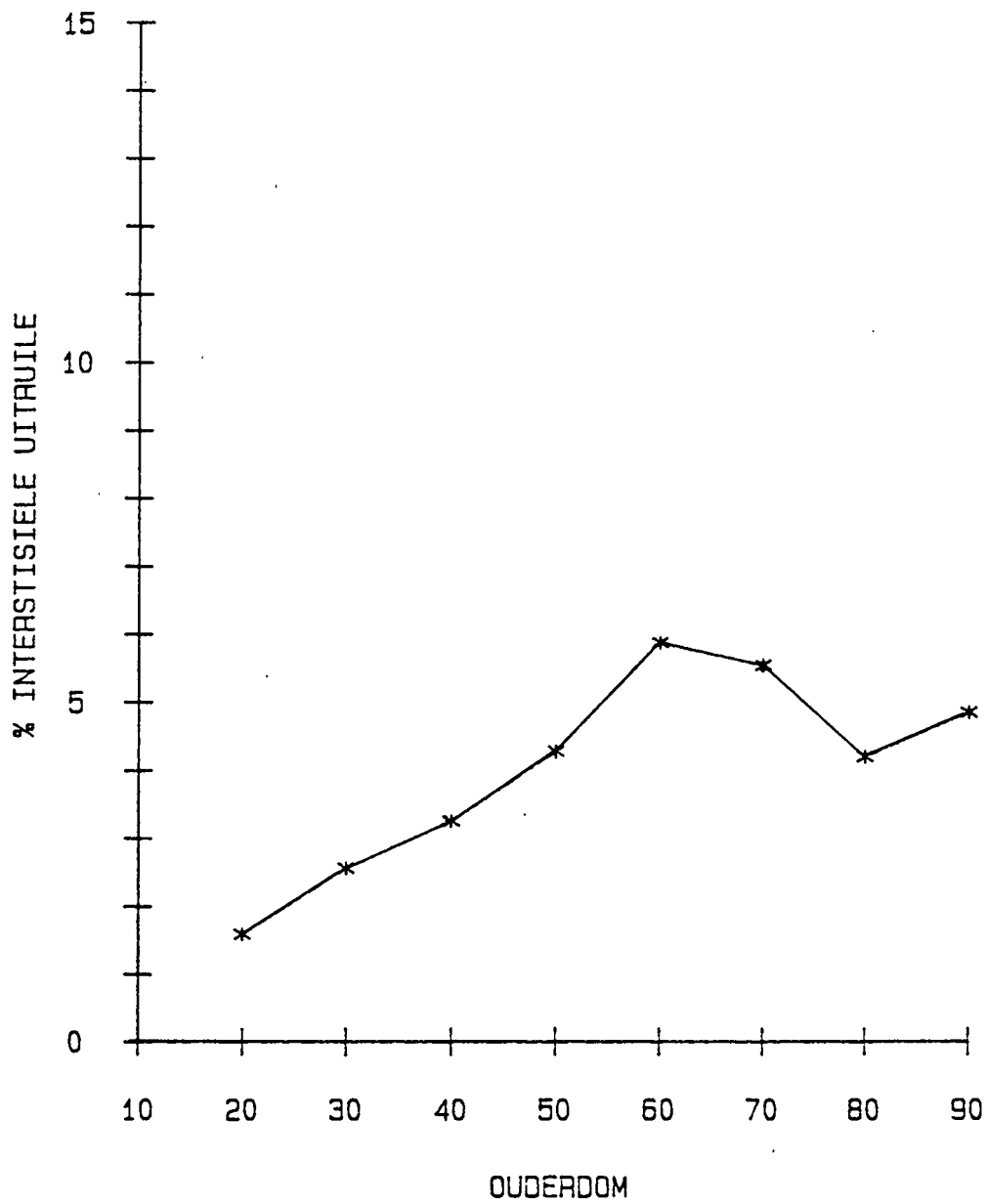
NORMALE GESONDE PERSONE

DIAGRAM 4



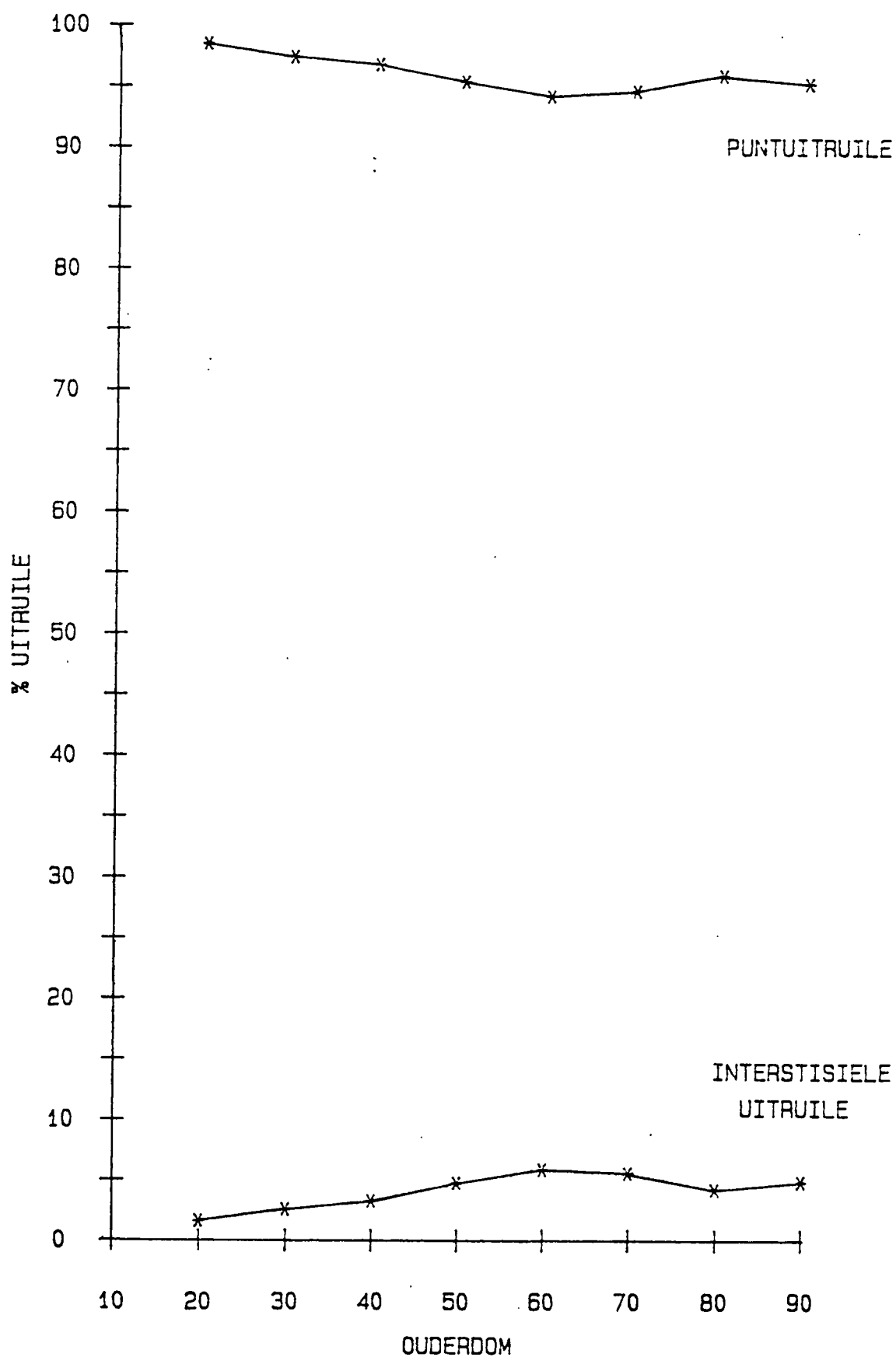
NORMALE GESONDE PERSONE

DIAGRAM 5



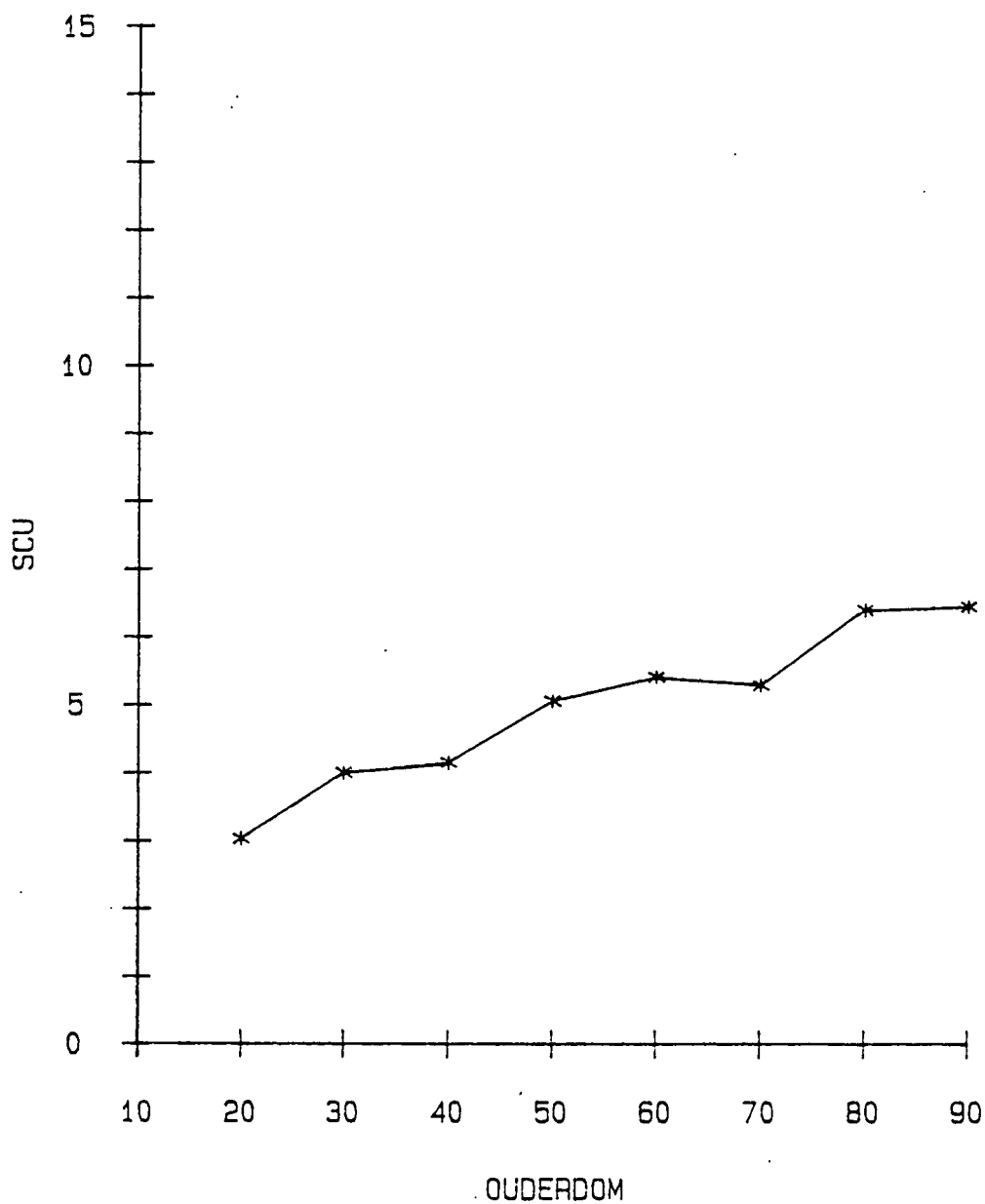
NORMALE GESONDE PERSONE

DIAGRAM 6



PERSENTASIES INTERSTISIELE- EN PUNTUITRUILE VIR VERSKILLENDE OUDERDOMSGROEPE VAN NORMALE PERSONE

DIAGRAM 7

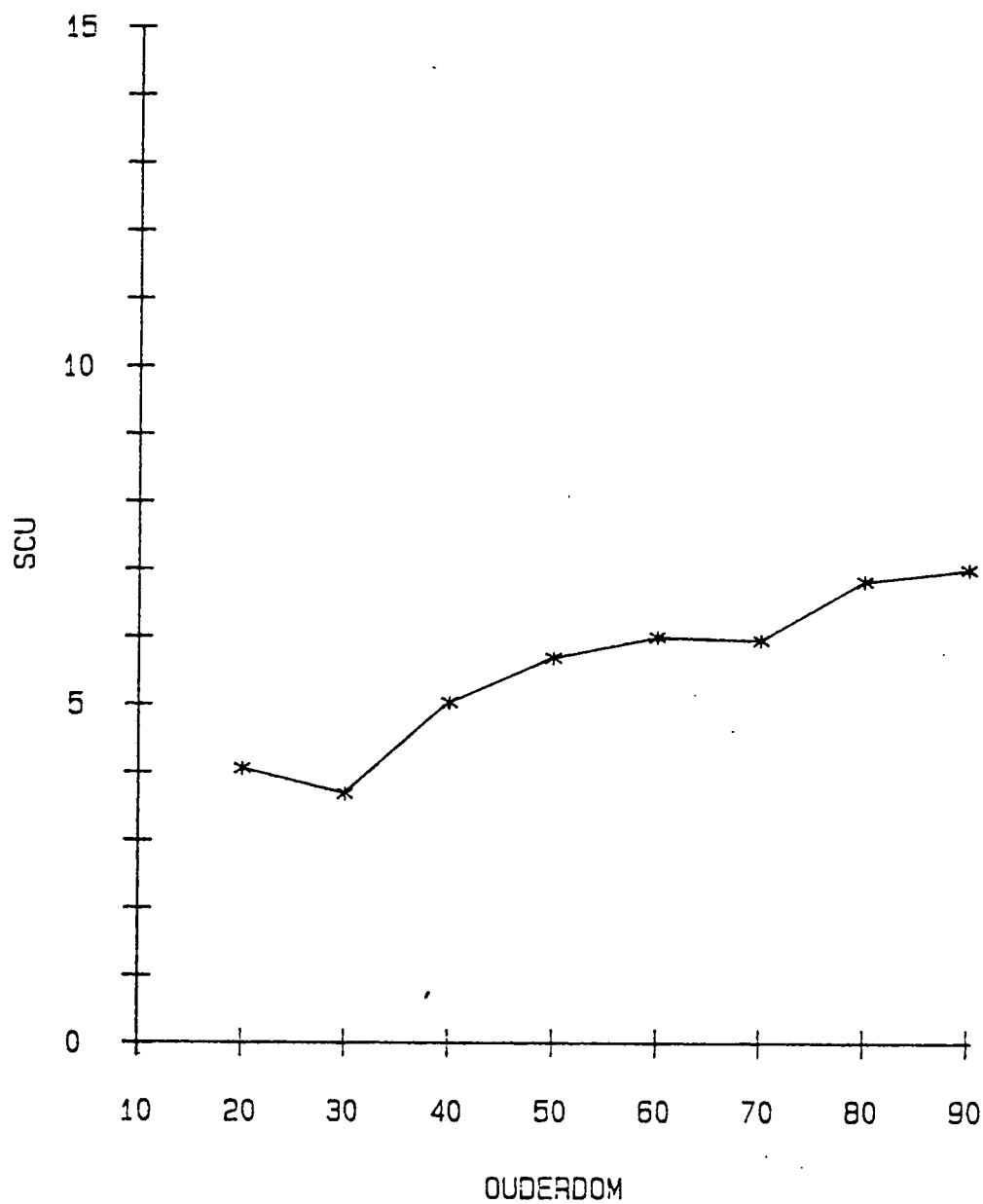


KATEGORIE: GRADERING 1*

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
VERSKILLEND OUDERDOMSGROEPE

*Normale gesonde persone sonder 'n familiegeskiedenis van
mammakarsinoom

DIAGRAM 8

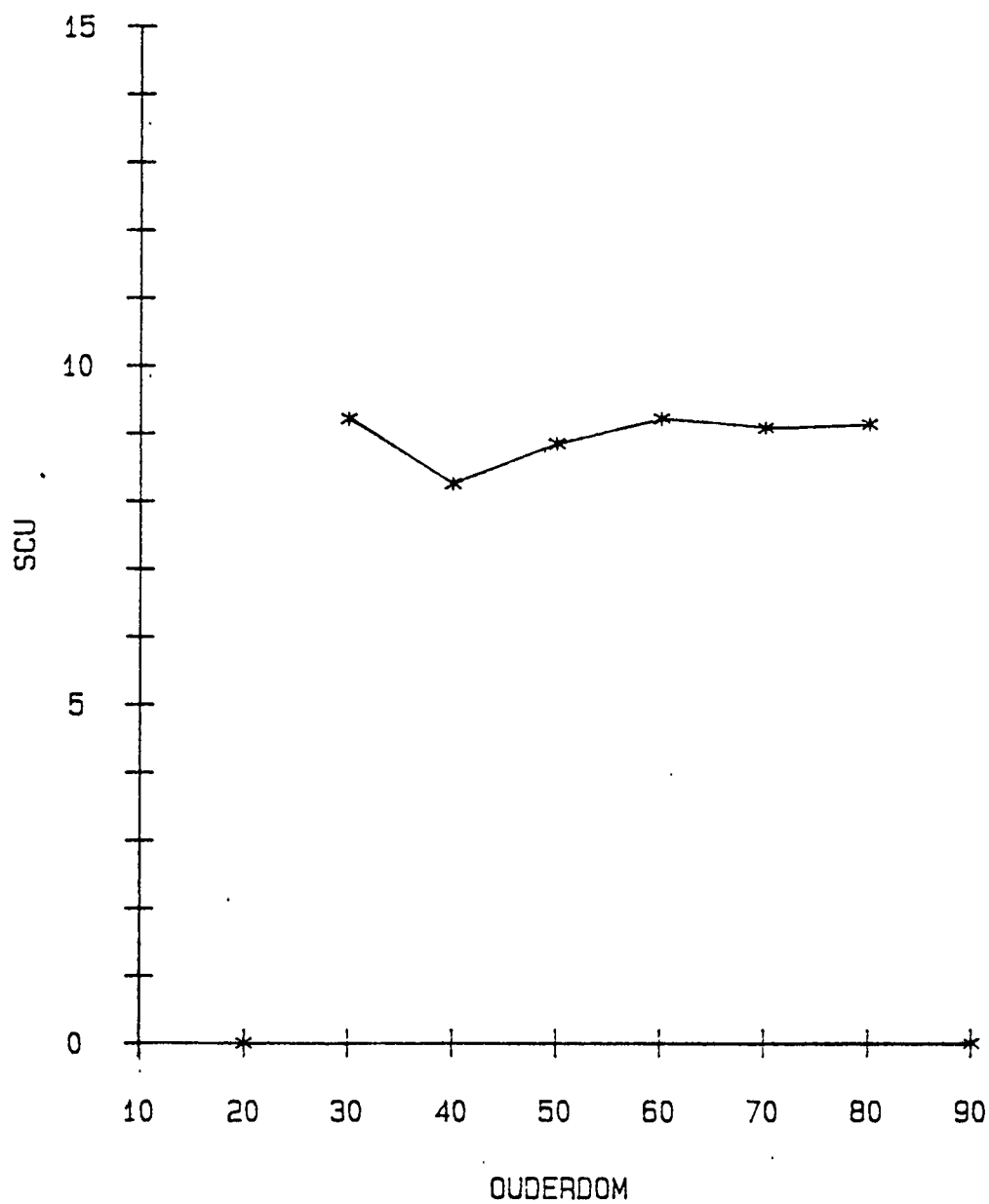


KATEGORIE: GRADERING 3*

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
VERSKILLENDE OUDERDOMSGROEPE

*Normale gesonde persone waar eie moeder mammakarsinoom
het/gehad het

DIAGRAM 9

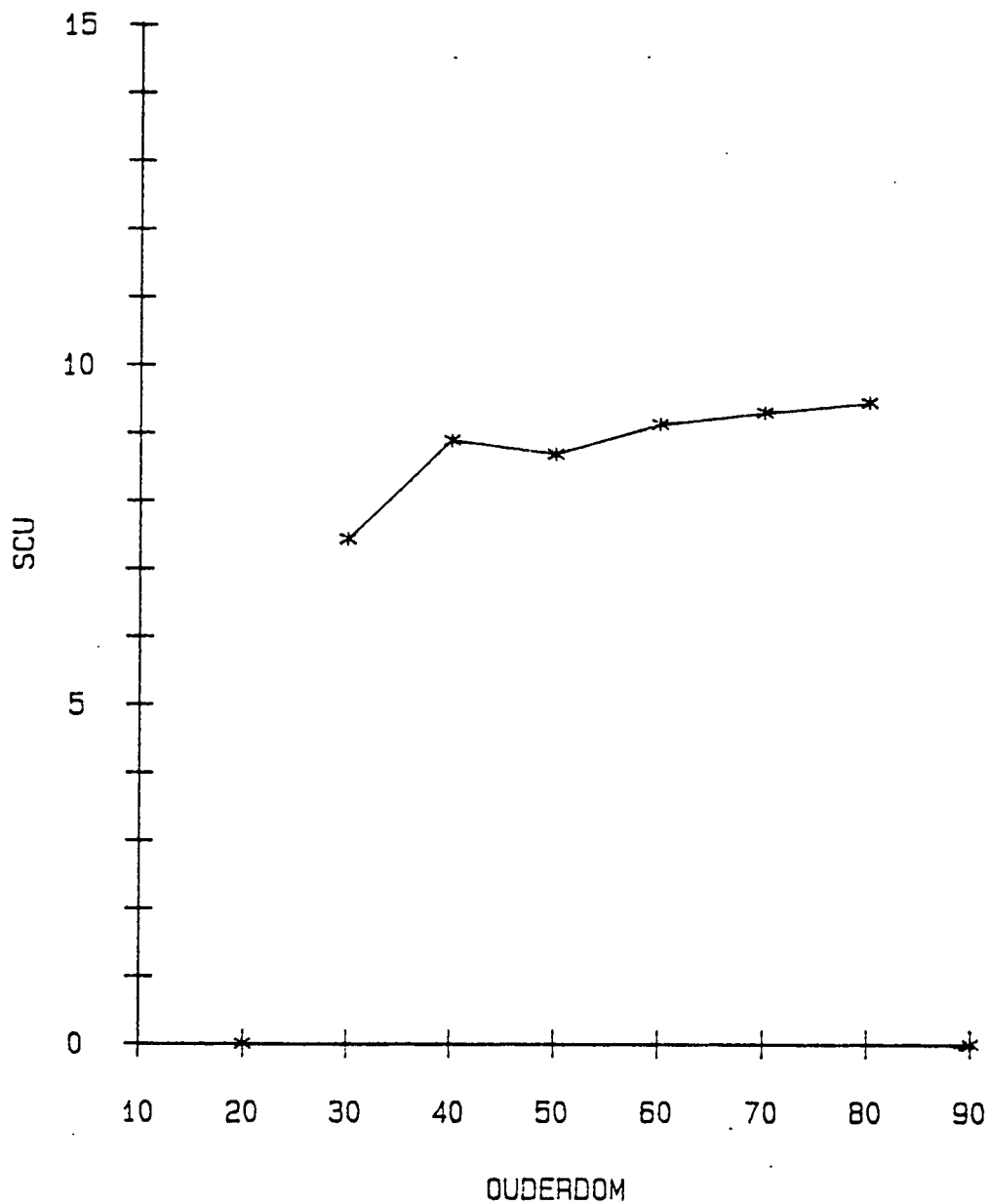


KATEGORIE: GRADERING 4*

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
VERSKILLEND OUDERDOMSGROEPE

*Pasiënte wat mammakarsinoom het

DIAGRAM 10

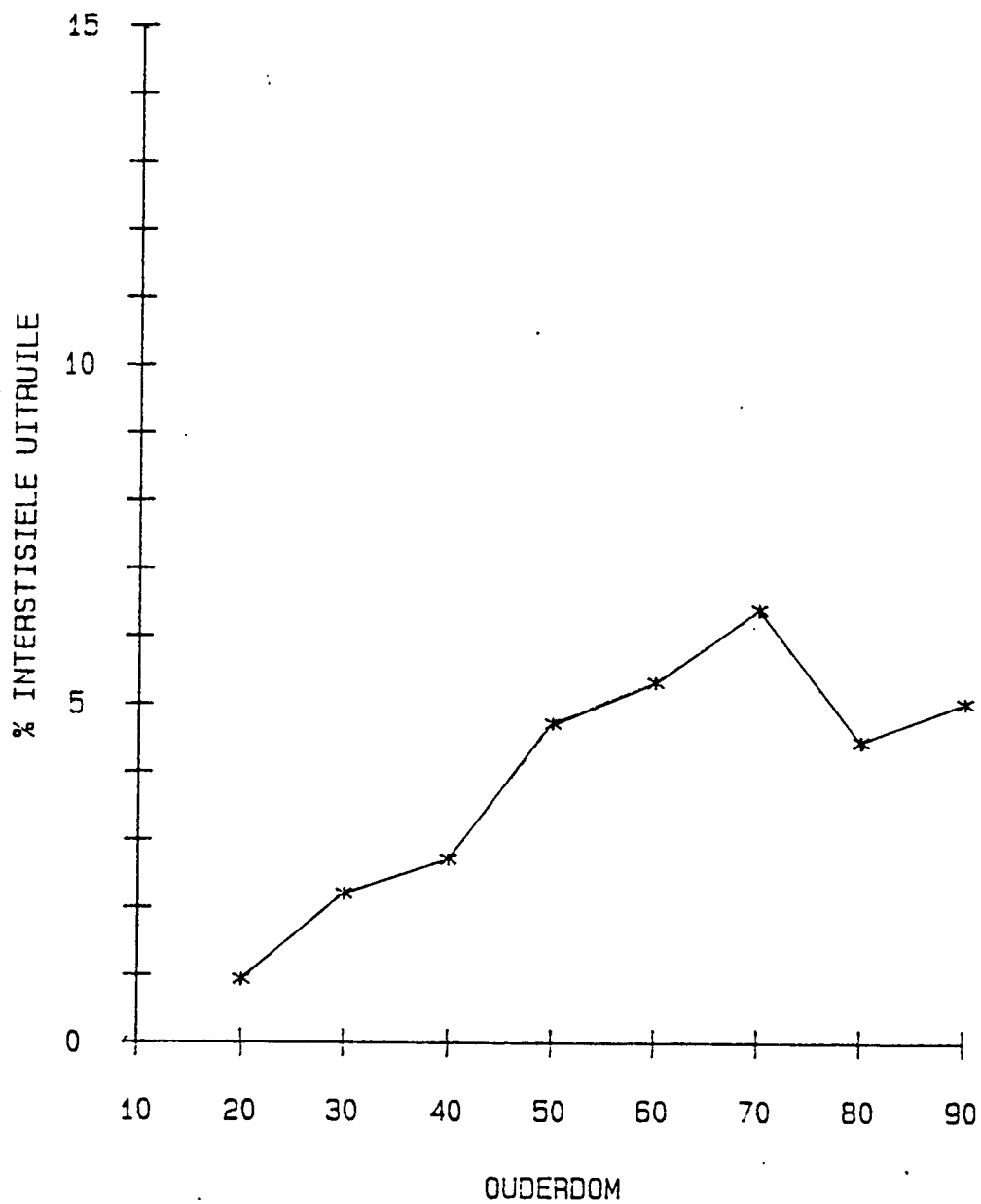


KATEGORIE: GRADERING 5*

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
VERSKILLENDE OUDERDOMSGROEPE

*Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

DIAGRAM 11

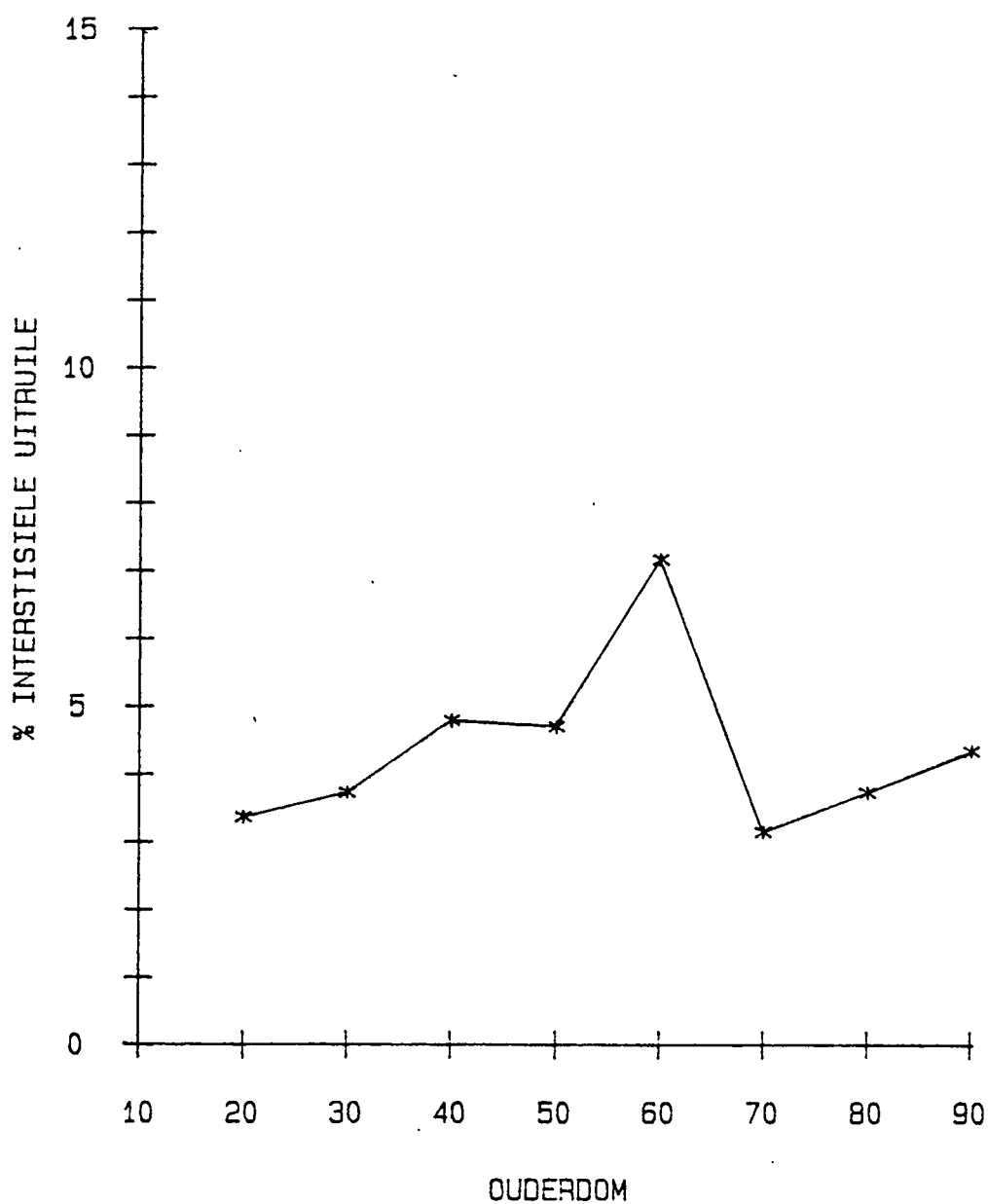


KATEGORIE: GRADERING 1*

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLENDE OUDERDOMSGROEPE

*Normale gesonde persone sonder 'n familiegeskiedenis
van mammakarsinoom

DIAGRAM 12

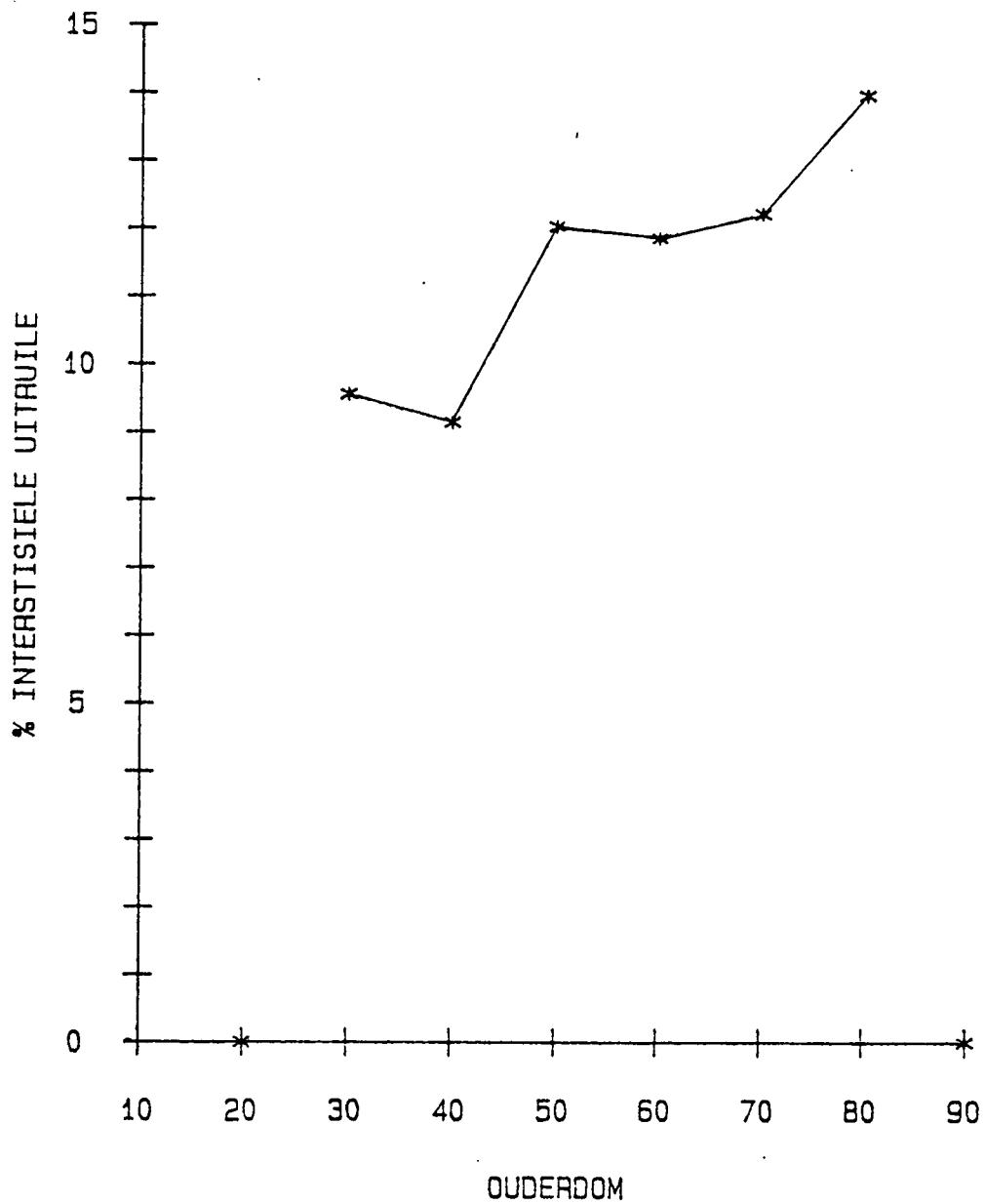


KATEGORIE: GRADERING 3*

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLEND OUDERDOMSGROEPE

*Normale gesonde persone waar eie moeder mammakarsinoom
het/gehad het

DIAGRAM 13

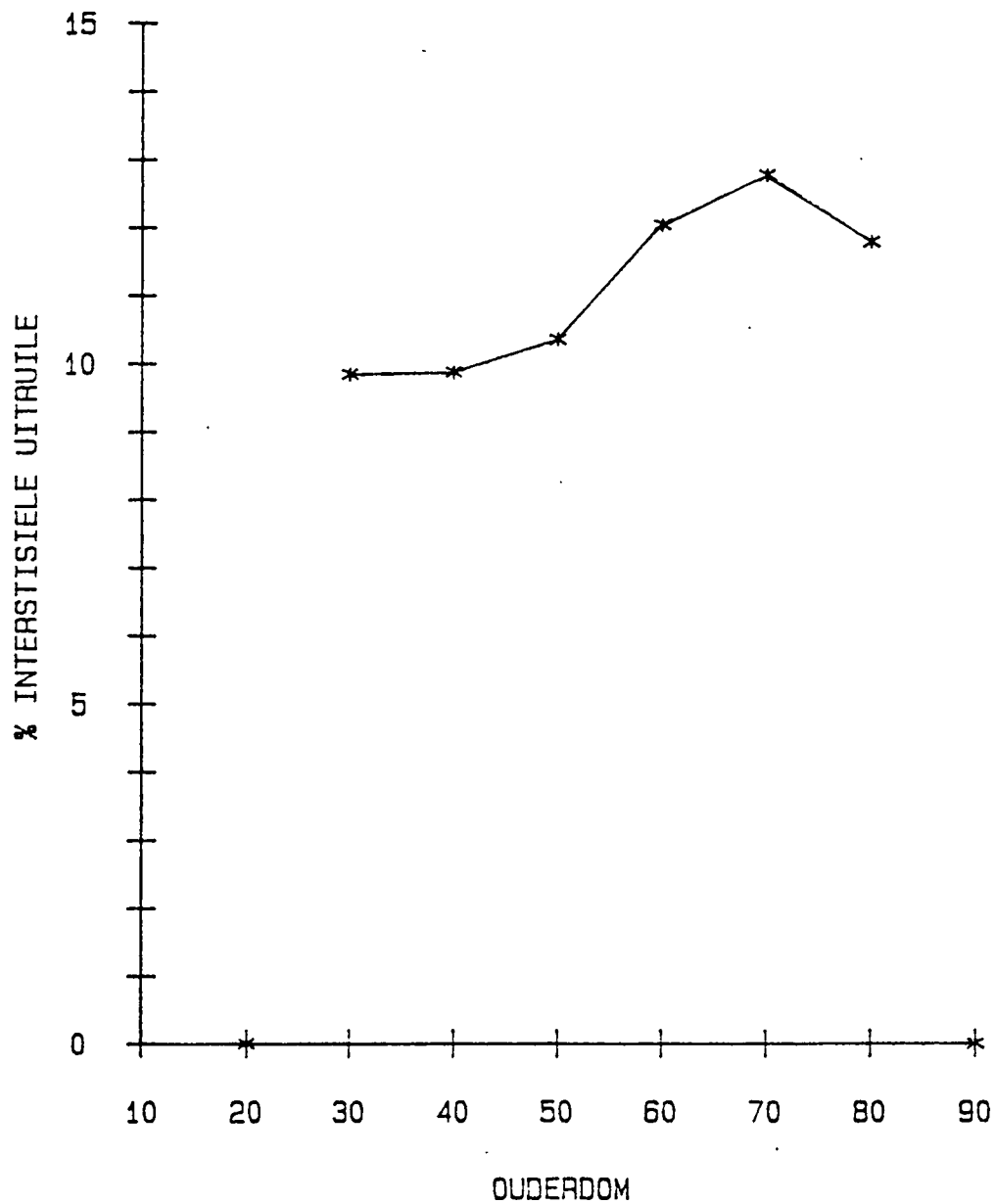


KATEGORIE: GRADERING 4*

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLEDE OUDERDOMSGROEPE

*Pasiënte wat mammakarsinoom het

DIAGRAM 14

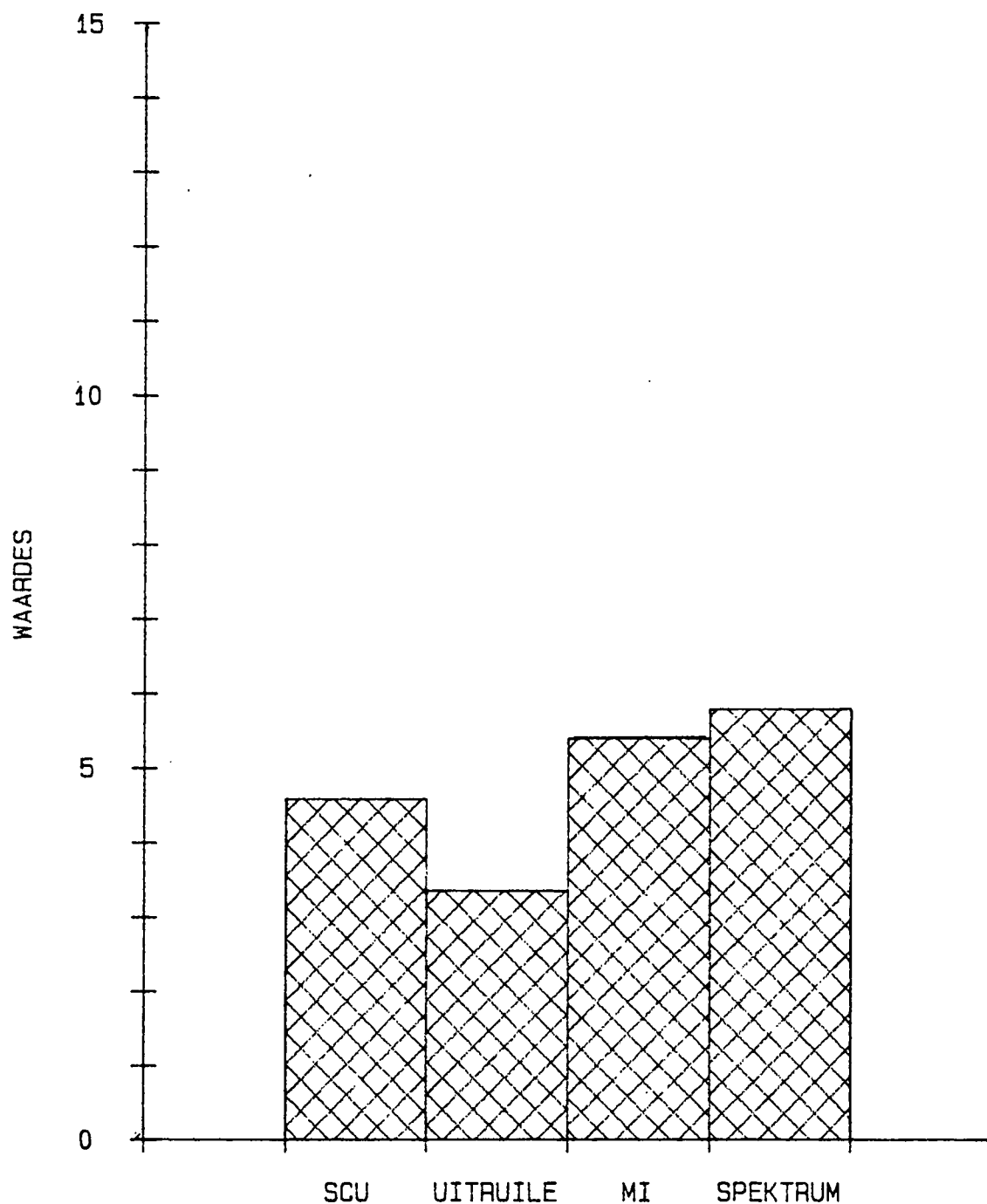


KATEGORIE: GRADERING 5*

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLENDE OUDERDOMSGROEPE

*Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

DIAGRAM 15

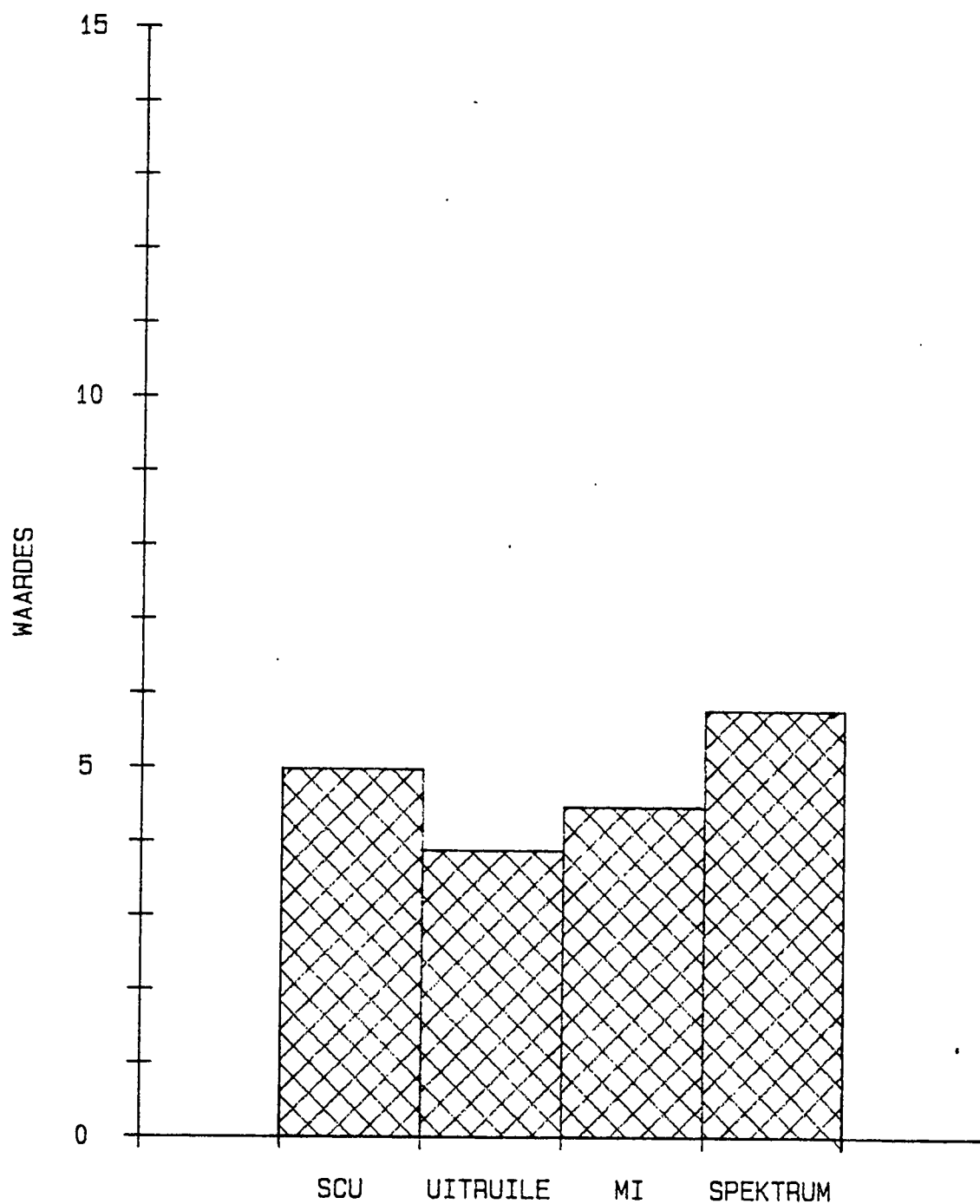


ALLE OUDERDOMME

SLEGS GRADERING 1*

*NORMALE GESONDE PERSONE MET GEEN FAMILIEGESKIEDENIS
VAN MAMMAKARSINOOM NIE

HISTOGRAM 5

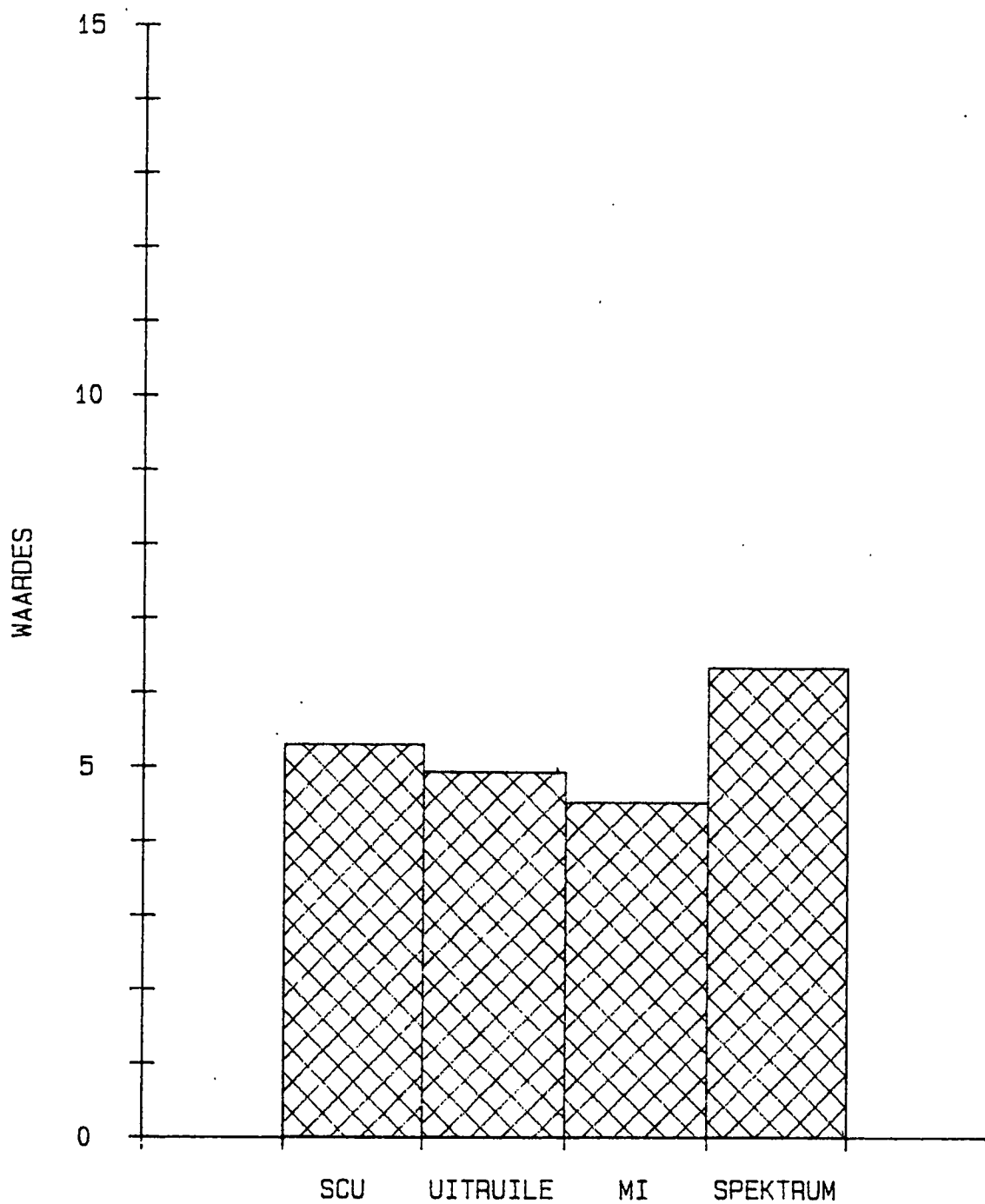


ALLE OUDERDOMME

SLEGS GRADERING 2*

*NORMALE GESONDE PERSONE MET 'N FAMILIEGESKIEDENIS (EIE
MOEDER UITGESLUIT) VAN MAMMAKARSINOOM

HISTOGRAM 6

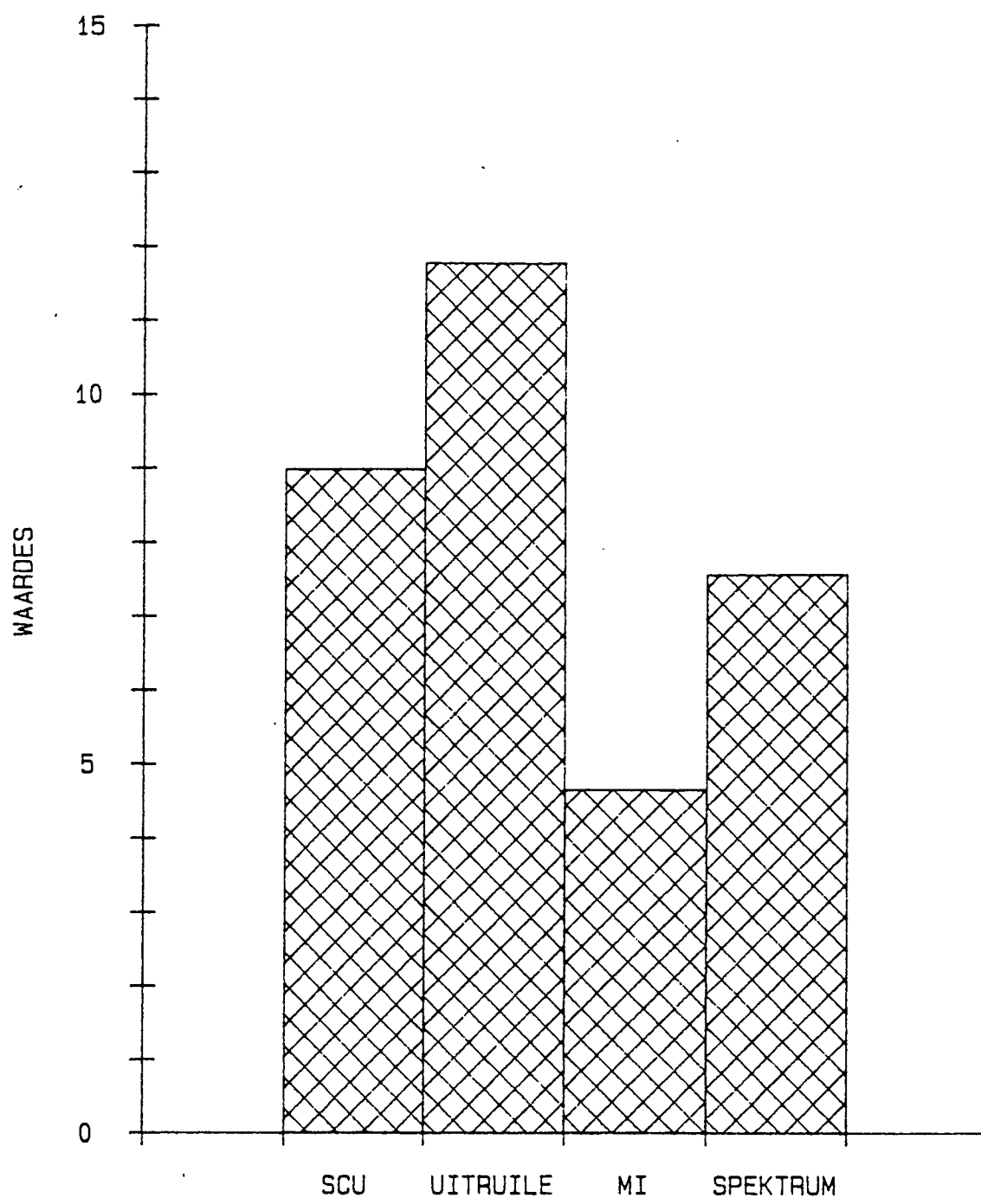


ALLE OUDERDOMME

SLEGS GRADERING 3*

*NORMALE GESONDE PERSONE WAAR EIE MOEDER MAMMAKARSINOOM
HET/GEHAD HET

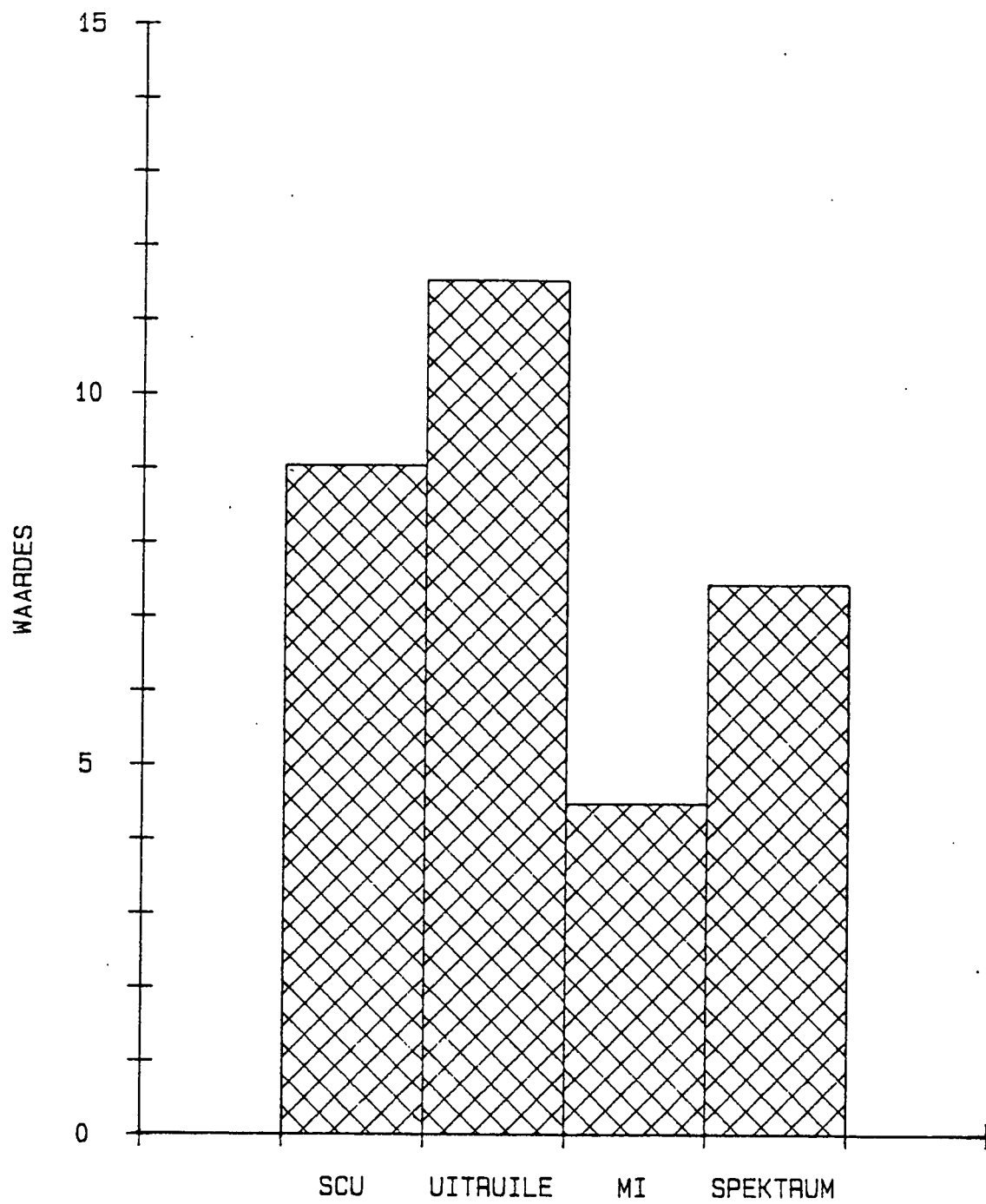
HISTOGRAM 7



ALLE OUDERDOMME
SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPIËNTE

HISTOGRAM 8



ALLE OUDERDOMME
SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF
HISTOGRAM 9

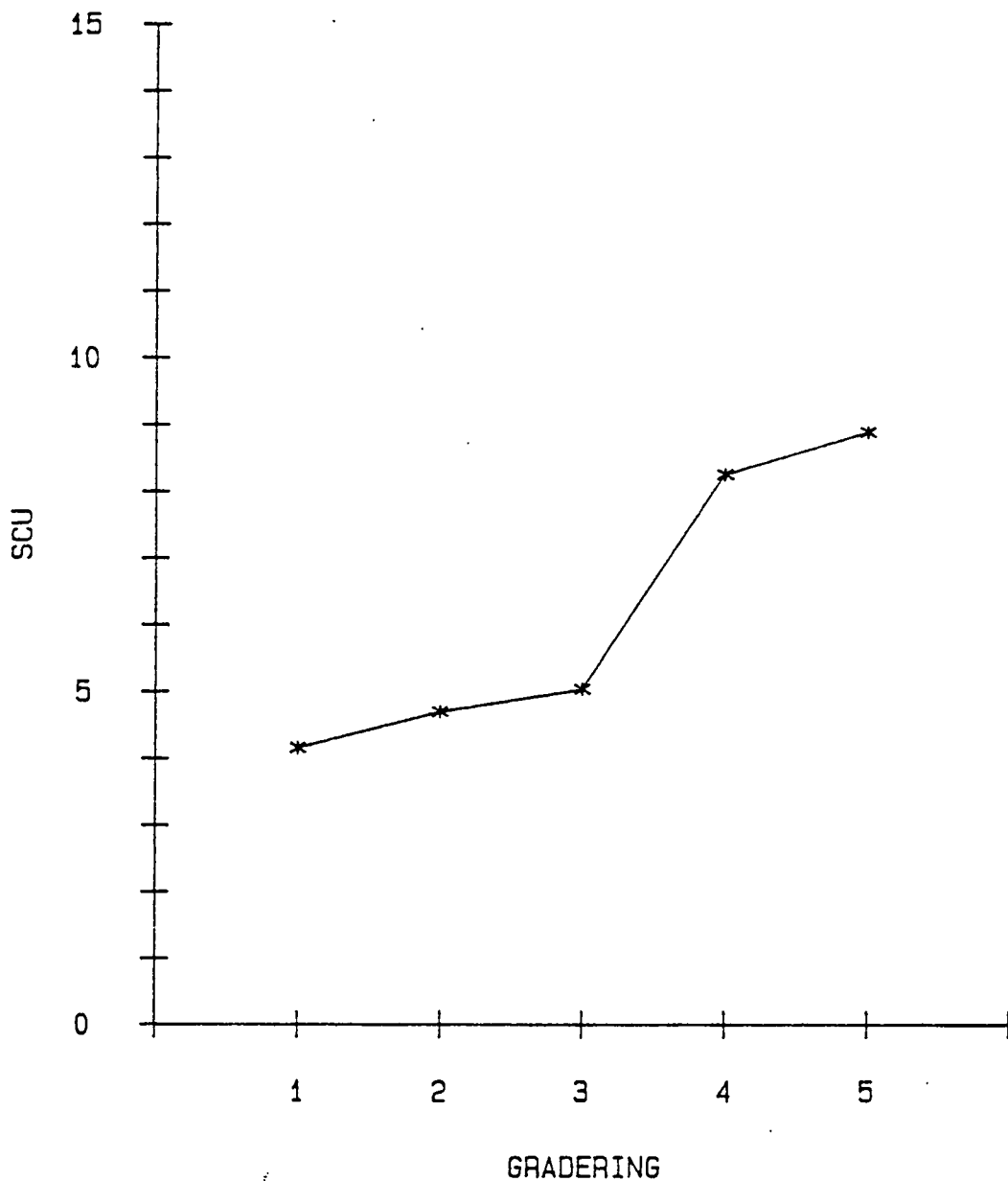


DIAGRAM 16

OUDERDOMSGROEP: 31-40jr

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE VIR VERSKILLENDE GRADERINGS VAN PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familiegeskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiegeskiedenis (verder as eie moeder) van mammakarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënt wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke postoperatief

