



Vraagbaak van het Steunpunt Milieu en Gezondheid

Blootstellingen aan lage dosissen genotoxische (DNA beschadigende) agentia, zoals die in het leefmilieu voorkomen: belang als oorzaak van kanker

Van Larebeke N, De Waegeneer E

2009

Samenvattende nota. ("Executive summary").

Mutagene effecten

Voor genotoxische agentia is er geen kritische drempel onder dewelke er helemaal geen mutageen effect is. Dat hormetische (gezondheidsbeschermende) effecten zouden optreden bij blootstelling van de mens aan genotoxische agentia is uiterst onwaarschijnlijk. Iedere blootstelling zal de kans op mutaties opdrijven, en een chronische blootstelling zal in de meeste gevallen meer mutaties met zich brengen dan een eenmalige acute blootstelling aan de totale dosis in één enkele keer. Genotoxische agentia kunnen aan DNA ofwel schade toebrengen die ook ontstaat tengevolge van spontane endogene processen, ofwel schade toebrengen die endogeen niet of nauwelijks ontstaat. In het eerste geval (er is endogene schade van hetzelfde type als de exogene schade) voegt iedere exogene schade-dosis zich gewoon bij de endogene dosis, en heeft waarschijnlijk een proportioneel mutageen effect. De endogene schade zal in de overgrote meerderheid der gevallen veel groter zijn dan de exogene. Wel wordt dit type van schade zeer efficiënt hersteld, tenzij bij zeer hoge dosis wanneer het herstelmechanisme wordt overweldigd. In het tweede geval (de exogene schade is van een type dat endogeen niet of nauwelijks voorkomt) is het waarschijnlijk dat een (zeer) lage dosis-hypersensitiviteit optreedt. Hierbij brengen zeer lage blootstellingen, zoals deze die in het leefmilieu optreden, relatief, dat is per dosiseenheid, meer mutaties, meer gezondheidsschade en meer risico op kanker met zich dan hogere dosissen, dit omdat ze de cellen en weefsels treffen zonder dat de betreffende verdedigingsmechanismen maximaal zijn ingeschakeld. Ook werd bij de mens vastgesteld dat blootstelling aan sommige agentia de capaciteit om schade aan DNA, veroorzaakt door andere agentia, te herstellen, vermindert.

Resultierend kankerrisico.

Wat de kankerverwekkende effecten betreft zou men, op basis van het feit dat het ontstaan van kanker bijna altijd berust op meerdere mutaties en dat exogene mutaties zich voegen bij endogene mutaties en in de veronderstelling dat het mutageen effect lineair stijgt met de dosis, kunnen verwachten dat het kankerverwekkend effect van een zeer laag mutageen effect 2 à 3 maal lager ligt dan dat van een meer intens (experimenteel of accidenteel) mutageen effect. Het verband tussen het aantal mutaties geïnduceerd door een in de tijd beperkte blootstelling aan een bepaald agens en het risico op een bepaalde vorm van kanker, en dus tussen de dosis en het risico op kanker (in de veronderstelling van een lineair verband tussen dosis en aantal geïnduceerde mutaties), kan echter lineair zijn, wanneer het eerste stadium (mutatie) geïnduceerd door de blootstelling gevolgd wordt door een "rate-limiting" stadium (een fase van proliferatie, een fase van wijziging in genexpressie) dat niet door het agens wordt beïnvloed. Ook de heterogeniteit van menselijke populaties waarbij gevoeligheid aan een bepaald agens door vele genen beïnvloed wordt en de aanwezigheid van een belangrijke totale dosis van andere carcinogenen (die zijn er uiteraard altijd, te wijten aan het metabolisme, aan de voeding en aan de vervuiling van het leefmilieu) brengt mee dat men met betrekking tot de inductie van kanker bij de mens een lineair dosis-antwoord verband mag verwachten. Voor zover de waarnemingen bij de mens toelaten zich over het dosis-effect verband bij de inductie van kanker door genotoxische agentia uit te spreken stelt men inderdaad een lineair verband vast. Voor die blootstellingen waarbij zich een lage dosis-hypersensitiviteit voordoet m.b.t. de inductie van mutaties kan er zelfs een onderschatting van het kankerrisico optreden bij extrapollatie naar extreme lage dosis. Er zijn m.b.t. sommige complexe genotoxische blootstellingen (zoals tabak en fijn stof) zelfs waarnemingen die wijzen op een relatief sterker kankerverwekkend effect bij lage dosis.

Met betrekking tot de inductie van kanker is, meer nog dan bij de inductie van mutaties, van groot belang dat chronische blootstelling relatief meer risico's met zich brengt dan een acute blootstelling. Dit omdat de maligne tumorale transformatie op zichzelf een proces is dat in de overgrote meerderheid der gevallen (gelukkig) veel tijd kost. Het kankerrisico neemt dan ook exponentieel toe met de duur van de blootstelling, wat bij proefdieren experimenteel vastgesteld kon worden.

Tenslotte zijn blootstellingen in utero en tijdens de vroege kinderjaren veel belangrijker dan latere blootstellingen, maar de effecten ervan zijn, vooral wanneer ze laattijdig optreden, bij de mens helaas zeer moeilijk te bestuderen.

Inzake de bescherming van de menselijke gezondheid tegen mutagene en kankerverwekkende agentia kan een "evidence -based" beleid zeker niet volstaan. Het beleid moet "knowledge-based" zijn en rekening houden met de talrijke inzichten die het fundamenteel wetenschappelijk onderzoek en de in vitro en dierexperimenten hebben opgeleverd.

1. Enkele noties inzake ontstaansmechanismen van kanker

1.1. Een clonaal Darwiniaans proces berustend op accumulatie van mutaties

Kanker is een ziekte van de sociale organisatie van de cellen in weefsels. Kankercellen delen en verplaatsen zich, ook als dit in functie van het organisme in zijn geheel niet past. De laatste tientallen jaren heeft de moleculaire celbiologie ons een vrij goed inzicht verstrekt in het complexe meerstappenproces der carcinogenese. Vast staat dat de accumulatie van mutaties (wijzigingen van het erfelijk materiaal) in meerdere genen (dus meerdere eigenschappen) in één cel vereist is (McCormick & Maher, 1994). In het zoogdierenorganisme (ook bij de mens) vloeit het risico van kanker wellicht voort uit de opstapeling van mutaties in stamcellen, die (bijna) de enige delende cellen zijn waarvan de afstamming lange tijd in het organisme aanwezig blijft (Heddle, 1999). Volgens Renan (1993) zouden kankers bij kinderen veroorzaakt worden door een kleiner aantal postnatale somatische mutaties (3 voor beendertumoren en tumoren van de neus) dan kankers bij volwassenen (6 voor beendertumoren en tumoren van de neus, 7 of 8 voor kankers van de maag, pancreas, nieren, huid en colon en rectum, en zelfs 12 voor prostaatkanker die vooral op hoge leeftijd voorkomt). Heden ten dage wordt niet meer betwist dat tumorcellen allen afstammen van één gemeenschappelijke voorlopercel, die op een bepaald ogenblik - gewoonlijk 20 tot 30 jaar voor de manifestatie van de tumor -, een (of meer) beslissende wijzigingen (mutaties) in haar erfelijk materiaal (haar DNA) ondergaan heeft, en zo geïnitieerd werd voor de carcinogenese. Tijdens de daarop volgende tumorpromotiefase zou er dan een clonale expansie plaatsgrijpen van reeds gemuteerde, voor kanker geïnitieerde cellen. Deze clonale expansie (vorming van een grote groep cellen uit één enkele cel), drijft de waarschijnlijkheid op dat bijkomende mutaties, nodig voor de maligne tumorale transformatie, kunnen plaatsgrijpen. Tijdens de tumorpromotiefase zou, mee onder invloed van exogene agentia (epigenetische carcinogenen en/of tumorpromotors zoals dioxineachtige stoffen, zie addendum 1), de expressie van recessieve allelen en meer in het algemeen, de expressie van het tumorale fenotype, mogelijk worden. Tijdens de latere fase van de tumorprogressie, waarin kankercellen met een meer kwaadaardig karakter ontstaan, spelen bijkomende (eventueel grote) wijzigingen van het erfelijk materiaal wellicht nog een rol. Het kankerproces is een soort Darwiniaans proces, waarin individuele cellen steeds meer nieuwe eigenschappen verwerven, die hen beter geschikt maakt om in de (ongunstige) omstandigheden binnenin een tumor te overleven, naburig weefsel te invaderen of om zich in een ander weefsel te gaan nestelen (metastase).

1.2. Genen betrokken bij de carcinogenese

Er werd een vermoedelijk betekenisvolle fractie van het totaal aantal genen die bij de carcinogenese betrokken zijn reeds geïdentificeerd (Tabel 1): de proto-oncogenen, de tumorsuppressorgenen van het "gatekeeper" en het "caretaker" type en genen die betrokken zijn bij intercellulaire adhesie en communicatie. Ook de telomeren (uiteinden van chromosomen) spelen een belangrijke rol (Bouffler, 1998; Weinberg 1998; DePinho, 2000). Tumorsuppressorgenen zijn genen die tot kanker bijdragen wanneer ze door een mutatie geïnactieveerd worden (Weinberg, 1996). Genen die instaan voor de controle van de celcyclus en genen die betrokken zijn bij het natuurlijk verouderingsproces, dat het aantal delingen in normale cellen beperkt, behoren volgens deze indeling tot diverse klassen van genen betrokken bij de carcinogenese. Michael Stratton van het Wellcome Trust Sanger Instituut,

stelde op het Keystone Congres "Genome Instability and DNA Repair" op 1 maart 2009 dat mutaties in 384 genen een rol kunnen spelen als "driver" van het carcinogenese proces.

Tabel 1 Genen betrokken bij de carcinogenese.

-
1. Proto-oncogenen (geactiveerd tot oncogenen)
coderen voor:
 - groeistimulerend factoren
 - stimulerende componenten van de celcyclus
 - anti-apoptotische factoren (bvb bcl-2)
 2. Tumorsuppressorgenen van het gatekeeper type
coderen voor:
 - factoren die de groei remmen (inhibitoren van oncogenen)
 - factoren die de celcyclusklok remmen (bvb p21, p53, Rb)
 - stimulatie van apoptose (bvb bax, p53)
 - factoren die de differentiatie induceren
 3. Tumorsuppressorgenen van het caretaker type
coderen voor factoren die instaan voor het DNA-herstel na schade (> 50 proteïnen reeds gekend die fungeren als component in verschillende herstelmechanismen)
 4. Cel-cel adhesie en andere communicatie genen
coderen voor factoren die instaan voor een geordende weefselstructuur
 5. Genen betrokken bij de DNA replicatie en de chromosoomsegregatie.
-

1.3. Rol van het mutatorfenotype en van tumorsuppressorgenen

De meeste mutaties ontstaan wellicht spontaan, hoewel exogene mutagene carcinogenen het mutatietempo en de mutantfrequentie kunnen opvoeren. Het mutatietempo is het aantal mutaties per celgeneratie. De mutantfrequentie is het aantal cellen in een celpopulatie dat gemuteerd is in één bepaald gen en wordt uitgedrukt als fractie van het totaal aantal cellen van de populatie.

Het is echter duidelijk dat het tempo waarmee in normale cellen genen getroffen worden door mutaties, te laag is om de incidentie van kanker uit te leggen. Het lijkt dan ook waarschijnlijk dat de initiatie van het proces der carcinogenese meestal berust op een mutatie die leidt tot het mutatorfenotype. In een cel van dit mutatorfenotype is het tempo van het optreden van mutaties sterk verhoogd (Loeb, 1991). Volgens Kinzler en Vogelstein (1997) is de verhoging van het mutatietempo meestal het gevolg van een mutatie in een tumorsuppressorgen. Ze onderscheiden daarbij tussen "gatekeeper" genen (portiergenen) en 'caretaker' genen (verzorgergenen). Gatekeepers zoals de genen p53, p21 en bax, houden de deur gesloten voor mogelijke mutaties door, als er DNA-schade is, hetzij de celdeling tegen te houden, hetzij de cel te doen afsterven door apoptose. Caretaker genen coderen voor de

proteïnen die een rol hebben in schadedetectie en -herstel. Het ontstaan van kanker wordt verondersteld te berusten op het feit dat gatekeeper of caretaker genen zelf schade oplopen die tot hun mutatie leidt. Dit invalideert de werking van de processen die instaan voor de integriteit van het genoom, m.a.w. het zijn mutaties die het mutatietempo opdrijven.

Op te merken is dat voor gatekeeper en caretaker genen geldt dat beide allelen van het gen, door een mutatie moeten geïnactiveerd worden opdat het effect ervan manifest zou worden. Een uitzondering blijkt het p53 gen te zijn: Er zijn missense mutaties in p53 beschreven die dominant zijn t.o.v. het normale p53 gen op het andere alleel, omdat erdoor de werking van het normale genproduct verstoord wordt (Inga et al., 1997). Eén mutatie (de missense mutatie) volstaat in dit geval om tot het mutatorfenotype en kankerinitiatie te komen.

Zoals verwacht tonen moleculair epidemiologische waarnemingen aan dat mutaties in gatekeeper genen een hoger risico op kanker met zich brengen dan mutaties in caretaker genen (Kinzler en Vogelstein, 1997). Als gatekeepers volledig functioneel zijn, wordt de celdeling belet ook als de schade niet te herstellen is door een defecte caretaker. De DNA schade zal de p53 concentratie langdurig hoog houden. Bovendien zal de DNA-schade accumuleren. Dit zal waarschijnlijk leiden tot apoptose. Daarenboven zijn er in vergelijking met het aantal caretaker genen, relatief weinig gatekeeper genen en vertonen ze een weefsel-specificiteit. Iedere cel heeft slechts één (of enkele) gatekeepers, en inactivatie van een bepaalde gatekeeper leidt tot een zeer specifieke weefsel-distributie van kanker (Kinzler & Vogelstein, 1997). Een mutatie in een gatekeeper gen is daarom zeer nefast omdat de unieke gatekeeper een centrale positie bekleedt en bvb verantwoordelijk is voor celdelingsstop bij alle DNA-schade. De definitie van tumorsuppressorgenen sluit ook de 'klassieke' tumorsuppressorgenen in, namelijk deze die hoofdzakelijk als groeiremmend en/of differentiatie-inducerend gedefinieerd werden, die meestal een zekere weefsel-specificiteit vertonen en waarvan er tot hiertoe een 17-tal gekend zijn (Pennisi 1997). Door Kinzler & Vogelstein worden ze "gatekeeper" genen genoemd. Ze zijn bvb actief in de inhibitie (bvb NF-1) van de werking van oncogenen betrokken bij de groei-promoverende signaaltransductie, of spelen een rol in de transductie van groei-inhiberende signalen (DPC4). Een recent geïdentificeerd suppressorgen van het klassieke type dat gemuteerd is in veel prostaatkankers en gliomas, is PTEN. Het genproduct zou zowel tussenkomen in de regeling van celgroei als in de interactie van de cel met haar omgeving (Li et al. 1997; Pennisi 1997).

Wegens haar centrale coördinerende rol heeft men aan p53 de titel verleend van 'bewaarengel van het genoom'. Een inactiverende mutatie van het p53 gen is nefast voor de genoomstabiliteit, en p53 is het gen dat het vaakst gemuteerd is in humane tumoren (Evans, 1993). In ca 50% van alle humane tumortypen functioneert het p53 proteïne niet meer normaal (Weinberg, 1996; Greenblatt et al. 1994).

1.4. Erfelijke vormen van kanker en het mutatorfenotype

Een sterk argument voor de validiteit van de mutatorfenotype hypothese is de vaststelling dat de genetische defecten die erfelijk predisponeren tot kanker, vooral mutaties zijn in gatekeeper en caretaker genen (Perera 1997; Fearon 1997, Kinzler & Vogelstein 1997). De getroffen individuen hebben een verhoogde kans om op relatief jonge leeftijd, een soort kanker op te lopen die bepaald wordt door de aard van de overgeërfdde mutatie. Aangezien ze bij de geboorte reeds in al hun cellen een somatische mutatie in één der allelen

van de betreffende genen, in zich dragen, volstaat één mutatie in het andere alleel ervan, om genomische instabiliteit in de getroffen cel op te wekken. Bij individuen met een overgeërfde mutatie in een gatekeepergen is er meer dan 1000-voudig verhoogde kans tot het ontwikkelen van een tumor, in vergelijking met de algemene bevolking. Bij individuen met een overgeërfde mutatie in een caretakergen is er een 5- tot 50-voudig verhoogde kans (Kinzler & Vogelstein, 1997).

1.5. Implicaties van de rol van mutaties, van clonale proliferatie en van veranderingen in de genexpressie of in biologische signaalketens voor het verband, in mathematische termen, tussen blootstelling aan genotoxische agentia, het risico op kanker en het tijdstip (leeftijd) waarop de kanker zich voordoet.

