

CYTOGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE JAHRESZEITLICHER SCHWANKUNG DER SPONTANEN CHROMOSOMENABERRATIONSRATE BEIM MENSCHEN

B.R. DEININGER, H.-D. ROTT

SUMMARY

Monthly chromosomal analyses have been carried out, from December 1971 to November 1972, on 4 male subjects aged 22 to 32. Over a total of 4 710 mitoses examined, the rate of aberrant cells (including gaps) was of 9.1% and there was no difference among individual yearly mean values. The average mitotic index, evaluated on 48 cultures, was of approximately 55%. Significant differences ($P < 0.025$) have been found among individual yearly mean values (40-69%). No seasonal increase of aberrations has been found; however, 12 of the 16 tetraploid cells were found in the winter months. In all subjects, the mitotic index reached its maximum in April-June ($P < 0.001$). The mitotic index and the percentage of aberrant cells were not shown to be correlated.

EINLEITUNG

Auf dem 4. Internationalen Kongress für Humangenetik in Paris (1971) berichteten Littlefield u. Mitarbeiter über Chromosomenuntersuchungen zur Frage der Aberrationsauslösung durch Antikonzeptiva. In diesem Zusammenhang erwähnten die Autoren, daß die durchschnittliche Bruchrate im Jahresablauf schwankte, wobei die höchsten Werte im späten Frühling und im Sommer beobachtet wurden. Während Querschnittsuntersuchungen zur spontanen Aberrationsrate der Chromosomen in größerer Zahl vorliegen (Mouriquand et al. 1967, Lubs u. Samuelson 1967, Makino et al. 1968, Meist 1971, Zankl u. Zang 1971, Bochkov 1972, Hook et al. 1972, Patil et al. 1972) ist dies unseres Wissens die einzige bisher durchgeführte Längsschnittuntersuchung an einem Kontrollkollektiv.

Wir haben daraufhin bei vier gesunden Personen über ein Jahr in monatlichen Abständen die spontane Aberrationsrate und den Mitose-Index bestimmt. Dabei sollte festgestellt werden,

- 1) ob die Aberrationsrate und die Teilungsaktivität der Zellen Jahresschwankungen unterliegen;
- 2) ob banale Infekte die Aberrationsrate zu beeinflussen vermögen, und
- 3) ob Zusammenhänge zwischen Aberrationsrate und Teilungsaktivität bestehen.

PROBANDENAUSWAHL UND METHODE

Probanden waren vier klinisch gesunde, männliche Institutsangehörige im Alter zwischen 22 und 32 Jahren, bei denen in der Zeit von Dezember 1971 bis November 1972 in monatlichen Abständen Venenblut für eine Chromosomenanalyse entnommen wurde.

Die Kulturen wurden sämtlich nach der üblichen, etwas abgewandelten Methode nach Moorhead et al. (1960) angesetzt. Die Kulturdauer betrug 72 h, zwei Stunden vor dem Aufbereiten wurde Colcemid zugesetzt. Gefärbt wurde mit Orcein-Eisessig. Es wurden pro Kultur jeweils 100 Metaphaseplatten auf numerische und strukturelle Aberrationen ausgewertet.

Die Klassifikation der verschiedenen Aberrationen erfolgte nach Gebhart (1970, 1971), wobei zwischen folgenden Aberrationstypen unterschieden wurde:

- 1) Chromatid- und Isochromatidgaps (G' und G'');
- 2) Chromatid- und Isochromatidbrüche (B' und B''), u.
- 3) Austauschereignisse auf chromatidaler und chromosomaler Basis (E' und E'').

Minutes, *double minutes* und azentrische Fragmente wurden als Bruchereignisse registriert.

Außerdem wurde jeweils der Mitose-Index bestimmt (Anteil der in Teilung befindlichen auf 1 000 ausgezählte Zellen).

ERGEBNISSE

Jahresdurchschnittswerte

Insgesamt wurden 4 710 Mitosen aus 48 Kulturen ausgewertet (vgl. Tabelle). Dabei lag der Anteil aberranter Zellen (unter Berücksichtigung der Gaps) bei 9,1%, $s = 5,1$. Bei ausschließlicher Berücksichtigung der Brüche und Austauschereignisse reduzierte sich dieser Wert auf 3,1%, $s = 10,3$. Individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden ergaben sich für diese Werte nicht.