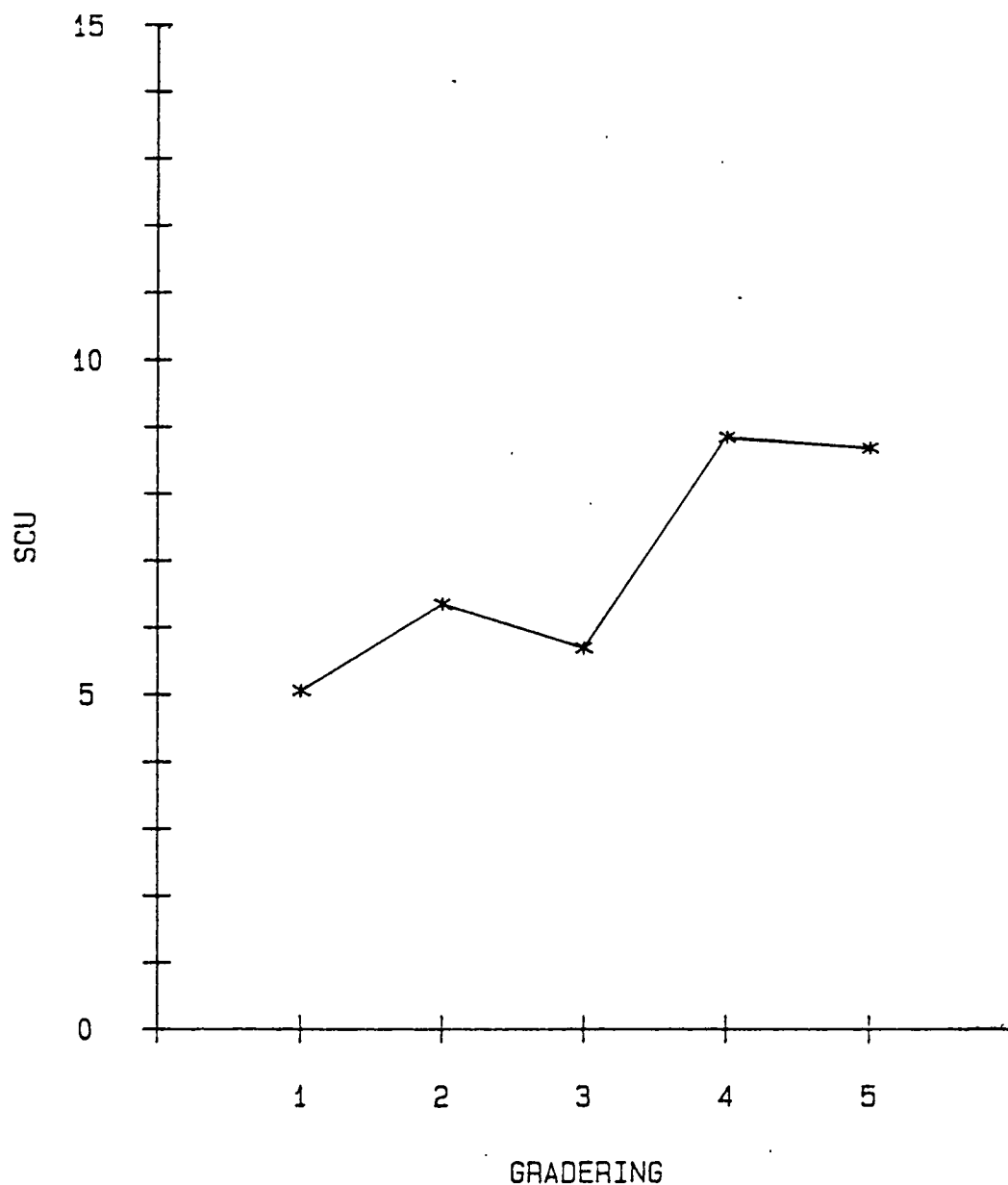


DIAGRAM 17

OUDERDOMSGROEP: 41-50jr

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
 VERSKILLEND GRADERINGS VAN PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familiege-
 skiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiegeskie-
 denis (verder as eie moeder) van mammakarsi-
 noom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder mamma-
 karsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënt wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

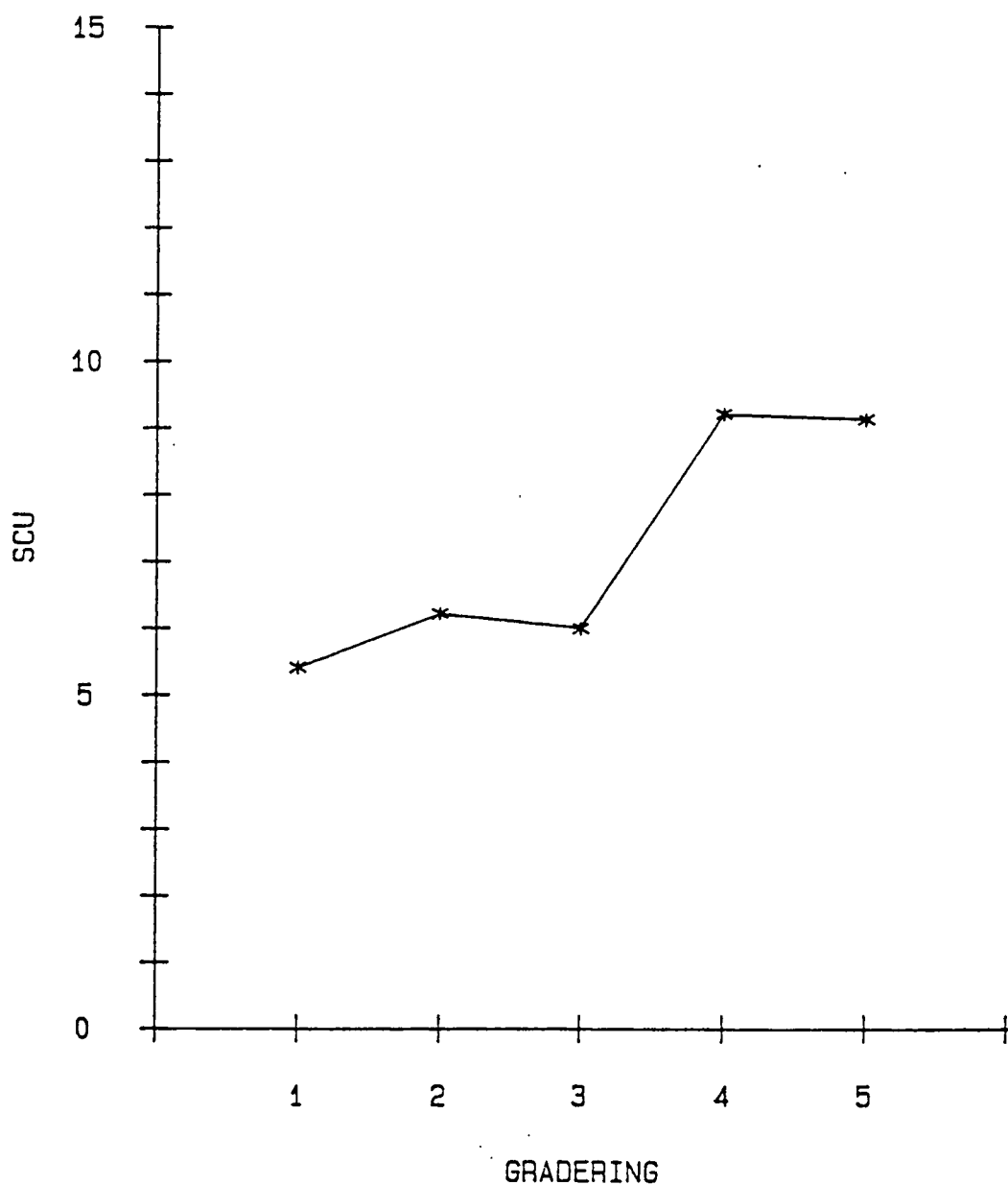


DIAGRAM 18

OUDERDOMSGROEP: 51-60jr

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
VERSKILLEND GRADERINGS VAN PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familiege=
skiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiegeskie=
denis (verder as eie moeder) van mammakarsi=
noom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder mam=
makarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënt wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

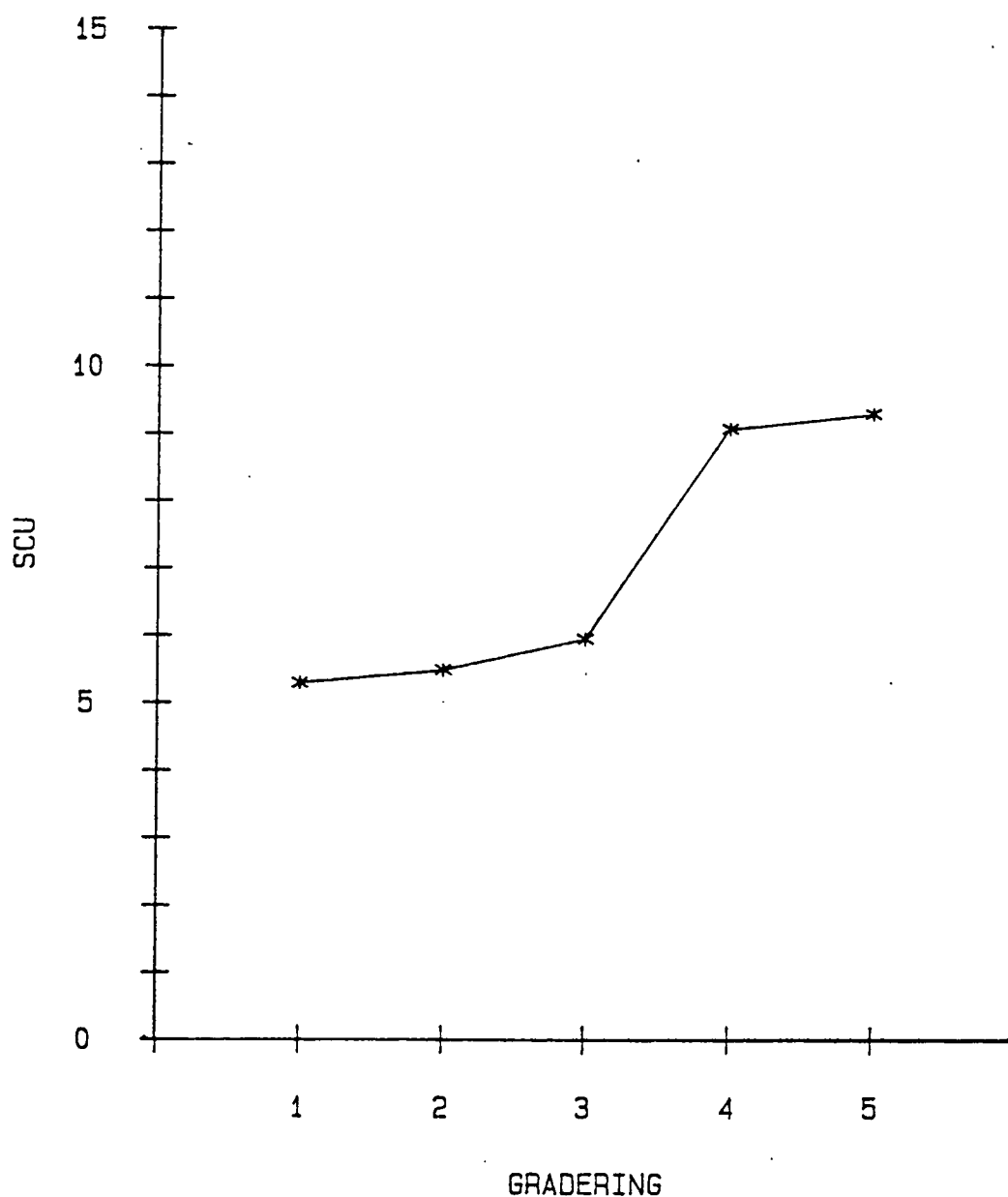


DIAGRAM 19

OUDERDOMSGROEP: 61-70jr

DIE GEMIDDELDE AANTAL SUSTERCHROMATIEDUITRUILE (SCU) VIR
 VERSKILLEND GRADERINGS VAN PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familie=
 geskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiege=
 skiedenis (verder as eie moeder) van mam=
 makarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder
 mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënte wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post=
 operatief

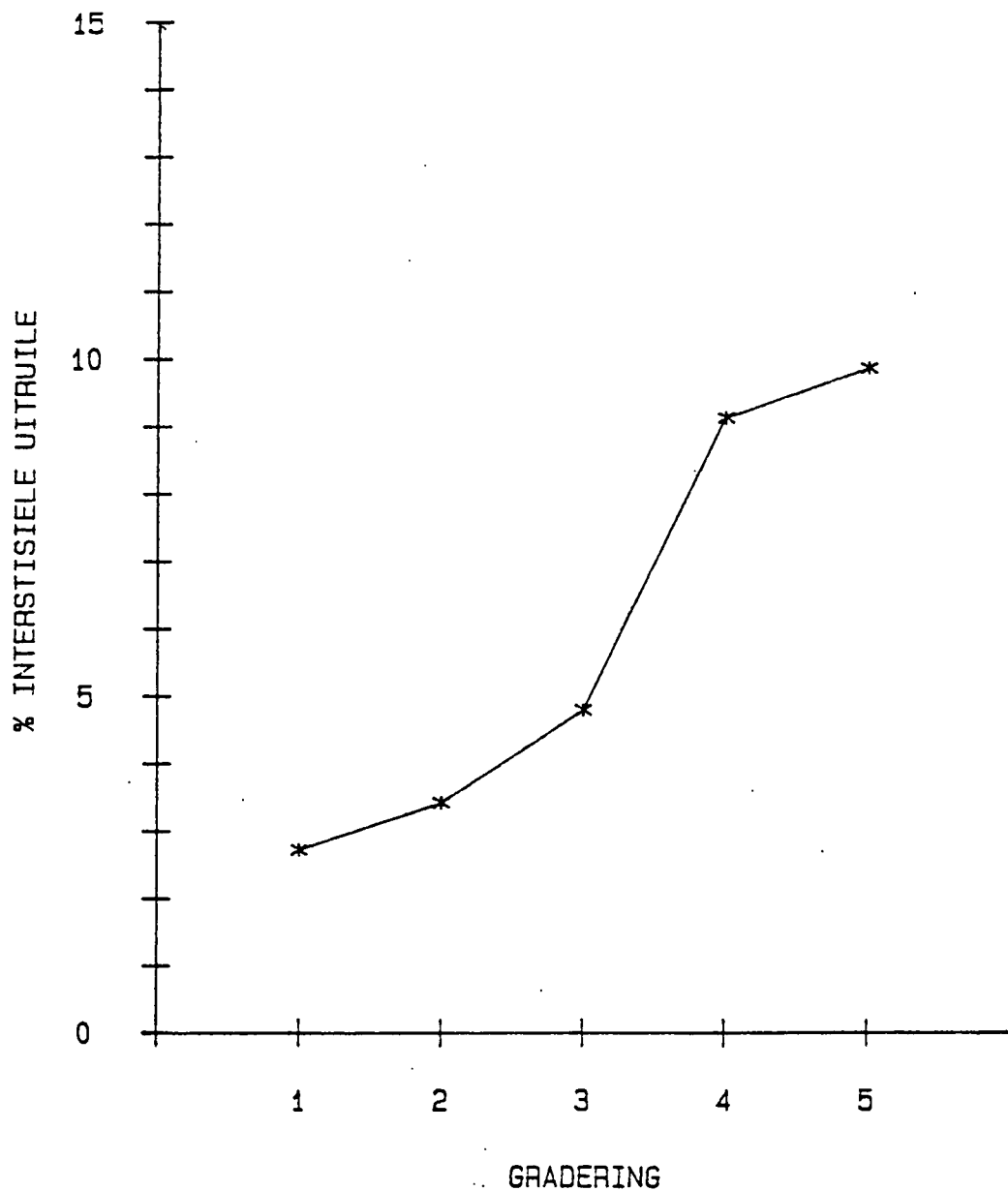


DIAGRAM 20

OUDERDOMSGROEP: 31-40jr

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLEND GRADERINGS PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familie=
geskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiege=
skiedenis (verder as eie moeder) van mam=
makarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder
mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënte wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

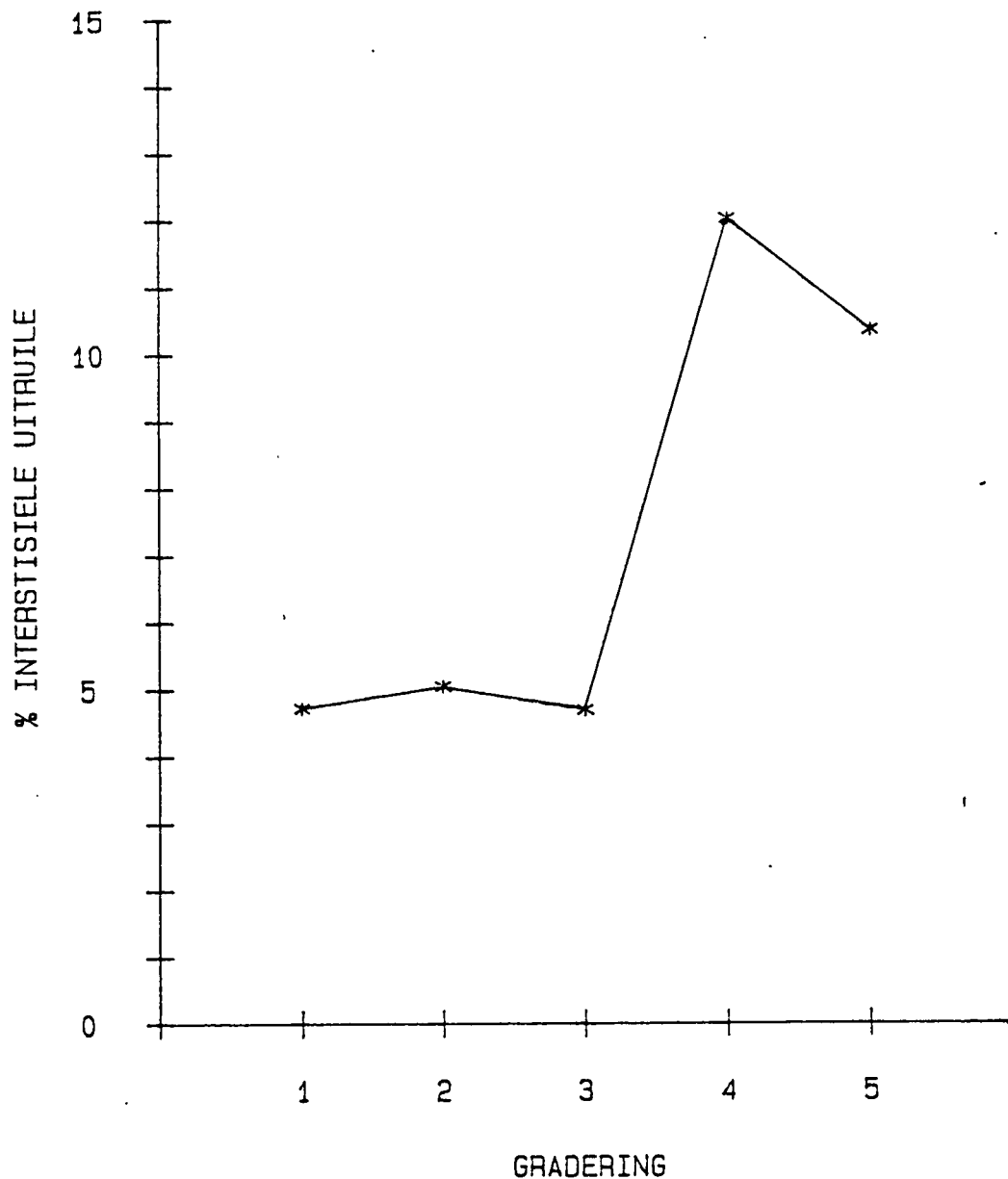


DIAGRAM 21

OUDERDOMSGROEP: 41-50jr

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIELE UITRUILE VIR VERSKILLENDE GRADERINGS VAN PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familiegeskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiegeskiedenis (verder as eie moeder) van mammakarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënte wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post-operatief

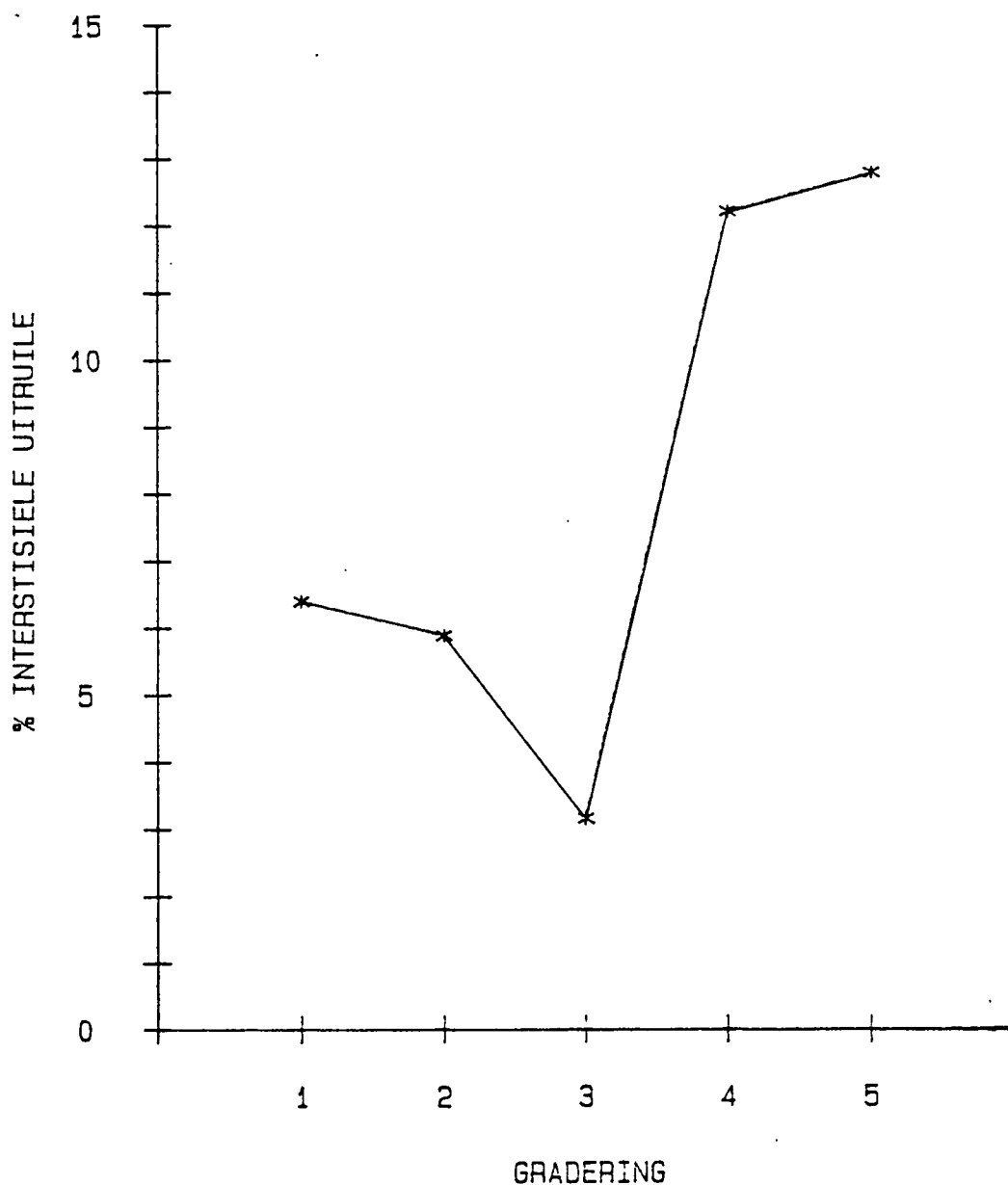


DIAGRAM 22

OUDERDOMSGROEP: 51-60jr

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
VERSKILLEND GRADERINGS PERSONE

GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familie=
geskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiege=
skiedenis (verder as eie moeder) van mam=
makarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder
mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënte wat mammakarsinoom het

GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post-
operatief

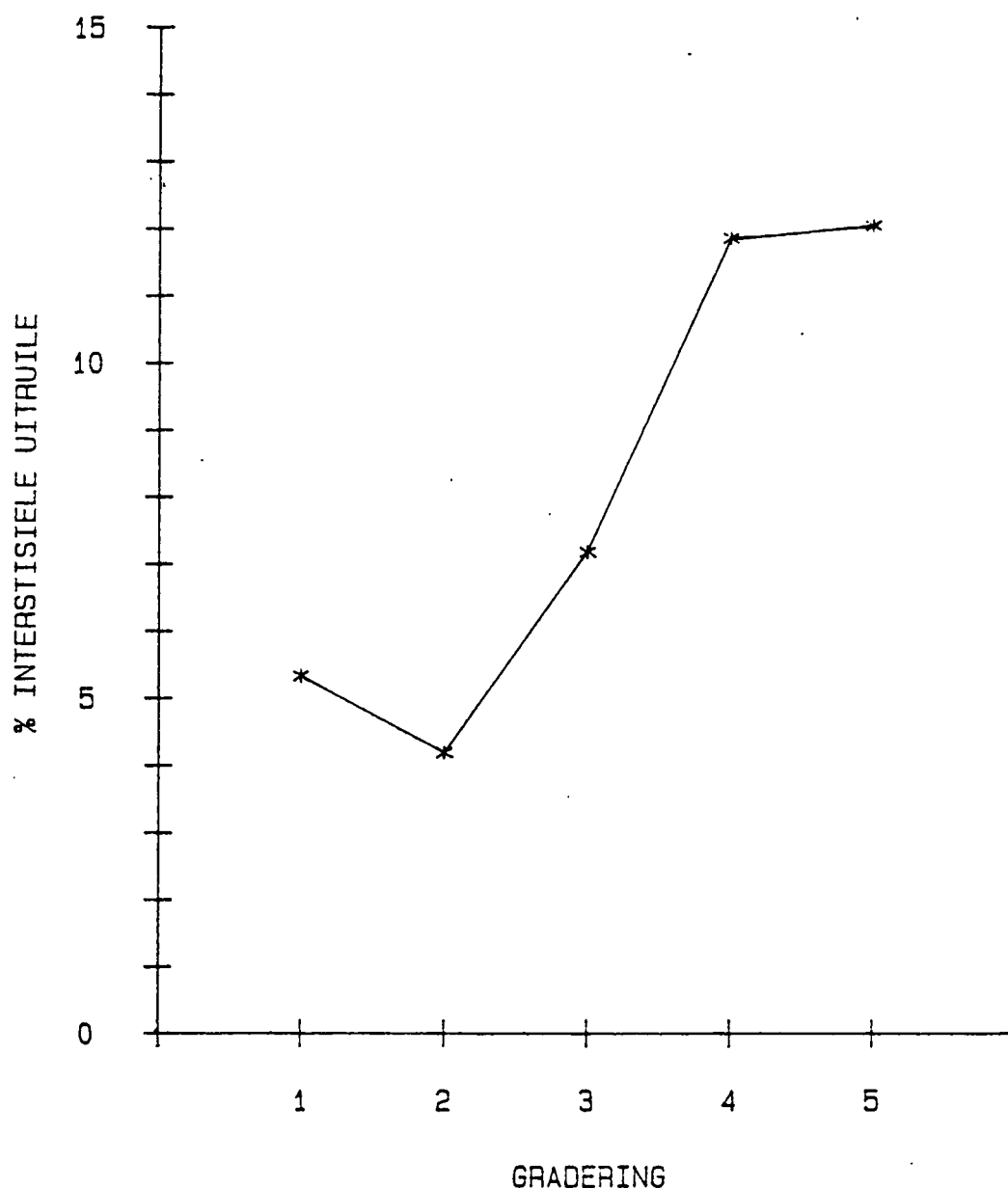


DIAGRAM 23

OUDERDOMSGROEP: 61-70jr

DIE GEMIDDELDE PERSENTASIE INTERSTISIËLE UITRUILE VIR
 VERSKILLEND GRADERINGS PERSONE

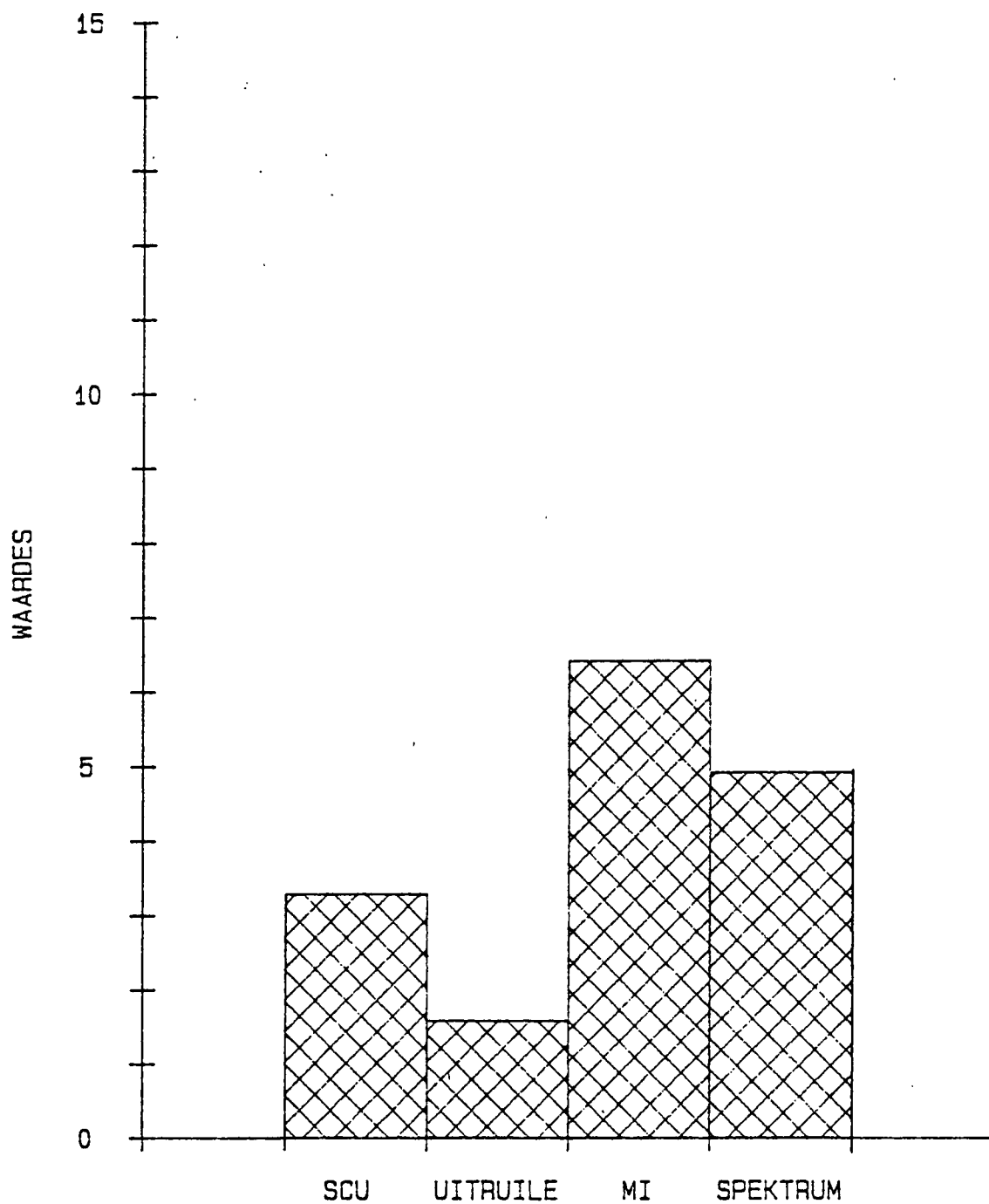
GRADERING 1 = Normale gesonde persone wat geen familie=
 geskiedenis van mammakarsinoom het nie