Het ontstaan van kanker berust op een mutatie van meerdere genen in een eenzelfde cel. Elk van deze mutaties is een zeldzame kritische gebeurtenis. De waarschijnlijkheid van het ontstaan van kanker kan, in een vereenvoudigd model, gegeven worden door het product van de waarschijnlijkheid van iedere kritische gebeurtenis apart (Armitage, 1985). Daarom kan bij benadering, indien enkel rekening gehouden wordt met de mutatie-component in het ontstaansproces, aangenomen worden dat de incidentie van een vorm van kanker, berustend op n mutaties, stijgt met de n^{de} macht van het mutatietempo en met de $(n-1)^{\text{de}}$ macht van de leeftijd (Armitage & Doll, 1954). Het exponentieel verband tussen mutatiefrequentie en kankerrisico heeft in een dergelijk model implicaties voor de extrapolatie van het carcinogeen effect van lage dosissen uitgaande van hoge dosissen. Hierbij dient bedacht dat de door een mutagen geïnduceerde bijkomende mutaties zich voegen bij de spontane, natuurlijke mutaties en bij de mutaties geïnduceerd door andere agentia (Lutz, 1990b). In addendum 2 tonen we aan dat, wanneer men, in een vereenvoudigd maar plausibel model, uitgaat van een blootstelling die het relatief risico op kanker vertienvoudigt (grootte-orde waargenomen in dierproeven en in epidemiologische studies met intense blootstelling), en lineair extrapoleert naar een extreem lage dosis, men de stijging van het relatief risico t.o.v. het natuurlijk risico slechts met maximaal een factor van de grootte-orde van 3 overschat. Dit stemt overeen met de waarde (2 à 3) van de Dose and Dose Rate Effectiveness Factor (DDREF) berekend door Beninson, winnaar van de Sievert Award 1996, voor extrapolatie naar een zeer lage dosis uitgaande van een dosis van 1 tot 2 grays. Lutz (1990a) stelt echter vast dat in epidemiologische studies bij de mens (bij vrij lage dosissen) bijna altijd een lineair dosis-antwoord verband is vastgesteld, en wijt dit ten minste gedeeltelijk aan de heterogeniteit van menselijke populaties waarbij gevoeligheid aan een bepaald agens door vele genen beïnvloed wordt. De berekeningen van Beninson (Sievert lecture) en van Bo Lindell (1996) tonen aan dat men, bij zeer lage dosis ioniserende straling en in aanwezigheid van een belangrijke totale dosis van andere carcinogenen (die zijn er uiteraard altijd, te wijten aan het metabolisme (Lutz 1990b, Marnett & Burcham, 1993) en aan de aanwezigheid van zeer talrijke carcinogenen in het leefmilieu), een lineair dosis-antwoord verband mag verwachten.

Voor vele vormen van kanker spelen episodes van clonale proliferatie en wijzigingen in de expressie van niet gemuteerde genen echter ook een belangrijke rol. Clonale expansie van geïnitieerde cellen zou, vroegtijdig in de carcinogenese, zelfs dezelfde rol kunnen spelen als het mutatorfenotype (Moolgavkar & Luebeck, 2003). Dit heeft voor gevolg dat, alhoewel de incidentie van vele vormen van kanker inderdaad exponentieel stijgt met de leeftijd, het uiteindelijk verband tussen de incidentie van een bepaalde vorm van kanker en de totale mutatiefrequentie of de leeftijd complex is. De incidentie van sommige vormen van kanker piekt op een bepaalde leeftijd. Ook kan het verband tussen het aantal mutaties geïnduceerd door een in de tijd beperkte blootstelling aan een bepaald agens en het risico op een bepaalde

vorm van kanker, en dus tussen de dosis en het risico op kanker, lineair zijn, wanneer het eerste stadium (mutatie) geïnduceerd door de blootstelling gevolgd wordt door een "rate-limiting" stadium (een fase van proliferatie, een fase van wijziging in genexpressie) dat niet door het agens wordt beïnvloedt (paragraaf 476 van Annex G van het Unsclear 2000 rapport Vol. II).

2. Van blootstelling naar mutatie.

2.1 Hoe ontstaan mutaties

Een blootstelling aan een genotoxische agens zoals ioniserende straling, ultraviolet straling of een reactieve scheikundige stof leidt tot beschadiging van het DNA. Er zijn vele vormen van schade aan DNA, waaronder enkelstrengige of dubbelstrengige breuken, intercalaties van scheikundige stoffen tussen de baseparen, de vorming van pyrimidine dimeren (onder invloed van ultraviolet licht), cross-links tussen de DNA strengen, cross-links tussen DNA en eiwitten, het afsplitsen van basen, en adducten aan basen. Deze schade zal in vele gevallen onverenigbaar zijn met het verder leven van de cel, en wordt in de overgrote meerderheid der gevallen hersteld, meestal correct, dus zonder dat een wijziging optreedt in de structuur van DNA en in de genetische informatie, maar af en toe foutief wat aanleiding geeft tot een mutatie, die dan al of niet biologische gevolgen heeft waaronder het vergroten van de kans op maligne tumorale transformatie. Figuur 1 vat het verband tussen DNA beschadiging, mutatie en maligne transformatie samen.

Het is uiteraard zeer moeilijk om gegevens in te winnen inzake het verband tussen blootstellingen en mutaties bij de mens. Experimenten zijn alvast ethisch onaanvaardbaar. De structuur van het DNA, de replicatie en het herstel van DNA en de interacties van DNA met exogene agentia die de structuur ervan kunnen verstoren zijn echter zeer sterk bewaard gebleven doorheen de fylogenetische evolutie. Zo induceert een mutagen dezelfde primaire klasse van basepaarveranderingen in de Ames test stam Salmonella TA100 en in de bacterie E. Coli, als in zoogdiercellen in vitro, in knaagdieren in vivo en in het p53 tumorsuppressorgen in menselijke kankers geassocieerd met blootstelling aan datzelfde mutagen (DeMarini, 2000)

Het herstel van schade aan DNA is een proces dat centraal staat in het levend organisme. Dit verklaart waarom een zeer groot aantal genen in de eerste plaats bij dit herstel betrokken zijn. De regulatie van het DNA herstel is een bijzonder complex gegeven. Eiwitten blijken op meer dan 1000 plaatsen gefosforyleerd te worden in antwoord op beschadiging van DNA (S.J. Elledge , Keystone Congres "Genome Instability and DNA Repair" maart 2009). Herstel kan echter nooit absoluut foutenvrij zijn, en dit is de reden waarom iedere schade aan DNA de kans op mutaties, zij het in minieme mate, verhoogt.

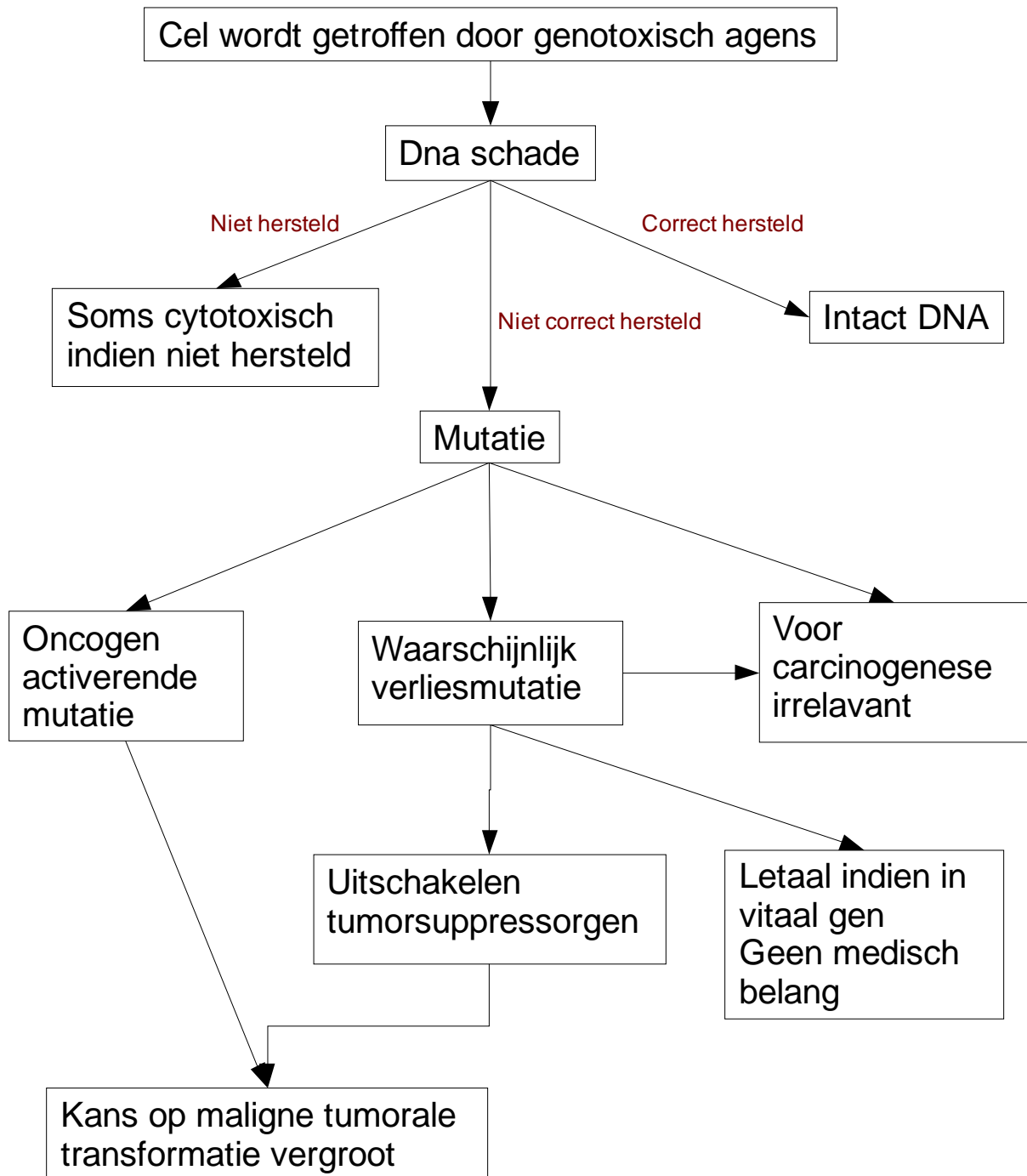
Dubbelstrengige DNA breuken zijn de meest gevaarlijke vormen van schade aan DNA. Zelfs in het geval van gene conversion, de meestgetrouwe vorm van DSB herstel, bestaat er een hoge kans op mutatie (James Haber, Keystone Congres "Genome Instability and DNA Repair" maart 2009)

De activatie van mobiele elementen in het menselijk genoom zoals de retroposon L1 en Alu is één van de mechanismen doorheen dewelke milieufactoren mutaties kunnen veroorzaken. Kwik, Cadmium en Nikkel kunne detranspositie activiteit van het retroposon L1 met een factor 3 opdrijven ($p < 0,001$) (Kale et al., 2005).

Stamcellen, de cellen van waaruit de meeste kankers waarschijnlijk vertrekken (Heddle, 1996, 1999) bevinden zich meestal in het G1 stadium van de celcyclus (stamcellen vertonen

weinig celdelingen) , en daarin wordt herstel van dubbelstrengige DNA breuken (DSBs) vooral door het fout-makende Non Homologous End Joining (NHEJ) system uitgevoerd. Herstel door omologe recombinatie is beperkt tot late S en G2 stadia van de celcyclus (Michael Lieber, Keystone Congres "Genome Instability and DNA Repair" maart 2009).

Figuur 1



Veroorzaakt het agens schade die ook endogeen voorkomt: efficiënt herstel, mutageen effect proportioneel met aandeel exogene schade in totale schade

Veroorzaakt het agens schade van een soort die endogeen niet voorkomt: herstel mogelijk niet optimaal, relatief meer mutaties

2.2 Enkele sleutel moleculen in de regulatie van het DNA herstel

Het MRN complex, bestaande uit de MRE11, RAD50 en NBS1 eiwitten, is verantwoordelijk voor de initiële herkenning van DSBs en interageert onder andere met de histon H2AX DNA-schade signalerende cascade om herstel door homologe recombinatie te vergemakkelijken en de DNA schade checkpoints te reguleren. Het MRN complex kan echter ook onafhankelijk van H2AX DNA herstel induceren (Yuan et al., 2009). Het eerste fenomeen (1-3 minuten) bij de vorming van foci na inductie van DSBs is de fosforylatie van het histon H2AX door het ATM of een verwant proteïne. De fosforylatie van H2AX is wellicht het focale punt voor het verzamelen van de herstel-eiwitten bij de dubbelstrengige breuk (Valerie & Povirk, 2003)

Een van de cruciale eiwitten betrokken bij de regulatie van de DNA herstel mechanismen is de tumorsuppressor p53. Geactiveerd p53 reguleert onder andere de mechanismen betrokken bij het "Non Homologous End Joining" herstel van dubbelstrengige DNA breuken en stuurt dit type van herstel naar de legitieme (relatief fouten-vrije versie) ervan en weg van de illegitieme fouten-makende mutagene versie ervan (Sasaki et al., 2002).

Een ander cruciaal eiwit is ATM (het gen gemuteerd in ataxia-telangiectasia patiënten), dat een cruciale rol speelt in de regulatie van DNA herstel en herstel van dubbelstrengige DNA breuken doorheen het foutenvrije "homologous Repair" systeem bevordert (Shrivastav et al., 2008). Een lichte toename van de hoeveelheid DNA schade, onvoldoende om ATM te activeren, zal dus niet leiden tot een inductie van het foutenvrije "homologous recombination" mechanisme en deze schade zal dus door meer mutagene mechanismen hersteld worden.

Het "heatshock" eiwit HSP70 wordt in C3H10T1/2 muiscellen geïnduceerd door ioniserende straling, ultraviolet licht, hitte en genotoxische stoffen en beschermt tegen DNA schade (Park et al., 2000; Calini et al., 2003)

2.3 Geen drempel. Iedere blootstelling aan een genotoxisch agens vergroot de kans op mutatie.

Voor genotoxische carcinogenen is er geen kritische drempel onder dewelke er helemaal geen mutageen effect is, en het effect van opeenvolgende en/of verschillende blootstellingen is wellicht additief of soms synergistisch. Hei et al. (1997) konden, met behulp van een microbundel apparaat (de "microbeam source at the Radiological Research Accelerator Facility at Columbia University") aantonen dat één enkel alfa partikel volstaat om een mutatie te verwekken, en dat doet met een hoge efficiëntie. Voor een minder energetische vorm van straling zal de efficiëntie uiteraard lager zijn, maar nooit nul omdat iedere schade aan DNA een zekere kans heeft om door gebrek aan herstel of foutief herstel aanleiding te geven tot mutatie.

2.4 Meestal is er een lineair verband tussen intensiteit van blootstelling en mutatiefrequentie.

Meestal is er een min of meer lineaire relatie tussen de dosis van een genotoxisch agens en de hoeveelheid DNA adducten (Phillips et al, 1988; Lutz, 1990) en volgens de International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens (Ehrenberg et al., 1982) en volgens Lutz (1990a) ook tussen de dosis van een mutagene stof en het aantal

mutaties (voor lage dosissen en voor de meeste, niet voor alle agentia) (zie ook Ehrenberg et al., 1996 Environmental Health Perspectives, in press).

In de plant *Tradescantia* induceerden 2,5 mGy X stralen mutaties, met een lineair dosis verband tussen 2,5 mGy en 50 mGy, terwijl met neutronen een lineair dosis verband werd bekomen tussen 0,1 mGy en 80 mGy (Sparrow et al. 1972).

X stralen in een dosis van 10 mGy induceren revertie-mutaties in de muis (Schiestl et al. 1994). Tussen 10 en 1000 mGy was het dosis-antwoord verband lineair (Schiestl et al. 1994).

Flow-cytometrische metingen m.b.t. de inductie van micronuclei in vivo bij de muis door zeer lage dosissen van clastogene (chromosoombrekende) agentia tonen een lineair verloop van hoge tot zeer lage dosis (Grawé et al., 1998). Bij ratten bleek aflatoxine B1 aanleiding te geven tot DNA adducten met een lineair verband tussen dosis-antwoord verband, van een experimentele dosis van 2110 ng/kg lichaamsgewicht per dag (dosis die in "steady state" ongeveer 850 adducten geeft per 10^9 nucleotiden en in ongeveer 50% der dieren tumoren veroorzaakt) tot 2,2 ng/kg lichaamsgewicht per dag (dosis die in "steady state" ongeveer 0,91 adducten geeft per 10^9 nucleotiden en ongeveer overeenstemt met de blootstelling van de bevolking in westerse landen) (Buss et al., 1990).

Een groots opgezet onderzoek van Lloyd et al. (1992) inzake chromosomale aberraties op menselijke lymfocyten in vitro bestraald met 0 tot 300 mGy aan X-stralen toonde een significante stijging aan van het aantal onstabiele chromosomale aberraties bij dosissen boven 20 mGy, consistent met een lineaire extrapolatie vanuit hogere dosis. De gebruikte techniek was, gezien de statistische onzekerheden, niet gevoelig genoeg om het dosis-effect verband onder de 20 mGy te beoordelen. Stabiele translocaties zijn niet geschikt om de dosis-effect curve beneden de 200 à 300 mGy te bestuderen (paragraaf 59 van Annex G van het Unsclear 2000 rapport Vol. II)

2.5. Soms zijn hoge dosissen sterker mutageen per dosiseenheid

In sommige gevallen kunnen hogere dosissen proportioneel een groter effect hebben dan lage dosissen, vooral wanneer het agens in kwestie, op zichzelf, twee verschillende maar synergistisch inwerkende effecten heeft, zoals een mutageen effect en een celdeling-stimulerend effect, of wanneer het agens in zulke dosis gegeven wordt, dat de capaciteit van de cellen om schade aan DNA te herstellen, wordt overspoeld.