Bei der Bestimmung des Mitose-Indexes wurde ein Gesamtdurchschnittswert von 55‰, $s = 35$ gefunden. Dabei schwankten die Durchschnittswerte der einzelnen Probanden zwischen 40‰ und 69‰. Diese Unterschiede ließen sich statistisch sichern (χ^2 Test, $p < 0,025$).

TABELLE

HÄUFIGKEITEN DER VERSCHIEDENEN ABERRATIONSTYPEN AUS JEWEILS 12 ÜBER 1 JAHR VERTEILTEN CHROMOSOMENANALYSEN AUS LYMPHOZYTENKULTUREN VON 4 GESUNDEN, MÄNNLICHEN PROBANDEN

Proband	Ausgewertete Mitosen	Gestörte Mitosen	Aberrationstypen						Tetraploide Zellen
			G'	G''	B'	B''	E'	E''	
W.H.	1 110	105 (9,5%)	85	7	23	3	0	0	2
B.D.	1 200	104 (8,7%)	60	15	26	13	0	0	6
H.R.	1 200	120 (10,0%)	78	12	33	12	0	2	3
W.D.	1 200	100 (8,3%)	70	7	29	7	0	0	5
Gesamt	4 710	429 (9,1%)	293	41	111	35	0	2	16 (0,3%)

Jahreslängsschnittbeobachtung

ANTEIL ABERRANTER ZELLEN

Der Anteil aberranter Metaphasen in den verschiedenen Monaten und bei den einzelnen Probanden ist in Abb. 1a dargestellt. Die Werte streuten weitgehend unabhängig zwischen

1% und 24%. Dabei fiel auf, daß in drei Fällen ein Anstieg des Anteils aberranter Zellen dann beobachtet wurde, wenn ein Infekt der oberen Luftwege vorgelegen hatte. Eine Zusammenfassung der Befunde der einzelnen Probanden gibt Abb. 1b. Es war der Anteil aberranter Zellen in den Wintermonaten gegenüber den Sommermonaten leicht erhöht, dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht zu sichern. Auch bei Einteilung des Jahres in drei Zeiträume zu vier Monaten wie sie von Littlefield u. Goh (1973) vorgenommen worden war, ergaben sich im Gegensatz zu den genannten Autoren keine sicheren saisonbedingten Unterschiede.

Beim Vergleich der insgesamt beobachteten Häufigkeiten der Gaps und Brüche in den einzelnen Monaten (Abb. 1c) wurde ein weitgehend gleichartiges Verhalten beobachtet.