GRADERING 2 = Normale gesonde persone wat 'n familiege=
 skiedenis (verder as eie moeder) van mam=
 makarsinoom het

GRADERING 3 = Normale gesonde persone waar eie moeder
 mammakarsinoom het/gehad het

GRADERING 4 = Pasiënte wat mammakarsinoom het

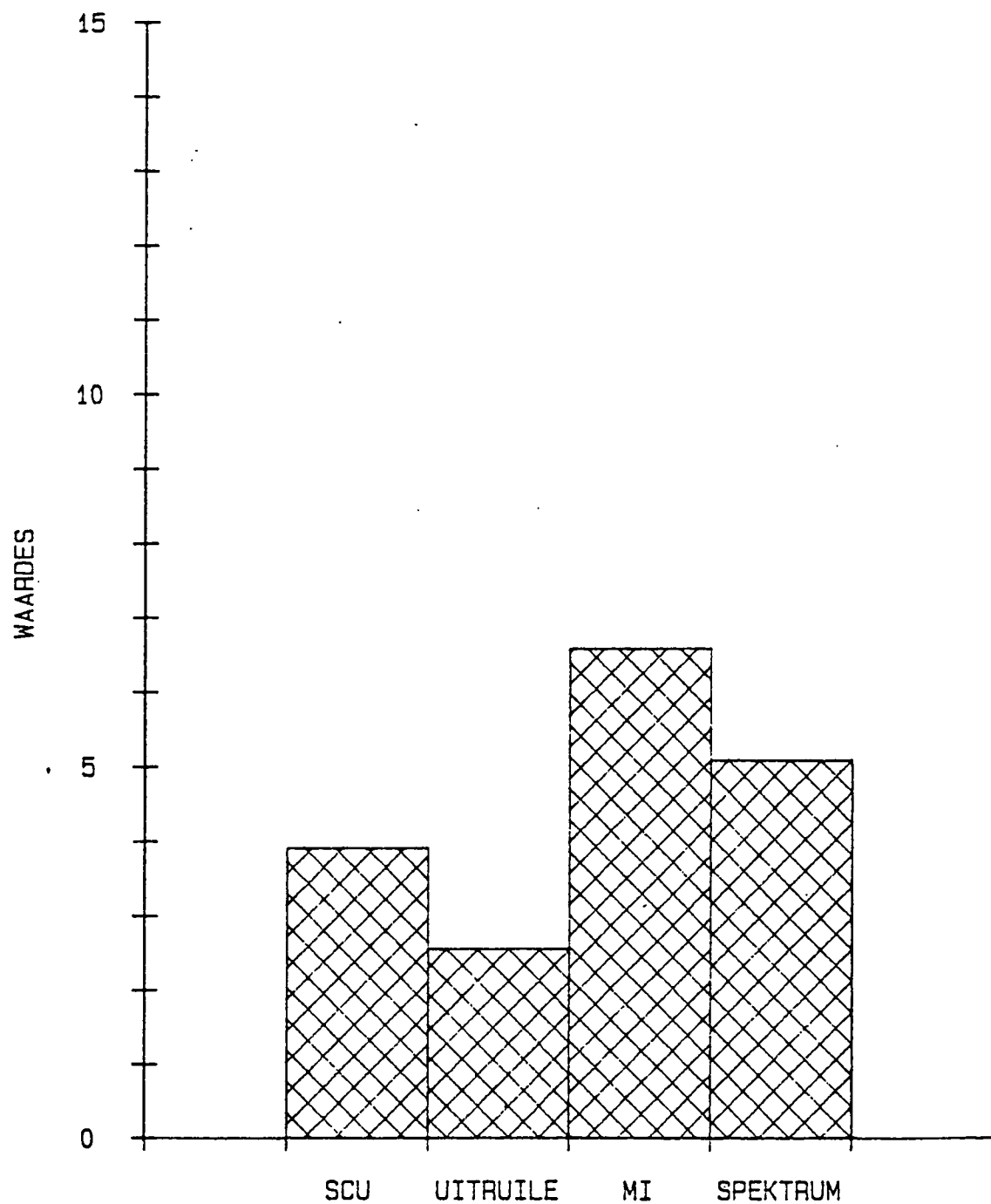
GRADERING 5 = Mammakarsinoompasiënte vier weke post=
 operatief