2.6 Voor sommige agentia kunnen zeer lage dosissen relatief, per dosiseenheid, sterker mutageen zijn dan hogere.

De hoeveelheid DNA schade toegebracht door een agens is bijna altijd strikt lineair met de dosis (Phillips et al, 1988; Lutz, 1990). Bij de inductie van dubbelstrengige DNA breuken is het dosis-effect verband strikt lineair van 100 Gy tot 1 mGy (Rothkam & Lobrich, 2003) maar de mate waarin die schade aanleiding geeft tot mutaties verschilt in functie van de aard en de activiteitsgraad van de herstelmechanismen.

Met een detectiesysteem dat veel gevoeliger is dan andere aan mutaties (Waldren et al. 1986) kan het supralineair verloop, convex naar boven, van de dosis-antwoord curve voor de inductie van mutaties geïnduceerd door vrij lage dosissen X-stralen duidelijk aangetoond worden (zie onderstaande figuur). Per dosiseenheid werd het grootste mutageen effect

waargenomen bij de laagste dosissen. Hei et al. (1997) konden, met behulp van een microbundel apparaat (de "microbeam source at the Radiological Research Accelerator Facility at Columbia University") aantonen dat ook voor alfa partikels de dosis-effectcurve voor de inductie van mutaties in zoogdiercellen in vitro supralineair verloopt (zie onderstaande figuur).

Belangwekkend is dat de hoeveelheid DNA adducten in witte bloedcellen van personen beroepsmatig blootgesteld aan hoge concentraties polycyclische aromatische koolwaterstoffen relatief (dat is per eenheid van dosis gemeten in de lucht) lager zijn dan bij minder blootgestelde personen (Lewtas et al., 1997).

Bij muizen in vivo werd vastgesteld dat lage dosissen benzeen (40 en 100 ppb) relatief meer chromosomale schade en meer mutaties veroorzaakten dan een hogere dosis (1 000 ppb) (Au et al., 1991; Ward et al., 1992).

Ook bij de mens werden m.b.t. benzeen aanwijzingen gevonden voor een relatief sterker genotoxische effect bij lage dosis (Carere et al., 1995). Tevens werd bij de mens, voor blootstelling aan styreen, een hogere mutagene efficiëntie vastgesteld bij lage dosis (Bastlova et al., 1995).

Hieronder, in de paragrafen over inductie van DNA herstelmechanismen en over het adaptatie effect, wordt ingegaan op de mechanistische basis van de verhoogde mutagene efficiëntie bij zeer lage dosis.

Figuur uit Waldren et al, (1986)

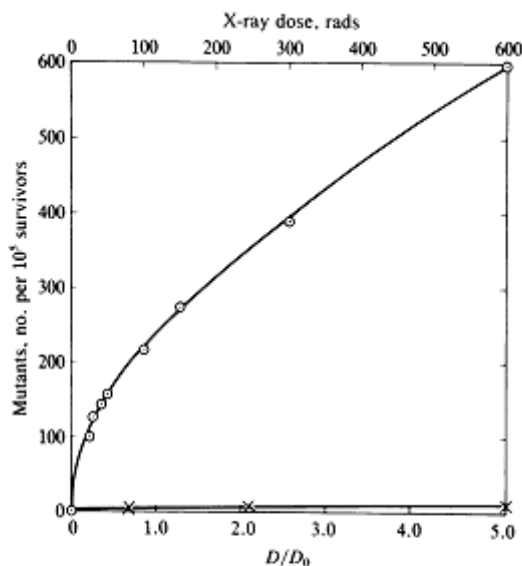
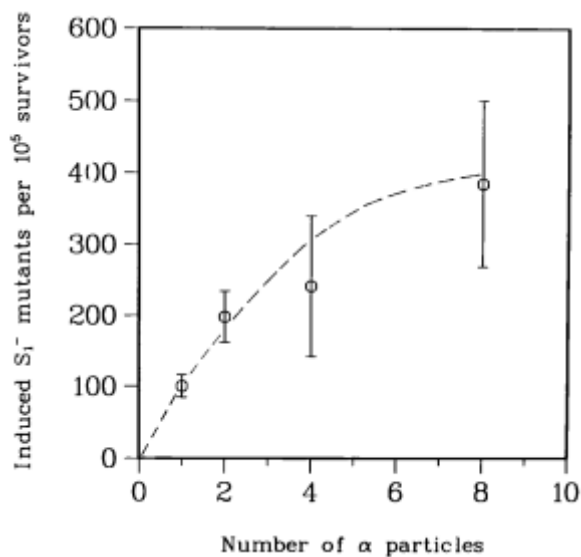


FIG. 2. Upper curve: the mutant yield obtained in our laboratory for loss of the human a_1 gene in x-irradiated A_1 -J1 hybrid cells for all doses studied. The slope is greatest at the lowest doses ($0.5 D_0$ values). The average slope between the doses of 0 and 55 rad is 3.45 mutants per 10^5 survivors per rad, or 400 mutants per 10^5 survivors per D_0 . The value of D_0 is 116 rads. Lower curve: recalculated data of Hsieh *et al.* (25, 26) for mutant yield for loss of the $HGPRT$ gene in CHO cells after x-irradiation with doses of 50–800 rads (0.35 – $5.7 D_0$). The straight line fit to these data has a slope of 0.01 mutant per 10^5 survivors per rad (2 mutants per 10^5 survivors per D_0 when D_0 is estimated to be 140 rads). Thus, the maximum mutant yield for the data in the upper curve is ≈ 200 times greater than that in the lower.

Figuur uit Hei et al. (1997).



2.6.1. Vele DNA herstelmechanismen werken slechts optimaal na maximale inductie

2.6.1.1. Waarom zijn sommige DNA herstelmechanismen induceerbaar?

Een hele reeks DNA herstel mechanismen, waarvan de meeste induceerbaar zijn, beschermt de cel tegen mutaties (Ames et al., 1993). Levende organismen hebben er, in termen van competitie en evolutie, belang bij om enkel eiwitten en enzymen te produceren die in gegeven omstandigheden nuttig zijn (Alberts et al., 1994). Sommige vormen van DNA schade zijn permanent in aanzienlijke mate aanwezig in zoogdier of menselijke cellen (De Bont & van Larebeke, 2004), en betreffende herstelmechanismen zijn dan ook permanent actief. Andere vormen van schade komen slechts episodisch voor, en de overeenkomstige DNA herstelmechanismen blijken induceerbaar te zijn door de betreffende schade. Niet alle DNA herstelmechanismen zijn echter induceerbaar. Zo bijvoorbeeld kan het herstel van 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG), een endogeen zeer veel voorkomend DNA adduct waarvan het herstel door het "Base Excision Repair" systeem geïnitieerd wordt door het OGG1 proteïne, niet geïnduceerd worden door oxidatieve of alkylatie schade (Bercht et al. 2007).

2.6.1.2. Schade wordt niet altijd volledig en snel hersteld.

Dat het herstel van bepaalde vormen van schade die fysiologisch weinig voorkomen inderdaad op een laag pitje staat zonder bijkomende inductie tengevolge van een blootstelling van voldoende intensiteit blijkt uit de experimenten van Rothman & Lobrich (2003). Dubbelstrengige DNA breuken (DSBs) komen als vorm van schade nagenoeg niet voor in fysiologische omstandigheden. Rothman & Lobrich (2003) telden 0,04 à 0,06 (gemiddeld 0,05) DSBs per cel in primaire menselijke fibroblasten in vitro. Een zeer laag aantal DSBs, geïnduceerd door 1,2mGy aan X-stralen, wordt nauwelijks hersteld. X-stralen induceren tussen de 35 en de 39 DSBs per Gy per cel (Rothkam & Lobrich, 2003). Gamma-H2AX foci (gevormd door gefosforyleerde H2AX histonen die aggregeren op de plaats van een DSB) zijn reeds zichtbaar 3 minuten na de bestraling en worden duidelijker na langere tijd. Het herstel van de DSBs is grotendeels volledig na 24 uur. Het herstel is echter nooit 100% volledig, na bestraling gevolgd door herstel zijn er zelfs na 14 dagen nog steeds iets minder dan 0,1 foci per cel aanwezig (Rothkam & Lobrich, 2003). Dit stemt overeen met het aantal

DSBs aanwezig na een bestraling met 1,2 mGy. Merkwaardig is ook dat er na bestraling met 1,2 mGy helemaal geen herstel kan waargenomen worden na 24 uur (Rothkam & Lobrich, 2003). Het lijkt dus waarschijnlijk dat er meer dan 0,1 DSBs per cel aanwezig moeten zijn om in een celpopulatie de betreffende DNA herstelmechanismen te activeren of actief te houden.

2.6.1.3. Schade aan DNA: intensifiëring kan leiden tot inductie van herstelmechanismen bovenop het permanente, constitutieve systeem. Benodigde dosis voor een maximale inductie.

Er zijn twee onderafdelingen in het "nucleotide excision repair" systeem: de "global genomic repair" (GGR) en de "transcription coupled repair" (TCR). Deze laatste is selectief voor de overgeschreven DNA streng in tot expressie komende genen. Sommige eiwitten betrokken bij het herkennen van schade aan DNA zijn gevoelig aan natuurlijk voorkomende variaties in de secundaire structuur van DNA. Onterechte herstelactiviteit op onbeschadigd DNA zou kunnen leiden tot genetische instabiliteit en mutaties. In verband daarmee worden de concentraties van eiwitten betrokken bij de herkenning van DNA schade door het "global genomic repair" systeem normaal zeer laag gehouden, tenzij de cellen aan genotoxische invloeden blootstaan. In de bacterie *Escherichia Coli* wordt het "global genomic repair" ingeschakeld via het schade en stress gevoelig SOS systeem. Bij menselijke cellen wordt het "global genomic repair" systeem ingeschakeld na activatie van de p53 tumor suppressor (Hanawalt, 2002). Activatie van de p53 tumorsuppressor zal echter slechts optreden bij blootstelling aan een exogeen agens aan een zekere intensiteit, en zal niet optreden bij blootstelling aan zeer lage dosissen.

Er is in de literatuur echter geen overeenstemming over de hoeveelheid schade aan DNA nodig voor activatie van p53. Volgens Lloyd & Hanawalt (2000) zou deze in menselijke fibroblasten reeds optreden bij 10 à 50 (+/-)-anti-benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide (BPDE) adducten per 10^8 nucleotiden, terwijl volgens Binkova et al. (2000) 200 à 250 adducten van dibenzo[a,1]pyrene of benzo[a]pyrene nodig zijn voor een detecteerbare toename in p53 concentraties in menselijke diploide longfibroblasten. Vergelijkingen tussen in vitro proeven en adduct aantallen in menselijke lymfocyten zijn uiteraard niet sluitend. Toch kan gesteld worden dat het hier reeds om hoge aantallen adducten gaat, vermits niet rokende politieagenten in Praag in de maand Januari gemiddeld slechts 2.08 ± 1.60 adducten per 10^8 nucleotiden vertoonden (totale adducten) in hun lymfocyten, en slechts 0.26 ± 0.14 benzo(a)pyreen achtige adducten (Topinka et al., 2007).

Ook m.b.t. straling worden volgens een aantal recente waarnemingen de cellulaire verdedigingsmechanismen slechts maximaal geactiveerd bij een stralingsdosis die toch reeds ver boven achtergrond dosissen ligt. Volgens Collis et al (2004) wordt het ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) niet of slechts zeer gedeeltelijk geactiveerd bij continue bestraling met ioniserende straling aan een dosis-ritme van 98 mGy per uur; dit eiwit wordt geactiveerd bij (voldoende) beschadiging van DNA en activeert op zijn beurt een aantal DNA herstel en cel-overlevingsmechanismen (Yang et al., 2004). Marples & Collis (2007) stellen in hun review artikel dat dosissen van de grootte-orde van nagenoeg 200 mGy nodig zijn voor ATM-dependente activatie van het vroege "early G2 checkpoint" dat cellen belet de G2 fase van de celcyclus te doorlopen en de mitose in te gaan met beschadigd DNA.

2.6.1.4. Dubbelstrengig DNA breuken en hun herstel

Diverse vormen van schade kunnen aanleiding geven tot celdood of tot mutaties.. Dubbelstrengige DNA breuken, onder meer op efficiënte wijze geïnduceerd door ioniserende

straling, zijn de meest gevaarlijke vormen van schade aan DNA. Zelfs in het geval van gen conversie, de meest getrouwe vorm van DSB herstel, bestaat er een hoge kans op mutatie (James Haber, Keystone Congres "Genome Instability and DNA Repair" maart 2009). Wat bovendien op belangrijke wijze bijdraagt tot het risico verbonden aan dubbelstrengige DNA breuken is het feit dat deze als vorm van schade nagenoeg niet voorkomen in fysiologische omstandigheden. Rothman & Lobrich (2003) telden 0,04 à 0,06 (gemiddeld 0,05) DSBs per cel in primaire menselijke fibroblasten in vitro. Wanneer dubbelstrengige breuken ontstaan tijdens replicatie of transcriptie gebeurt dit in een context waarbij met het DNA gecomplexeerde eiwitten zoals topoisomerase II voor onmiddellijk herstel zorgen (Nitiss, 2009), zodanig dat er in feite geen schade optreedt. Omdat dubbelstrengige breuken niet frequent optreden zijn de betreffende herstelmechanismen dan ook niet permanent maximaal tot expressie gebracht.

Bij een beperkte bijkomende dosis van DNA schade (verschillend van endogene schade), niet voldoende om het DNA herstel maximaal te induceren, zullen dubbelstrengige DNA breuken door het constitutieve en fouten-makende "Non Homologous End Joining" systeem hersteld worden, en niet door het induceerbare (Valerie & Povirk, 2003) fouten-vrije "Homologous Recombination" systeem. Bij hogere dosis wordt "Homologous Recombination" geïnduceerd, met als gevolg minder fouten per dosiseenheid. Homologous recombination is wel belangrijker dan NHEJ tijdens de DNA replicatie (Haber, 1999, 2000)

2.6.1.5. Hieronder volgen een aantal waarnemingen inzake inductie en repressie van DNA herstelmechanismen

Dat een vrij lage dosis aan ioniserende straling DNA herstelmechanismen induceert werd reeds in vivo beschreven bij muizen evenals bij de mens vooraleer het fenomeen in vitro werd bestudeerd (Unscar 2000 Report Vol II, annex F, paragraaf 154).

"Base Excision Repair" (BER) van DNA schade veroorzaakt door de combinatie van methyleenblauw en ultraviolet licht is in menselijke cellen induceerbaar door voorafgaandelijke bestraling met UV licht. Deze intensifiëring van BER kan zowel via p53-afhankelijke als via p53-onafhankelijke wegen gebeuren. (Kassam et al., 2009).

Het (6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) speelt een belangrijke rol in de bescherming tegen alkylerende stoffen en ook in het herstel van endogene methylaties. MGMT is induceerbaar door glucocorticoiden en door genotoxische agentia zoals straling en alkylerende stoffen (Kaina et al., 2007)

Het tumorsuppressor eiwit p53 speelt een rol in de regulatie van de expressie van het (6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gen (Grombacher et al., 1998).

De expressie van het "Mismatch Repair" systeem (MMR) wordt neergereguleerd in muis- en menselijke stamcellen die gekweekt worden in zuurstofarme omstandigheden. Zuurstofarme niches zijn mogelijk een omgeving waarin stamcellen genetisch instabiel worden en mogelijk aanleiding geven tot subpopulaties met eigenschappen van kankerstemcellen (Rodriguez-Jimenez et al. 2008).

Een voorafgaande bestraling met ultraviolet licht, 3 uur voor een zware UV bestraling, leidde in hamstercellen, tot een sneller herstel van cyclobutaan pyrimidine dimeren

(veroorzaakt door UV licht) door middel van "transcription coupled Repair ter hoogte van een actief DHFR gen (Germanier et al., 2000)

Ook de verwijdering van thymine glycols uit DNA van menselijke cellen bleek induceerbaar te zijn bij het adaptatie fenomeen (Unscear 2000 Report Vol II, annex F, paragraaf 151)

2.6.1.6. Niet alle DNA herstelmechanismen zijn induceerbaar.

Zo bijvoorbeeld kan het herstel van 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG), een DNA adduct waarvan het herstel door het "Base Excision Repair " syteem geïnitieerd wordt door het OGG1 proteïne, niet geïnduceerd worden door oxidatieve of alkylatie schade (Bercht et al. 2007).

2.6.2. Het adaptatie effect. Een voorafgaande blootstelling aan een beperkte dosis ioniserende straling met lage lineaire energie transfert "(low-LET") induceert een vermindering in de gevoeligheid aan zowel het lethaal als het mutageen effect van een daarop volgende meer intense blootstelling.

2.6.2.1. Waarnemingen betreffende adaptatie

Voorafgaande blootstelling aan lage dosissen X of gamma stralen bleek in verschillende celtypes het celdodend effect (Unscear 2000 Report Vol II, annex F, paragraaf 150). en de frequentie van mutaties (Kelsey et al., 1991; Rigaud et al. 1993, Sanderson et al. 1986, Ueno et al 1996, Zhou et al. 1992), van apoptosis (Unscear 2000 Report Vol II, annex F, paragraaf 150). en van morfologische transformatie (Azzam et al 1994) als gevolg van een volgende blootstelling aan een hogere dosis te verminderen.