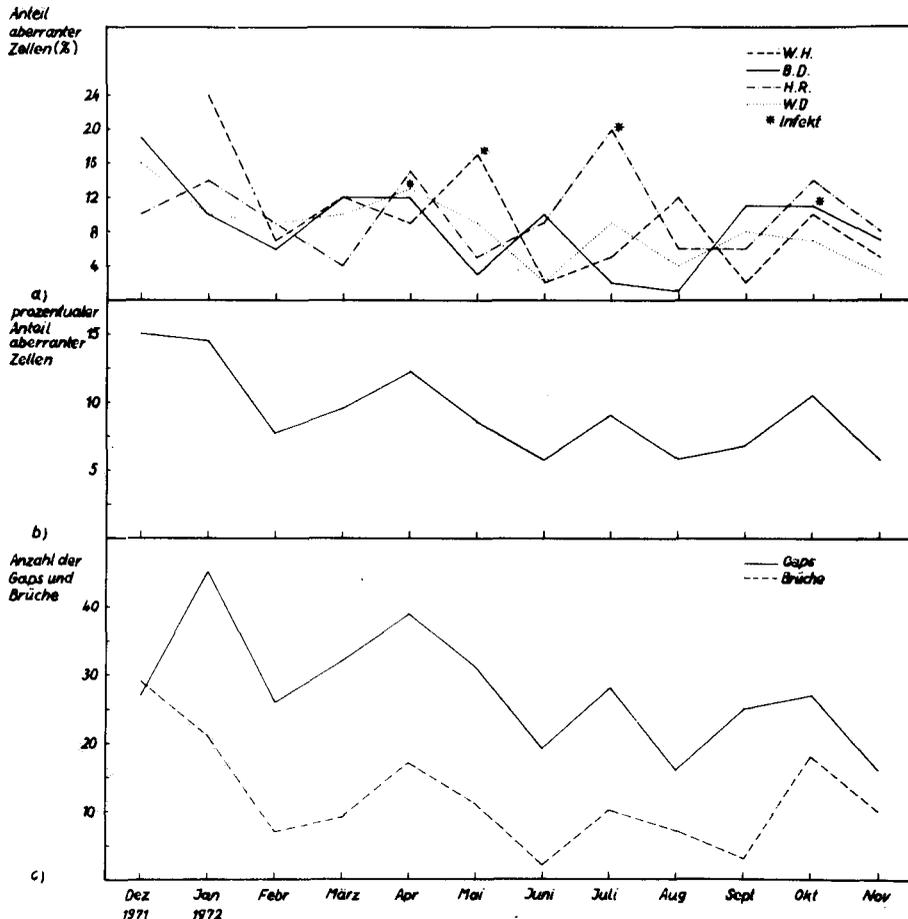


ABB. 1. Cytogenetische Befunde in den einzelnen Monaten des Untersuchungszeitraums: a) Prozentualer Anteil aberranter Zellen der einzelnen Probanden. b) Prozentualer Anteil aberranter Zellen aller Probanden (Mittelwerte aus Abb. 1a). c) Summe der Gaps und Brüche aller Probanden.

Anzahl der beobachteten tetraploiden Zellen

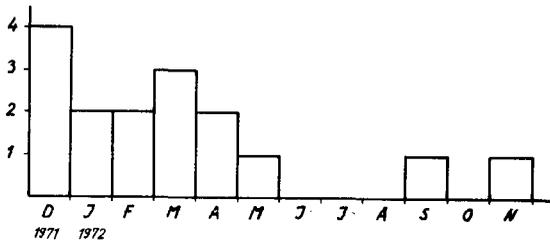


ABB. 2. Verteilung der insgesamt beobachteten tetraploiden Zellen auf die einzelnen Monate des Untersuchungszeitraums.

Mitose Index (%)