OUDERDOM: 10-20JR

NORMALE GESONDE PERSONE

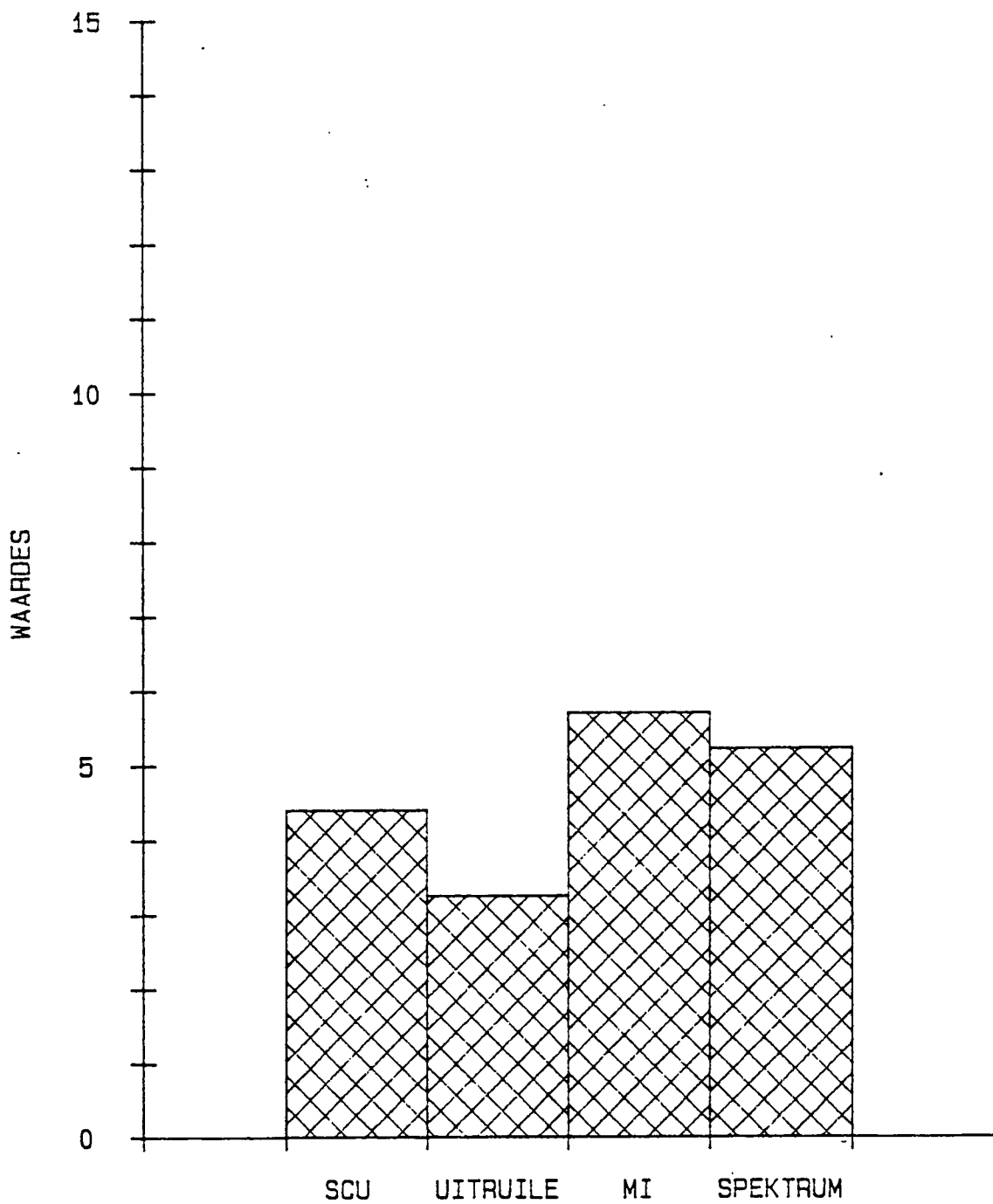
HISTOGRAM 10



OUDERDOM: 21-30JA

NORMALE GESONDE PERSONE

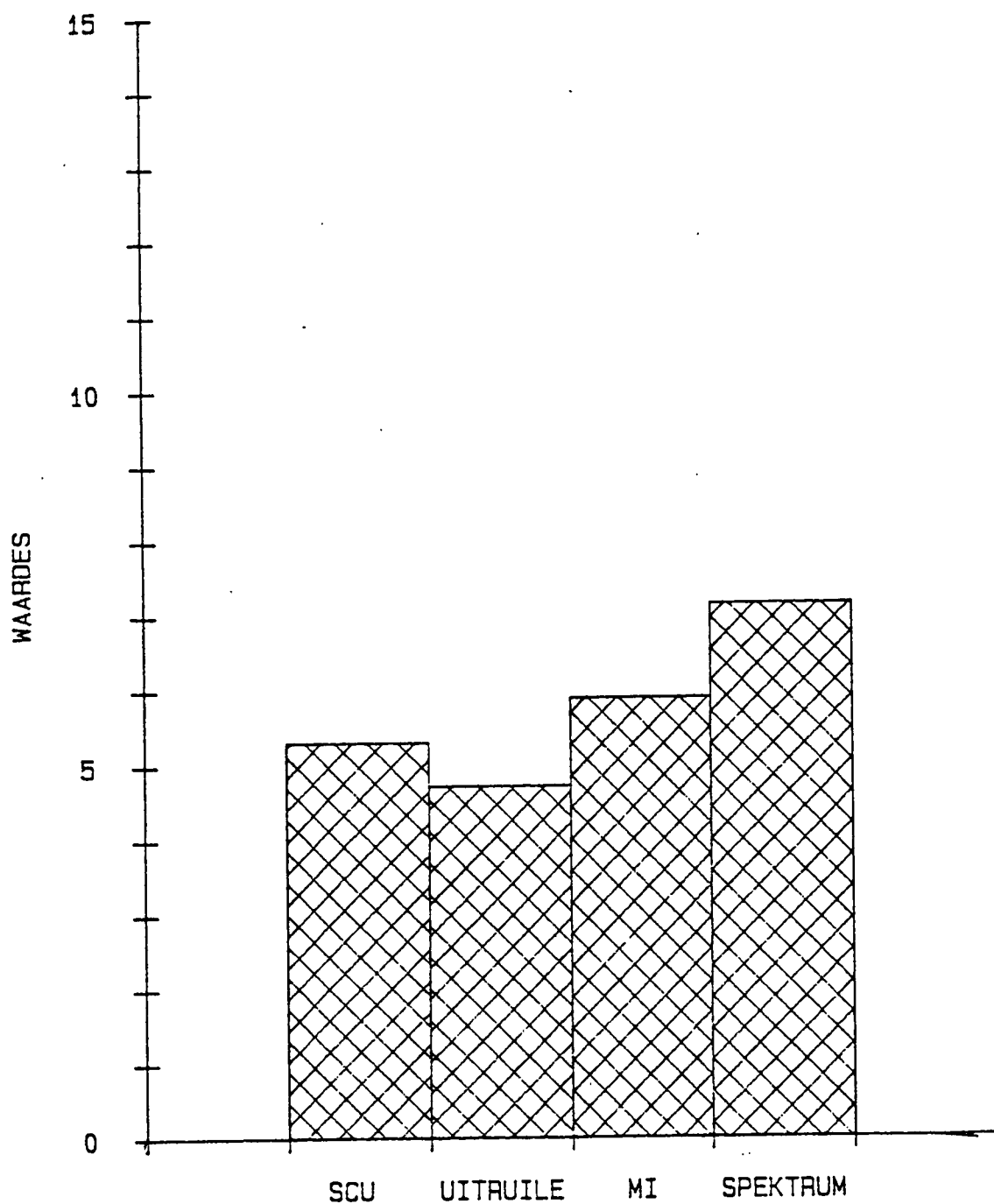
HISTOGRAM 11



OUDERDOM: 30-40JR

NORMALE GESONDE PERSONE

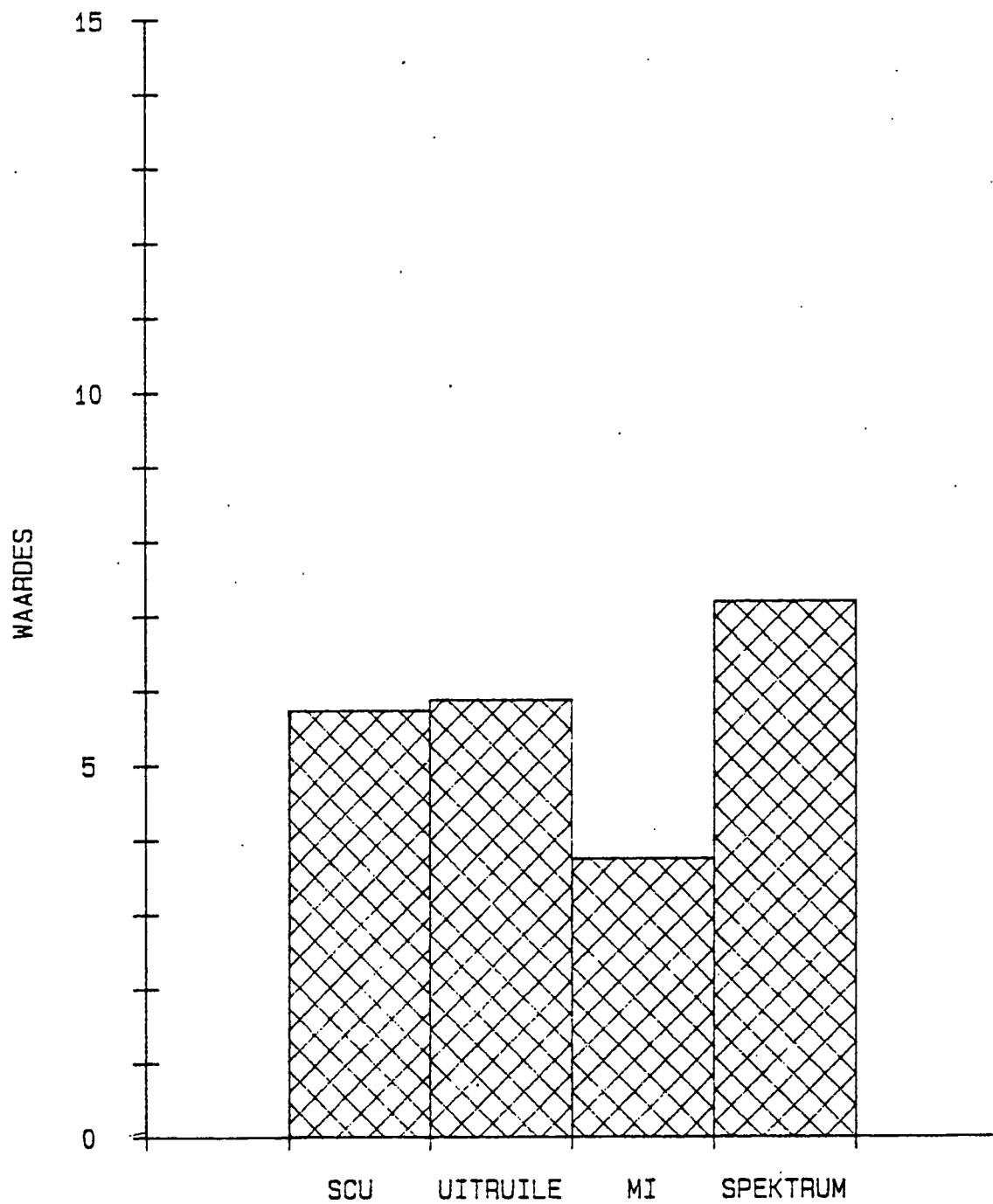
HISTOGRAM 12



OUDERDOM: 41-50JR

NORMALE GESONDE PERSONE

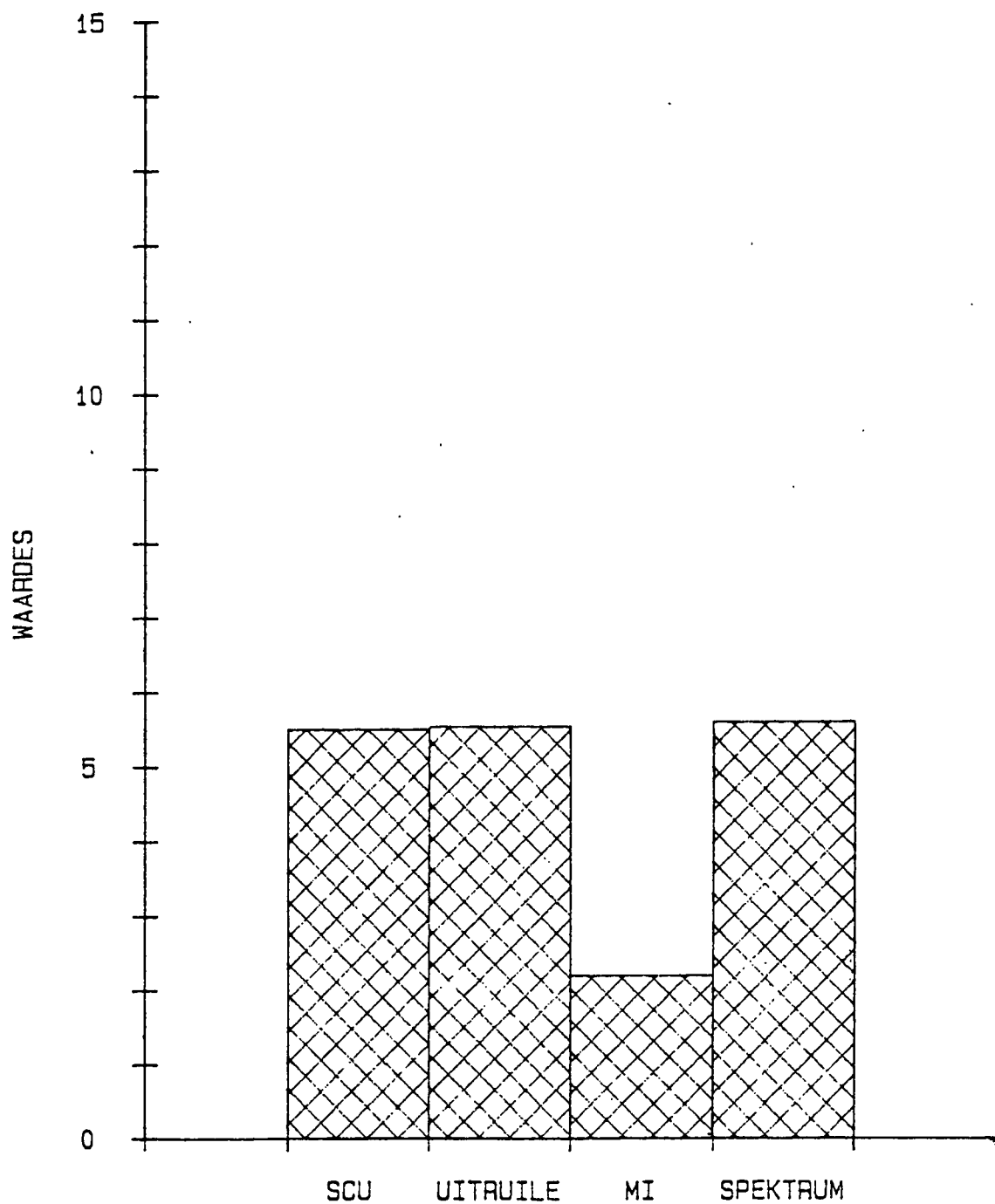
HISTOGRAM 13



OUDERDOM: 51-60JR

NORMALE GESONDE PERSONE

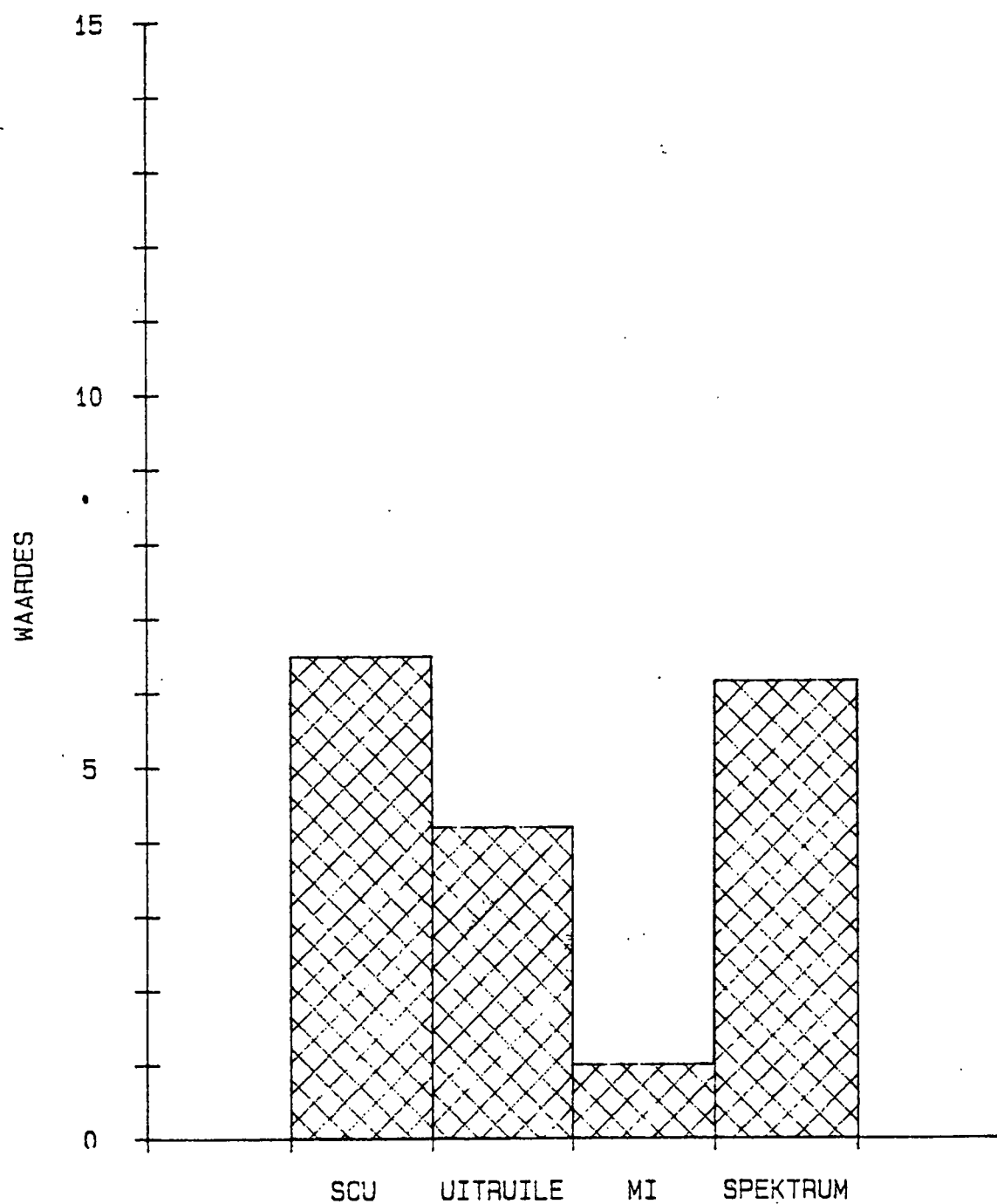
HISTOGRAM 14



OUDERDOM: 61-70JA

NORMALE GESONDE PERSONE

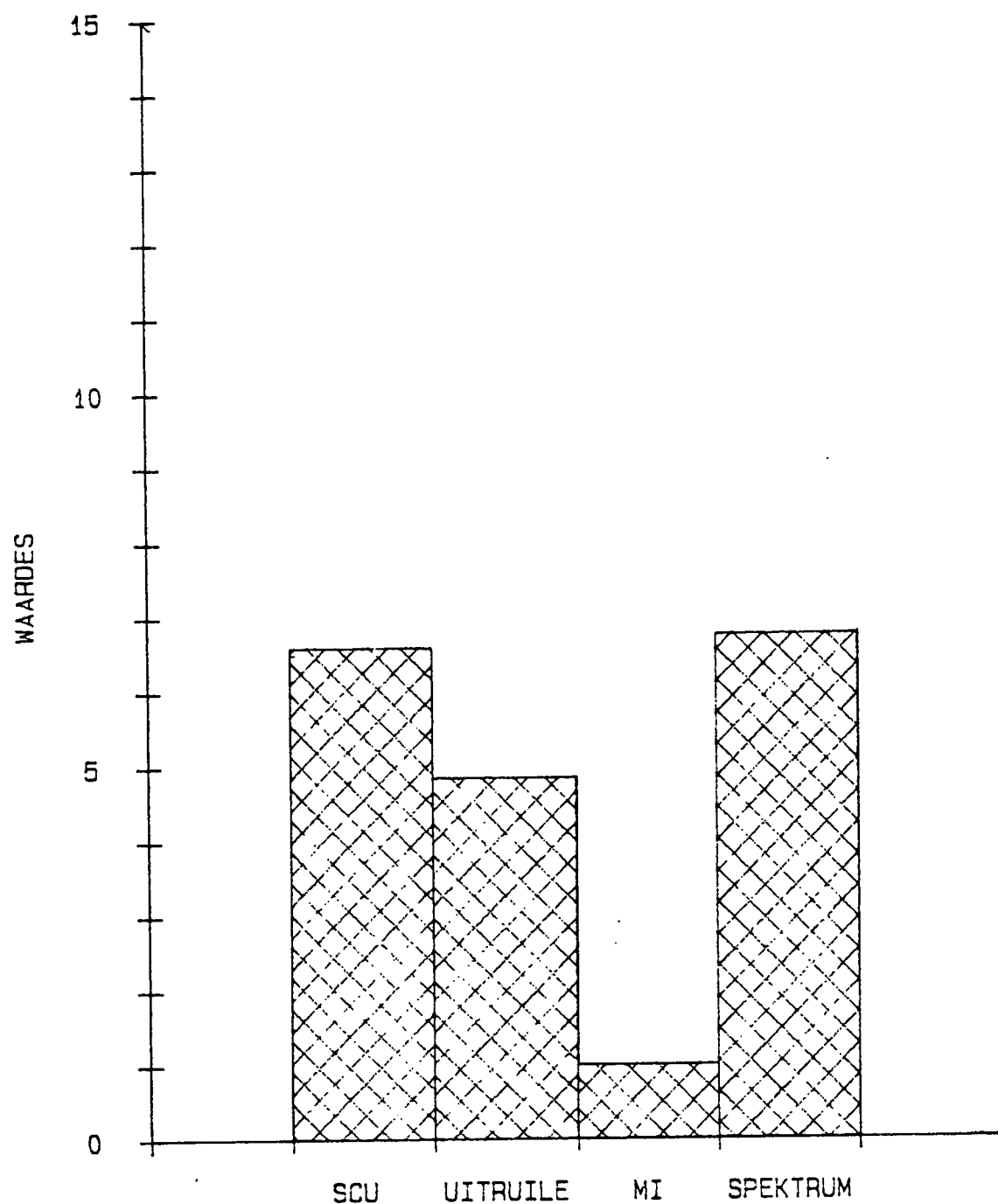
HISTOGRAM 15



OUDERDOM: 71-80JR

NORMALE GESONDE PERSONE

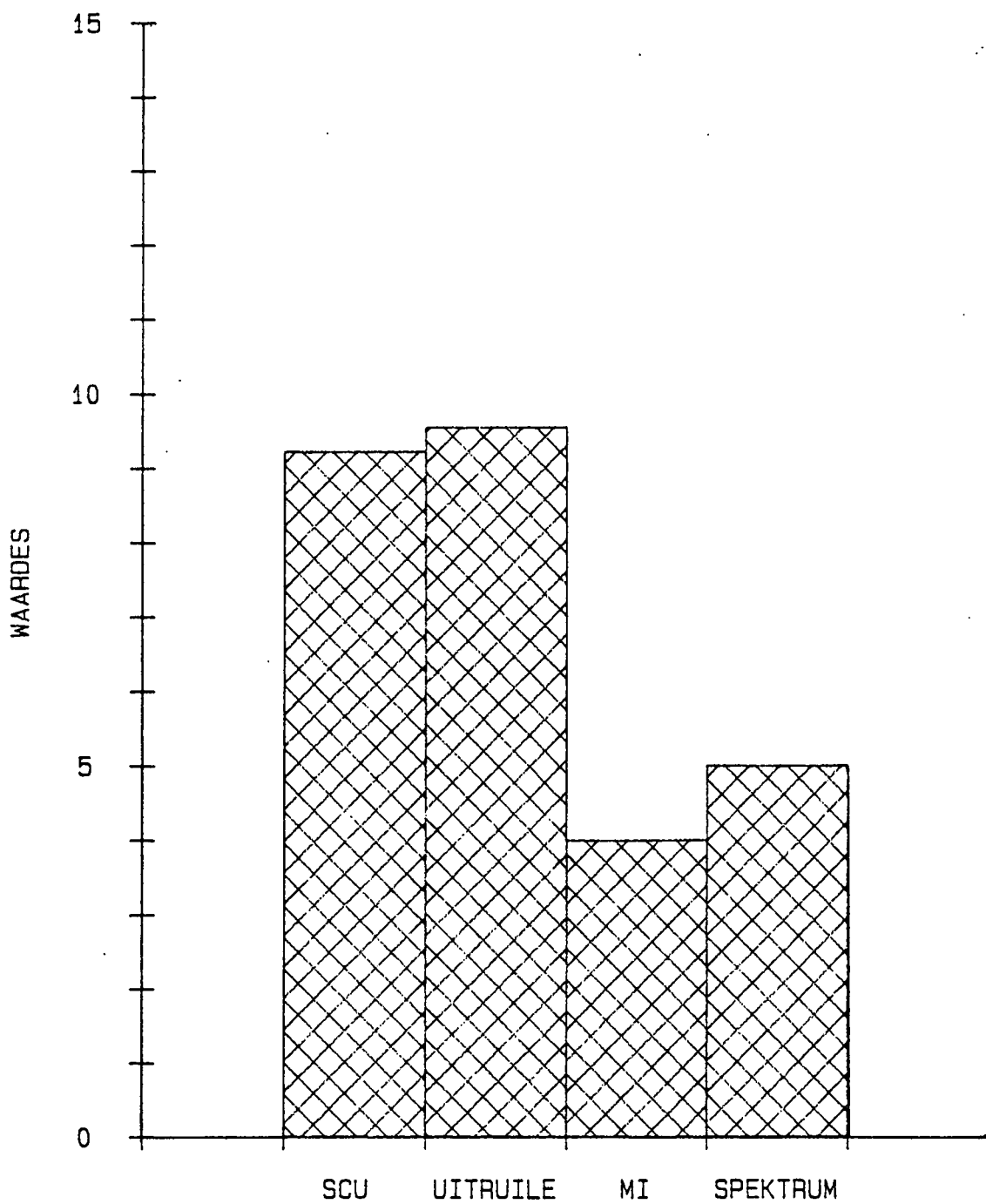
HISTOGRAM 16



OUDERDOM: 81-90JA

NORMALE GESONDE PERSONE

HISTOGRAM 17

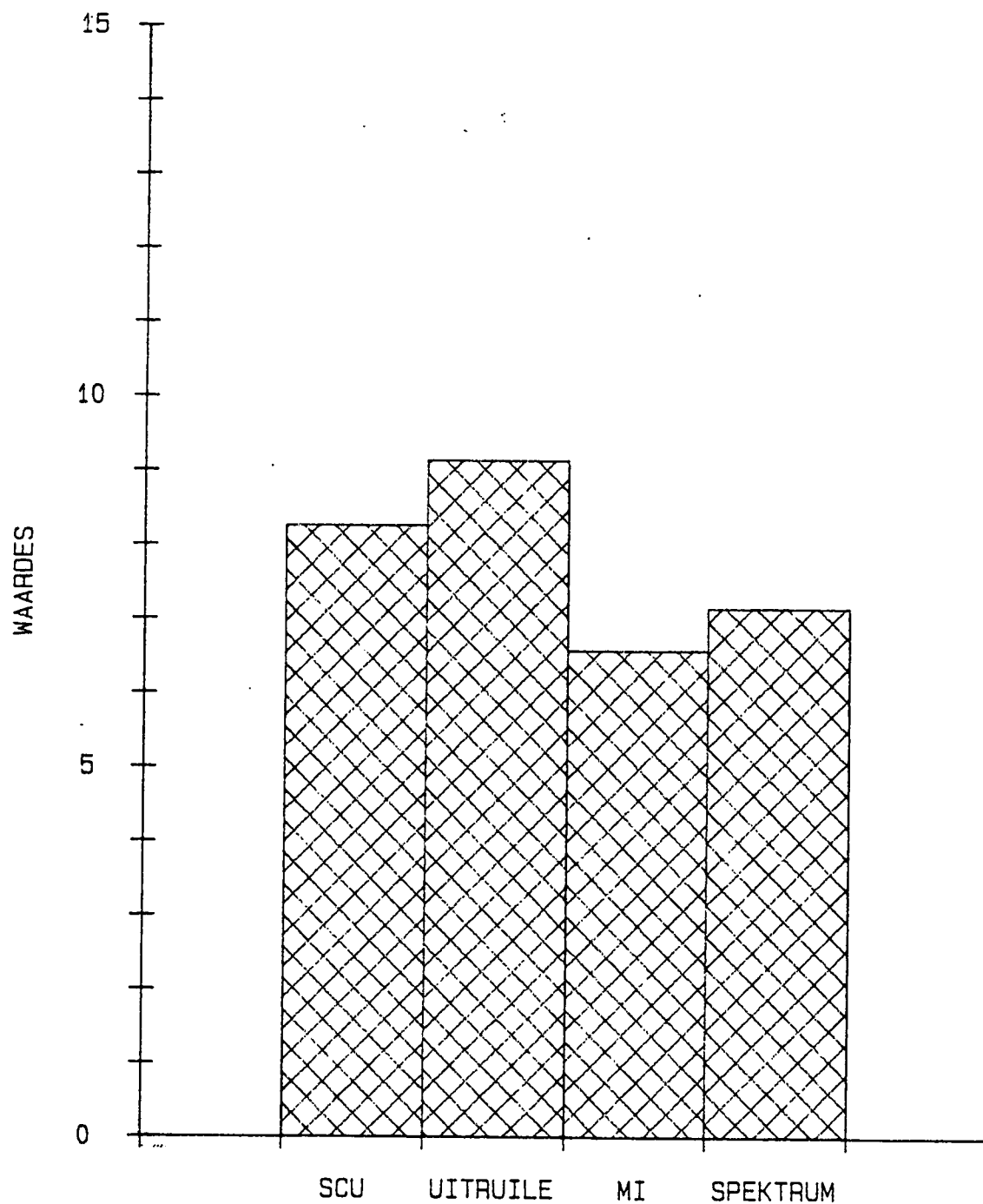


OUDERDOM: 21-30JA

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE

HISTOGRAM 18

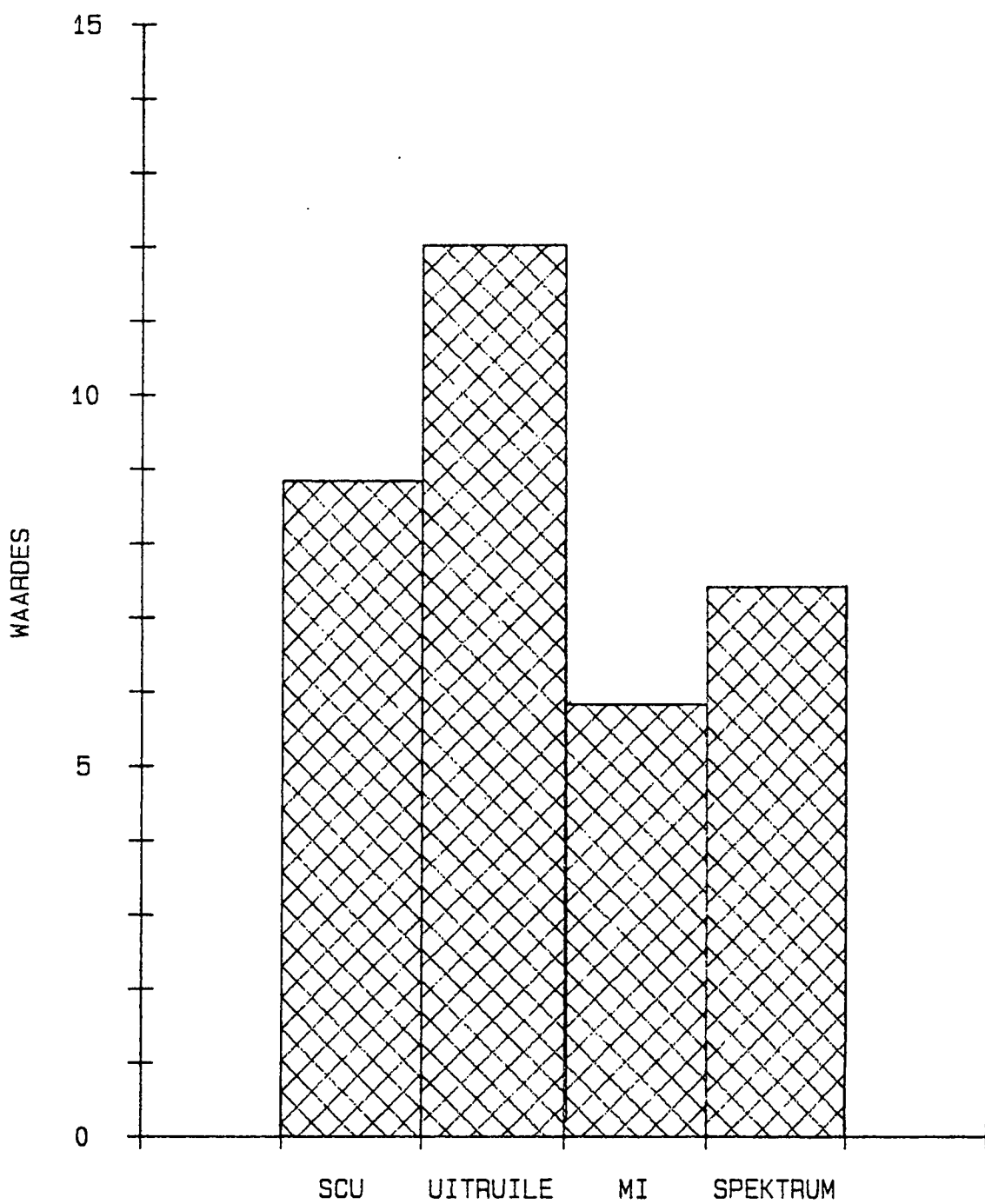


OUDERDOM: 31-40JR

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE

HISTOGRAM 19

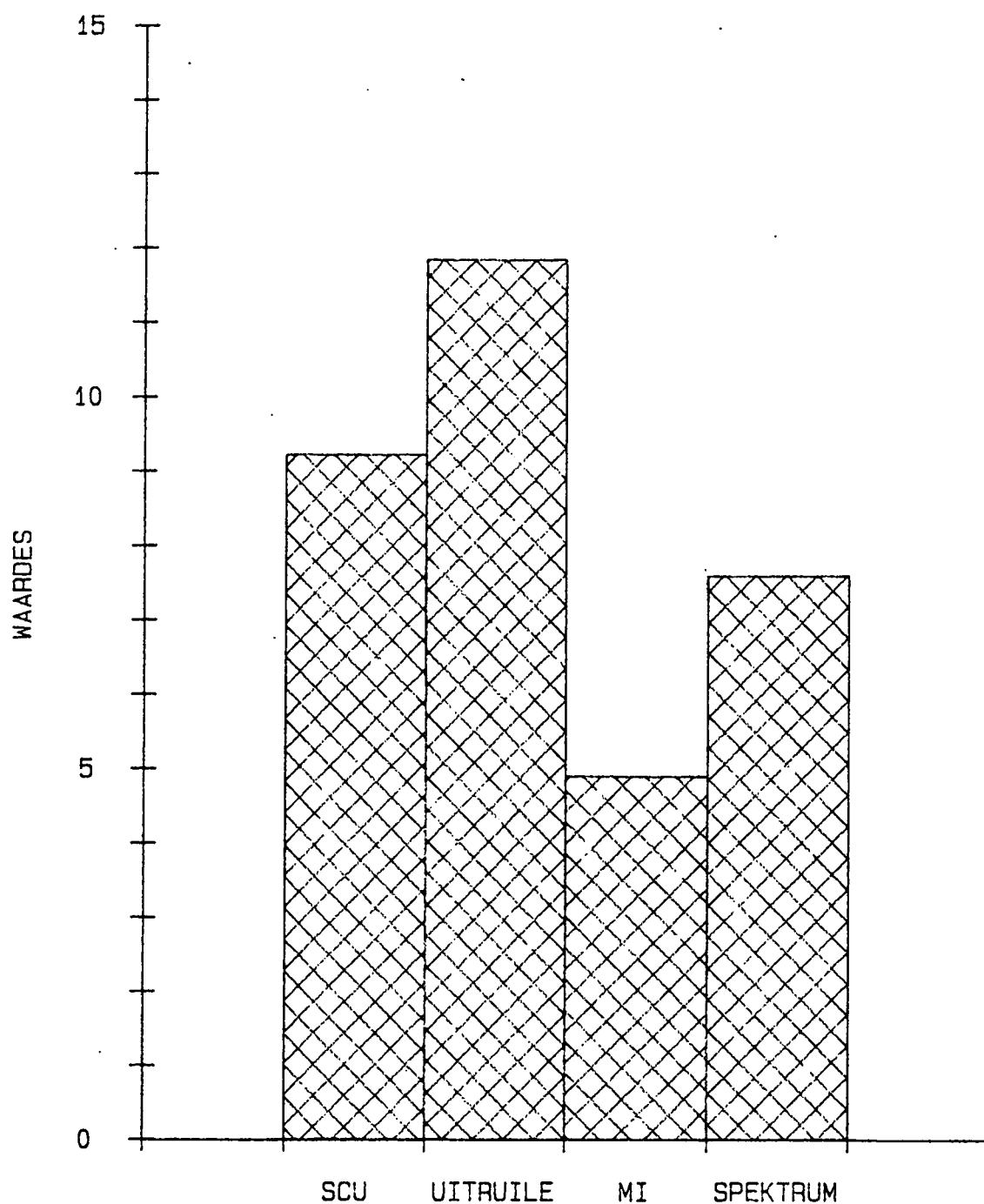


OUDERDOM: 41-50JR

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE

HISTOGRAM 20

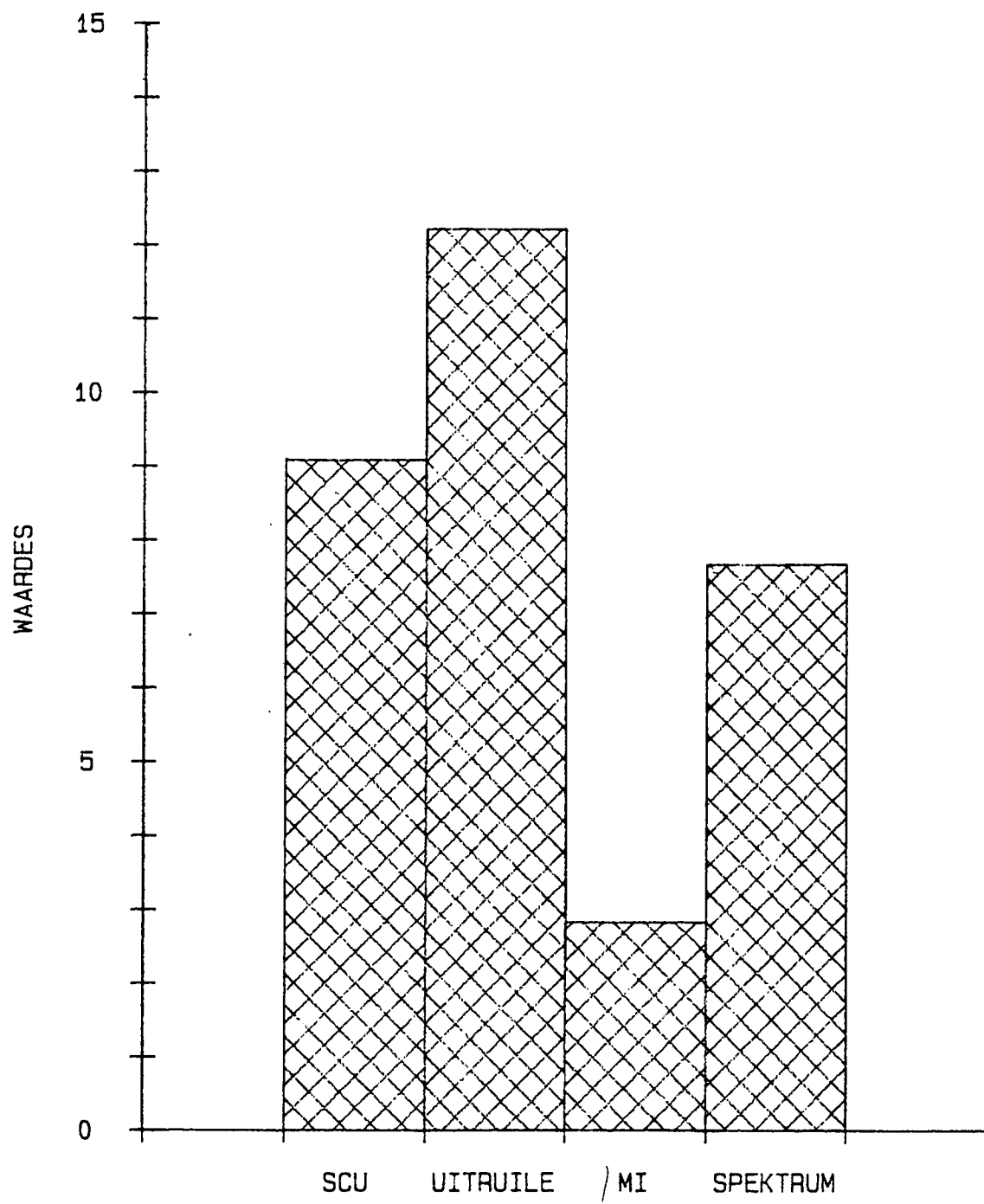


OUDERDOM: 51-60JR

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE

HISTOGRAM 21

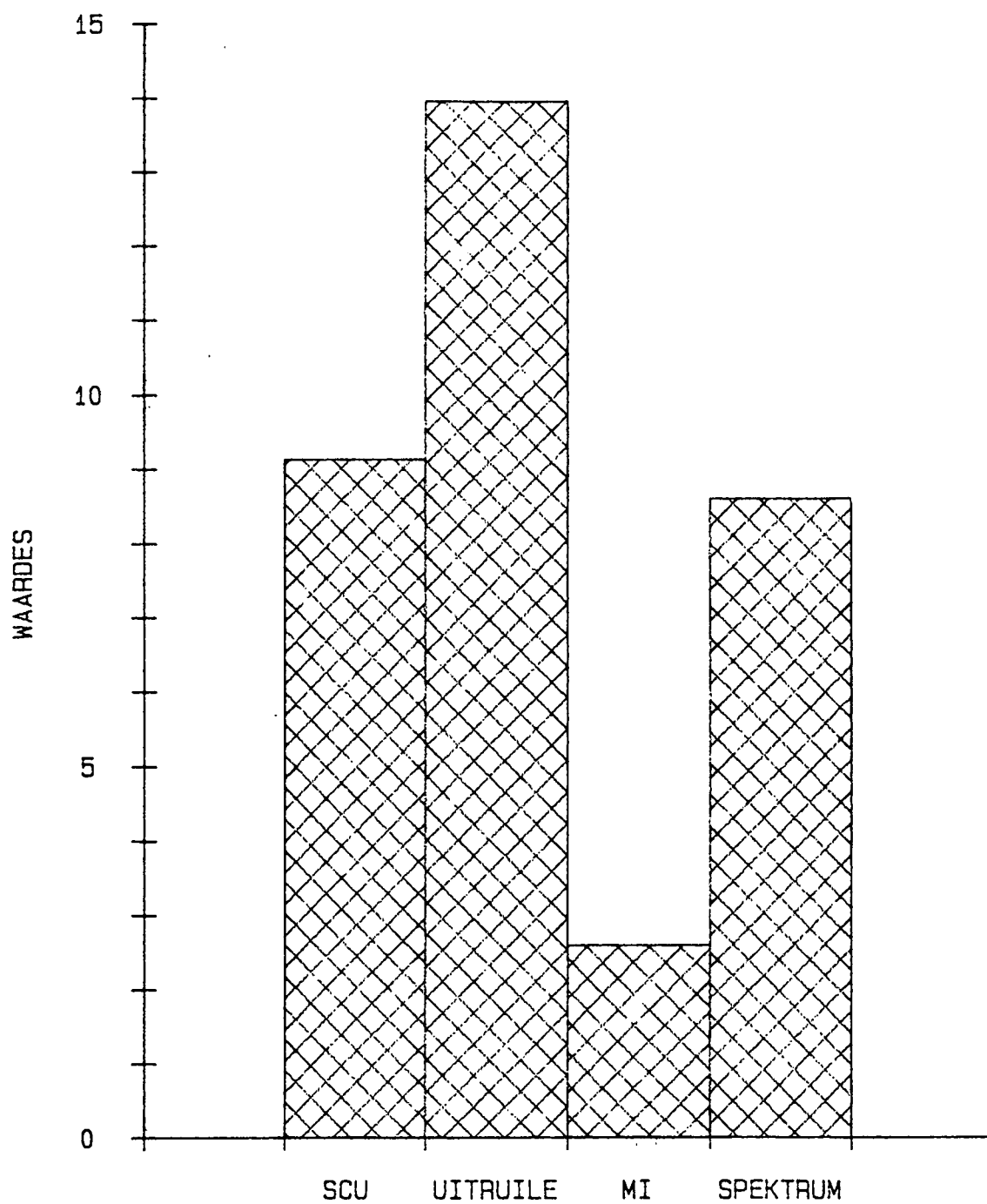


OUDERDOM: 61-70JR

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE

HISTOGRAM 22

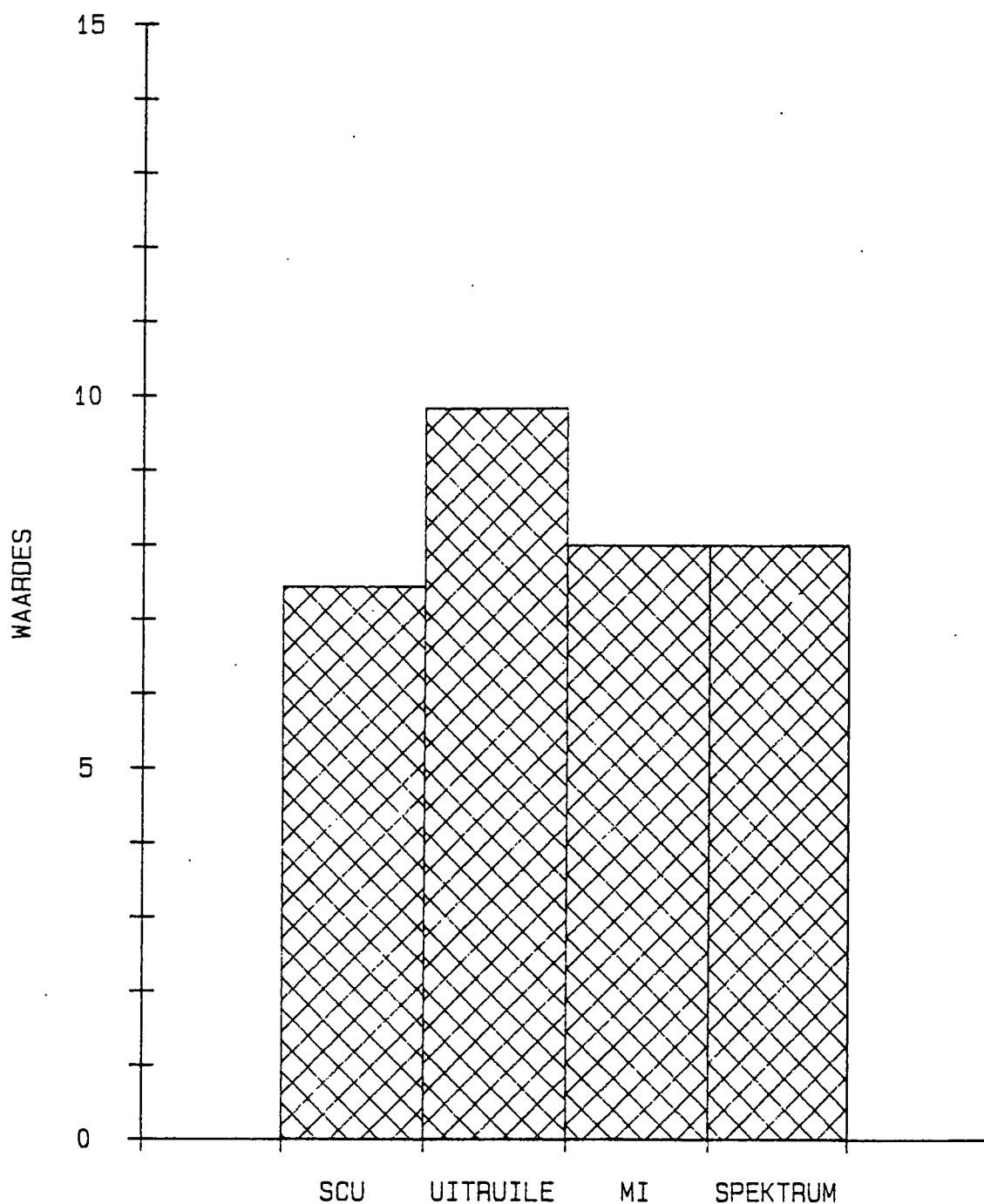


OUDERDOM: 71-80JR

SLEGS GRADERING 4*

*MAMMAKARSINOOMPATIENTE

HISTOGRAM 23

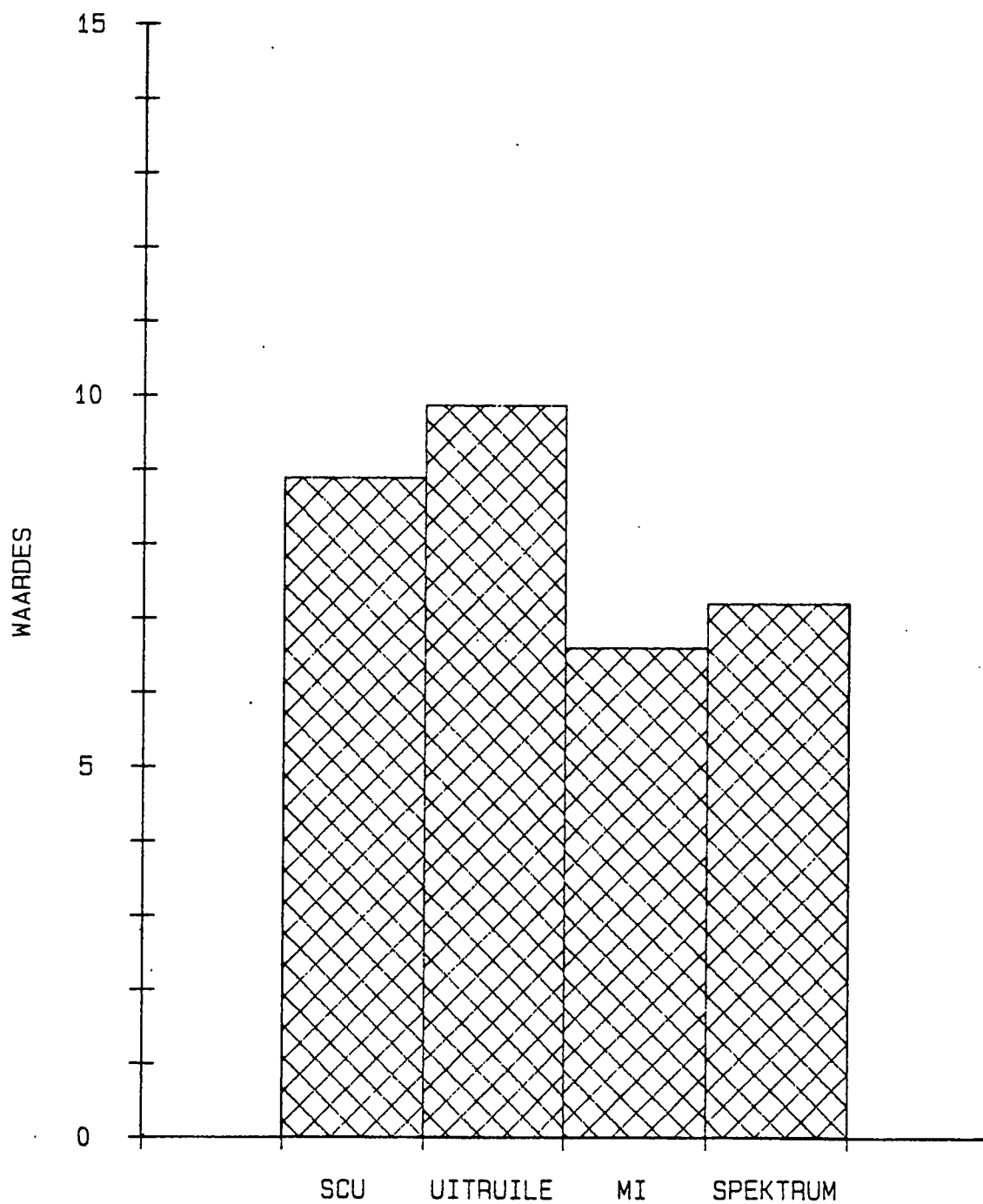


OUDERDOM: 21-30JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 24

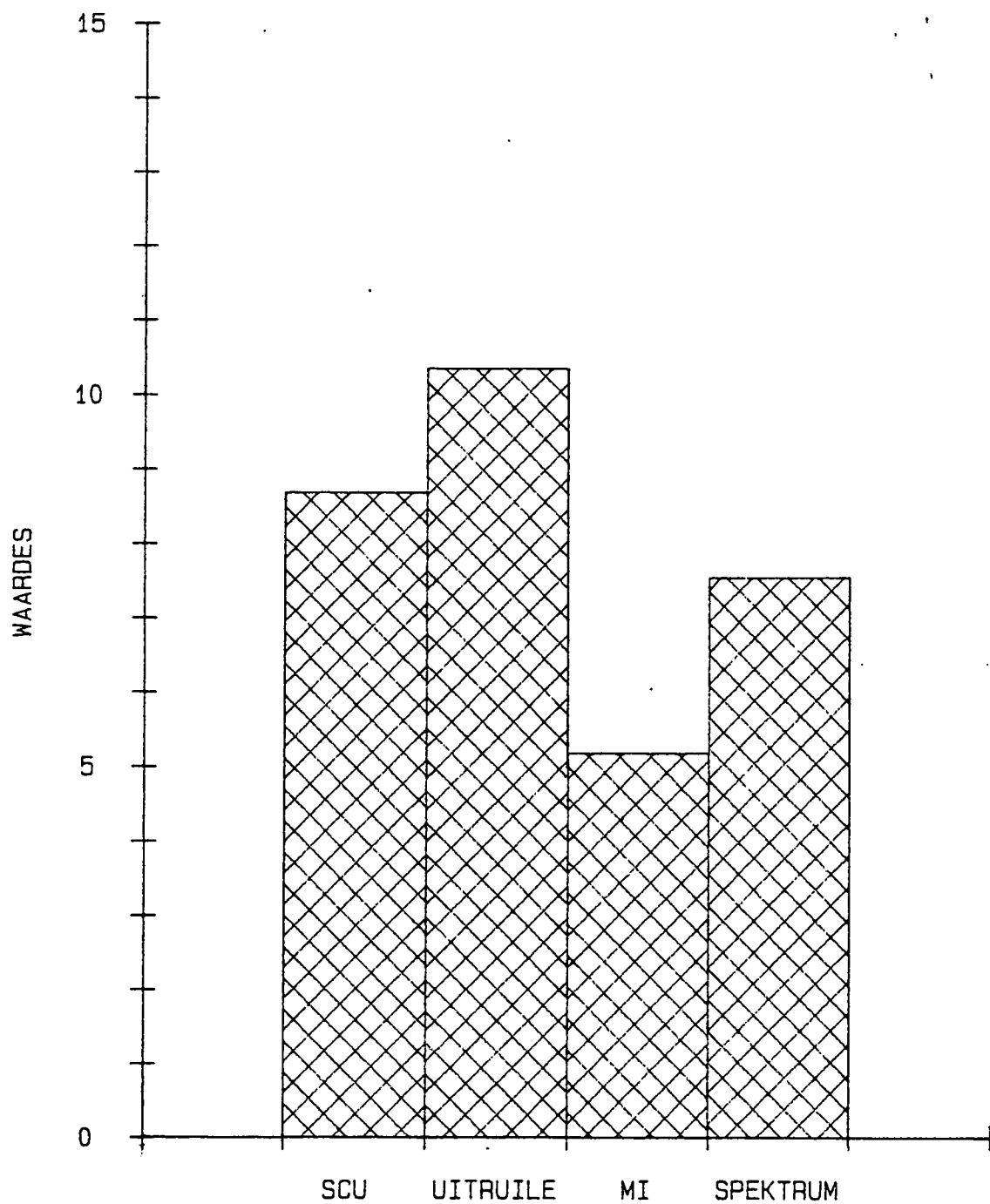


OUDERDOM: 31-40JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 25

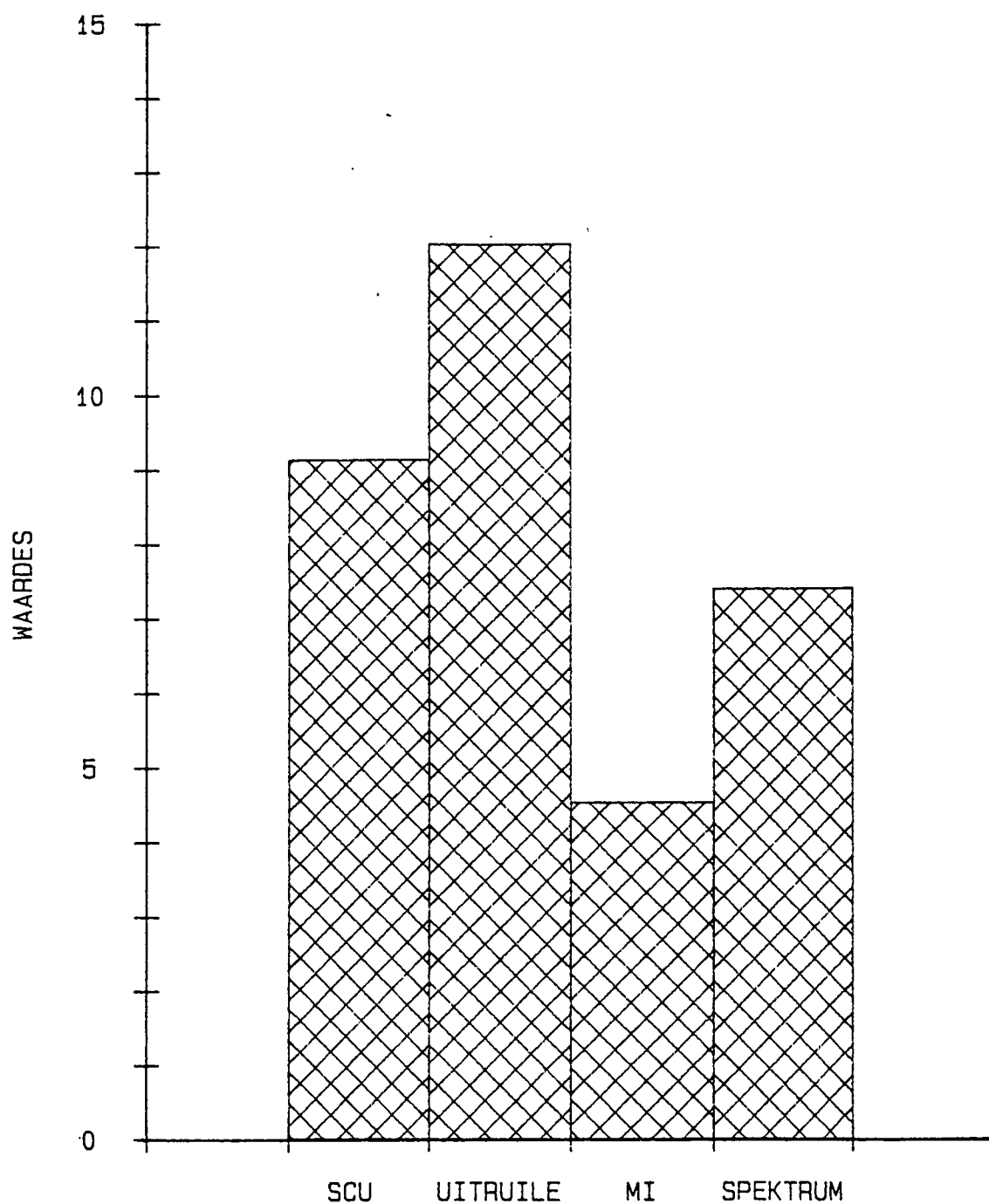


OUDERDOM: 41-50JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 26

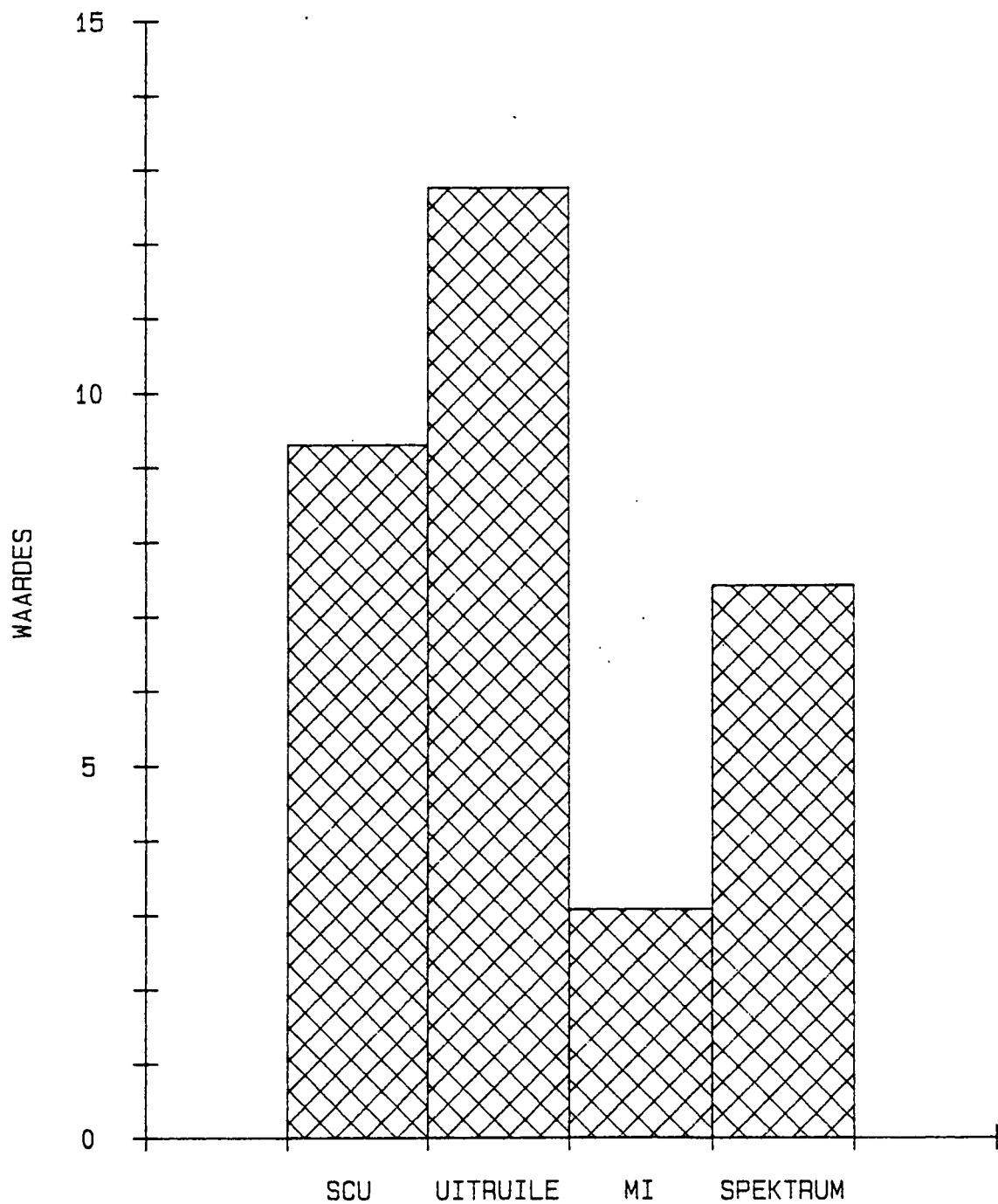


OUDERDOM: 51-60JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 27

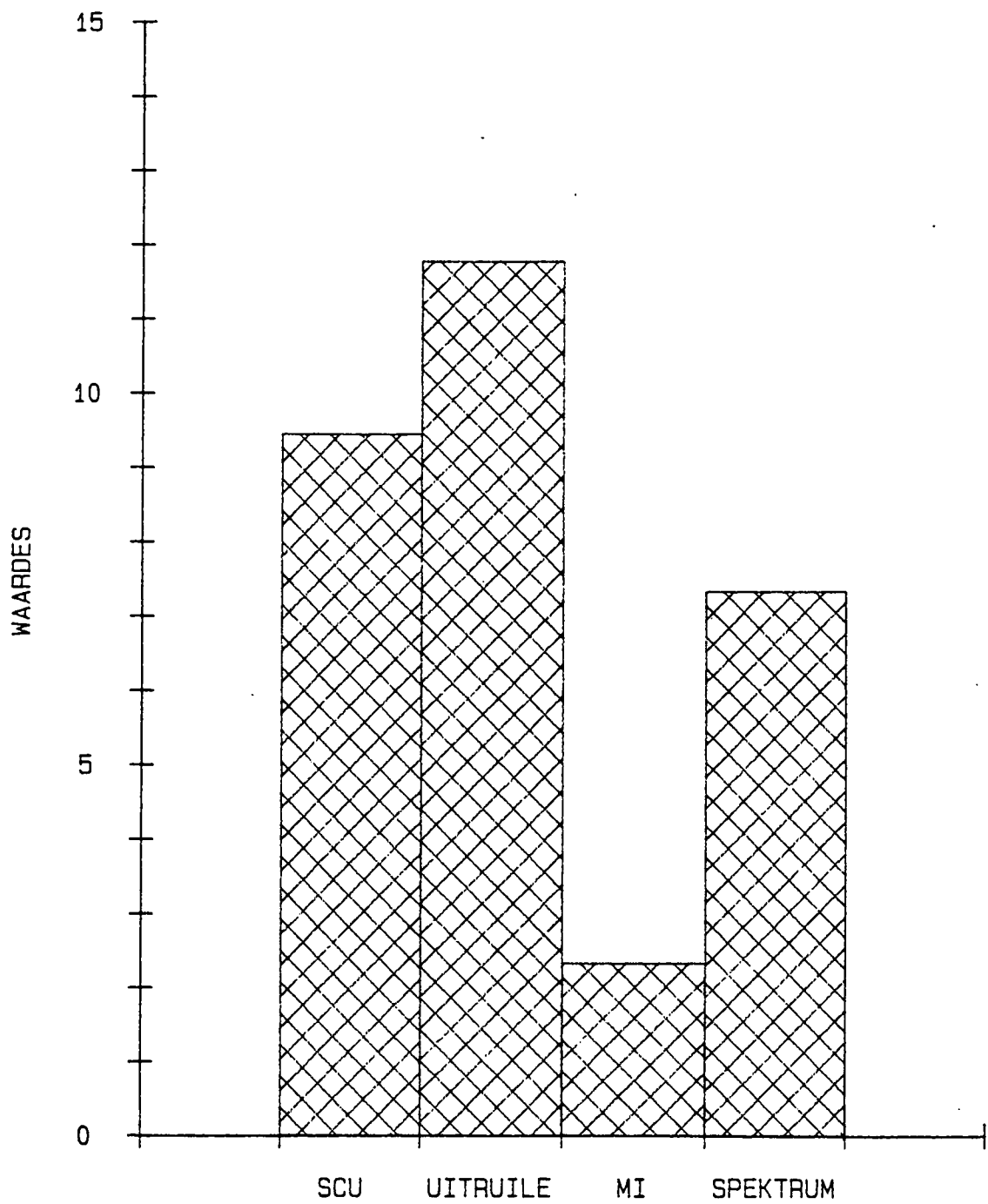


OUDERDOM: 61-70JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 28



OUDERDOM: 71-80JR

SLEGS GRADERING 5*

*MAMMAKARSINOOMPASIËNTE VIER WEKE POST-OPERATIEF

HISTOGRAM 29

HOOFSTUK_6

STATISTIESE ONTLEDING VAN RESULTATE

Die volgende statistiese ontledings is deurgaans op resultate uitgevoer:

- A. Regressie-analise
- B. Variansie-analise
- C. Diskriminantanalise

Bogenoemde ontledings is uitgevoer op:

- I. Ses (6) verskillende veranderlikes wat uit die ondersoek verkry is;
- II. Vyf (5) verskillende groepe (graderings) proefpersone wat ondersoek is.

I. Veranderlikes

- 1) Die gemiddelde aantal susterchromatieduitruile (SCU) per metafase
- 2) Die ouderdom (Oud) van die proefpersoon
- 3) Die persentasie (%) puntuitruile (Punt)
- 4) Die persentasie (%) interstisiële uitruile (Inter)
- 5) Die reikwydte, of spektrum, van die aantal uitruile

le per metafase (Spek)

6) Die mitotiese indeks (MI)

II. Gradering van persone

Gradering 1: Normle gesonde persone wat nie 'n famieliegeskiedenis van mammakarsinoom het nie.

Gradering 2: Normale gesonde persone wat wel 'n famieliegeskiedenis (moeder uitgesluit) van mammakarsinoom het.

Gradering 3: Normale gesonde persone waar 'n moeder mammakarsinoom het/gehad het.

Gradering 4: Vroue met bewysde vroeë mammakarsinoom.

Gradering 5: Post-operatiewe pasiënte, vier weke na volledige chirurgiese verwydering van 'n mammakarsinoom.

A. REGRESSIE-ANALISE

Lineêre regressie-analises is met die die volgende doelstelling uitgevoer:

Om vas te stel of daar 'n statisties beduidende lineêre toename, of afname, van die veranderlikes (bladsy 56), met toenemende ouderdom vir die verskillende graderings van

proefpersone, bestaan.

Sleutel

VER: Veranderlike

GEM: Gemiddeld

SA: Standaardafwyking

KOEF: Koëffisiënt van variasie

MIN: Minimum

MAKS: Maksimum

Tabel 1. Die verband tussen ouderdom en SCU vir alle graderings:

<u>VER</u>	<u>GEM</u>	<u>SA</u>	<u>KOEF</u>	<u>MIN</u>	<u>MAKS</u>
Oud	47.96363	16.90771	0.35251	18.0	99.0
SCU	6.78591	2.33282	0.34377	2.1	9.99

Regressiekoëffisiënt: 4.34305 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom.

Tabel 2. Die verband tussen ouderdom en SCU vir Gradering 1:

<u>VER</u>	<u>GEM</u>	<u>SA</u>	<u>KOEF</u>	<u>MIN</u>	<u>MAKS</u>
Oud	41.38158	19.46619	0.47041	18.0	99.0
SCU	4.58842	1.18702	0.25870	2.1	6.9

Regressiekoëffisiënt: 13.11999 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom vir Gradering 1.

Tabel 3. Die verband tussen ouderdom en SCU vir Gradering 2:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.76923	19.45574	0.46579	19.0	80.0
SCU	4.97308	1.31588	0.26460	2.59	6.55

Regressiekoëffisiënt: 11.51950 $p < 0.002$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom vir Gradering 2.

Tabel 4. Die verband tussen ouderdom en SCU vir Gradering 3:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	44.70370	15.98994	0.35769	18.0	83.0
SCU	5.29296	1.23578	0.23348	3.19	7.97

Regressiekoëffisiënt: 9.11681 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom vir Gradering 3.

Tabel 5. Die verband tussen ouderdom en SCU vir Gradering 4:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.45614	12.01943	0.22072	29.0	77.0
SCU	8.98561	0.68178	0.07587	7.2	9.99

Regressiekoëffisiënt: 5.87914 $p < 0.02$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom vir Gradering 4.

Tabel 6. Die verband tussen ouderdom en SCU vir Gradering 5:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.31915	11.91109	0.21928	29.0	75.0
SCU	9.03064	0.60943	0.06749	7.44	9.99

Regressiekoëffisiënt: 10.18447 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in SCU, met toenemende ouderdom vir Gradering 5.

Tabel 7. Die verband tussen ouderdom en die persentasie puntuitruile vir alle graderings:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Dud	47.96363	16.90771	0.35251	18.0	99.0
SCU	92.47740	4.46759	0.04831	82.33	99.99

Regressiekoëffisiënt: -2.01691 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in die persentasie puntuitruile, met toenemende ouderdom.

Tabel 8. Die verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom vir Gradering 1:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Dud	41.38158	19.46619	0.47041	18.0	99.0
Punt	96.65197	2.11544	0.02189	90.76	99.99

Regressiekoëffisiënt: -5.48405 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in die persentasie puntuitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 1.

Tabel 9. Die verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom vir Gradering 2:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.76923	19.45574	0.46579	19.0	80.0
Punt	95.81615	1.97605	0.02062	91.74	99.99

Regressiekoëffisiënt: -2.17663 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom, vir Gradering 2 nie.

Tabel 10. Die verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom vir Gradering 3:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	44.70370	15.98994	0.35769	18.0	83.0
Punt	95.08074	1.97066	0.02073	90.68	97.7

Regressiekoëffisiënt: -2.56781 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom, vir Gradering 3 nie.

Tabel 11. Die verband tussen die persentasie puntuitruile en ouderdom vir Gradering 4:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.45614	12.01943	0.22072	29.0	77.0
Punt	88.22807	2.20118	0.02495	83.41	93.71

Regressiekoëffisiënt: -2.60040 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in die persentasie puntuitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 4.

Tabel 12. Die verband tussen persentasie puntuitruile en ouderdom vir Gradering 5:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.31915	11.91109	0.21928	29.0	75.0
Punt	88.46120	1.95850	0.02214	82.33	92.41

Regressiekoëffisiënt: -3.11614 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in die persentasie puntuitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 5.

Tabel 13. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir alle graderings:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	47.96363	16.90771	0.35251	18.0	99.0
Inter	7.50654	4.47678	0.59638	0.01	17.67

Regressiekoëffisiënt: 2.02909 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom, vir alle graderings saam.

Tabel 14. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir Gradering 1:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.38158	19.46619	0.47041	18.0	99.0
Inter	3.35632	2.12013	0.63168	0.01	9.24

Regressiekoëffisiënt: 5.47271 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 1.

Tabel 15. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir Gradering 2:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.76923	19.45574	0.46579	19.0	80.0
Inter	3.87615	1.86497	0.48114	0.01	8.26

Regressiekoëffisiënt: 3.95492 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 2 nie.

Tabel 16. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir Gradering 3:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	44.70370	15.98994	0.35769	18.0	83.0
Inter	4.91926	1.97066	0.40060	2.3	9.32

Regressiekoëffisiënt: 2.56781 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 3 nie.

Tabel 17. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir Gradering 4:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.45614	12.01943	0.22072	29.0	77.0
Inter	11.77403	2.20075	0.18692	6.29	16.59

Regressiekoëffisiënt: 2.59837 $p < 0.001$

Daar bestaan n statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 4.

Tabel 18. Die verband tussen die persentasie interstisiële uitruile en ouderdom vir Gradering 5:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.31915	11.91109	0.21928	29.0	75.0
Inter	11.53255	1.96190	0.17012	7.59	17.67

Regressiekoëffisiënt: 3.12771 $p < 0.001$

Daar bestaan n statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom vir Gradering 5.

Tabel 19. Die verband tussen ouderdom en die spektrum
(reikwydte) van uitruile vir alle graderings:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	47.96363	16.90771	0.35251	18.0	99.0
Spek	6.66364	1.57479	0.23633	3.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 5.10820 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir alle graderings saam.

Tabel 20. Die verband tussen die spektrum van uitruile
en ouderdom vir Gradering 1:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.38158	19.46619	0.47041	18.0	99.0
Spek	5.78947	1.56900	0.27101	3.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 4.95639 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 1.

Tabel 21. Die verband tussen die spektrum van uitruile en ouderdom vir Gradering 2:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Dud	41.76923	19.45574	0.46579	19.0	80.0
Spek	5.76923	1.36344	0.23633	4.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 3.95862 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verband tussen die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 2 nie.