Een voorafgaande totale lichaamsbestraling met 50 mGy per dag gedurende 4 dagen induceerde in lymfocyten van C57BL/6 muizen een stijging van de DNA-herstel-replicatie ("unscheduled DNA synthesis") activiteit in antwoord op bestraling met ultraviolet licht en een vermindering van het aantal sister chromatid exchanges in antwoord op ultraviolet licht of op mitomycine C (Wojcik & Tuschl, 1990).

Een voorafgaande bestraling met een lage dosis aan X-stralen (50 mGy) induceert in vivo een toestand van adaptatie in muizen zodanig dat een daarop volgende bestraling met 0,65 à 1,5 Gy minder chromosomale afwijkingen veroorzaakt in mymphocyten en spermatoocyten (Cai & Liu, 1990; Cai & Liu, 1992; Cai et al., 1994).

Voorafgaande blootstelling van testes van de muis aan een lage dosis (12)C(6+) ionen bracht een significante toename van Poly(ADP-ribose) polymerase activiteit en van de expressie van PARP-1 proteïn teweeg en verminderde de inductie van chromosomale aberraties door een daarop volgende bestraling met een hoge dosis (Zhang et al., 2008)

In muis SR-1 cellen induceerde een voorafgaande bestraling met 10 mGY gamma stralen een significante vermindering in de HPRT mutaties verwekt door een 2 GY bestraling of verwekt door bleomycine (Zhou et al., 1993). Het beschermend effect is verdwenen na 48 uur.

Het adaptief effect werd ook beschreven voor de inductie van HPRT mutaties in menselijke lymfocyten, waarbij een voorafgaande bestraling met 10 mGY aan X stralen het mutageen effect van een 3 Gy X-stralen blootstelling 16 uur later verminderde met 70% (Kelsey et al. 1991).

In een menselijke T-leukemie cellijn induceerde een voorafgaande bestraling met 10 mGY gamma stralen een vermindering met 60% in de HPRT mutaties verwekt door een 2 Gy bestraling, en deed het percentage deleties en "rearrangements" dalen van 47% naar 28% (Zhou et al. 1994).

Een acute dosis van 5mGy X stralen induceert in menselijke lymfocyten een adaptatie die het aantal chromosomale breuken als gevolg van een bestraling 48 uur later met 1.5 Gy vermindert (Shadley & Wolff, 1987). Het adaptatie effect treedt slechts op 4 uur na de initiële bestraling en duurt ongeveer 60 uur (Shadley et al. 1987). Een zwaardere voorafgaande dosis, gegeven aan een hoog dosis ritme, zoals 500 mGY gegeven aan 0,1Gy of meer/minuut, geeft geen aanleiding tot adaptatie (Shadley & Wienke 1989)

2.6.2.2. Quantitatieve gegevens inzake adaptatie (Sasaki)

Zeer interessant zijn in dit verband de waarnemingen van Sasaki (1996) inzake adaptatie bij muiscellen in vitro en het model voor dosis-effect verbanden dat op basis van deze waarnemingen werd opgesteld. Een X-stralendosis van 10mGY à 100 mGY bleek in staat een adaptatie te induceren die ongeveer 20 uur aanhield en een maximum bereikte na ongeveer 10 uur. De "dose-modifying factor", de ratio van de dosis-lineaire term in de dosis-antwoord curve bij geadapteerde cellen versus niet geadapteerde cellen bedroeg $0,49 \pm 0,14$ voor chromosoomafwijkingen en $0,37 \pm 0,13$ voor mutaties. Het waargenomen adaptatie-effect had dus voor gevolg dat het aantal chromosoomafwijkingen en het aantal mutaties beperkt werd tot respectievelijk ongeveer 49% en 37%. Het aantal transformaties daarentegen steeg met een dose-modifying factor van $6,89 \pm 1,09$. Sasaki (1996) berekende, op basis van de door hem waargenomen "dose-modifying factoren, op basis van een duur van 10 uur van het adaptatie-effect en van de veronderstelling dat één treffer per celkern (overeenstemmend met 2 mGy) voldoende zou zijn om het adaptatie effect te induceren, een aantal curven voor de relatieve frequentie van mutaties en transformatie voor verschillende mengsels van gamma en alfa stralen. Uit die curven kan men afleiden dat, voor gammastraling, het mutageen effect bij dosissen tussen de 5 mGy en de 100 mGy per 10 uur met een 30 à 40 % afneemt en dat het adaptatie-effect bij 1000mGy per tien uur onbestaande is. Het transformerende effect daarentegen zou tussen de 5mGy en de 100 mGy per tien uur met ongeveer een factor 5 toenemen om terug de relatieve waarde 1 aan te nemen bij 1000mGy per tien uur. Op basis van de studies van Sasaki kan men verwachten dat, voor de muis, blootstellingen aan gammastralen met een intensiteit van minder dan 5mGy per tien uur relatief, per dosiseenheid, meer mutaties zullen induceren dan hogere dosissen, terwijl vanaf een dosis van 1Gy per tien uur terug een maximal mutageen effect te verwachten is.

Xue et al 2009 tonen aan dat voor "high Let" straling, HPRT mutaties per dosis eenheid frequenter zijn wanneer ATM niet wordt geactiveerd en het herstel van DNA niet wordt geïnduceerd. De activatie van ATM zou zich voordoen bij een dosis van ongeveer 200mGy.

2.6.2.3. Adaptatie geïnduceerd door oxidatieve stress

Ioniserende straling is niet het enige exogene agens dat DNA herstel mechanismen induceert resulterend in een vermindering van de gevoeligheid aan mutagene effecten van een daarop volgende blootstelling. Apurinic endonuclease (APE; ook Ref-1 protein genoemd), een belangrijk enzyme in Base Excision Repair, wordt in zoogdiercellen geïnduceerd door oxidatieve stress en induceert een hogere weerstand tegen het clastogeen effect van H₂O₂ (Grosch et al. 1998)

2.6.2.4. Het "heatshock" eiwit HSP70 en adaptatie

Het "heatshock" eiwit HSP70 kan geïnduceerd worden door ioniserende straling, ultraviolet licht, hitte en genotoxische stoffen en kan leiden tot de ontwikkeling van een verhoogde weerstand tegen ioniserende straling (Park et al., 2000). HSP70 kan binden op p53 en zo mogelijk een rol spelen, niet alleen in de regulatie van DNA herstel, maar ook in de regulatie van de celcyclus en van apoptose (Matsumoto et al., 1995)

2.6.2.5. Adaptatie bij de mens

Alhoewel het inwinnen van gegevens m.b.t. adaptatie bij de mens uiteraard zeer moeilijk is omdat experimenten ethisch onaanvaardbaar zijn, bestaan er toch enkele relevante waarnemingen. Lymfocyten van 24 personen professioneel blootgesteld aan ioniserende straling in een medische context bleken minder micronuclei te vormen na bestraling met 1 of 2 Gy dan lymfocyten van 13 niet-blootgestelde personen (Gourabi et al., 1998). Lymfocyten van personen die beroepshalve blootgesteld waren aan ioniserende straling tussen de 0,14mGy en de 0,98 mGy per maand (bovenop de achtergrondstraling) bleken een verhoogde DNA-herstel-replicatie ("unscheduled DNA synthesis") activiteit te vertonen in antwoord op ultraviolet licht bestraling en een verlaagde "sister chromatid exchange" in antwoord op mitomycine C (Tuschl et al. 1983). Lymfocyten van personen werkzaam in een hospitaal en blootgesteld aan een lage dosis gamma en X-stralen (maximale jaarlijkse dosis= 28 mSv) bleken, in antwoord op een bestraling van 2 Gy, minder chromosomale afwijkingen te vertonen dan deze van controle personen [Barquinero et al. 1995].

Een persistente contaminatie met een vrij lage dosis aan radionucleïden bij kinderen uit Pripjat, dicht bij Chernobyl, bleek geassocieerd te zijn met een verhoogde weerstand in lymfocyten tegen het chromosoom aberraties inducerend effect van het radiomimetisch glycopeptide bleomycine. Kinderen uit Pripjat daarentegen, die wel een acute blootstelling aan radioactieve straling hebben ondergaan maar geen persistente contaminatie met radionucleïden vertoonden, bleken een dergelijke verhoogde weerstand niet te vertonen (Tedeschi et al., 1996). Het adaptief effect blijkt duidelijk beperkt te zijn in de tijd, zoals ook uit in vitro onderzoek bleek. Dat bij dezelfde chronisch blootgestelde kinderen echter geen verhoogde weerstand tegen het chromosoom aberraties inducerend effect van ioniserende straling werd waargenomen wijst op de complexiteit van de betreffende mechanismen (Padovani et al., 1995).

Samengenomen lijkt het waarschijnlijk dat het adaptieve antwoord bij de mens bestaat, maar uit de bestaande studies is niet duidelijk op te maken in welke omstandigheden het optreedt en tegen welke agentia het dan bescherming verleent.

Het is duidelijk dat de meeste environmentele blootstellingen een intensiteit hebben die lager ligt dan 5 mGy per 10 uur. Men mag dan ook verwachten dat dergelijke blootstellingen,

wanneer ze betrekking hebben op agentia die schade veroorzaken van een type dat endogeen niet of nauwelijks ontstaat, waarschijnlijk meer mutaties veroorzaken dan hogere dosissen.

2.7. Hormesis

Sommige auteurs stellen dat blootstelling aan lage dosissen van een toxisch agens gezondheidsbeschermend werkt, fenomeen dat wordt aangeduid met de term hormesis (Calabrese & Baldwin, 2003).

2.7.1. Gegevens waarop de hormesis theorie steunt.

Men heeft kunnen vaststellen dat ioniserende straling (en sommige andere toxische agentia) in een bepaald dosisbereik een stimulerend effect hebben (tot 130 à 160 % van de controle) op sommige biologische parameters, om dan bij hogere dosissen een inhiberend effect te hebben (Calabrese & Baldwin, 2003). Op basis van een aantal in vitro waarnemingen over het verlagen van de transformatiefrequentie na blootstelling aan ioniserende stralen en op basis van enkele dierexperimenten heeft men de hypothese geformuleerd dat blootstelling aan een lage dosis van een genotoxisch agens het kankerrisico bij de mens zou doen dalen. Redpath & Elmore (2007) stellen dat hormetische effecten zich zouden voordoen onder de 100 à 200 mGy. De gegevens inzake transformatie in vitro, die m.b.t. kanker de belangrijkste hoeksteen van de hormesis theorie vormen, zijn samengevat door Redpath & Elmore (2007). zij rapporteren een transformatie frequentie van $3,10 \times 10^{-5}$ bij controle experimenten, vs $1,60 \times 10^{-5}$ bij gemiddeld 5,1 mGy en $2,57 \times 10^{-5}$ bij gemiddeld 69,2 mGy. De plausibiliteit van dit hormetisch, gezondheidsbeschermend effect zou berusten op de veronderstelling dat de exogene blootstelling DNA herstelmechanismen zou induceren die het mutageen effect van endogene schade op betekenisvolle wijze zou verminderen. Er is ook een waarneming inzake een verlaging van de vorming van micronuclei in menselijke cellen in vitro, tot beneden het spontane aantal, door een lage dosis gamma stralen (100 mGy togediend over 48 uur) (de Toledo & Azzam 2006).

2.7.2. Waarom de hormesis theorie irrelevant is m.b.t. mutaties en kanker.

Vooreerst dient opgemerkt dat de waarnemingen over hormetische effecten m.b.t. transformatie in vitro niet zeer overtuigend zijn. De waarnemingen die samengevat zijn door Redpath & Elmore (2007) zijn niet goed in overeenstemming te brengen met deze van Sasaki (1996) vermits Redpath & Elmore een verminderde transformatiefrequentie beschrijven bij bestralingsintensiteiten die volgens Sasaki juist hogere transformatiefrequenties met zich zouden brengen. Ook andere waarnemingen wijzen op een relatief verhoogde frequentie van transformatie bij blootstelling aan ioniserende straling aan lage dosis. Watanabe et al. (1992) vonden dat een wekelijkse dosis van 7,5 cGy gamma stralen de frequentie van tumorale transformatie van menselijke embryo cellen na verloop van 13 weken deed toenemen. Bettega et al. (1992) stelden vast dat de transformatie van C3H1071/2 cellen toenam met de dosis tussen 0,2 cgy en 2 cGy, om een plateau te vertonen tussen 2 cGy en 20 cGy, om dan verder toe te nemen. Miller et al. (2002) stelden vast dat een lage stralingsdosis vrijgesteld door verarmd uranium wel degelijk bijdraagt tot de inductie van tumorale transformatie in geïmmortaliseerde humane osteoblast cellen. De waarneming van de Toledo & Azzam over een beschermend effect van 100 mGy ioniserende straling tegen de inductie van micronuclei wijst wellicht op een inductie van DNA herstel mechanismen die de dubbelstrengige breuken

leidend tot de vorming van micronuclei herstellen, maar impliceert niet dat de totale mutatiefrequentie in de betreffende cellen is afgenomen. Inderdaad, per Gy aan gamma straling worden gemiddeld 40 DNA dubbelstreng breuken geïnduceerd (die kunnen leiden tot de vorming van micronuclei), maar ook 150 DNA-eiwit cross-links en 1000 enkelstrengige DNA breuken en worden 500 basen beschadigd. Dat de activatie van de tumorsuppressor p53, die een belangrijke functie heeft bij de inductie van DNA herstelmechanismen waaronder de "nucleotide excision repair" (Garner & Raj, 2008) en een sleutel rol zou vervullen in de "adaptive response" (Sasaki et al. 2002) zou afgenomen zijn tot beneden het spontane niveau doet ook vragen rijzen bij deze waarneming.

Het hormetisch effect dat bij transformatie experimenten in vitro wordt waargenomen is waarschijnlijk het gevolg, niet van een verminderd aantal mutaties, maar van een antiproliferatief effect tengevolge van de bestraling, waarbij celdelingen en daarop volgende mutaties minder frequent zijn, of van een transformatie-inhiberend effect op de genexpressie. Bestraalde cellen blijken in hun supernatans een oplosbare factor vrij te stellen die een transformatie-inhiberend effect kan overdragen (Mitchell et al., 2004). Het valt sterk te betwijfelen of dit mechanisme in vivo inderdaad optreedt, omdat in vivo het al dan niet optreden van celdelingen sterk gereguleerd is in weefselverband. Bovendien zijn het hoofdzakelijk de stamcellen die in vivo aanleiding kunnen geven tot kanker, en hun celdelingen zijn streng gecontroleerd en weinig frequent.

Dat hormesis van toepassing is op inductie van mutaties en van kanker, buiten het bieden van een zekere bescherming tegen een kort daarop volgende zware dosis, is dan ook zeer onwaarschijnlijk. Inderdaad, alhoewel een lage (1 cGy) adaptieve dosis ioniserende straling wel degelijk bescherming biedt (het aantal geïnduceerde tumoren vermindert) tegen een daarop volgende zwaardere dosis (2 Gy), verhoogt de adaptieve dosis op zichzelf wel degelijk het risico op kanker, zeker wanneer ze herhaald wordt (Bhattacharjee, 1996). In feite is, m.b.t. mutaties en kanker, een echt hormetisch effect slechts denkbaar wanneer een lage blootstelling aan een exogeen agens een foutenvrij herstelmechanisme zou induceren dat het mutageen effect van endogene DNA schade zou verminderen. Dit is echter weinig waarschijnlijk: endogene processen veroorzaken voortdurend een relatief grote mate van DNA schade (tot tientallen adducten per miljoen nucleotiden) (De Bont & van Larebeke, 2004), die voortdurend efficiënt en foutenvrij hersteld wordt door DNA herstelmechanismen die wellicht permanent actief zijn, wat essentieel is om de leefbaarheid van de cel te behouden (Deman & van Larebeke, 2001). Exogene DNA schade is, quantitatief gezien, bijna verwaarloosbaar t.o.v. de endogene schade. Dit blijkt bijvoorbeeld uit waarnemingen bij ratten met 0,91 aflatoxineadducten per 10^9 nucleotiden bij blootstellingen aan "omgevingsdosisen", terwijl 0,85 aflatoxine adducten per 10^6 nucleotiden reeds geassocieerd zijn met 50% tumorincidentie (Buss et al., 1990). Bij mensen vindt men in cervixepitheel bij vrouwen die niet roken 1,9 benzo(a)pyreendiëlepoxide adducten per 10^8 nucleotiden en bij rooksters 3,5 benzo(a)pyreendiëlepoxide adducten per 10^8 nucleotiden (Melikian et al, 1999). Exogene schade wordt dikwijls door andere processen en veel minder efficiënt hersteld (Deman & van Larebeke, 1997; 2001). Dat inductie van exogene schade beschermend zou werken tegen de endogene processen is om al deze redenen bijzonder onwaarschijnlijk. Er zijn trouwens geen betrouwbare waarnemingen aangaande een vermindering van het globaal risico op mutaties of kanker als gevolg van blootstelling aan een toxisch agens (Axelrod et al., 2004). Zo bijvoorbeeld biedt een matige consumptie van alcohol wel enkele voordelen, maar verhoogt wel het risico op borstkanker (Smith-Warner et al., 1998). Blootstelling in het leefmilieu is daarenboven niet aan één agens in "hormetische" dosis (het hormesis-venster is vrij smal met een factor tien tussen de lage en hoge grens van de hormesis inducerende dosis voor "stimulerende" activiteit), maar aan zeer talrijke agentia, terwijl er binnen de bevolking ook een grote variatie is in gevoeligheid aan individuele agentia, wat de relevantie van het begrip

"hormetische" dosis verder ondergraaft. Ook het feit dat embryo en foetus een hogere gevoeligheid hebben aan genotoxische agentia (Pereira, 2003) terwijl een belangrijk deel van het totale aantal celdelingen en mutaties plaats grijpt in utero (Zhang et al., 1995) ondergraaft verder de mogelijke betekenis van het begrip hormesis m.b.t. mutaties en kanker. De door Redpath & Elmore (2007) vooropgestelde hormetische effecten onder de 100 à 200 mGy zijn niet verenigbaar met de waarnemingen in een zeer uitgebreid onderzoek van Loyd et al. (1992). Op menselijke lymfocyten in vitro bleken X-stralen dosissen boven de 20 mGy inderdaad een significante stijging van het aantal chromosomale aberraties te verwekken (Lloyd et al. 1992).