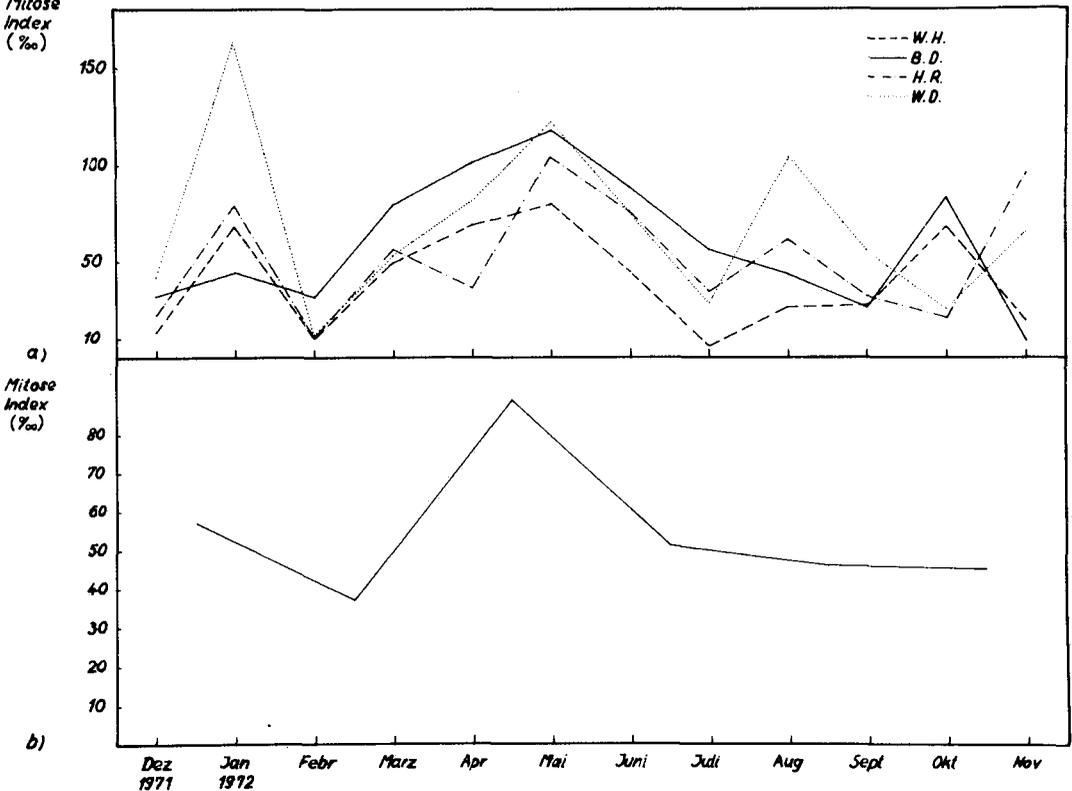


ABB. 3. a) Mitose-Index (%) der einzelnen Probanden in den verschiedenen Monaten des Untersuchungszeitraums. b) Mittelwerte aus Abb. 3a unter Zusammenfassung von jeweils 2 Monaten zu einer Klasse.

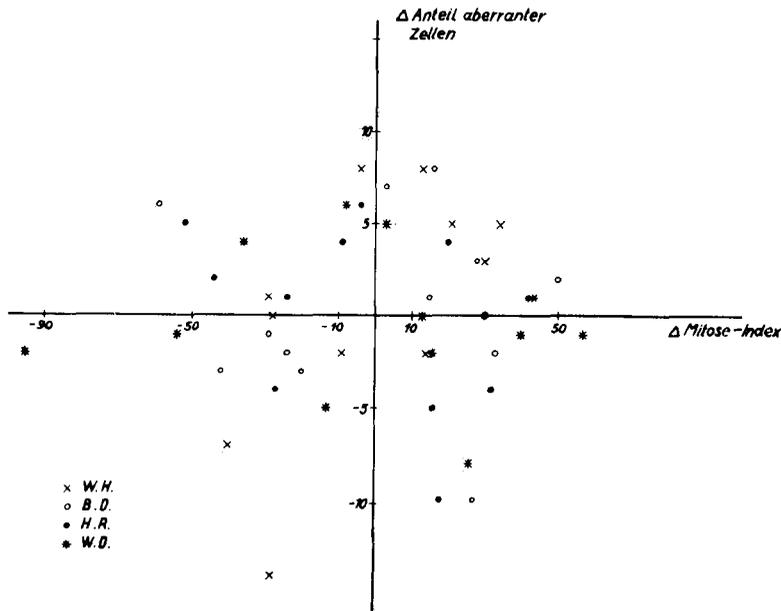


ABB. 4. Abszisse: Abweichungen des Mitose-Index ($\%$) vom individuellen Jahresmittelwert. Ordinate: Abweichungen des Anteils aberranter Zellen ($\%$) vom individuellen Jahresmittelwert.

Dieser Befund stützt die Ansicht von Gebhart (1971), der Gaps nicht für einen unspezifischen Effekt, sondern für eine ebenso spezifische Reaktion der Chromosomen auf mutagene Einflüsse hält wie Brüche.

TETRAPLOIDE ZELLEN

Besonders auffällig war die Verteilung der tetraploiden Zellen auf die verschiedenen Monate (Abb. 2). Von 16 insgesamt beobachteten tetraploiden Zellen wurden 12 in den Wintermonaten (Oktober bis März) gefunden, in den Sommermonaten (April bis September) dagegen lediglich vier.

MITOSE-INDEX

Die einzelnen Mitose-Indizes in den verschiedenen Monaten sind in Abb. 3a aufgetragen. Dabei fällt auf, daß die Werte aller Probanden ab Februar ansteigen, im Mai ein Maximum erreichen, dann bis Juli abfallen, um für den Rest des Jahres weitgehend unabhängig zu streuen.

Wenn man die Werte der einzelnen Probanden mittelt und außerdem die Ergebnisse von jeweils zwei Monaten zu einer Klasse zusammenfaßt, um eventuelle Unregelmäßigkeiten im

Kulturansatz auszugleichen, so erhält man die Kurve der Abb. 3b. Auch hier zeigt sich noch deutlich die erhöhte Zellteilungsaktivität in den Frühlingsmonaten. Diese Unterschiede sind hoch signifikant (χ^2 Test, $p < 0,001$).

ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DEM ANTEIL ABERRANTER ZELLEN UND DEM MITOSE-INDEX

Um zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Anteil aberranter Zellen und dem Mitose-Index besteht, wurden in Abb. 4 diese beiden Parameter gegeneinander aufgetragen. Wegen einer möglichen Heterogenität des Materials (4 verschiedene Probanden) wurden dabei nicht die absoluten Werte, sondern die Differenzen der jeweiligen Monatswerte von den individuellen Jahresmittelwerten als Wertepaare eingesetzt. Eine Korrelation zwischen diesen Größen wurde dabei nicht gefunden.

DISKUSSION

Aufgrund der vorliegenden Untersuchung kann zu den in der Einleitung gestellten Fragen wie folgt Stellung genommen werden.

Zu 1: Bei den eigenen Ergebnissen ergab sich im Gegensatz zu den Befunden von Littlefield und Goh (1973) keine erhöhte Aberrationsrate in den frühen Sommermonaten. Statt dessen war der Anteil gestörter Mitosen in den Wintermonaten leicht, jedoch nicht signifikant erhöht. Dagegen fiel auf, daß lediglich ein Viertel aller beobachteten tetraploiden Zellen in den Sommermonaten, drei Viertel dagegen im Winter gefunden wurden.

Für den Mitose-Index ergab sich bei allen Probanden ein deutliches Maximum in den Monaten April bis Juni. Ob hier allerdings eine echte Abhängigkeit von der Jahreszeit vorliegt, oder ob andere biologische oder meteorologische Einflüsse zu dieser Zeit eine Rolle gespielt haben, die alle Probanden betrafen, könnte erst nach weiteren Jahreslängsschnittsuntersuchungen endgültig entschieden werden.

Zu 2: Bei der vorliegenden Untersuchung wurde bei zwei von insgesamt vier klinisch manifesten Infekten der oberen Luftwege ein deutlicher Anstieg der Aberrationsrate beobachtet. Da in diesen beiden Fällen keinerlei Therapie durchgeführt wurde, bei der eine medikamentöse Aberrationsauslösung angenommen werden kann, darf ein Zusammenhang zwischen dem Infekt und der erhöhten Aberrationsrate angenommen werden, wie er von Littlefield und Goh ebenfalls beobachtet wurde.

Eine solche Aberrationsauslösung scheint aber andererseits nicht obligat zu sein, da sowohl bei der eigenen Untersuchung wie auch bei den Ergebnissen von Littlefield und Goh Infekte beobachtet wurden, die nicht mit einer erhöhten Aberrationsrate einhergingen.

Zu 3: Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Aberrationsrate und der Teilungsaktivität der Zellen, ausgedrückt im Mitose-Index, konnte für die untersuchten Probanden und für den Untersuchungszeitraum sicher ausgeschlossen werden.

LITERATUR

- Bochkov N.P. 1972. Spontaneous chromosome aberrations in human somatic cells. *Humangenetik*, 16: 159-164.
- Gebhart E. 1970. The treatment of human chromosomes in vitro: results. In: F. Vogel and G. Röhrborn: *Chemical Mutagenesis in Mammals and Man*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag.
- Gebhart E. 1971. Experimentelle Beiträge zum Problem der lokalen Achromasien (Gaps). *Humangenetik*, 13: 98-107.
- Hook E.B., Healy K., Powers M.L., Hatcher N.H. 1972. A pilot screening study of chromosome breakage in cultured blood cells from newborn infants. *Mutat. Res.*, 16: 428-430.
- Littlefield L.G., Goh K.-O. 1973. Cytogenetic studies in control men and women. I. Variations in aberration frequencies in 29 709 metaphases from 305 cultures obtained over a three-year period. *Cytogenet. Cell Genet.*, 12: 17-34.
- Littlefield L.G., Goh K.-O., Klepper M.B., Joiner E.E. 1971. Chromosome breakages in women taking oral contraceptives: a two-year study. 4th Int. Congr. Hum. Genet., Paris 1971.
- Lubs H.A., Samuelson J. 1967. Chromosome abnormalities in lymphocytes from normal human subjects. A study of 3 720 cells. *Cytogenetics*, 6: 402-411.
- Makino S., Awa A.A., Sasaki M. 1968. Chromosome studies in normal human subjects. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 155: 679-694.
- Meist H. 1971. Strukturelle Chromosomenaberrationen in den Lymphozyten gesunder Probanden unter dem Einfluß verschiedener Kulturbedingungen. *Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma)*, 20: 174-188.
- Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. 1960. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 20: 613-616.
- Mouriquand C., Gilly C., Patet J., Jalbert P. 1967. Étude de 1 000 caryotypes chez des sujets non irradiés. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 161: 341-347.
- Patil S.R., Ruddle F.H., Lubs H.A. 1972. The lymphocyte as a dosimeter: comparison of somatic chromosome aberrations in 522 newborn infants and 602 mothers. *Humangenetik*, 14: 306-313.
- Zankl H., Zang K.D. 1971. Structural variability of the normal human karyotype. *Humangenetik*, 13: 160-162.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden bei 4 gesunden Männern im Alter zwischen 22 und 32 Jahren in monatlichen Abständen die Chromosomen aus Lymphozytenkulturen auf numerische und strukturelle Chromosomenaberrationen untersucht und der Mitose-Index bestimmt. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von Dezember 1971 bis November 1972.