Tabel 22. Die verband tussen die spektrum van uitruile en ouderdom vir Gradering 3:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Dud	44.70370	15.98994	0.35769	18.0	83.0
Spek	6.33333	1.61722	0.25535	4.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 5.81863 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 3.

Tabel 23. Die verband tussen die spektrum van uitruile en ouderdom vir Gradering 4:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.45614	12.01943	0.22072	29.0	77.0
Spek	7.56140	1.18046	0.15612	5.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 3.42671 $p < 0.02$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 4.

Tabel 24. Die verband tussen die spektrum van uitruile en ouderdom vir Gradering 5:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.31915	11.91109	0.21928	29.0	75.0
Spek	7.42553	0.99443	0.13392	5.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: 0.21141 $p > 0.05$

Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verband tussen die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom, vir Gradering 5 nie.

Tabel 25. Die verband tussen ouderdom en mitotiese indeks vir alle graderings:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	47.96363	16.90771	0.35251	18.0	99.0
MI	4.84091	2.11694	0.43730	1.0	11.0

Regressiekoëffisiënt: -5.57275 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir alle graderings saam.

Tabel 26. Die verband tussen mitotiese indeks en ouderdom vir Gradering 1:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.38158	19.46619	0.47041	18.0	99.0
MI	5.39474	2.46619	0.45715	1.0	11.0

Regressiekoëffisiënt: -5.72268 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir Gradering 1.

Tabel 27. Die verband tussen mitotiese indeks en ouderdom vir Gradering 2:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	41.76923	19.45574	0.46579	19.1	80.0
MI	4.46154	2.25889	0.50630	1.0	9.0

Regressiekoëffisiënt: -7.16332 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir Gradering 2.

Tabel 28. Die verband tussen mitotiese indeks en ouderdom vir Gradering 3:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	44.70370	15.98994	0.35769	18.0	83.0
MI	4.51852	1.76841	0.43563	1.0	8.0

Regressiekoëffisiënt: -5.11066 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir Gradering 3.

Tabel 29. Die verband tussen mitotiese indeks en ouderdom vir Gradering 4:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.45614	12.01943	0.22072	29.0	77.0
MI	4.64912	1.91322	0.41152	1.0	8.0

Regressiekoëffisiënt: -4.04853 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir Gradering 4.

Tabel 30. Die verband tussen mitotiese indeks en ouderdom vir Gradering 5:

VER	GEM	SA	KOEF	MIN	MAKS
Oud	54.31915	11.91109	0.21928	29.0	75.0
MI	4.46808	1.62656	0.36404	2.0	8.0

Regressiekoëffisiënt: -5.54650 $p < 0.001$

Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom, vir Gradering 5.

B. VARIANSIE-ANALISE

Eenrigting variansie-analises is uitgevoer om te bepaal of die veranderlikes statisties beduidend, ten opsigte van die verskillende graderings van proefpersone, van mekaar verskil.

(Grad = Gradering)

Tabel 31. Gemiddelde SCU vir verskillende graderings

	<u>GRAD 1</u>	<u>GRAD 2</u>	<u>GRAD 3</u>	<u>GRAD 4</u>	<u>GRAD 5</u>
SCU	4.5884	4.9731	5.2930	8.9856	9.0306

Let wel: Daar is dus 'n betekenisvolle verskil ten opsigte van die gemiddelde SCU oor al die verskillende graderings ($p < 0.001$).

Tabel 32. p-waardes vir onderlinge verskille tussen die graderings ten opsigte van gemiddelde SCU:

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Grad 1	1.0000				
Grad 2	0.1953	1.0000			
Grad 3	0.0016	0.3379	1.0000		
Grad 4	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	
Grad 5	0.0000	0.0000	0.0000	0.8171	1.0000

Let wel: Daar bestaan geen betekenisvolle verskille tussen die volgende graderings nie ($p > 0.05$).

Graderings 1 en 2 ($p = 0.1953$)
 Graderings 2 en 3 ($p = 0.3379$)
 Graderings 4 en 5 ($p = 0.8171$)

Daar bestaan wel 'n statisties betekenisvolle verskil tussen Graderings 3 en 4 ($p < 0.05$).

Tabel 33. Gemiddelde persentasie puntuitruile vir verskillende graderings

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Punt	96.6520	95.8162	95.0807	88.2281	88.4613

Let wel: Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van die gemiddelde persentasie puntuitruile, oor al die verskillende graderings ($p < 0.001$).

Tabel 34. p-waardes vir onderlinge verskille tussen die graderings ten opsigte van persentasie puntuitruile:

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Grad 1	1.0000				
Grad 2	0.1823	1.0000			
Grad 3	0.0009	0.2964	1.0000		
Grad 4	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	
Grad 5	0.0000	0.0000	0.0000	0.5701	1.0000

Let wel: Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van persentasie puntuitruile, tussen die volgende graderings nie ($p > 0.05$).

Graderings 1 en 2 ($p = 0.1823$)
 Graderings 2 en 3 ($p = 0.2964$)
 Graderings 4 en 5 ($p = 0.5701$)

Daar bestaan wel 'n statisties betekenisvolle verskil ten opsigte van puntuitruile tussen Graderings 3 en 4 ($p < 0.001$).

Tabel 35. Gemiddelde persentasie interstisiële uitruile vir verskillende graderings

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Inter	3.3563	3.8762	4.9193	11.7740	11.5326

Let wel: Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van die gemiddelde persentasie interstisiële uitruile, oor al die verskillende graderings ($p < 0.001$).

Tabel 36. p-waardes vir onderlinge verskille tussen die graderings ten opsigte van persentasie interstisiële uitruile:

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Grad 1	1.0000				
Grad 2	0.4054	1.0000			
Grad 3	0.0009	0.1384	1.0000		
Grad 4	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000	
Grad 5	0.0000	0.0000	0.0000	0.5559	1.0000

Let wel: Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van persentasie interstisiële uitruile, tussen die volgende graderings nie ($p > 0.05$)

Graderings 1 en 2 ($p = 0.4054$)
 Graderings 2 en 3 ($p = 0.1384$)
 Graderings 4 en 5 ($p = 0.5559$)

Daar bestaan wel 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van persentasie interstisiële uitruile, tussen

Graderings 3 en 4 ($p < 0.001$).

Tabel 37. Gemiddelde spektrum van uitruile vir die verskillende graderings

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Spek	5.7895	5.7692	6.3333	7.5614	7.4255

Let wel: Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van die spektrum van uitruile, oor al die verskillende graderings ($p < 0.05$).

Tabel 38. p-waardes vir onderlinge verskille tussen die graderings ten opsigte van die spektrum van uitruile:

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
Grad 1	1.0000				
Grad 2	0.9605	1.0000			
Grad 3	0.0760	0.2210	1.0000		
Grad 4	0.0000	0.0000	0.0001	1.0000	
Grad 5	0.0000	0.0001	0.0010	0.6130	1.0000

Let wel: Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van spektrum van uitruile, tussen die volgende graderings nie ($p > 0.05$)

Graderings 1 en 2 ($p = 0.9605$)
 Graderings 2 en 3 ($p = 0.2210$)
 Graderings 4 en 5 ($p = 0.6130$)

Daar bestaan wel 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van spektrum van uitruile, tussen Graderings 3 en

4 ($p < 0.001$)

Tabel 39. Gemiddelde mitotiese indeks vir die verskillende graderings

	<u>Grad 1</u>	<u>Grad 2</u>	<u>Grad 3</u>	<u>Grad 4</u>	<u>Grad 5</u>
MI	5.3947	4.4615	4.5185	4.6491	4.4681

Let wel: Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van mitotiese indeks, oor al die graderings nie ($p > 0.05$).

p-waardes is nie verder bepaal vir onderlinge verskille, ten opsigte van mitotiese indeks, vir die verskillende graderings nie.

C. DISKRIMINANTANALISE

Diskriminantanalises is met die oog op die volgende gedoen:

- a) Om te bepaal watter van die vyf veranderlikes (bladsy 137) statisties van belang is om tussen die twee populasiegroepe ("gesond" : mammakarsinoom), te kan onderskei.
- b) Om die prioriteitsvolgorde van die veranderlikes (ten opsigte van die graad van belangrikheid), in

die identifisering van mammakarsinoom, te bepaal.

Indeling vir hierdie doel was as volg:

Groep I : Nie-karsinoomgevalle ("gesond")
 Groep II : Karsinoomgevalle (mammakarsinoom)

Tabel 40. Gemiddelde waarde vir elke groep:

VER	GROEP I	GROEP II
Oud	42.19828	54.39423
SCU	4.79552	9.00596
Punt	96.19258	88.33346
Inter	3.77836	11.66490
Spek	5.91379	7.50000
MI	5.08621	4.56731

Tabel 41. Standaardafwyking vir elke groep:

VER	GROEP I	GROEP II
Oud	18.61099	11.91264
SCU	1.23890	0.64738
Punt	2.15632	2.08828
Inter	2.14402	2.08970
Spek	1.56355	1.09722
MI	2.35748	1.78322

Tabel 42. Koëffisiënt van variasie vir elke groep:

VER	GROEP I	GROEP II
Oud	0.44104	0.21901
SCU	0.25835	0.07188
Punt	0.02242	0.02364
Inter	0.56745	0.17914
Spek	0.26439	0.14630
MI	0.46350	0.39043

Let wel: Die variasie (reikwydte) van die waardes in die

nie-karsinoomgroep, is baie groter as die in die karsinoomgroep.

Tabel 43. F-Toetsstatistieke vir die volgende veranderlikes is statisties betekenisvol, in die diskriminering tussen Groep I en Groep II:

(Met $F > 5.3227$, is $p < 0.05$).

VER	F-waarde	p-waarde
1. SCU	964.7005	< 0.05
2. Oud	82.3095	< 0.05
3. Punt	57.5531	< 0.05
4. Spek	5.3227	< 0.05
5. Inter	< 5.3227	> 0.05
6. MI	< 5.3227	> 0.05

A. Veranderlikes 1 tot 4 is dus statisties van belang om tussen Groep I (nie-karsinoom) en Groep II (karsinoom) te kan onderskei ($p < 0.05$).

B. Veranderlikes 1 tot 4 is in volgorde van belangrikheid geplaas (volgens F-waardes) om tussen Groep I en Groep II te kan onderskei.

C. Veranderlikes 5 en 6 is nie statisties betekenisvol in die diskriminering tussen Groep I en II nie ($F < 5.3227$ en $p > 0.05$).

Statistiese formules vir die klassifisering van 'n persoon
onder Groep I of Groep II

Aangesien die veranderlikes 1 tot 4 as statisties betekenisvol bewys is, om tussen Groepe I en II te kan onderskei, is die volgende twee diskriminerende formules ontwikkel:

Formule A (vir nie-karsinoomgevalle)

$$\begin{aligned} & -1642.065 + 1.154 \text{ (Oud)} + 17.231 \text{ (SCU)} + 32.052 \text{ (Punt)} \\ & \quad + 11.545 \text{ (Spek)} \end{aligned}$$

Formule B (vir karsinoomgevalle)

$$\begin{aligned} & -1512.420 + 0.846 \text{ (Oud)} + 23.557 \text{ (SCU)} + 30.393 \text{ (Punt)} \\ & \quad + 10.740 \text{ (Spek)} \end{aligned}$$

Wanneer die waardes van die veranderlikes 1 tot 4 (Oud, SCU, Punt, Spek) van die persone wat in hierdie projek ondersoek is, in beide formules A en B ingevoer word, kan met 99.1% akkuraatheid bereken word, of die betrokke persoon onder Groep I of II sal ressorteer.

Voorbeeld 1: Geval 115 vir hierdie projek.

Mevrou X is 41 jaar oud. Haar gemiddelde susterchromatieduitruile is 9.48 per metafase. Puntuitruile is 93.01%. Die reikwydte van die SCU is 6.