Dat dosissen tussen de 5 en de 100 à 200mGy in vivo op zoogdieren en de mens geen kankerverwekkend effect hebben is bijzonder onwaarschijnlijk (zie paragraaf 8 over biomonitoring, paragraaf 10 over dierproeven en paragraaf 11 over epidemiologie).

Men kan dus stellen dat adaptatie/hormesis wel een rol kunnen spelen in de bescherming tegen kort daarop volgende intense blootstellingen, maar dat hormesis irrelevant is in het kader van omgevings-, diagnostische en van de meeste beroepsblootstellingen

2.8 Blootstellingen kunnen leiden tot een vermindering van het vermogen om DNA schade tengevolge van andere blootstellingen, ter herstellen.

Bij de mens werd vastgesteld dat blootstelling aan sommige agentia de capaciteit van lymfocyten om schade aan DNA, veroorzaakt door andere agentia zoals 1 Gy X of gamma stralen of bestraling met ultraviolet licht, te herstellen, vermindert. (Au et al., 2009). Dit werd vastgesteld bij inwoners van een streek gecontamineerd met afval, waaronder radium en radon, van uraniummijnen; bij schoolkinderen, verkeerspolitie en straatverkopers uit Bangkok, blootgesteld aan gepollueerde lucht (fijn stof, polycyclische aromatische koolwaterstoffen, benzeen, butadien); bij laboranten en benzinepompstation bedienden, respectievelijk blootgesteld aan gemiddeld 25,46 ppb en 112,41 ppb benzeen; bij personen blootgesteld aan met arsenicum besmet drinkwater (Au et al., 2009). Lymfocyten van blootgestelde schoolkinderen uit Bangkok bijvoorbeeld bleken na de test-blootstelling $0,45 \pm 0,01$ deleties per metaphase te vertonen, tegen $0,26 \pm 0,01$ voor kinderen uit een rurale streek. Het ging hier telkens om vormen van milieuvervuiling, maar dan wel intense milieuvervuiling. Politieagenten en buschauffeurs uit drie Europese steden (blootgesteld aan luchtpollutie) bleken een verlaagde capaciteit te hebben om schade veroorzaakt door X stralen te herstellen: de efficiëntie van herstel bij blootgestelde individuen bedroeg $61,8 \pm 11,8\%$ versus $67,9 \pm 9,9$ bij controle personen ($p < 0,001$) (Cebulska-Wasilewska et al., 2007). Rokers bleken een verminderde herstel capaciteit te hebben vergeleken met niet-rokers ($63,0 \pm 11,5\%$ versus $65,9 \pm 11,1$ in niet-rokers, $p < 0,005$) (Cebulska-Wasilewska et al., 2007).

2.9. Chronische blootstellingen induceren meer mutaties per dosiseenheid dan acute blootstellingen.

Chronische blootstelling aan een mutageen veroorzaakt per dosiseenheid meer mutaties dan een acute blootstelling. Carcinogenen veroorzaken mutaties in de stamcellen van weefsels. Er ontstaat daardoor een verhoogde kans tot het afsterven van stamcellen (een vitaal gen is inactief gemaakt). Er ontstaat een verhoogde proliferatie aangezien de afgestorven stamcel moet vervangen worden (uit de groep van potentiële stamcellen). Door de toegenomen celdelingactiviteit zal als het carcinogeen aanwezig blijft, dit een verhoogd aantal mutaties in de stamcellen teweegbrengen (minder tijd voor herstel van DNA-schade). Door die toename in mutaties vergroot de sterfte, neemt de proliferatie nog meer toe en tengevolge daarvan ook de mutaties, enz. Met constante concentratie van carcinogeen is er een

exponentiële toename van de Mutatiefrequentie. Dit geldt voor carcinogenen bij elke concentratie op voorwaarde dat ze continue, over een lange tijd (maanden, jaren), aanwezig blijven. Door dit verschijnsel zal eenzelfde totale dosis meer mutaties teweegbrengen als ze over een langere duur i.p.v. over een kortere duur toegediend wordt. Chronische toediening van een alkylenderend agens zoals ethylnitrosurea heeft een groter mutageen effect dan een acute blootstelling (ENU 1 mg/kg per dag gedurende 120 dagen – ENU 3 mg/kg per dag gedurende 40 dagen). In een experiment bij muizen induceerde een lage dagelijkse dosis ethylnitrosurea 8 maal meer mutaties tussen de 90^{ste} en de 120^{ste} dag dan gedurende de eerste 30 dagen (Shaver-Walker et al., 1995).

Door Brenner et al. (1990) werd een mathematisch model ontwikkeld dat de grotere relatieve efficiëntie van hoog-LET straling (neutronen en geladen deeltjes) bij laag dosistempo verklaard op basis van een hogere gevoeligheid gedurende een deel van de celcyclus. Een spreiding van de dosis over een langere tijdsperiode treft meer cellen in een gevoelig deel van de celcyclus zij het dan met een lagere afzetting van energie, maar de hoog-energetische straling zal nog steeds voldoende energie afzetten om een relevant biologisch effect te hebben (Hall et al. 1991).

3. Mutagene effecten in vivo/biomonitoring.

De bijkomende dosis ioniserende straling tengevolge van het Chernobyl incident (goed voor een toename van de achtergrondstraling van 0,9 mGY/jaar naar 2,0 mGY/jaar) zou in de stad Salzburg (op 1.300 km van Chernobyl) bij 15 proefpersonen een significante stijging (met een factor 6) van chromosoomafwijkingen veroorzaakt hebben (Pohl-Ruling et al. 1991). De betrouwbaarheid van deze waarneming werd in twijfel getrokken door Lloyd et al. (1997) die geen significante stijging in chromosomale afwijkingen vonden bij Syrische hamsters blootgesteld aan een dosis Cesium 137 vergelijkbaar met deze opgelopen door de bewoners van Salzburg. Een uitgebreide studie van Pohl-Ruling et al. (2000) vond echter wel degelijk duidelijke effecten bij zeer lage dosissen alfa partikel straling op menselijke bloedcellen in vitro. Onder de dosis van 10mGy bleek er echter geen significant dosis-effect verband te bestaan, wat er zou kunnen op wijzen dat deze alfa partikel straling DNA herstel en/of andere beschermende mechanismen induceert die ertoe leiden dat de hoeveelheid chromosomale afwijkingen, na een initiële stijging, niet verder betekenisvol toenemen tot de dosis van 10 mGy. De lage waarschijnlijkheid dat een celkern getroffen wordt door een alfa partikel bij deze dosissen betekent dat de waargenomen effecten grotendeels te wijten zijn aan indirecte mechanismen zoals het opdrijven van reactieve peroxydatie producten van lipiden die aan niet rechtstreeks geraakte cellen kunnen doorgegeven worden. De gegevens van Pohl-Ruling et al. (2000) suggereren een significante daling van de chromosoomafwijkingen bij een bestraling met 0,03 mGy. Alhoewel deze laatste waarneming compatibel is met het optreden van een hormetisch effect bij 0,03 mGy aan alfa straling is de betekenis van deze waarneming voor de menselijke gezondheid zeer betwifelbaar, in het licht van het feit dat dezelfde auteurs wel een duidelijke stijging in het aantal chromosomale afwijkingen vaststelden als gevolg van de Chernobyl gebonden milieublootstelling.

4. Geïnduceerde genetische instabiliteit

Sommige blootstellingen kunnen een toestand van genetische instabiliteit veroorzaken waarbij met hoge frequentie mutaties optreden zonder enig verband met de intensiteit van de blootstelling en vele celdelingen na het ophouden van de blootstelling. Het gaat hier naar alle

waarschijnlijkheid over de inductie van endogene mutagene mechanismen. Het op gang brengen ervan is dus eerder te beschouwen als een verandering in de genexpressie en dient niet noodzakelijk te berusten op een mutatie.

Na bestraling met 5 GY of 10 GY X-stralen bleken 29% respectievelijk 62% van de kolonies gevormd door overlevende Hamster-Mens hybride cellen chromosomale instabiliteit te vertonen (Marder & Morgan 1993). T lymfocyt celklonen bleken twee maand na een bestraling met 3 Gy aan X stralen chromosomale instabiliteit te vertonen, en meer dan 20% van de cellen in deze klonen bleken spontane, niet-klonale chromosomale afwijkingen te vertonen. De frequentie en kinetiek van deze afwijkingen suggereert dat deze niet ontstaan door persisterende schade aan DNA (Holmberg et al, 1995). Ook bestraling met X stralen (1 à 3 GY) aan een laag dosistempo (0.024 Gy h⁻¹), of acute bestraling met X stralen (1 à 3 GY) gevolgd door een rust periode van 5 dagen om herstel van DNA toe te laten vooraleer de T cellen tot delen worden aangezet, geeft aanleiding tot laattijdige chromosomale instabiliteit (Holmberg et al., 1998). Ook bestraling met gamma stralen aan een laag dosistempo (24 mGy/uur) veroorzaakte chromosomale instabiliteit, en bij voortgezette celgroei gedurende 22 to 57 dagen na de bestraling ontwikkelden zich celklonen met de novo aberraties (Holmberg et al., 1998).

Na transplantatie in vrouwelijke dieren bleken in vitro bestraalde cellen van mannelijke muizen chromosomale instabiliteit te vertonen tot 1 jaar na de transplantatie (Watson et al., 1996). Chromosomale instabiliteit bleek ook in vivo via een bystander effect doorgegeven te kunnen worden aan niet bestraalde cellen (Watson et al. 2000).

5. Bystander effect

Bystander effect: ook cellen die niet getroffen worden door een agens kunnen een effect vertonen. Nagasawa en Little stelden vast dat een bestraling van chinese hamster ovarium cellen in vitro met alfa partikels aan 0,31 mGy, waarbij minder dan 1% van de celkernen door een alfa partikel getroffen worden, toch een toename van sister chromatid exchanges induceert in 30% van de cellen. Zhou et al. (2000) stelden vast dat bestraling met 20 alpha partikels van 20% van de cellen in een zoogdiercellenpopulatie in vitro 3x meer mutaties induceerde dan kon verwacht worden in de afwezigheid van een bystander effect en dat een vermindering van cel-celcommunicatie ook de inductie van deze verhoogde mutatiefrequentie tegenging. C.R. Geard (Columbia University) en medewerkers (EMS congres, Miami 2003) vonden dat, wanneer 10% van C3H10T1/2 cellen in vitro door een alfa partikel werden geraakt in de celkern middels de "Microbeam" opstelling die in de universiteit van Comumbia beschikbaar is, de frequentie van tranformatie nagenoeg even groot was als wanneer 100% van de cellen werd geraakt.

6. Tumorpromotie en synergisme

Laboratoriumexperimenten in vitro en op proefdieren worden in de grote meerderheid der gevallen uitgevoerd met enkelvoudige substanties. In werkelijkheid wordt de mens echter blootgesteld aan een veelheid van toxische en kankerverwekkende agentia. Deze agentia kunnen additief, synergisch of antagonistisch inwerken. Antagonistische interacties zijn uiteraard niet problematisch en kunnen zich onder meer m.b.t. hormoonverstorende stoffen voordoen. Het anti-oestrogeen effect van tabaksrook is hiervan wellicht een voorbeeld. Maar het is waarschijnlijk dat additieve en synergistische interacties frequenter optreden (Warshawsky et al., 1993), omdat de kans dat een verstoring het effect van een andere verstoring opheft uiteraard kleiner is dan de kans dat een delicaat biologisch mechanisme door multipele verstoringen grondig ontregeld wordt.

6.1 Tumorpromotie.

Inzake de inductie van kanker speelt synergisme een belangrijke rol. In de decennia na de tweede wereldoorlog had een aanzienlijk deel van het kankeronderzoek betrekking op de tumorpromotie, wat in essentie een fenomeen van synergisme is. Tumorpromotie treedt op wanneer een agens, dat niet kankerverwekkend is op zichzelf, de frequentie van inductie van kanker door een kankerinitieërend agens doet toenemen wanneer het na dat kankerinitieërend agens wordt toegediend. Tumorpromotors werken in op de expressie van genen (zie addendum 1 over niet genotoxische carcinogenen en tumorpromotors).

6.2. Synergisme

Wanneer het carcinogeen effect van blootstelling, aan twee carcinogenen samen, significant groter is dan de som van de effecten van blootstelling aan elk der carcinogenen afzonderlijk, heeft men te maken met synergisme. Significant synergisme in de inductie van longkanker werd beschreven voor roken en respectievelijk werken in uraniummijnen, beroepsmatige blootstelling aan asbest of arsenicum. Ook zouden alcohol en roken een significant synergistisch effect hebben op de inductie van kanker van de mondholte en de slokdarm, en blootstelling aan cadmium en roken op de inductie van nierkanker. Beroepsmatige blootstelling aan één of meerdere stoffen (asbest, polycyclische aromatische koolwaterstoffen zoals vervat in roet, teer of minerale oliën, chroom, nikkel, arseen-houdende verbindingen, bis-chloromethyl-ether, chloromethyl-methyl-ether, vinyl chloride) waarvan geweten is dat zij longkanker induceren bij de mens, gaat in een sterk geïndustrialiseerde streek in Lombardije (Noord-Italië) zowel voor rokers als voor niet-rokers, gepaard met een gemiddeld 2.1 maal verhoogd risico op longkanker (niet roken, geen blootstelling : risico=1 ; niet roken, wel blootstelling : risico=2,5; roken zonder blootstelling : risico=9; roken en blootstelling: risico=19!) (Pastorino et al., 1984). Deze beroepsblootstelling blijkt synergistisch te werken met roken en is verantwoordelijk (nodig, maar niet noodzakelijk voldoende) voor 33% van alle gevallen van longkanker in deze streek, terwijl roken verantwoordelijk is (nodig maar niet noodzakelijk voldoende) voor 81%. Samen zijn beide risicofactoren verantwoordelijk voor (slechts) 89% van alle gevallen van longkanker. Dit impliceert dat een zeer groot aantal gevallen van longkanker in de betreffende streek kan vermeden worden door het uitschakelen van één (om het even welke van beide) factoren. Het lijkt waarschijnlijk dat het niet onderkennen van de synergistische actie van tabaksrook met moeilijk te identificeren beroeps- en omgevingsfactoren geleid heeft tot een aanzienlijke onderschatting van het effect van deze laatste: veel tabaksrook-gerelateerde kankers kunnen mede onder invloed van carcinogene agentia uit arbeidsmidden of leefmilieu ontstaan zijn.

In mechanistische termen kan synergisme, behalve op het fenomeen van de tumorpromotie (zie addendum over tumorpromotie), ook berusten op het feit dat, bij de mens, blootstelling aan sommige agentia de capaciteit om schade aan DNA, veroorzaakt door andere agentia, te herstellen, vermindert. (Au et al., 2009). Ook de (dikwijls discrete maar toch reële) stimulatie van celproliferatie door blootstelling aan een bepaald agens zal de inductie van mutaties door een ander agens in de hand werken, analoog aan het effect van voorgaande blootstellingen aan hetzelfde agens (Shaver-Walker et al., 1995). Op mechanistische basis kan men ook verwachten dat het kankerverwekkend effect van een welbepaalde dosis van een genotoxische kankerverwekkende stof toe neemt naarmate de populatie die de blootstelling ondergaat een hogere mutatiefrequentie vertoont tengevolge van diverse andere blootstellingen (addendum 3)

7. Het risico op kanker stijgt zeer sterk met de duur van de blootstelling

Aan de hand van een experiment op een zeer groot aantal (4 080) ratten kwamen Peto et al. (1991a, 1991b) tot het besluit dat voor lage dosissen N-nitrosodimethylamine (NDMA) of N-nitrosodiethylamine (NDEA) het kankerverwekkend effect lineair toenam met de dosis voor levertumoren (die ook spontaan voorkwamen), terwijl geen slokdarmtumoren werden waargenomen bij lage dosis. De incidentie van slokdarmtumoren, die niet spontaan voorkwamen, zou eerder exponentieel stijgen met de dosis. Het natuurlijk logaritme van de probabiliteit tumorvrij te blijven, werd gegeven door het product van twee termen, de eerste (de Weibull b waarde) afhankelijk van de dosis per tijdseenheid maar niet van de duur van de blootstelling, en de tweede afhankelijk van de duur van de blootstelling maar niet van de dosis per tijdseenheid. Voor levertumoren geïnduceerd door NDEA was de Weibull b waarde ongeveer proportioneel met de vierde macht van de dosis/dag+0,04 mg/kg/dag en bedroeg $19.(d+0,04)^4$ voor mannelijke dieren en $32.(d+0,04)^4$ voor vrouwelijke dieren waarbij d de dosis per dag is in mg/kg/dag. Dit is in overeenstemming te brengen met het feit dat mutaties veroorzaakt door het carcinogeen in kwestie zich voegen bij spontane mutaties die in het betreffende orgaan optreden. Vergelijking (1) in addendum 2 is analoog aan de uitdrukking voor de Weibull b waarde die beschrijft hoe de incidentie van tumoren afhangt van de dosis. Merkwaardig is dat de cumulatieve incidentie evenredig is met de 7^e macht van de duur van de blootstelling, zodat een verdubbeling van de duur van blootstelling ongeveer een 100-voudige toename in de cumulatieve incidentie met zich brengt.