Bei insgesamt 4 710 ausgewerteten Mitosen ergab sich ein Anteil aberranter Zellen (einschließlich Gaps) von 9,1%. Individuelle Unterschiede für die einzelnen Jahresmittelwerte der Probanden waren nicht vorhanden. Der Mittelwert der Mitose-Indizes aus 48 Lymphozytenkulturen lag bei 55%. Für die individuellen Jahresdurchschnittswerte der Probanden (40% bis 69%) ergaben sich statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden ($P < 0,025$). Eine Zunahme des Anteils aberranter Zellen zu bestimmten Jahreszeiten wurde nicht festgestellt. Dagegen fiel auf, daß der weit überwiegende Teil (12 von 16) der beobachteten tetraploiden Zellen in den Wintermonaten gefunden wurde. Der Mitose-Index erreichte bei allen Probanden im Zeitraum April bis Juni ein Maximum, das statistisch gesichert werden konnte ($P < 0,001$). Eine Korrelation zwischen dem Mitose-Index und dem Anteil aberranter Zellen ergab sich nicht.

RIASSUNTO

Sono state effettuate ricerche cromosomiche mensili, da dicembre 1971 a novembre 1972, su 4 soggetti maschili tra i 22 ed i 32 anni. Su di un totale di 4 710 mitosi esaminate, si è avuto il 9,1% di cellule aberranti (comprendendo i *gaps*), senza differenze individuali tra le singole medie annuali. L'indice mitotico medio, valutato su 48 culture, è risultato del 55% circa. Sulle singole medie annuali (40-69%), sono state riscontrate

differenze individuali significative ($P < 0,025$). Non si è riscontrato un aumento stagionale delle aberrazioni, ma 12 delle 16 cellule tetraploidi si sono avute nei mesi invernali. L'indice mitotico, in tutti i soggetti, ha raggiunto il suo massimo nel periodo aprile-giugno ($P < 0,001$). L'indice mitotico e la percentuale di cellule aberranti non sono risultati correlati.

RÉSUMÉ

Des recherches chromosomiques mensuelles, de décembre 1971 à novembre 1972, ont été effectuées chez 4 sujets masculins de 22 à 32 ans. Sur un total de 4 710 mitoses examinées, il-y-a eu le 9,1 % de cellules aberrantes (*gaps* inclus), sans que les moyennes annuelles présentent des différences individuelles. L'index mitotique moyen, évalué sur 48 cultures, a été d'environ 55‰. Les moyennes annuelles individuelles (40-69‰) ont présenté des différences significatives ($P < 0,025$). Alors qu'il n'y a pas eu d'augmentation saisonnière des aberrations, 12 des 16 cellules tétraploïdes se sont vérifiées dans les mois d'hiver. Chez tous les sujets, l'index mitotique a atteint son maximum dans la période avril-juin ($P < 0,001$). Il n'y a pas eu de corrélation entre index mitotique et pourcentage de cellules aberrantes.

Dr. B. Deininger, Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität, Bismarckstrasse 10, D-8520 Erlangen, German Federal Republic.