Vervang die waardes in formule A:

$$\begin{aligned} & -1642.065 + 1.154 (41) + 17.231 (9.48) + 32.052 (93.01) \\ & \quad + 11.545 (6) \\ = & -1642.065 + 47.314 + 163.35 + 2981.157 + 69.27 \\ = & \underline{1619.026} \end{aligned}$$

Vervang dieselfde waardes in formule B:

$$\begin{aligned} & -1512.42 + 0.846 (41) + 23.557 (9.48) + 30.393 (93.01) \\ & \quad + 10.740 (6) \\ = & -1512.42 + 34.686 + 223.32 + 2826.85 + 64.44 \\ = & \underline{1636.88} \end{aligned}$$

1636.88 (formule B) > 1619.03 (formule A)

Hierdie persoon resorteer dus onder die karsinoomgroep
(het histologies bevestigde mammakarsinoom).

Voorbeeld 2: Geval 112 vir hierdie projek.

Mevrou Y is 85 jaar oud. Haar gemiddelde susterchroma-
tieduitruile is 6.90 per metafase. Puntuitruile is 94.53%.
Die reikwydte van die SCU is 7.

Vervang die waardes in formule A:

$$\begin{aligned} & -1642.065 + 1.154 (85) + 17.231 (6.9) + 32.052 (94.53) \\ & \quad + 11.545 (7) \\ = & -1642.065 + 98.09 + 118.89 + 3029.88 + 80.815 \end{aligned}$$

$$= \underline{1685.61}$$

Vervang_dieselfde_waardes_in_formule_B:

$$\begin{aligned} & -1512.42 + 0.846 (85) + 23.557 (6.9) + 30.393 (94.53) \\ & \quad + 10.740 (7) \end{aligned}$$

$$= -1512.42 + 71.91 + 162.54 + 2873.05 + 75.18$$

$$= \underline{1670.26}$$

$$\underline{1685.61 \text{ (formule A)}} > \underline{1670.26 \text{ (formule B)}}$$

Hierdie_persoon_resorteer_dus_in_die_nie-karsinoomgroep
(histologies benigne mammatumor).

Die implikasies van die bevindings wat uit regressie-, variansie-, en diskriminantanalises gemaak is, word in die volgende hoofstuk bespreek.

HOOFSTUK_7

BESPREKING VAN RESULTATE

SAMEVATTING VAN PARAMETERS WAT GEMONITOR IS

A. SCU:

SCU-waardes het betrekking op die totale aantal DNA-breuke. Puntuitruile (een breuk) en interstisiële uitruile (twee breuke), dui die tipe SCU aan. Aangesien dit nie bekend is of 'n bepaalde tipe DNA-skade meer geneig sal wees om óf die een (punt), óf die ander (interstisiële) tipe uitruil te veroorsaak nie, is beide tipes SCU deurgaans vir elke persoon bepaal.

B. Spektrum van SCU:

Die spektrum of reikwydte van SCU is vir elke persoon aangeteken. 'n Wye spektrum maak resultate uiteraard statisties minder betroubaar, maar mag ander sinvolle betekenis hê. (Die reikwydtes van verskillende groepe persone is ook met mekaar vergelyk).

C. Mitotiese indeks:

Mitotiese indeks is bepaal, as moontlike aanduiding van die sel (limfosiet) se vermoë om op 'n mitogene prikkel te repondeer. Replikasie van DNA is 'n voorvereiste vir seldeling en veranderinge aan die DNA mag moontlik hierdie vitale meganisme ook beïnvloed. (Mitotiese indekse is as 'n SCU-verwante ondersoek beskou.

Samevattend kan gesê word, dat die parameters wat in hierdie ondersoek gebruik is (SCU en SCU-verwante ondersoek), betrekking het op die stabiliteit en integriteit van die DNA-molekuul. Dit kwantifiseer nie-spesifieke veranderinge, wat deur 'n wye reeks faktore veroorsaak of beïnvloed kan word.

RESULTATE

1. DNA-VERANDERINGE MET TOENEMENDE OUDERDOM

i) Susterchromatieduitruile is betekenisvol verhoog met toenemende ouderdom en hierdie verhogings geld vir al die graderings van persone (tabelle 1 tot 6).

ii) Daar bestaan bykans deurgaans 'n statisties betekenisvolle afname in die persentasie puntuitruile, met toenemende ouderdom (tabelle 7, 8, 11 en 12). Uitsonderings

is graderings 2 en 3 (tabelle 9 en 10).

iii) Daar bestaan bykans deurgaans 'n statisties betekenisvolle toename in die persentasie interstisiële uitruile, met toenemende ouderdom (tabelle 13, 14, 17 en 18).

(Uitsonderings is graderings 2 en 3 (tabelle 15 en 16).

iv) 'n Statisties betekenisvolle toename bestaan byna deurgaans, in die spektrum van uitruile, met toenemende ouderdom (tabelle 19, 20, 22 en 23). (Uitsonderings is graderings 2 en 5 (tabelle 21 en 24).

v) Daar bestaan sonder uitsondering, 'n statisties betekenisvolle afname in mitotiese indeks, met toenemende ouderdom (tabelle 25 tot 30).

Bogenoemde bevindings toon statisties betekenisvolle veranderinge in die DNA-molekuul ten opsigte van vyf veranderlikes wat vir verskillende ouderdomsgroepe bepaal is. Dit beteken dat permanente, nie-spesifieke veranderinge, met verloop van tyd in die DNA van selle ontstaan. (Mutasies mag moontlik 'n groot deel van hierdie veranderinge uitmaak).

Uit hierdie bevindings kan afgelei word dat daar 'n kumulatiewe effek, van DNA-beskadigende faktore op die DNA-molekuul, met toenemende ouderdom voorkom. (Nie deur

DNA-herstelmeganisme gekorrigeer).

Die bevinding dat SCU in normale gesunde proefpersone (>150), geleidelik, maar tog statisties betekenisvol, met ouderdom toeneem, is in ooreenstemming met resultate van Stella en medewerkers [178]. Daar is egter ook navorsers wat nie 'n toename in SCU kon aantoon, met 'n toename in ouderdom nie [198,200].

2. DNA-VERANDERINGE EN MALIGN TRANSFORMASIE VAN SELLE

Statisties betekenisvolle verskille is aangetoon tussen die verskillende graderings van proefpersone in die volgende veranderlikes:

)
i) SCU (tabelle 31 en 32)

Statisties betekenisvolle verskille tussen graderings 1 en 3 en ook tussen graderings 3 en 4 is aangetoon.

ii) Persentasie puntuitruile (tabelle 33 en 34)

Statisties betekenisvolle verskille tussen graderings 1 en 3 en ook tussen graderings 3 en 4 is aangetoon.

iii) Persentasie interstisiële uitruile (tabelle 35 en 36)

Statisties betekenisvolle verskille tussen graderings 1 en 3 en ook tussen graderings 3 en 4 is aangetoon.

iv) Spektrum (tabelle 37 en 38)

Statisties betekenisvolle verskille tussen graderings 1 en 3 en ook tussen graderings 3 en 4 is aangetoon.

v) Mitotiese indeks (tabel 39)

Geen statisties betekenisvolle verskille kon aangetoon word tussen die verskillende graderings nie.

Bogenoemde bevindings dui daarop dat daar statisties betekenisvolle verskille ten opsigte van vier veranderlikes in graderings 3 en 4 bestaan. Dit beteken dat daar kwantifiseerbare veranderinge bestaan tussen die DNA van normale, gesonde vrouens en vrouens met mammakarsinoom.

Bogenoemde bevindings toon verder ook dat daar tog verskille tussen graderings 1 en 3 bestaan, wat statisties beduidend is. Dit beteken dat daar ook kwantifiseerbare veranderinge bestaan tussen die DNA van vrouens met geen familiegeskiedenis van mammakarsinoom nie en dié met 'n positiewe familiegeskiedenis (eie moeder) van mammakarsinoom bestaan.

Hierdie bevindings is in ooreenstemming met resultate wat deur ander navorsers gerapporteer is. (Jung en medewerkers [138], asook van Kelly en Sheil [139]).

Die SCU en verwante bepalings wat in hierdie navorsingstuk gedoen is, is sonder uitsondering op limfosiële wat van die betrokke proefpersone gekweek is, uitgevoer. Die feit dat DNA-veranderinge in limfosiële aangetoon kon word in vrouens met mammakarsinoom, is geensins verrassend nie. (DNA vir alle selle is identies). Die bevindings dui dus daarop, dat DNA-destabiliseringsfaktore (mutagene/karsinogene), DNA na alle waarskynlikheid in al die liggaamselle destabiliseer. Daar is dan ook bewys hiervan in die literatuur. (Cheng en medewerkers [72]). Daar is egter ook bewyse dat verskillende seltypes van dieselfde individu verskillende sensitiwiteite teenoor dieselfde karsinogeen openbaar [20].

Waarom 'n spesifieke orgaan se selle blykbaar meer kwesbaar is vir 'n bepaalde karsinogeen, is onduidelik. Daar is ook bewyse in die literatuur dat verskillende individue, nie dieselfde sensitiwiteit teenoor 'n karsinogeen openbaar nie. (Sozzi en medewerkers [73]). Dit is duidelik dat verskillende seltypes in dieselfde individu, nie dieselfde sensitiwiteit ten opsigte van die induksie van SCU, deur 'n DNA-beskadigende faktor openbaar nie en dat daar ook 'n verskil in sensitiwiteit tussen dieselfde seltypes van verskillende individue, teenoor 'n bepaalde mutageen/karsinogeen bestaan.

SAMEVATTING VAN BEVINDINGS

1. In hierdie ondersoek het die resultate bevestig dat statisties beduidende verskille ten opsigte van vier veranderlikes, tussen normale kontrolegevalle en gevalle wat geneties 'n hoë risiko het om mammakarsinoom te ontwikkel, bestaan. Hierdie verskille neem nog verder toe wanneer die waardes van laasgenoemde groep vergelyk word met dié van persone wat reeds mammakarsinoom het (tabelle 31 tot 39).

2. Daar bestaan geen statisties betekenisvolle verskille tussen graderings 4 en 5 nie (tabelle 31 tot 39). Dit impliseer dat die veranderinge in die DNA van limfosiete van persone wat mammakarsinoom gehad het, nie betekenisvol verander na chirurgiese verwydering van die tumor nie.

3. Daar bestaan ook 'n statisties betekenisvolle verskil, ten opsigte van vyf veranderlikes, met toenemende ouderdom (tabelle 1 tot 30). Diskriminantanalises het aangetoon dat vier veranderlikes statisties betekenisvol aangewend kan word om te onderskei tussen gesonde kontrolegevalle (groep I) en mammakarsinoomlyers (groep II) (tabelle 40 tot 43).

Toepassing van diskrimineringsformule

Formule A (vir nie-karsinoomgevalle)

$$\begin{aligned} & -1642.065 + 1.154 \text{ (Oud)} + 17.231 \text{ (SCU)} + 32.052 \text{ (Punt)} \\ & + 11.545 \text{ (Spek)} \end{aligned}$$

Formule B (vir karsinoomgevalle)

$$\begin{aligned} & -1512.420 + 0.846 \text{ (Oud)} + 23.557 \text{ (SCU)} + 30.393 \text{ (Punt)} \\ & + 10.740 \text{ (Spek)} \end{aligned}$$

Vir 'n persoon van groep 1 is die algebrafese som van formule A > formule B. Vir 'n persoon van groep 2 is die algebrafese som van formule 2 > formule 1. Hoe nader die algebrafese som van formule A aan dié van formule B beweeg, hoe groter is die risiko vir maligne transformasie. Dit is 'n wiskundige benadering wat gegrond is op die feit dat aantoonbare veranderinge in die DNA van risikogevalle vir mammakarsinoom gevind is en dat hierdie veranderinge nog meer uitgesproke in vrouens word, wat reeds 'n karsinoom ontwikkel het. Dit bied besliste moontlikhede om hoë-risikogevalle vir mammakarsinoom beter te kan identifiseer.

Dié benadering het egter die volgende beperkings:

1) Dit is nie bekend hoe lank dit neem, nadat veranderinge in die DNA aantoonbaar geword het (met behulp van SCU), voordat maligne ontaarding intree nie. Indien dit 'n lang tydsverloop sou wees, sou dit beteken dat 'n persoon vir 'n onbeperkte tyd as "hoë-risikogeval", "gesond" kan bly.

2) Veelvuldige faktore kan tydelike DNA-skades veroorsaak (wat deur die sel se herstelmechanismes gekorrigeer kan word). 'n Eenmalige ondersoek vir DNA-skade (SCU) sou dus misleidend wees.

3) SCU weerspieël nie-spesifieke veranderinge in die DNA-molekuul (nie noodwendig maligne transformasie nie).

4) Daar bestaan enkele benigne toestande wat SCU ook kan verhoog.

Uit bogenoemde blyk dit duidelik dat verdere navorsing op hierdie terrein nodig is, veral wat betref:

- a) Die presiese aard van DNA-veranderinge, wat met maligne transformasie gepaard gaan;
- b) Die tipes veranderinge wat 'n verhoging in SCU tot gevolg het;
- c) 'n Verdere verfyning van ondersoekmetodes/tegnieke, wat in hierdie projek gebruik is.

HOOFSTUK 8

FINALE GEVOLGTREKKINGS

1. Daar bestaan 'n statisties betekenisvolle toename in nie-spesifieke DNA-veranderinge met toenemende ouderdom.
2. Vrouens wat 'n positiewe familiegeskiedenis van mammakarsinoom het, se DNA toon 'n groter mate van onstabiliteit as kontrolegevalle.
3. DNA-veranderinge, soos gemeet aan susterchromatieduitruile en verwante parameters, toon 'n statisties beduidende verhoging in vrouens wat reeds mammakarsinoom ontwikkel het.

Bogenoemde bevindings dui daarop dat die kwantifisering van DNA-veranderinge, mag bydra tot die vroeë identifisering van hoë-risikogevalle vir mammakarsinoom.

BRONNELYS

1. McClintoc, B (1938): The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behaviour of ring-shaped chromosomes. Genetics, 23 : 315
2. Taylor, J H, Woods, P S, Hughes, M L (1957): The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc_Natl_Acad_Sci_USA, 43 : 122
3. Taylor, J H (1958): Sister chromatid exchanges in tritium labeled chromosomes. Genetics, 43 : 515
4. Taylor, J H (1963): The replication and organization of DNA in chromosomes. Taylor J H (Ed), Molecular Genetics, Part I, New York. Academic Press, 1963 : 65
5. Zakharov, A F, Egorina, N A (1972): Differential spiralisation along mammalian mitotic chromosomes. BrdU-revealed differentiation in Chinese hamster chromosomes. Chromosoma, 38 : 341

6. Perry, P, Wolff, S (1974): New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature, 251 : 156
7. Wolff, S, Perry, P (1974): Differential Giemsa staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography. Chromosoma, 48 : 341
8. Kato, H (1974) : Spontaneous sister chromatid exchanges detected by a BrdU-labeling method. Nature, 251 : 70
9. Hayashi, M, Sofuni T & Ishidati, M (1983): An application of Acridine Orange fluorescent staining to the micronucleus test. Mutat_Res, 120 : 241-247
10. Stetka, D G (1982): Sister Chromatid Exchange. (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 99-114
11. Solomon, E, Bobrow, M (1975): Sister chromatid exchanges - a sensitive assay of agents damaging human chromosomes. Mutat_Res, 30 : 273
12. Wolff, S, Morgan, W F (1982): Modulating factors in sister chromatid exchange induction by mutagenic carcinogens. Sister_chromatid_exchange. (Ed) Sand-

berg, A A. Alan R Liss Inc NY : 515-533

13. Wolff, S (1979): Sister Chromatid Exchange : The most sensitive mammalian system for determining the effects of mutagenic carcinogens. (Ed) In Berg, K: Genetic Damage in Man caused by Environmental Agents. Acad_Press NY : 229
14. Latt, S A (1974): Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair, detection by fluorescence and induction by mitomycin-C. Proc Natl_Acad_Sci USA, 71 : 3162
15. Perry, P, Evans, H J (1975): Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange, Nature, 258 : 121-125
16. Wolff, S, Carrano, V (1979): Report on the workshop on the utility of sister chromatid exchange. Mutat Res, 64 : 53-56
17. Carrano, A V, Thompson, L H, Lindl, P A & Minkler, J L (1978): Sister chromatid exchange as an indicator of mutagenesis. Nature, 271 : 551-553
18. Sobels, F H (1985): Comprehensive exercise in comparative mutagenesis with exciting outcome, or how good are mutation assays in predicting carcino-

- gens. Mutat_Res, 147 : 1-4
19. Lasne, E, Gu Z W, Venegas, W & Chouroulinkov, I (1984): The in_vitro micronucleus assay for detection of cytogenetic effects induced by mutagen carcinogens : Comparison with the in_vitro sister chromatid exchange assay. Mutat_Res, 130 : 273-282
 20. Sandberg, A A (1982): Sister Chromatid Exchange in Human States. Sister_chromatid_exchange, Alan R Liss Inc NY : 619-651
 21. Goyanes-Villaescusa, V J, Ugarte, M, Vazquez, A (1977): Sister chromatid exchange in babies treated by phototherapy. Lancet_I : 1084-1085
 22. Hatcher, N H, Risenberg, H M, Powers, M M, Hook, E B (1979): Sister chromatid exchange and phototherapy. Mutat_Res, 640 : 401-403
 23. Elbling, L & Colot, M (1985): A method for analysing sister chromatid exchange in mouse preimplantation embryos. Mutat_Res, 147 : 23-28
 24. Kaina, B (1985): The inter relationship between SCE induction, cell survival, mutagenesis, aberration formation and DNA synthesis inhibition in V79 cells treated with N-methyl-N-nitrosourea and N--methyl-N-

- nitro-N-nitrosoquanidine. Mutat_Res, 142 : 49-54
25. Ames, B N, McCann, J & Yamasaki, E (1975): Carcinogens are mutagens : A simple test system. Mutat_Res, 33 : 27-28
 26. Kalter, H (1975): Some relations between teratogenesis and mutagenesis. Mutat_Res, 33 : 29-36
 27. Nakanishi, Y & Schneider, E L (1979): In_vivo sister chromatid exchange : A sensitive measure of DNA damage. Mutat_Res, 60 : 329-337
 28. Abe, S & Sasaki, M (1982): SCE as an index of mutagenesis and for carcinogenesis. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 461-514
 29. Stetka, D G & Wolff, S (1976): Sister chromatid exchange as an assay for genetic damage induced by mutagens-carcinogens. Mutat_Res, 41 : 343
 30. Natarajan, A T, Tates, A D, Van Buul, P P W, Meijers, M & De Vogel, N (1976): Cytogenetic effects of mutagens/carcinogens after activation in a microsomal system in_vitro. Mutat_Res, 37 : 83-90

31. Latt, S, Schreck, R R, Loveday, K S & Schuler, C F (1980): In_vitro and in_vivo analysis of sister chromatid exchange. Pharmacol_Rev, 30 : 501
32. Popescu, N C & Di Paolo, J A (1982): The relevance of sister chromatid exchange to the induction of neoplastic cell transformation. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 425-460
33. Shiraishi, Y (1982): Effects of caffeine and chemical agents on SCE. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 395-421
34. Wolff, S, Bodycote, J & Painter, R B (1974): Sister chromatid exchanges induced in Chinese hamster cells by UV irradiation of different stages of the cell cycle : The necessity for cells to pass through S. Mutat_Res, 25 : 73-81
35. Singh, B & Gupta, R S (1983): Mutagenic responses on thirteen anticancer drugs on mutation induction at multiple genetic loci and on sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells. Cancer Res, 43 : 577-584

36. Ghidoni, A, Privitera, E, Raimondi, E, Rovini, D, Illeni, M T & Cascinelli, N (1983): Malignant melanoma: sister chromatid exchange analysis in three families. Cancer genet and cytogenet, 9 : 347-354
37. German J (1974): Bloom's syndrome II - The prototype of human genetic disorders predisposing to chromosome instability and cancer. Chromosomes and cancer, (Ed) German, J. John Wiley & Sons NY : 601-617
38. Chaganti, R S K, Schönberg, S & German, J (1974): A manyfold increase in sister chromatid exchanges in Bloom's syndrome lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA, 71 : 4508-4512
39. Rosner, F & Lee, S L (1972): Down's syndrome and acute leukemia : Mieloblastic or lymphoblastic leukemia. Report of 43 cases and review of literature. Am J Med, 53 : 203-218
40. Major, J, Szende, B, Lapis, K & Thész, Z (1985): Increased SCE inducibility by low doses of methylcholanthrene in lymphocytes obtained from patients with Down's disease. Mutat Res, 149 : 51-55
41. Husum, B, Wulf, H & Niebuhr, E (1981): Sister chromatid exchanges in lymphocytes in women with cancer of

- the breast. Mutat_Res, 85 : 357-362
42. Livingston, G K, Cannon, L A, Bishop, D T, Johnson, P & Fineman, R M (1983): Sister chromatid exchange : Variation by age, sex, smoking and breast cancer status. Cancer_Genet_&_Cytogenet, 9 : 3 (289)
43. Fornace, A J, Nagasawa, H & Little, J B (1980): Relationship of DNA repair to chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and survival during liquid-holding recovery in X-irradiated mammalian cells. Mutat_Res, 70 : 323-336
44. Cole, R J, Cole, J, Henderson, L, Taylor, N A, Arlett, C F & Regan, T (1983): Short-term tests for transplacentally active carcinogens. Mutat_Res, 113 : 61-75
45. Brögger, A (1982): Application of SCE to public health. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 655-673
46. Manoharan, K & Banerjee, M R (1985): Measurement of chemical carcinogen induced sister chromatid exchanges in a whole organ in_vitro. Mutat_Res, 147 : 165-169

47. Popescu, N C, Amsbaugh, S C & Di Paolo, J A (1984): Correlation of morphological transformation to sister chromatid exchanges induced by split doses of chemical or physical carcinogens on cultured Syrian hamster cells. Cancer_Res, 44 : 1933-1938
48. Gebhart, E (1981): Sister chromatid exchange (SCE) and structural chromosome aberration in mutagenicity testing. Hum_Genet, 58 : 235-254
49. Escalza, P, Cortes, F & Schvartzman, J B (1985): Induction of sister chromatid exchanges (SCE) by 5-fluorodeoxyuridine. Mutat_Res, 151 : 77-82
50. Painter, R B (1980): A replication model for sister chromatid exchange. Mutat_Res, 70 : 337
51. De Weerd-Kastelein, E A, Keyzer, W, Rainaldi, G & Bootsma, D (1977): Induction of sister chromatid exchanges in Xeroderma pigmentosum cells after exposure to ultraviolet light. Mutat_Res, 45 : 253
52. Meyer, B J (1983): Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, HAUM Uitgewers, Pretoria : 4.3
53. Liu, L F, Liu, C C & Alberts, B M (1980): Enzymes that can unknot a topologically knotted DNA molecule

- via a reversible double-strand break. Cell, 19 : 697
54. Hand, R & German, J (1975): A retarded rate of DNA chain growth in Bloom's syndrome. Proc_Natl_Acad_Sci_USA, 72 : 758
55. Schubert, I & Rieger, R (1981): Sister chromatid exchanges and heterochromatin. Hum_Genet, 57 : 119-130
56. Allen, J W (1982): SCE and meiotic crossover exchanges in germ cells. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 297-309
57. Wolff, S, Lindsley, D C & Peacock, W J (1976): Cytological evidence for switches in polarity of chromosomal DNA. Proc_Natl_Acad_Sci_USA, 73 : 877-881
58. Kaina, B (1979): Significance and consequences of differential chromatin condensation in the production of chromosome structural changes. Biol_Zbl, 98 : 129-152
59. Kato, H (1979): Preferential occurrence of sister chromatid exchanges at heterochromatin-euchromatin junctions in the wallaby and hamster chromosomes. Chromosoma, 74 : 307-316

60. Dolfini, S F & Cadirola, S (1981): Relationship between sister chromatid exchanges and DNA replication in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Chromosoma, 83 : 81-91
61. Latt, S A (1981): Sister chromatid exchange formation. Ann_Rev_Genet, 15 : 11-55
62. Bianchi, N O & Lorrain, M L (1983): The effects of incorporated tritium and bromodeoxyuridine on the frequency of sister chromatid exchanges. Chromosoma, 88 : 11-15
63. Nishi, Y, Hasegawa, M M, Inui, N, Ikegami, S & Yamada, M (1983): Effect of post-treatment of aphidicolin - a specific inhibitor of DNA polymerase and on sister chromatid exchanges induced by ethyl methane-sulfonate. Mutat_Res, 103 : 155-159
64. Cortés, F, Escalza, P, Rodríguez-Higuera, J M & Munos-García, J (1983): Frequency and distribution of spontaneous and induced SCE's in BrdU-substituted satelized chromosomes of *Allium cepa*. Mutat_Res, 109 : 249-257

65. Kano, Y & Fujiwara, Y (1982): Higher inductions of twin and single sister chromatid exchanges by cross-linking agents in Fanconi's anemia cells. Hum Genet, 60 : 233-238
66. Ehling, U H, Averbeck, D, Cerutti, P A, Friedman, J, Greim, H, Kolbye, A C & Mendelsohn, M L (1983): Review of the evidence for the presence or absence of thresholds in the induction of genetic effects by genotoxic chemicals. Mutat Res, 123 : 281-341
67. Ray-Chandhuri, R, Currens, M & Iype, P T (1982): Enhancement of sister chromatid exchanges by tumor promoters. Br J Cancer, 45 : 769
68. Kanda, N (1982): Spontaneous sister chromatid exchange in vivo. Sister chromatid exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 279-296
69. Lindblad, A & Lambert, Bo (1981): Relation between sister chromatid exchange, cell proliferation and proportion of B and T cells in human lymphocyte cultures. Hum Genet, 57 : 31-34
70. Santesson, B, Lindahl-Kiessling, K & Mattsson, A (1979): SCE in B and T lymphocytes. Clin Genet,

71. Nowell, P C (1960): Phytohemagglutinin : An initiator of mitosis in normal human leucocytes. Cancer Res, 20 : 462
72. Cheng, M, Conner, M K & Alarie, Y (1981): Multicellular in_vivo sister chromatid exchanges induced by urethane. Mut_Res, 88 : 223-231
73. Sozzi, G, Dragani, T A, Presutti, M & Della Porta, G (1985): Kinetics of sister chromatid exchange induction by different carcinogens in C57BL/6J and DBA/2 mice. Mutat_Res, 156 : 177-180
74. Erxson, G L, Wilmer, J L & Kligerman, A D (1983): Analyses of sister chromatid exchange and cell-cycle kinetics in mouse T and B lymphocytes from peripheral blood cultures. Mutat_Res, 109 : 271-281 .
75. O'Neill, J P, Heartlein, M W & Preston, R J (1983): Sister chromatid exchanges and gene mutations are induced by the replication of 5-bromo- and 5-chloro-deoxyuridine substituted DNA. Mutat_Res, 109 : 259-270

76. Wilmer, J L, Erexson, G L & Kligerman, A D (1983): Implications of an elevated sister chromatid exchange frequency in rat lymphocytes cultured in the absence of erythrocytes. Mutat_Res, 109 : 231-248
77. Parkes, D J G, Scott, D & Stewart, A (1985): Changes in spontaneous SCE frequencies as a function of sampling time in lymphocytes from normal donors and cancer patients. Mutat_Res, 147 : 113-122
78. Parkes, D J G (1982): The cytogenetic effects of anticancer agents. PhD-thesis, Victoria University, Manchester.
79. Allen, J W & Latt, S A (1976): Analysis of sister chromatid exchange formation in_vivo in mouse spermatogonia as a new test system for environmental mutagens. Nature_(London), 260 : 449-451
80. Allen, J W, Schuler, C F, Mendes, R W & Latt, S A (1977): A simplified technique for in_vivo analysis of sister chromatid exchanges using 5-Bromo-deoxyuridine tablets. Cytogen_Cell_Genet, 18 : 231-237

81. Bloom, S E & Hsu, T C (1975): Differential fluorescence of sister chromatids in chicken embryos exposed to 5-Bromo-deoxyuridine. Chromosoma, 51 : 261-267
82. Vogel, W & Bauknecht, T (1976): Differential chromatid staining by in_vivo treatment as a mutagenicity test system. Nature_(London), 260 : 448-449
83. Yew, F H & Johnson, R T (1978): Human B and T lymphocytes differ in UV-induced repair capacity. Exp_Cell_Res, 113 : 227-231
84. Schneider, E L & Lewis, J (1982): Comparison of in_vivo and in_vitro SCE induction. Mutat_Res, 106 : 85-90
85. Kanda, N & Kato, H (1979): In_vivo sister chromatid exchanges in cells of various organs of the mouse. Chromosoma, 74 : 299
86. Knuutila, S, Harkki, A, Rossi, L, Westermarck, T, Lappalainen, L & Rantanen, P (1979): In_vivo method of sister chromatid exchanges in Chinese hamster foetal and bone marrow cells. Hereditas, 91 : 23
87. Tice, R, Chaillet, J & Schneider, E L (1976): Demonstration of spontaneous sister chromatid exchanges

in_vivo. Exp_Cell_Res, 102 : 426

88. Conner, M K, Alarie, Y & Drombroske, R L (1979): Sister chromatid exchange in murine alveolar macrophages, regenerating liver and bone marrow cells - a simultaneous multicellular in_vivo essay. Chromosoma, 74 : 51
89. Schreck, R R, Paika, I J & Latt, S A (1979): In_vivo induction of sister chromatid exchanges in liver and marrow cells by drugs requiring metabolic activation. Mutat_Res, 64 : 315
90. Kram, D, Bynum, G D, Senula, G C & Schneider, E L (1979): In utero sister chromatid exchange analysis for detection of placental mutagens. Nature, 279 : 531
91. Barrett, H W & West, R A (1956): Dehalogenation of substituted pyrimidines in_vivo. J_Am_Chem_Soc, 78 : 1612
92. Kriss, J F & Revész, L (1962): The distribution and fate of bromodeoxyuridine and bromodeoxycytidine in the mouse and rat. Cancer_Res, 22 : 254

93. Allen, J W & Latt, S A (1976): In_vivo BrdU-33258 Hoechst analysis of DNA replication kinetics and sister chromatid exchange formation in mouse somatic and meiotic cells. Chromosoma, 58 : 325
94. Pera, F & Mattias, P (1976): Labelling of DNA and differential sister chromatid staining after BrdU treatment in_viv. Chromosoma, 57 : 13
95. Vogel, W & Bauknecht, T (1976): Differential chromatid staining by in_vivo treatment as a mutagenicity test system. Nature, 260 : 448
96. Schneider, E L, Chaillet, J R & Tice, R R (1976): In vivo BrdU labeling of mammalian chromosomes. Exp Cell_Res, 100 : 396
97. Schneider, E L, Sternberg, H & Tice, R R (1977): In vivo analysis of cellular replication. Proc_Natl Acad_Sci USA, 74 : 2041
98. Allan, J W, Schuler, C F, Mendes, R W & Latt, S A (1977): A simplified technique for in_vivo analysis of sister chromatid exchanges using 5-Bromodeoxyuridine tablets. Cytogenet_Cell_Genet, 18 : 231