8. Biomonitoring gegevens wijzen op genotoxische en mutagenen effecten van omgevingsblootstellingen

De Vlaamse biomonitoring toonde associaties aan tussen omgevingsblootstellingen en genotoxische (Staessen et al 2001) en mutagene effecten (van Larebeke et al., 2004). Wanneer de frequentie van dicentrische en ring chromosomen in een Chinese studie werd uitgezet tegen de leeftijd bleek in het gebied met hoge achtergrondstraling (met een cumulatieve dosis van 30,9 tot 358,9 mGY) een duidelijke positieve associatie te bestaan tussen leeftijd en chromosomale afwijkingen (frequency of Dic+Rc = $0.5717 + 0.04444 \times \text{year}$, $R^2 = 0.7441$) terwijl dit in de controle groep (met een cumulatieve dosis van 6,0 tot 59,2 mGY) veel minder het geval bleek te zijn (frequency of Dic+Rc = $0.7227 + 0.0137 \times \text{year}$, $R^2 = 0.2111$). De richtingscoëfficiënt van de dosis-antwoord curve was meer dan drie maal hoger in het gebied met hoge achtergrondstraling dan in het controle gebied (Jiang et al. 2000). Hoe een verband tussen leeftijd en dicentrische en ring chromosomen tot stand komt is echter niet geheel duidelijk, vermits dicentrische en ring chromosomen na verloop van tijd verdwijnen en enkel stabiele chromosomale aberraties goed geschikt zijn om cumulatieve blootstelling te bestuderen (zie bijvoorbeeld Fucic et al. 2007). De gegevens van Jiang et al. (2000) wijzen echter ook op een positieve associatie tussen chromosomale afwijkingen en dosis achtergrondstraling per jaar. Op basis van de gegevens van Jiang et al. (2000) kan zo berekend worden dat, in een multi-pele regressie met leeftijd en intensiteit van achtergrondstraling als onafhankelijke parameters, er zich een stijging van het aantal dicentrische en ring chromosomen met 0,84 per 1000 cellen per mGY per jaar voordeed ($p=0,0118$).

9. Blootstellingen vroeg in het leven (prenataal en tijdens de vroege kinderjaren) zijn van zeer groot belang bij de inductie van kanker, ook in het latere leven.

De foetus is doorheen de placenta blootgesteld aan tal van pollutanten waarmee de moeder in contact komt. Dit is ondermeer zo voor nitrosamines, aflatoxines en polycyclische

aromatische koolwaterstoffen (PAKs). In het Poolse Krakow bleken pasgeborenen een grotere hoeveelheid PAK-DNA adducten te hebben (gemeten in navelstrengbloed) dan hun moeders, wat wijst op een lagere efficiëntie van de detoxificatie en herstel mechanismen bij de foetus (Perera et al., 2002). Dit is bijzonder bedenkkelijk in acht genomen de grotere intensiteit van celdeling die men in utero en bij kinderen aantreft. In utero vindt reeds ongeveer een kwart van het totaal aantal celdelingen en mutaties plaats die ooit in het menselijk lichaam gebeuren (Zhang et al., 1995; Paashuis & Heddle, 1998). Perera stelde bij de pasgeborenen trouwens ongeveer een kwart van de HPRT mutaties vast die bij de moeder gevonden worden. Tijdens de kinderjaren grijpt een tweede kwart van celdelingen en mutaties plaats (Zhang et al., 1995; Paashuis & Heddle, 1998). Wanneer men daarbij bedenkt dat mutaties die plaats grijpen bij het begin van het leven uiteraard meer kans krijgen om tot het ontstaan van kanker te leiden is het duidelijk dat blootstellingen in utero en op kinderleeftijd bijzonder zorgwekkend zijn.

Het DNA herstel enzyme O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) is cruciaal voor de bescherming tegen de mutagene en carcinogene effecten van alkylerende agentia, die belangrijk zijn als oorzaak van hersenkanker. Silber et al. (1996) stelden vast dat afwezigheid van detecteerbare MGMT activiteit in hersenweefsel een risicofactor is voor hersenkanker bij de mens. Bobola et al.(2007) stelden vast dat tijdens het intrauteriene leven de concentratie van MGMT in de hersenen van de mens lager is dan tijdens het volwassen leven en dat het MGMT negatieve fenotype veel frequenter is prenataal dan op volwassen leeftijd.

Prenataal en bij de geboorte bleken muizen veel gevoeliger voor het ovarium-kanker verwekkend effect van gamma stralen. Op dagen 0,7,35, en 105 van het postnatal leven was de dosi-antwoord curve supralineair, maar niet bij prenatale bestraling of op dagen 240,365 en 550 (Sasaki et al. 2008)

10. Dierproeven zijn niet geschikt om kankerverwekkende effecten van zeer lage dosissen te bestuderen.

Daar proefdieren ook spontane tumoren of tumoren te wijten aan onvermijdbare voedings- en omgevingsfactoren vertonen zouden zeer grote aantallen proefdieren nodig zijn om het kankerverwekkend effect van blootstellingen aan zeer lage dosis aan te tonen. Onderstaande tabel, overgenomen uit het "Unscar 2000 Rapport Vol II, annex G" toont dat het vereiste aantal proefdieren om bijvoorbeeld het myeloid leukemie inducerend effect van een bestraling met 10m Gy aan te tonen naargelang van het soort proefdier tussen de 4.000 en de 12 miljoen zou bedragen.

Table 6
Statistically determined sample sizes of irradiated and control mice needed to detect a significant increase in tumour risk ^a

<i>Mouse strain</i>	<i>Tumour</i>	<i>Sample size</i>			
		<i>1 000 mGy</i>	<i>100 mGy</i>	<i>10 mGy</i>	<i>1 mGy</i>
RFM	Thymic lymphoma ^b	1 300	1.2 10 ⁵	1.2 10 ⁷	1.2 10 ⁹
RFM	Myeloid leukaemia ^c	1 700	1.2 10 ⁵	1.2 10 ⁷	1.2 10 ⁹
C'BA	Myeloid leukaemia ^d	30	300	4 000	1.3 10 ⁵

^a p = 0.05.

^b Spontaneous incidence 1.3 10⁻⁴; risk of 3 10⁻² Gy⁻¹ assumed.

^c Spontaneous incidence 7 10⁻³; risk of 7 10⁻² Gy⁻¹ assumed.

^d Spontaneous incidence 1 10⁻⁴; risk of 1 10⁻¹ Gy⁻¹ assumed.

Wel kunnen mutagene effecten van zeer lage dosissen aan kankerverwekkende agentia aangetoond worden bij proefdieren. X stralen in een dosis van 10 mGY induceren revertie-mutaties in de muis (Schiestl et al.1994).Tussen 10 en 1000 mGy was het dosis-antwoord verband lineair (Schiestl et al.1994).

Problemen met dierproeven

Men legt vaak de nadruk op het feit dat dierproeven kunnen leiden tot een overschatting van het risico voor de mens. De overschatting schrijft men toe aan species specifieke metabole en/of toxische reacties. Alhoewel het waarschijnlijk is dat sommige agentia op sommige diersoorten carcinogene effecten hebben die zich niet voordoen bij de mens, bestaan er problemen met de interpretatie van carcinogeniciteitstests op proefdieren die kunnen leiden tot een onderschatting van het kankerverwekkend vermogen van een agens op de mens. Men kan daarvoor volgende argumenten aanvoeren:

1. Er wordt onvoldoende rekening gehouden met de langere levensduur van de mens bij de extrapolatie van dier naar mens (life-time dosis is belangrijker dan dosis per dag) (Törnqvist & Ehrenberg, 1994). Door het cumulatief en onomkeerbaar karakter van mutaties mag men verwachten dat het de life-time dosis is die van beslissend belang is, zoals recent werd vastgesteld voor ioniserende straling (Storer et al., 1988) en voor alkylerende chemotherapeutica (Dedrick & Morrison, 1992). Wanneer men zich, bij extrapolatie van knaagdieren naar de mens, baseert op de gemiddelde concentratie van een alkylerend agens in het plasma, onderschat men de carcinogene potentie met een factor van tien tot honderd (Dedrick & Morrison, 1992). Ook rijzen er problemen met de equivalentie van dosissen. Wordt dit het best uitgedrukt in mg/kg lichaamsgewicht? mg/m² lichaamsoppervlak?, "physiologically-based" farmacokinetische modellen van metabolisme?
2. Vele dierproeven worden over een te korte tijdspanne uitgevoerd, wat tot een onderschatting van het carcinogeen risico (op hoge leeftijd) van de aangewende dosis leidt (Peto et al., 1991a en b, Finkel, 1995).
3. Dierproeven worden meestal uitgevoerd met zuivere stoffen, zonder dat de proefdieren aan (andere) tumorpromotors zijn blootgesteld. In werkelijkheid wordt de mens echter continu blootgesteld aan diverse tumorpromotors, zoals de dioxineachtige stoffen. Het is waarschijnlijk dat bij een lage dosis van carcinogenen, zoals deze waaraan de mens in werkelijkheid is blootgesteld, het effect van tumorpromotors relatief belangrijker is dan bij een hoge dosis (Burns et al;1983). Wanneer in experimentele condities een carcinogeen een drempeldosis vertoont waaronder geen tumoren worden vastgesteld, zal bijkomende blootstelling aan een tumorpromotor voor gevolg hebben dat ook onder de drempeldosis tumoren waargenomen worden (Ehrenberg et al., 1996)

11. Epidemiologische waarnemingen die wijzen op het belang van lage (omgevings) blootstellingen als oorzaak van kanker

Reeds bij lage blootstelling toch sterke stijging van het risico

Ook relevant i.v.m. lage blootstellingen is de vaststelling van Vineis et al. (2001) dat de stijging van het risico op long en blaaskanker bij zware rokers afvlakt boven een relatief risico van 5 voor blaaskanker en boven een risico van 20 voor longkanker. Dat een vrij lage blootstelling aan tabaksrook relatief gevaarlijker is dan hogere blootstellingen wordt ook aangetoond door de waarnemingen van Bjartveit & Tverdal (2005), die vonden dat het roken van 1 à 4 sigaretten per dag reeds gepaard ging met een relatief risico op sterfte door longkanker van 2.79 (95 C.I. 0.94 tot 8.28) in mannen en 5.03 (95 C.I. 1.81 tot 13.98) bij vrouwen en op sterfte door een ischemische hartziekte van 2.74 (95 C.I. 2.07 tot 3.61) in mannen en 5.03 (95 C.I. 1.81 tot 13.98) in vrouwen.

Impact van milieufactoren wordt onderschat

Er zijn tal van aanwijzingen voor het feit dat de impact van milieufactoren onderschat wordt (vooral door het establishment). Deze aanwijzingen berusten op mechanistische concepten en inzichten (zie hierboven) in de natuur van de relevante blootstellingen en op epidemiologische gegevens zoals hieronder aangegeven.

Vooreerst is de incidentie van kanker in het algemeen hoger in industriestaten dan in Derde Wereld landen, waar, tot voor enkele tientallen jaren, blootstelling aan pollutie en "man-made chemicals" aanzienlijk minder was. Dat de incidentie van kanker in de ontwikkelingslanden nog niet sterk gestegen is ten gevolge van de toenemende blootstelling aldaar, is hetgeen men verwacht gezien de latentietijd voor de ontwikkeling van kanker. Vervolgens is er het feit dat de incidentie van kanker in de industriestaten sterk gestegen is in de loop van de 20ste eeuw (zie hieronder). Deze verschillen en evoluties zijn uiteraard niet alleen terug te voeren op verschillen in blootstelling aan milieufactoren maar ook op verschillen in levensstijl en misschien ook betreffende inname van micronutriënten. Wel is het mogelijk of zelfs waarschijnlijk dat milieufactoren een aanzienlijke rol spelen in deze grote verschillen.

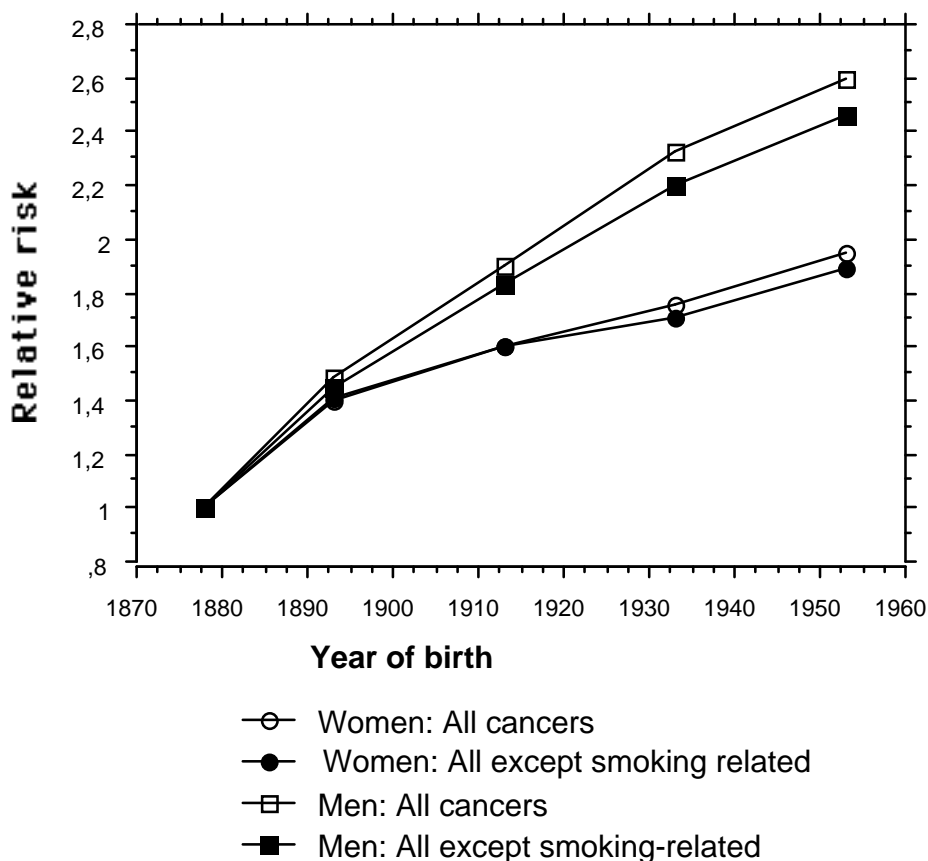
11.1 In de Westerse industriestaten is de incidentie van kanker gestegen

Het is een publiek geheim dat er meer en meer gevallen van kanker te betreuren zijn in een land als België (en Vlaanderen). Een deel van de stijging van de kankerincidentie is een rechtstreeks gevolg van de veroudering van onze bevolking, omdat kanker meestal een ziekte is, waarvoor het risico sterk stijgt met de leeftijd. Zelfs na correctie voor de veroudering van de bevolking, dus bij het beschouwen van naar leeftijd gestandaardiseerde cijfers voor kankerincidentie, moet worden vastgesteld dat kanker nu frequenter voorkomt dan in het verleden. De stijging van de waargenomen kankerincidentie kan voor een deel berusten op een verbetering van de diagnostische methoden, maar is wellicht grotendeels reëel. Ze is wellicht het gevolg van een toegenomen blootstelling, in het arbeidsmidden en het leefmilieu, aan kankerverwekkende stoffen, van veranderingen in levensstijl (sekse en reproductie, tabak) en mogelijk ook van een vermindering in de inname van kankerwerende stoffen door veranderingen in voedingsgewoonten. De blootstelling in het arbeidsmidden is, in Westerse landen, echter sterk verminderd sedert het begin van de jaren 1960, maar die vermindering is wellicht gecompenseerd door een toename (tot wellicht de jaren '80) van de blootstelling via het leefmilieu. De laatste jaren nochtans zou de verontreiniging van het leefmilieu in de Westerse landen met betrekking tot een aantal parameters afnemen (Jones et al., 1989; Boström et al., 1994; Flachsbar, 1995; Jacob et al., 1997), terwijl ze voor andere parameters (zoals fijn stof, ozon,...) nog steeds toeneemt (Brasseur & Hitchman, 1988; Hough & Derwent, 1990; Urbach, 1997).