99. Allen, J W, Shuler, C F & Latt, S A (1978): Bromodeoxyuridine tablet methodology for in_vivo studies of DNA synthesis. Somatic_Cell_Genet, 4 : 393
100. Kligerman, A D & Bloom, S E (1976): Sister chromatid differentiation and exchanges in adult mudminnows (*Umbra lani*) after in_vivo exposure to 5-Bromodeoxyuridine. Chromosoma, 56 : 101
101. Ikushima, T & Wolff, S (1974): Sister chromatid exchanges induced by light flashes to 5-Bromodeoxyuridine and 5-Iododeoxyuridine substituted Chinese hamster chromosomes. Exp_Cell_Res, 87 : 15
102. Schvartzman, J B, Postigo, R & Gutiérrez, C (1979): Analysis of visible light-induced sister chromatid exchanges in 5-Bromodeoxyuridine-substituted chromosomes. Chromosoma, 74 : 317
103. Bradley, M O & Sharkey, N A (1977): Mutagenicity and toxicity of visible fluorescent light to cultured mammalian cells. Nature, 266 : 724
104. Stoien, J D & Wang, R J (1974): Effect of near ultraviolet and visible light on mammalian cells in culture. Formation of toxic photoproducts in tissue culture medium by visible light. Proc_Natl_Acad_Sci

USA, 71 : 3961

105. Wang, R J (1975): Lethal effect of daylight fluorescent light on human cells in tissue culture medium. Photochem Photobiol, 21 : 372
106. Monticone, R E & Schneider, E L (1979): Induction of sister chromatid exchanges in human cells by fluorescent light. Mutat Res, 59 : 215
107. Nixon, B T & Wang, R T (1977): Formation of photoproducts lethal for human cells in culture by daylight and bilirubin light. Photochem Photobiol, 26 : 589
108. Morgan, W F & Crossen, P E (1981): Factors influencing sister chromatid exchange rate in cultured human lymphocytes. Mutat Res, 81 : 395
109. Sharma, T & Das, B C (1981): Culture media and species-related variations in the requirement of 5-Bromodeoxyuridine for differential sister chromatid staining. Mutat Res, 81 : 357
110. Mutchinick, O, Ruz, L & Casas, L (1980): Time of first-generation metaphases. The effect of various culture media and of foetal calf serum in human lym-

phocyte cultures. Mutat_Res, 72 : 127

111. Obe, G, Beek, B & Dudin, G (1975): The human leucocyte test system. DNA synthesis and mitosis in PHA-stimulated three day cultures. Humangenetik, 28 : 295
112. Snope, A J & Rary, J M (1979): Cell cycle duration and sister chromatid exchange frequency in cultured human lymphocytes. Mutat_Res, 63 : 345
113. Kato, H & Sandberg, A A (1977): The effect of sera on sister chromatid exchanges in_vitro. Exp_Cell Res, 109 : 445
114. McFee, A F & Sherrill, M N (1981): Mitotic response and sister chromatid exchanges in lymphocytes cultured in sera cultured from different sources. Experientia, 37 : 27
115. Gosh, P K & Nand, R (1979): Reduced frequency of sister chromatid exchanges in human lymphocytes cultured in autologous serum. Hum_Genet, 51 : 167
116. Kato, H (1980): Temperature-dependence of sister chromatid exchange. An implication for its mechanism. Cancer_Genet_Cytogenet, 2 : 61

117. Livingston, G K & Dethlefsen, L A (1977): Effects of hyperthermia and X-irradiation on sister chromatid exchange frequency in Chinese hamster ovary (CHO) cells. Radiat_Res, 70 : 611
118. Speit, G (1980): Effects of temperature on sister chromatid exchanges. Hum_Genet, 55 : 333
119. Crossen, P E (1985): The effect of temperature and cell cycle length on SCE frequency in rat I cells. Mutat_Res, 149 : 101-104
120. Du Frain, R J, McFee, A F, Linkous, S, Jennings, C J & Löwe, K W (1984): In_vitro SCE analysis using bromodeoxyuridine, iododeoxyuridine and chlorodeoxyuridine. Mutat_Res, 139 : 57-60
121. Huberman, E & Heidelberger, C (1974): The mutagenicity to mammalian cells of pyrimidine nucleoside analogues. Mutat_Res, 14 : 130-132
122. San Sebastian, J R, O'Neill, J P & Hsie, A W (1980): Induction of chromosome aberrations, SCE's and specific locus mutations in CHO cells by BrdU. Cytogenet_Cell_Genet, 28 : 47-54

123. Heartlein, M W, O'Neill, J P, Pal, B C & Preston, R J (1982): The induction of specific-locus mutations and sister chromatid exchanges by 5-Bromo and 5-Chloro-deoxyuridine. Mutat_Res, 92 : 411-416
124. O'Neill, J P, Heartlein, M W & Preston, R J (1983): SCE's and gene mutations are induced by the replication of BrdU and CldU-substituted DNA. Mutat_Res, 109 : 259-270
125. Stark, R M & Littlefield, L (1974): Mutagenic effect of BUdR in diploid human fibroblasts. Mutat_Res, 22 : 281-286
126. Penman, B N, Wong, M & Thilly, W G (1976): Mutagenicity of 5-halo-deoxyuridine to diploid human lymphoblasts. Life_Sci, 19 : 563-568
127. Aebersold, P M (1976): Mutagenic mechanism of BrdU in Chinese hamster cells. Mutat_Res, 36 : 357-362
128. Burki, H J & Aebersold, P M (1978): Bromodeoxyuridine induced mutations in synchronous Chinese hamster cells. Genetics, 90 : 311-321

129. Liber, H L, Call, K M, Mascioli, D A & Thilly, W G (1985): Mutational and pseudomutational effects of 5-Bromodeoxyuridine in human lymphoblasts. Mutat Res, 151 : 95-108
130. Heartlein, M W, O'Neill, J P & Preston, R J (1983): SCE induction is proportional to substitution of DNA for thymidine by CldU and BrdU. Mutat_Res, 107 : 103-109
131. Morimoto, K, Sato-Mizuno, M & Koizumi, A (1985): Sister chromatid exchanges and cell-cycle kinetics in human lymphocyte cultures exposed to alkylating mutagens : apparent deformity in dose-response relationships. Mutat_Res, 152, 187-196
132. Wilmer, J L, Erxson, G L & Kligerman, A D (1983): Implications of an elevated sister chromatid exchange in rat lymphocytes cultured in the absence of erythrocytes. Mutat_Res, 109 : 231-248
133. O'Neill, J P, Heartlein, M W & Preston, R J (1983): Sister chromatid exchanges and gene mutations are induced by replication of 5-Bromo- and 5-Chloro-deoxyuridine substituted DNA. Mutat_Res, 109 : 259-270

134. Lamberti, L, Ponzetto, P B & Ardito, G (1983): Cell kinetics and sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes. Mutat_Res, 120 : 193-199
135. Ardito, G, Lamberti, L, Bigatti, P & Stanyon, R (1984): The effect of cell kinetics and harvest time on SCE and NOR associations in *Macaca fuscata* lymphocytes. Cytogenet_Cell_Genet, 36 : 532-536
136. Suzuki, H & Yosida, T H (1983): Frequency of sister chromatid exchanges depending on the amount of 5-Bromodeoxyuridine incorporated into parenteral DNA. Mutat_Res, 111 : 277-282
137. O'Neill, P (1984): Quantification of the induction of SCE due to the replication of unsubstituted and BrdU- or CldU-substituted DNA in CHO cells. Mutat Res, 140 : 21-25
138. Bochkov, N P, Chebotarev, A N, Filippova, T V, Platonova, V I, Stukalov, S V & Debova, G A (1983): Alterations in the baseline sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes culture following a number of all divisions. Mutat_Res, 127 : 149-153

139. Becher, R & Sandberg, A A (1984): Sister chromatid exchange levels and cell cycle time in human bone marrow cells and lymphocytes. Cancer Genet & Cytogenet, 11 : 19-23
140. Stetka, D G & Spahn, M C (1984): SCE are induced by replication of BrdU-substituted DNA-templates, but not by incorporation of BrdU into nascent DNA. Mutat Res, 140 : 33-42
141. Grandberg-Ohman, I, Johansson, S & Hjerpe, A (1980): Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in rats treated with phenacetin, phenazone and caffeine. Mutat Res, 79: 13-18
142. Shafer, D A, Falek, A, Madden, J J, Tadayon, F, Phine, M, Bokos, P J, Kuehnle, J C & Mendelson J (1983): Parallel increases in sister chromatid exchanges at base level and with UV-treatment in human opiate users. Mutat Res, 109 : 73-82
143. Douglas, G R, Bell, R D L, Grant, C E, Wytsma, J M & Bora, K C (1980): Effect of lead chromate on chromosome aberration, sister chromatid exchange and DNA damage in mammalian cells in_vitro. Mutat Res, 77 : 157-163

144. De Raat, W K, Davis, P B & Bakker, G L (1983): Induction of sister chromatid exchanges by alcohol and alcoholic beverages after metabolic activation by rat liver homogenate. Mutat_Res, 124 : 85-90
145. Dulout, F N, Pastori, M C, Olivera, O A, González, M, Loria, D, Matos, E, Sobel, N, De Bujan, E C & Albiano, N (1985): Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. Mutat_Res, 143 : 237-244
146. Chen, H H, Hsueh, J L, Sirrianni, S R & Huang, C C (1981): Induction of sister chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. Mutat_Res, 88 : 307-316
147. Curry, P T, Reed, R N, Martino, R M & Kitchin, R M (1984): Induction of sister chromatid exchanges in vivo in mice by the mycotoxins sterigmatocystin and griseofulvin. Mutat_Res, 137 : 111-115
148. Habedank, M, Ezer, K J, Brüll, D, Kotlarek, F & Stumpf, P (1982): Increased sister chromatid exchanges in epileptic children during long term the-

- rapy with phenytoin. Hum_Genet, 61 : 71-72
149. Cavaglia, A M V, (1980): In_vitro induction of sister chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes by hydralazine. Mutat_Res, 77 : 383-385
150. Singh, B & Gupta, R (1983): Mutagenic responses of thirteen anticancer drugs on mutation induction at multiple genetic loci and on sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells. Cancer_Res, 43 : 577-584
151. Gutiérrez, C, Calvo, A & López-Sáez, J F (1984): BrdUrd-dependent sister chromatid exchanges are increased at high oxygen tension. Mutat_Res, 142 : 213-216
152. Hirsch, B & Cervenka, J (1983): Oxygen tension and sister chromatid exchanges. Mutat_Res, 121 : 67-69
153. Tsuda, H, Kushi, A, Yoshida, D & Goto, F (1981): Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges induced by gaseous nitrogen dioxide in cultured Chinese hamster cells. Mutat_Res, 89 : 303-309

154. Husgafvel-Pursiainen, K, Sorsa, M, Järventaus, H & Norppa, H (1984): Sister chromatid exchanges in lymphocytes of smokers in an experimental study. Mutat Res, 138 : 197-203
155. Livingston, G K & Fineman, R M (1983): Correlation of human lymphocyte SCE frequency with smoking history. Mutat_Res, 119 : 59-64
156. Ghosh, R & Ghosh, P K (1984): Sister chromatid exchanges in betel and tobacco chewers. Mutat_Res, 139, : 79-81
157. Abraham, S K & Franz, J (1983): Induction of sister chromatid exchanges by chemotherapeutic drugs in spermatogonia of mice : Effects of procarbazine, adriamycin, cyclophosphamide and mitomycin-C. Mutat Res, 108 : 373-381
158. Sasaki, M S (1977): Sister chromatid exchange and chromatid interchange as possible manifestation of different DNA repair processes. Nature, 269 : 623-625
159. Wolff, S & Morgan, W F (1982): Modulating factors in sister chromatid exchange induction by mutagenic carcinogens. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sand-

berg, A A. Alan R Liss Inc NY : 515

160. Sasaki, M S (1982): Sister chromatid exchange as a reflection of cellular DNA repair. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 135
161. Ehrenberg, L, Moustacchi, E & Osterman-Golkar S (1983): Dosimetry of genotoxic agents and dose-response relationships of their effects. Mutat-Res, 123 : 121-182
162. Huff, V, Du Frain, R J & Littlefield, G (1982): SCE frequencies in rabbit lymphocytes as a function of time after an acute dose of cyclophosphamide. Mutat Res, 94 : 349-357
163. Butler, M G & Sanger, W G (1981): Increased frequency of sister chromatid exchanges in alcoholics. Mutat-Res, 85 : 71-76
164. Littlefield, L G, Colyer, S P & Du Frain, R J (1983): SCE evaluations in human lymphocytes after G₀ exposure to mitomycin-C. Lack of expression of MMC-induced SCE's in cells that have undergone greater than two in_vitro divisions. Mutat-Res, 107 : 119-130

165. Stoll, C, Oberling, F & Roth, M (1982): Sister chromatid exchange and growth kinetics in chronic myeloid leukemia. Cancer_Res, 42 : 3240-3243
166. Chaganti, R S K, Schönberg, S & German, J (1974): A manifold increase in sister chromatid exchanges in Bloom's syndrome lymphocytes. Proc_Natl_Acad_USA, 71 : 4508-4512
167. Cheng, M, Conner, M K & Alarie, Y (1981): Potency of some carbamates as multiple tissue sister chromatid exchange inducers and comparison with known carcinogenic activities. Cancer_Res, 41 : 4489-4492
168. Gomer, C J, Rucker, N, Banerjee, A & Benedict, W F (1983): Comparison of mutagenicity and induction of sister chromatid exchange in Chinese hamster cells exposed to hematoporphyrin derivative photoradiation, ionizing radiation or ultraviolet radiation. Cancer_Res, 43 : 2622-2627
169. Natarajan, A T, Van Zeeland, A A & Degraasi, F (1982): UV-induced SCE and effects on photoreactivation. Sister_chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 315-325

170. Liebeskind, D R, Bases, R, Mendez, F, Elequin F & Koenigsberg, M (1979): Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound - effects on the DNA and growth pattern of animal cells. Radiology, 131 : 177-184
171. Haupt, M, Martin, N, Simpson, J L, Iqbal, M, Elias S, Dyer A & Sabaggha, R E (1981): Ultrasonic induction of sister chromatid exchanges in human lymphocytes. Hum Genet, 39 : 221-226
172. Miller, M W, Wolff, S, Filly, R, Cox, C & Carstensen, E L (1983): Absence of an effect of diagnostic ultrasound on sister chromatid exchange induction in human lymphocytes in vitro. Mutat Res, 120 : 261-268
173. Crossen, P E & Morgan, W F (1979): The effect of beta radiation on sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Mutat Res, 62 : 125-129
174. Tohda, H, Sugawara, R, Tazawa, J, Tada, M & Oikawa, A (1984): Antagonizing effect of 3-aminoharman on induction of sister chromatid exchanges by mutagens. Mutat Res, 129 : 63-69

175. Morimoto, K, Iijima, S & Koizumi, A (1982): Selenite prevents the induction of sister chromatid exchanges by methyl mercury and mercuric chloride in human whole blood cultures. Mutat_Res, 102 : 183-192
176. Inoue, K, Shibata, T, Kosaka, H, Uosumi, M, Tsuda, S & Abe, T (1985): Induction of sister chromatid exchanges by N-nitrocimetidine in cultured human lymphocytes and its inhibition by chemical compounds. Mutat_Res, 156 : 117-121
177. Painter, R B & Mathur, V (1984): Effect of prior X-irradiation on ultraviolet light induced sister chromatid exchange. Mutat_Res, 139 : 123-126
178. Stella, M, Trevisan, L, Montaldi, A, Zaccaria, G, Rossi, G, Bianchi, V & Levis, A G (1984): Induction of sister chromatid exchanges in human lymphocytes exposed in_vitro and in_vivo to therapeutic ultrasound. Mutat_Res, 138 : 75-85
179. Dozi-Vassiliades, J, Mouralatos, D & Myrtsiotis, A (1983): Induction of sister chromatid exchange in human lymphocytes by vitamin B6. Mutat_Res, 124 : 175-178

180. Tryfiates, G P, Morris, H P & Sonidis, G P (1981): Vitamin B6 and cancer. Anticancer_Res, 1 : 263-268
181. Shamberger, R J, Baugham, F F, Kalchert, C E, Willis, C E & Hoffmann, G C (1973): Carcinogen-induced chromosome breakage decreased by antioxidants. Proc Natl Acad Sci USA, 70 : 1461
182. Parshad, R, Sandford, K K, Jones, G M & Tarone, R E (1978): Fluorescent light induced chromosome damage and its prevention in mouse cells in culture. Proc Natl Acad Sci USA, 75 : 1830-1833
183. Speit, C, Wolff, M & Vogel, V (1980): The SCE inducing capacity of vitamin C : investigations in_vitro and in_vivo. Mutat_Res, 70 : 273-278
184. Galloway, S M & Painter, R B (1979): Vitamin C is positive in the DNA-synthesis inhibition and sister chromatid exchange tests. Mutat_Res, 60 : 321-327
185. Stich, H F, Karmin, J, Koropatnick, J & Lo, L (1976): Mutagenic action of ascorbic acid. Nature (London), 260 : 722-724
186. Stich, H F, Wei, L & Whiting, R F (1977): Enhancement of the chromosome damaging action of ascorbate by transition metals. Cancer_Res, 39 : 4145

187. Bjelke, E A (1975): Dietary vitamin A and human lung cancer. Int_J_Cancer, 15 :561-565
188. Hirayama, T (1979): Diet and cancer. Nutr_Cancer, 1(3) : 67-81
189. Mettlin, C, Graham, S & Swanson, M (1979): Vitamin A and lung cancer. JNCI, 62 : 1435-1438
190. Graham, S, Marshall, J, Mettlin, C, Rzepka, T, Nemoto, T & Byers, T (1982): Diet in the epidemiology of breast cancer. Am_J_Epidemiol, 116 : 68-75
191. Mettlin, C & Graham, S (1979): Dietary risk factors in human bladder cancer. Am_J_Epidemiol, 110 : 255-263
192. Dungel, N & Sigurjonsson, J (1967): Gastric cancer and diet - a pilot study on dietary habits in two districts differing markedly in respect of mortality from gastric cancer. Br_J_Cancer, 21 : 270-276
193. Hormozdiori, H, Day, N, Aramesh, D & Mahboudi, E (1975): Dietary factors and oesophageal cancer in the Caspian littoral of Iran. Cancer_Res, 35 : 3493-3498

194. Pottern, L M, Morris, L E, Blot, W J, Ziegler, R G & Fraumeni, J F (1981): Oesophageal cancer among Black men in Washington DC. Alcohol, tobacco and other risk factors. JNCI, 67 : 777-783
195. Eieri, J G, Corash, L & Hubbard, V S (1983): Medical uses of vitamin E. N_Engl_J_Med, 308 : 1063-1071
196. Shamberger, R J, Corbett, C L, Bearman, K D & Kasten, B L (1979): Antioxidants reduce the mutagenic effect of malonaldehyde and beta propiolactone. Antioxidants and cancer. Mutat_Res, 66 : 349-355
197. Schneider, E L & Gilman, B (1979): Sister chromatid exchange and ageing. The effect of donor age on mutagen-induced sister chromatid exchange in human diploid fibroblasts. Hum_Genet, 46 : 57-63
198. Hedner, K, Högstedt, B, Kolnig, A, Mark-Vendel, E, Strombeck, B & Mitelman, F (1982): Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in relation to age and sex. Hum_Genet, 62 : 305-309
199. Schneider, E L, Bickings, C K & Sternberg, H (1982): Ageing and sister chromatid exchange. Effect of ageing on background SCE in_vivo. Cytogenet_Cell_Genet,

200. Vormittag, W (1983): Effect of donor age and inter- and intrachromosomal distribution of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Gerontology, 29 : 370-376
201. Waksvic, H, Magnus, P & Berg, K (1981): The effects of age, sex and genes on sister chromatid exchange. Clin_Genet, 20 : 449
202. Dunkelberg, H & Krames, J (1984): Sister chromatid exchange in cultured lymphocytes of ewes and their newborn lambs. Mutat_Res, 140 : 117-121
203. Heddle, J A, Lue, C B, Saunders, E F & Benz, R (1978): Sensitivity to five mutagens in Fanconi's anemia as measured by the micronucleus method. Cancer_Res, 38 : 2983
204. Fenech, M & Marley, A (1985): The effect of donor age on spontaneous and induced micronuclei. Mutat_Res, 148 : 99-105
205. Høgstædt, B (1984): Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm. A method for assessment of cytogenetic damage in man. Mutat_Res, 130 : 63-72

206. Murthy, P B K & Prema, K (1979): Sister chromatid exchanges in oral contraceptive users. Mutat_Res, 68 : 149
207. Hill, A & Wolff, S (1982): Increased induction of sister chromatid exchange by diethylstilbestrol in human cultured fibroblasts. Cancer_Res, 42 : 3140
208. Murthy, P B K & Prema, K (1983): Further studies on sister chromatid exchange frequency in users of hormonal contraceptives. Mutat_Res, 119 : 351-354
209. Husum, B, Wulff, H C & Niebuhr, E (1982): Normal sister chromatid exchanges in oral contraceptive users. Mutat_Res, 103 : 161-164
210. Raposa, T (1982): SCE and chemotherapy of non-cancerous and cancerous conditions. Sister_chromatid-exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 579-617
211. Knuutila, S, Maki-Paakkanen, J, Kahkonen, M & Hookanen, G (1978): An increased frequency of chromosomal changes and SCE in cultured blood lymphocytes of 12 subjects vaccinated against smallpox. Hum_Genet, 41 : 89

212. Kucerova, M, Polivkova, Z & Matousek, V (1980): Chromosomal aberrations and SCE in lymphocytes of children revaccinated against smallpox. Mutat_Res, 71 : 263-267
213. Ghosh, P K (1982): Sister chromatid exchange in patients with hepatitis. Mutat_Res, 103 : 303-306
214. Brown, R L & Crossen, P E (1976): Increased incidence of sister chromatid exchanges in Rauscher leukemia virus infected mouse embryo fibroblasts. Exp Cell_Res, 103 : 418-420
215. Nichols, W W, Bradt, C I, Toji, L H, Godley, M & Segawa, M (1978): Induction of sister chromatid exchanges by transformation with Simian virus 40. Cancer_Res, 38 : 906-914
216. Castillo, J, Medina, G & Carnevale, A (1983): Frequency of sister chromatid exchanges in children vaccinated against measles. Mutat_Res, 119 : 65-69
217. Bhatnagar, A, Rani, R & Gosh, P K (1984): Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges (SCE) in peripheral blood lymphocytes of patients suffering from poliomyelitis. Mutat_Res, 141 : 55-58

218. Crossen, P E (1982): Variation in the sensitivity of human lymphocytes to DNA-damaging agents measured by sister chromatid exchange frequency. Hum_Genet, 60 : 17-23
219. Dicken, C H, De Wald, G & Gordon, H (1978): Sister chromatid exchanges in Bloom's syndrome. Arch_Dermatol, 114 : 755-760
220. Ray, J H & German, J (1982): Sister chromatid exchange in the chromosome breakage syndromes. Sister chromatid_exchange, (Ed) Sandberg, A A. Alan R Liss Inc NY : 553-577
221. Oikawa, A, Sakai, S, Horaguchi, K & Tohda, H (1983): Sensitivities of peripheral lymphocytes from healthy humans to induction of sister chromatid exchanges by chemicals. Cancer_Res, 43 : 439-442
222. Morgan, W F & Crossen, P E (1977): The incidence of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. Mutat_Res, 42 : 305-312
223. Major, J, Szende, B, Lapis, K & Thész, Z (1985): Increased SCE inducibility by low doses of methylcholanthrene in lymphocytes obtained from patients with

Down's disease. Mutat_Res, 149 : 51-55

224. Stewart, A, Webb, J & Hewitt, D (1958): A survey of childhood malignancies. Br_Med_J, 1 : 1495-1499
225. Dearfield, K L, Jacobson-Kram, D & Williams, J R (1984): A comparison of sister chromatid exchange frequencies in peripheral lymphocytes and bone marrow cells of Fisher 344 and Sprague-Dawley rats. Cytogenet_Cell_Genet, 38 : 216-220
226. Sutherland, G R, Baker, E, Seshadri, R S & Black, A (1980): Increased sister chromatid exchange in multiple sclerosis. N_Eng_J_Med, 305 : 1126
227. Kurvink, K, Bloomfield, C D & Cervenka, J (1978): Sister chromatid exchange in patients with viral disease. Exp_Cell_Res, 113 : 450-453
228. Knuutila, S, Helminen, E, Vuopio, P & De la Chapelle, A (1978): Increased sister chromatid exchange in megaloblastic anaemia - studies on bone marrow cells and lymphocytes. Hereditas, 89 : 175-181
229. Garbone, P, Barbata, G, Granata, G, Margiotta, G & Caronia, F (1981): Sister chromatid exchange distribution in bone marrow cell chromosomes from patients

- with refractory anemia. Acta_Haematol, 65 : 177-182
230. Darlington, G J, Dutkowski, R & Brown, W T (1981):
Sister chromatid exchange frequencies in progeria and
Werner syndrome patients. Am_J_Hum_Genet, 33 :
762-766
231. Murphy, P B, Bhaskaram, P & Skrikantia, S G (1980):
Sister chromatid exchanges in protein energy malnu-
trition. Hum_Genet, 55 : 405-406
232. Heerema, N A, Palmer, C G & Baehner, R L (1982): Ele-
vated sister chromatid exchange and cell cycle analy-
sis in bone marrow in childhood ALL. Cancer_Genet
Cytogenet, 6 : 323-330
233. Wiencke, J K, Vosika, J, Johnson, P, Wang, N &
Garry, V F (1982): Differential induction of sister
chromatid exchange by chemical carcinogens in lympho-
cytes cultured from patients with solid tumors.
Pharmacology, 24 : 67-73
234. Jung, E G, Luchsinger, P & Bohnert, E (1982): Eleva-
ted sister chromatid exchange (SCE) rate in patients
with sun-induced skin tumors. Arch_Dermatol_Res,
272 : 151-153

235. Sheil, A G R, Mahony, J F & Horvath, J S (1981): Cancer following successful cadaveric donor renal transplantation. Transp_Proc, 13 : 733
236. Kelly, G E & Sheil, A G R (1983): Sister chromatid exchange in lymphocytes from renal transplant recipients with and without cancer. Br_J_Cancer, 48 : 797-801
237. Slavutsky, I, De Vinuesa, M L, Larripa, I, De Pargament, M M & De Salum, S B (1984): Sister chromatid exchange in malignant lymphomas. Cancer_Genet_Cytogenet, 13 : 153-158
238. Otter, M, Palmer, C G & Baehner, R L (1984): Sister chromatid exchange in lymphocytes from patients with acute lymphoblastic leukemia. Hum_Genet, 52 : 185
239. Mitra, A B, Murty, V V V S & Luthra, U K (1982): Sister chromatid exchanges in leukocytes of patients with cancer of the cervix. Hum_Genet, 60 : 214-215
240. Livingston, G K, Cannon, L A, Bishop, D T, Johnson, P & Fineman, R M (1983): Sister chromatid exchange : Variation by age, sex, smoking and breast cancer status. Cancer_Genet_Cytogenet, 9 : 3 (289-299)

241. Banerjee, R, Goldfeder, A & Mitra, J (1982): High frequency of in_vivo sister chromatid exchanges in the bone marrow cells of mice bearing mammary adenocarcinoma dbrB. Cancer_Genet_Cytogenet, 5 : 321-326
242. Manoharan, K & Banerjee, M R (1985): Measurements of chemical carcinogen-induced sister chromatid exchanges in a whole organ in_vitro. Mutat_Res, 147 : 165-169
243. Husum, B, Wulff, H A & Niebuhr, E (1981): Sister chromatid exchanges in lymphocytes in women with cancer of the breast. Mutat_Res, 85 : 357-362
244. Williams, P L & Warwick, R (Ed) (1980): Gray's Anatomy, Churchill Livingstone, London : 22
245. Theron, J J (1979): Die_ultrastruktuur_van_die_sel, Butterworth, Durban : 53
246. McCormick, D L, Burns, F J, Albert, R E (1981): Inhibition of Benzo[a]pyrene induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate. JNCI, 66 : 559-564

247. De Arce, M A (1981): The effect of donor sex and age on the number of sister chromatid exchanges in human lymphocytes growing in_vitro. Hum_Genet, 57 : 83-85
248. Das, B C & Sharma, T (1983): Influence of age on the frequency of sister chromatid exchanges and X-ray induced chromosome aberrations in muntjacs. Mutat Res, 109 : 53-63

KORT OPSOMMING VAN BEVINDINGS

DNA in die chromosome van selle, beheer belangrike aktiwiteite, soos selgroei, seldifferensiasie en sinteseprosesse.

Enige versteuring van die integriteit van DNA, kan wanfunksies tot gevolg hê en kan ook die risiko vir maligne transformasie van die sel verhoog.

In hierdie projek is daar gepoog om veranderinge wat in die DNA-molekuul ontstaan, te kwantifiseer.

Susterchromatieduitruile en SCU-verwante bepalinge, wat almal verband hou met die stabiliteit en integriteit van die DNA-molekuul, is op gekweekte T-limfosiete van 224 vroulike persone, wat soos volg ingedeel is, uitgevoer:

- a) Normale, gesonde vrouens van verskillende ouderdomsgroepe, wat geen familiegeskiedenis van mammakarsinoom het nie.
- b) Normale, gesonde vrouens wat 'n positiewe familiegeskiedenis van mammakarsinoom het.

c) Vroulike pasiënte, wat bevestigde vroeë mammakarsinoom het.

Statistiese ontledings (regressie-, variansie- en diskriminantanalises) op die data wat uit die ondersoeke verkry is, toon dat betekenisvolle verskille ten opsigte van vier veranderlikes, tussen die verskillende ouderdomsgroepe, asook tussen die verskillende drie groepe, soos hierbo aangedui, bestaan. Hieruit kan die volgende gevolgtrekkings gemaak word:

1. Onstabiliteit en nie-spesifieke veranderinge neem toe in die DNA van selle, met toenemende ouderdom.
2. Vrouens wat 'n positiewe familiegeskiedenis van mammakarsinoom het, toon 'n groter mate van DNA-onstabiliteit as kontrolegevalle.
3. Vrouens wat mammakarsinoom ontwikkel het, toon 'n statisties betekenisvolle toename in DNA-veranderinge.

Bogenoemde bevindings dui daarop dat die kwantifisering van DNA-veranderinge kan bydra tot die vroeë identifisering van hoë-risikogevalle vir mammakarsinoom.

SHORT SUMMARY OF RESULTS

DNA in cell chromosomes control important activities such as cell growth, cell differentiation and processes of synthesis.

Any alteration in DNA integrity could lead to cellular malfunctioning and could also increase the risk of malignant transformation of the cell. In this investigation an effort was made to quantify changes that might occur in the DNA molecule.

Sister chromatid exchanges and SCE relevant determinations, related to the stability and integrity of the DNA molecule, were performed on cultured T-lymphocytes of 224 females classified as follows:

- a) Normal, healthy females of varying age groups, with no family history of mammary carcinoma.
- b) Normal, healthy females with a positive family history of mammary carcinoma.
- c) Female patients with proven early mammary carcinoma.

Statistical analyses (regression, variance and discriminant analysis) on data obtained in these investigations, indicate that significant differences in respect of four variables exist between the various age groups, as well as between the abovementioned three groups:

The following conclusions can be drawn:

1. Instability and non specific changes in the DNA of cells increase with increasing age.
2. Females with a positive family history of mammary carcinoma, show a greater degree of DNA instability than controls.
3. Females who have developed mammary carcinoma reveal a significant increase in DNA changes.

The abovementioned findings would suggest that quantification of DNA changes could contribute to the early identification of high risk cases for breast cancer.