11.1.1. Sinds het begin van deze eeuw

In de Westerse landen is de kankerincidentie in een belangrijke mate gestegen sedert het begin van deze eeuw (Davis et al., 1994; Adami et al., 1993). Zich baserend op de "National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results Program" hebben Davis et al. (1994) berekend dat het relatief risico op kanker, voor personen geboren in de jaren 1948 tot 1957, vergeleken met personen geboren tussen 1888 en 1897, gestandaardiseerd naar leeftijd, voor vrouwen met meer dan 50 % is gestegen en voor mannen ongeveer verdubbeld is. (De term "relatief risico" verwijst hier niet naar het effect van een blootstelling, maar is een maat voor de vergelijking van het kankerrisico tussen twee groepen of tijdsperiodes). In de Zweedse studie (fig. 1) bleek het risico van kanker groter te zijn voor personen geboren in de jaren vijftig dan voor deze geboren tussen 1873 en 1882; voor vrouwen was het risico ongeveer verdubbeld, en voor mannen verdrievoudigd (Adami et al., 1993).

Fig. 1. Cancer Incidence in Sweden for 10 year birth cohorts (Adami et al., 1993)



Een belangrijke uitzondering op de stijgende tendens is maagkanker, waarvan de incidentie overal in het westen sterk gedaald is, wellicht tengevolge van een geringer verbruik van gerookte en gepekeld voedingswaren, en door de toename in de consumptie van verse groenten en fruit.

11.1.2. Tijdens de laatste decennia

Dat ook de laatste jaren nog een stijging van de kankerincidentie valt waar te nemen blijkt uit de fig. 2 (mannen) en fig. 3 (vrouwen) (gegevens van Davis et al., 1994) die betrekking hebben op kankerincidentie in de Verenigde Staten waarbij het relatief risico (voor personen van 20 tot 84 jaar) tijdens de periodes 1978-1982 en 1983-1987 vergeleken wordt met de referentie periode 1973-1977 (periode waarvoor het relatief risico arbitrair gelijk aan 1 wordt genomen).

Fig. 2. Seer program: Cancer Incidence in white men from age 20 to 84 (from Davis et al., 1994)

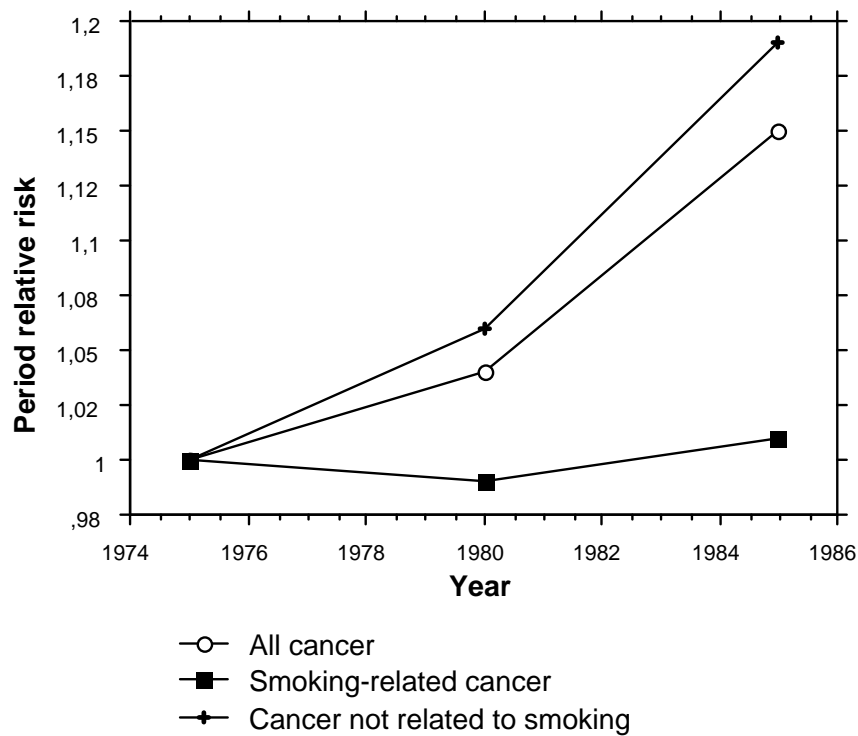
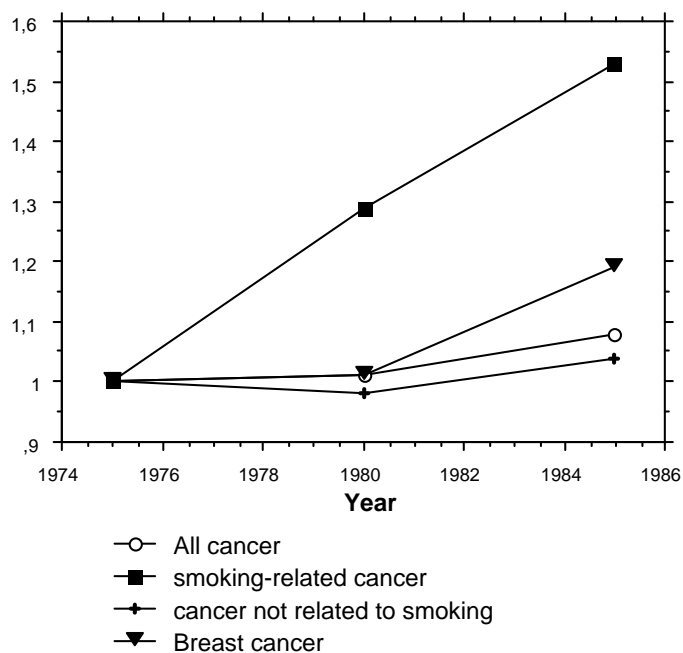
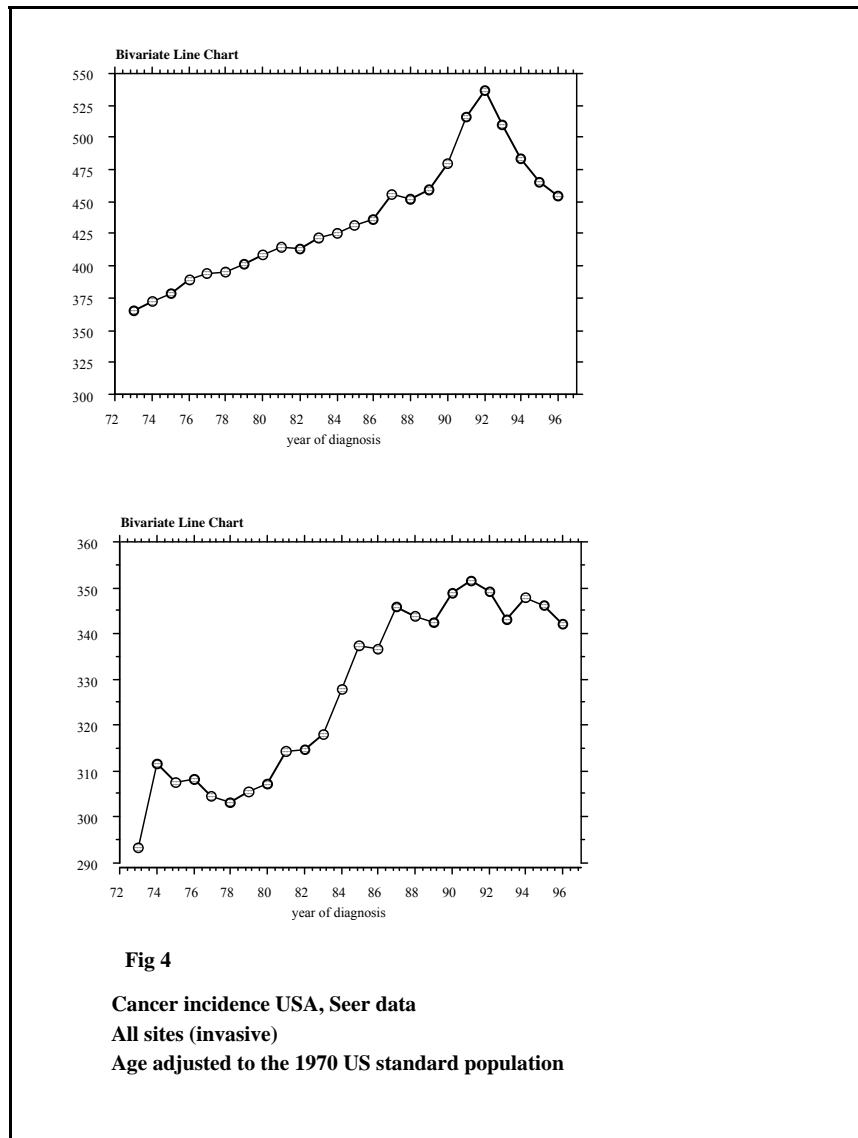


Fig. 3. SEER program: Cancer Incidence in White women from age 20 to 84 (from Davis et al., 1994)



In de USA steeg de naar leeftijd gestandaardiseerde incidentie, voor alle kankers samen, met 18,6% bij de mannen en 12,4% bij de vrouwen (1975-1979 vergeleken met 1987-1991) (Devesa et al., 1995). De meest recente gegevens uit de Seer studie (die betrekking heeft op meer dan 10% van de bevolking van de USA) tonen dat de incidentie van kanker gestegen is tot omstreeks eind jaren tachtig, en dat sindsdien bij de vrouwen de incidentie constant gebleven is, en bij de mannen de laatste jaren een daling is opgetekend. (Fig.4).



Uit de Zweedse studie blijkt ook dat, alhoewel de toename in de incidentie afzwakt, ze zich toch doorzet tot in de jongste geboortecohorten (Adami et al., 1993). Dat er zich ook in de laatste decennia nog een stijging in de kankerincidentie voordoet in de landen van de EU blijkt uit de gegevens verzameld door Coleman et al. (1993): onder meer voor kanker van colon en rectum, blaas, testis, prostaat, nieren, non-Hodgkin lymfoma, multipel myeloma en leukemie is er een duidelijke stijgende trend. Volgens de kankerregisters van het International Agency for Research on Cancer (IARC) is er, in de periode 1988-1992 vergeleken met 1978-1982, een stijging van de totale kankerincidentie bij vrouwen in onder meer Denemarken, Zweden, Finland en de streken van Eindhoven, "Bas Rhin" (Beneden Rijn, Frankrijk) en Basel; bij mannen was er een stijging in Denemarken, Zweden, Eindhoven, "Bas Rhin" (Beneden Rijn, Frankrijk) en Saarland, maar een daling in Finland en Basel (Tabel 2).

Tabel 2. Cumulatieve incidentie 0-74 jaar (in %) voor alle types van kanker met uitzondering van niet-melanoma huidkankers, voor verschillende geografische gebieden, in drie periodes.

Gebied	seks	1978-1982	1983-1987	1988-1992
Denemarken	Man	30,45	32,43	32,18
Denemarken	Vrouw	26,76	29,04	30,02
Zweden	Man	26,4	28,0	28,0
Zweden	Vrouw	24,68	25,58	25,90
Finland	Man	30,06	29,64	28,98
Finland	Vrouw	19,11	20,11	22,29
Eindhoven	Man	35,34	34,71	36,00
Eindhoven	Vrouw	23,06	23,03	23,83
Bas-Rhin	Man	39,65	45,73	47,07
Bas-Rhin	Vrouw	22,65	24,03	26,08
Saarland	Man	34,71	34,89	36,95
Saarland	Vrouw	23,59	23,36	24,44
Basel	Man	34,52	33,12	32,21
Basel	vrouw	22,46	23,51	23,44

In Denemarken nam de incidentie van borstkanker (gestandaardiseerd naar de wereld standaard populatie WSP) van 1970 naar 1989 toe van 55 per 100.000 inwoners naar 70 per 100.000 inwoners, en deze stijging was het sterkst beneden de 60 jaar (Andreasen et al., 1994). In de staat Connecticut in de VS steeg de incidentie van adenocarcinoma van de nieren bij vrouwen van 0,7 per 100.000 vrouwen in 1935-1939 tot 4,2 per 100.000 vrouwen in 1985-1989, en bij mannen van 1,6 per 100.000 mannen tot 9,6 per 100.000 mannen (Katz et al., 1994).

11.1.3. Bij kinderen en jonge volwassenen

Het is waarschijnlijk dat de in vele streken waargenomen stijging van de incidentie van vele types van kanker niet overwegend voortvloeit uit het in gebruik nemen van betere diagnostische technieken. Inderdaad, waar de kankerincidentie stijgt, stijgt ze in alle leeftijdsgroepen, ook bij jonge volwassenen en bij kinderen (Devesa et al., 1995). Bij jonge mensen wordt de diagnose bevestigd door de natuurlijke evolutie van de ziekte. Daarom is het weinig waarschijnlijk dat er zich belangrijke wijzigingen hebben voorgedaan in de efficiëntie waarmee de diagnose gesteld wordt. In Vaud, Zwitserland, is de gestandaardiseerde kankerincidentie bij jonge mannelijke volwassenen (20-44 jaar) gestegen van 676 kankergevallen per miljoen jonge mannelijke volwassenen in 1974-1979 tot 808 kankergevallen per miljoen jonge mannelijke volwassenen in 1986-1992, terwijl deze cijfers voor jonge vrouwen 818 kankergevallen per miljoen jonge vrouwen en 1003 kankergevallen per miljoen jonge vrouwen bedroegen; ook bij tieners (10-19 jaar) steeg de kankerincidentie er, van 167 kankergevallen /miljoen jongens naar 196 kankergevallen per miljoen jongens en van 128 kankergevallen per miljoen meisjes naar 141 kankergevallen per miljoen meisjes (Levi et al., 1995a en 1995b). Tijdens de periode 1954-1988 steeg de kankerincidentie in het noordwesten van Engeland met 8% bij kinderen onder de 1 jaar, met 5% bij kinderen van 1-4 jaar, en met 8% bij kinderen van 10-14 jaar (Blair & Birch, 1994b). Ook in de VS is de totale incidentie van kanker bij kinderen (0-14 j) gestegen met 10,5% tussen 1973 en 1994, niettegenstaande het feit dat, voor sommige types van kanker, de incidentie gedurende deze periode daalde. Gerekend vanaf 1985 en tot 1996, heeft zich daarentegen een lichte daling (-

0.1 percent per jaar) van de totale kankerincidentie bij kinderen voorgedaan alhoewel bijvoorbeeld de incidentie van nierkanker licht bleef stijgen (+0.1 percent per jaar van 1985 tot 1996). Dat de incidentie van kanker bij kinderen relatief minder sterk stijgt dan bij volwassenen, is wat men zou verwachten indien deze toenames berusten op een stijging van het aantal mutaties tengevolge van externe factoren. Inderdaad, in kankers bij kinderen zouden meestal een kleiner aantal mutaties nodig zijn (Renan, 1993) dan in kankers bij volwassenen.

In Europa krijgen tussen de 1 op 600 en de 1 op 500 kinderen kanker voor de leeftijd van 15 jaar (Parkin et al., 1998). De meeste studies, alhoewel niet alle, leveren gegevens op die de hypothese ondersteunen dat leukemie en andere types van kanker toenemen in Europa en in andere geïndustrialiseerde landen (Blair and Birch, 1994a, Blair and Birch, 1994b, Bunin, et al., 1996, Coebergh, et al., 1989, de Nully Brown, et al., 1989, Dockerty, et al., 1996, Feltbower, et al., 2001, Gurney, et al., 1996, Linet and Devesa, 1991, Magnani, et al., 2003, McWhirter, et al., 1996, McWhirter and Petroschevsky, 1991, Swerdlow, et al., 1998, McNally et al. 2002a & 2002b). Om de algemene trends in de totale kankerincidentie in Europa te evalueren, vergelijken we de incidentie voor de periode 1998-1992 met de volgende periode van vijf jaar voor de 67 kankerregistraties waarvoor die gegevens beschikbaar zijn. De gemiddelde toename bedroeg 13,9 % voor jongens en 9,6 % voor meisjes. Er blijken geen duidelijke geografische trends uit deze cijfers. Landen of registers met hoge incidenties waarden trends voor jongens en meisjes consistent waren, waren ondermeer Zaragoza in Spanje (respectievelijk + 48,4 % , + 49,9 % voor jongens en meisjes), Hérault in Frankrijk (+ 67,1 % , + 20,4 %) en Saarland in Duitsland (+ 41,6 % , + 40,8 %).

De stijging in de incidentie van hersentumoren bij kinderen is reël en niet het gevolg van verbeterde diagnostische technieken (Raaschou-Nielsen et al., 2006).

11.1.4. Tabaksrook

Tabaksrook is niet de enige oorzaak van het stijgen van de kankerincidentie in de 20^e eeuw. In Zweden is, in opeenvolgende geboortecohorten van 1888-1897 tot 1948-1957, de incidentie van alle niet met roken verband houdende kankers, gestandaardiseerd naar leeftijd, in dezelfde mate gestegen als de totale incidentie van alle kankers (Fig 1) (Adami et al., 1993). Ook de gegevens uit de USA wijzen in die richting (Davis et al., 1994). Voor vormen van kanker, die in een belangrijke mate beïnvloed worden door het roken, steeg het relatieve risico voor vrouwen met een factor 4.93 (het relatieve risico was maximaal voor vrouwen geboren rond 1930), en voor de mannen slechts met een factor 1.2 (na een maximum van 1.39 bereikt te hebben, namelijk voor personen geboren tussen 1923 en 1932). Voor vormen van kanker, die minder of niet met roken verband houden, bedroeg het relatief risico 3.07 voor mannen en 1.3 voor vrouwen (Davis et al., 1994). Zowel uit de Amerikaanse als uit de Zweedse gegevens blijkt dat tabaksrook zeker niet de enige factor is die verantwoordelijk is voor de belangrijke stijging van de kankerincidentie in deze eeuw.

11.1.5 Mortaliteit tengevolge van kanker

De mortaliteit tengevolge van kanker stijgt minder, en voor sommige leeftijdsgroepen niet. De mortaliteit tengevolge van de meeste vormen van kanker bleek in 15 verschillende geïndustrialiseerde landen gestegen te zijn tussen 1969 en 1986 (Hoel et al., 1992). Maar de mortaliteit stijgt gelukkig niet in dezelfde mate als de incidentie. In de VS bedroeg de globale stijging voor de periode 1987-1991 vergeleken met 1975-1979, respectievelijk 3% en 6%

voor mannen en vrouwen. De mortaliteit door kanker bleek er, voor zowel mannen als vrouwen onder de 55 jaar, af te nemen, en enkel bij oudere personen te stijgen (Devesa et al., 1995). Het verschil tussen trends van mortaliteit enerzijds en incidentie anderzijds is vooral duidelijk voor deze kankers waarvan men weet dat de behandeling aanzienlijk verbeterd is, waaronder Hodgkin en testiskanker (Levi et al., 1995a). Bij oudere volwassenen, die vooral getroffen worden door vormen van kanker waarvoor geen belangrijke therapeutische vooruitgang is geboekt, stijgt niet alleen de incidentie, maar ook de mortaliteit. Zo bijvoorbeeld nam de naar leeftijd gestandaardiseerde sterfte voor prostaatkanker in Engeland en Wales toe met 107% van 1970 naar 1990 (Majeed & Burgess 1994). Dat niet alleen de incidentie maar ook de mortaliteit door prostaatkanker stijgt, is een aanwijzing voor het feit dat de stijging in incidentie reëel is, en niet uitsluitend terug te voeren op een verbetering van de diagnostische methoden.

11.2. Activiteit van enzymen betrokken bij het metabolisme van lichaamsvreemde stoffen

Verschillen in de activiteit van enzymen betrokken bij het metabolisme van lichaamsvreemde stoffen zijn geassocieerd met verschillen in kankerrisico. Lichaamsvreemde stoffen worden geëxcreteerd na metabole omzetting door enzymen die oxidatieve activatie (fase I) en conjugatie detoxificatie (fase II) katalyseren. In 1993 waren reeds 221 verschillende CYP-genen gekend. Sommige van deze genen zijn van belang in de fase I van de detoxificatie. Van de fase II enzymen zoals GST, Ugt, NAT, sulftotransferasen, bestaan er van elk enzym verschillende isoenzymvormen. Er zijn ongeveer 10 polymorfismen bekend, die een invloed hebben op de carcinogene eigenschappen van exogene stoffen (Hengstler, 1998). Volgens Nebert (1999) moeten CYP1A2 en de arylhydrocarbon receptor (AHR) daar waarschijnlijk ook bijgerekend worden. De frequenties van voorkomen van betreffende polymorfismen in bevolkingsgroepen kan verschillen in functie van etnische afkomst. Bij Hussain & Harris (1998) vindt men globaal aangegeven dat de frequenties van allelen geassocieerd met een verhoogd risico in de bevolking voor de detoxicatiegenen schommelt tussen 2 en 50 per 100 geboorten (naargelang het type detoxicatiegenen). De verhoging van het kankerrisico voor deze risicogevoelers is 2 tot 10-voudig. Een combinatie van fase I en fase II polymorfismen kan aanleiding geven tot een hoger risico dan een enkelvoudig polymorfisme. Deficiënties in genen verantwoordelijk voor de stabiliteit van het genoom zijn veel zeldzamer (1 tot 5 gevallen per 10 000 geboorten) maar geven een veel sterkere verhoging van de kans op kanker. Een risico dat door mutaties in gate-keeper genen trouwens nog sterker verhoogd wordt dan door mutaties in care-taker genen: het kankerrisico kan met een factor van 1 000 tot 10.000 verhoogd worden.

Er is eveneens een polymorfisme voor DNA herstellenzymen (Amos 1999).

Dat omgevingsblootstelling inderdaad belangrijk is in de inductie van kinderkanker blijkt uit waarnemingen betreffende de associatie van enzym polymorfismen met risico op kinderkankers (Alves et al., 2000; Krajinovic et al., 2000; Davies et al., 2000; Sinnott et al., 2000; Saadat & Saadat, 2000; Ezer et al., 2002). Voor verschillende types van kinderkanker wordt het risico beïnvloed door genetische karakteristieken m.b.t. enzymen betrokken bij de activatie of inactivatie van lichaamsvreemde stoffen. Dit geldt ondermeer voor acute lymphoblastische Leukemie (ALL), de meest voorkomende pediatrie kanker. Het risico op ALL nam toe tot een "Odds ratio" van 3,3 voor kinderen die drie zulke genetische kenmerken vertoonden (Sinnott et al., 2000).

In Vlaanderen blijken personen met meer ongunstige erfelijke eigenschappen m.b.t. exogene stoffen minder kans te hebben om de leeftijd van 50 tot 65 jaar te bereiken (eigen waarnemingen van het Steunpunt Milieu en gezondheid).

11.3. Luchtvervuiling,

In de streek van Trieste (Noord Italië) is een zeer sterke negatieve correlatie waargenomen tussen de diversiteit aan korstmossen en sterfte ten gevolge van longkanker bij mensen. Het is sedert lang bekend dat een meer intense luchtpollutie gepaard gaat met een afname van de diversiteit aan korstmossen (Cislaghi & Nimis 1997 Nature 387: 463-464).

Effect van stadslucht is veel groter dan verklaarbaar uitgaande van unit-risks van gekende carcinogene luchtpolluenten. Hemminki en Pershagen (1994) toonden aan dat het effect van stadslucht als oorzaak van longkanker, veel sterker is dan uit de kankerverwekkende potentie van de gekende carcinogene luchtpolluenten kan worden afgeleid.

11.4. Associatie van diverse milieufactoren met kankerrisico

Een mannelijke vrachtwagenbestuurder blootgesteld aan 5 µgram/m³ van het element koolstof, als indicator voor blootstelling aan uitlaatgassen, (een typische blootstelling voor het jaar 1990, ongeveer 5 maal de toenmalige stedelijke achtergrondwaarde) zou een levenslang risico op longkanker lopen van 1 à 2%, boven op het achtergrondrisico van 5% (Steenland et al., 1998).

Bestuurders van bussen en trampersoneel hebben een verhoogd totaal risico op kanker (alle kankers). Tabel 3 toont de gestandaardiseerde incidentieratio's en de 95 % betrouwbaarheidsintervallen. Het relatieve risico was significant verhoogd voor zowel mannen als vrouwen. Personen die minder dan 3 maand tewerkgesteld, waren vertoonden geen verhoogd risico op kanker. Voor mannen langer dan 3 maand tewerkgesteld was het risico van longkanker, larynxkanker nierkanker), blaaskanker huidkanker, farynxkanker, rectumkanker en lever kanker significant verhoogd. Voor vrouwen die langer dan 3 maand tewerkgesteld zijn was het risico van longkanker significant verhoogd. Deze verhoogde risico's kunnen te wijten zijn aan professionele blootstelling; aan luchtpollutie en/of aan andere risicofactoren, voornamelijk tabaksrook (Soll-Johanning et al., 1998).

Tabel 3: risico op kanker bij trambestuurders (Steenland et al., 1998)

blootstelling	SIR*	95 % betrouwbaarheidsinterval
alle bestuurders- alle kankers	1,24	1,19-1,30
mannelijke bestuurders – alle kankers	1,24	1,19 – 1,30
vrouwelijke bestuurders – alle kankers	1,28	1,06 – 1,53
< dan 3 maand werkzaam	1,04	0,81 –1,31
> 3 maand werkzaam (mannen)		
longkanker	1,6	1,5 - 1,8
larynxkanker	1,4	1,0 - 1,9
nierkanker	1,6	1,3 - 2,0
blaaskanker	1,4	1,2 – 1,6
huidkanker	1,1	1,0 – 1,2
farynxkanker	1,9	1,2 – 2,8
rectumkanker	1,2	1,0 – 1,5
leverkanker	1,6	1,2 – 2,2
> 3 maand werkzaam (vrouwen)		
longkanker	2,6	1,5 – 4,3

* gestandaardiseerd incidentieratio

Een case-controle studie inzake het effect van uitlaatgassen van voertuigen op kanker bij kinderen, toonde dat een gemiddelde stikstofdioxideconcentratie (maat voor blootstelling aan uitlaatgassen) van groter of gelijk aan $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in de buitenlucht geassocieerd was aan een relatief risico van 2,7 (95% CI 0,9-8,5) vergeleken met een situatie waarbij de buitenlucht minder of gelijk aan $39 \mu\text{g}/\text{m}^3$ was. Bij NO_2 concentraties groter of gelijk aan $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ bedroeg het RR 3,8 (CI 1,2-12,1) (Feychting et al., 1998)

In een prospectieve cohort studie werd het effect van luchtpollutie op totale mortaliteit nagegaan, onder controle van individuele risicofactoren. Een overlevingsanalyse werd uitgevoerd op 8111 volwassenen in 6 steden van de VS. Na correctie voor roken en andere risicofactoren werd een statistisch significante en robuuste associatie waargenomen tussen luchtpollutie en mortaliteit. De gecorrigeerde mortaliteitsverhouding voor de meest gepollueerde stad vergeleken met de minst gepollueerde was 1,26 (95% betrouwbaarheidsinterval 1,08 tot 1,47). Luchtpollutie was positief geassocieerd met sterfte tengevolge van longkanker en cardiopulmonaire aandoeningen; maar niet met sterfte tengevolge van andere oorzaken samen beschouwd. Mortaliteit was het sterkst geassocieerd met verontreiniging met kleine partikels, waaronder sulfaten (Dockery et al., 1993)

Een onderzoek naar de doodsoorzaak in 13 districten van de Shandong provincie van China, op een bevolking van 8,1 miljoen personen, toonde aan dat de naar leeftijd gestandaardiseerde mortaliteit tengevolge van longkanker in de periode 1985-1989 96,7% hoger was dan in de periode 1970-1974. Een correlatie analyse toonde een associatie met de graad van luchtvervuiling (Li et al., 1994).

De landelijke Beicun streek nabij de stad Datong (China) werd vergeleken met de landelijke Hua yuan tun streek. Beicun is meer verontreinigd dan Hua yuan tun, met meer nitraat en nitriet in drinkwater en in vijf geteste soorten groenten, hogere serum koper waarden bij inwoners van Beicun en meer benzo(a)pyreen en meer stof in de lucht. De

kankersterfte was beduidend hoger in Beicun (117,04 kankergevallen per 10⁵ inwoners) dan in de controlegroep (61,06 sterftegevallen per 10⁵ inwoners) (Han et al., 1995).

In Taiwan zijn vele streken sterk verontreinigd. De jaargemiddelde concentratie aan PM10 bedroeg er in 1994 70 µg/m³. Wonen in de nabijheid van industriezones bleek geassocieerd te zijn aan hogere risico's op sterfte tengevolge van verschillende types van kanker en op ziekten van het ademhalingsstelsel (Ko, 1996)

Vrouwelijk vliegend personeel, onder meer blootgesteld aan een hogere intensiteit aan cosmische straling, vertoont een toegenomen risico op borstkanker en op kanker in het algemeen (Rafnsson et al, 2001).

1.1.5 Ioniserende straling en kanker bij de mens

Het bijkomend absoluut risico op kanker na bestraling van de fetus in utero met 10 mGy bedraagt ongeveer 6% per GY (Doll et al., 1997) (0)

Davis et al vonden een significante verhoogde incidentie van leukemie bij kinderen uit besmette gebieden in Ukraine, Witrusland en Rusland die in meerderheid werden blootgesteld aan een dosis lager dan 10mGY (Davis et al. 2006). Alhoewel de betrouwbaarheid van deze uitgebreide en zorgvuldige studie niet optimaal is, levert ze toch een substantiële indicatie voor een belangrijk effect bij zeer lage dosis, effect dat biologisch en mechanistisch plausibel is.

Table 4 Radiation dose-response results

Estimated total dose (mGy)	Belarus		Russia		Ukraine		Combined	
	Odds Ratio ^a	95% CI	Odds Ratio ^a	95% CI	Odds Ratio ^a	95% CI	Odds Ratio ^a	95% CI
<1.0	1.00	–	1.00	–	1.00	–	1.00	–
1.0–4.999	1.28	(0.60–2.70)	1.00	(0.28–3.50)	1.49	(0.92–2.43)	1.46	(0.998–2.12)
≥5.0	1.58	(0.74–3.36)	6.00	(0.45–79.75)	3.50	(1.995–6.15)	2.60	(1.70–3.96)

Het aantal gevallen geïnccludeerd in deze studie bedroeg 114 uit Wit-Rusland, 39 uit Rusland en 268 uit Ukraïne.

Ook de gegevens betreffende de overlevenden van de atoombommen op Japan wijzen op een significante stijging van de kankerincidentie voor blootstellingen tussen de 0 en de 50 mSv (Unsear 2000 rapport Vol. II Annex G paragraaf 232; Pierce & Preston 2000)

Hieronder worden een aantal gegevens uit de cruciale studie van Preston et al (2007) over de vaste tumoren bij overlevenden van de atoomaanvallen samengevat. Voor alle vaste tumoren werd geschat dat ongeveer 850 (ongeveer 11%) van de gevallen in de cohorte leden met colon dosissen boven de 5 mGy geassocieerd waren met de blootstelling volgend op de atoomexplosie. Ge gegevens zijn consistent met een lineaire dosis effect verband tussen de 0 en de 2 Gy, met bij hogere dosissen een eerder relatief zwakker effect.. vervolgens is er een statistisch significant dosis-antwoord wanneer de analyse beperkt wordt tot personen die een dosis van maximaal 150 mGy gekregen hebben. Het excess risico voor alle vaste tumoren samen en voor vele afzonderlijke types van tumoren vertoont een significante variatie met geslacht, bereikte leeftijd (op het moment van het afsluiten van de studie) en leeftijd bij blootstelling. Er werd geschat dat, op de leeftijd van 70 jaar na blootstelling aan de leeftijd van 30 jaar, de incidentie van vaste tumoren met ongeveer 35% per Gy gestegen was bij mannen (90% CI 28%; 43%) en met 58%

per Gy bij vrouwen (43%; 69%). Voor alle vast tumoren samen daalde het excess relatief risico (ERR per Gy) met ongeveer 17% per toename met tien jaar in de leeftijd bij blootstelling (90% CI 7%; 25%) na correctie voor bereikte leeftijd, terwijl het excess relatief risico daalde in proportie met de macht 1,65 (90% CI 2.1; 1.2) van de bereikte leeftijd na correctie van leeftijd bij blootstelling. Ondanks de daling in het excess relatief risico met bereikte leeftijd bleken de absolute risico's te stijgen doorheen de hele studie periode, wat wijst op het feit dat stralings-gerelateerde stijgingen in het kankerrisico het hele leven blijven aanhouden ongeacht de leeftijd bij blootstelling. Voor alle vaste kankers hadden vrouwen ietwat hogere absolute risico's dan mannen (F:M ratio 1.4; 90% CI 1.1; 1.8), maar dit verschil verdwijnt wanneer de analyse beperkt wordt tot niet-sex specifieke kankers. Significante stralings-geassocieerde stijgingen in het risico werden vastgesteld voor de meeste types van kanker, onder meer voor de mondholte, oesophagus, maag, colon, lever, long, non-melanoma huid, borst, ovarium, blaas, zenuwstelsel en thyroid. Alhoewel er geen statistisch significant dosis-antwoord vastgesteld werd voor kankers van de pancreas, prostaat en nier, waren de excess relatieve risico's voor deze sites ook consistent met het relatief risico voor alle vaste tumoren samen. Dosis-antwoord schattingen voor kankers van het rectum, galblaas en uterus waren niet significant, en er waren suggesties dat de risico's voor deze types lager zou zijn dan deze voor alle vaste tumoren samen. Evenwel leken de huidige gegevens erop te wijzen dat blootstelling op kinderleeftijd het risico op kanker van het baarmoederlichaam zou vergroten. . Geteugde risico's werden waargenomen voor elk van de vijf grote histologische categorieën die beschouwd werden, dus zowel voor plaveiselcel carcinomen, adenocarcinomen, andere epitheliale kankers, sarcomas en niet-epitheliale kankers. Alhoewel de data beperkt waren was er een significante stralingsgebonden toename in het risico op kanker tijdens de adolescentie of op jonge volwassen leeftijd.

1.1.6. Problemen van epidemiologische aard die leiden tot een onderschatting van het kankerrisico van milieufactoren.

Tenslotte rijzen er heel wat problemen bij epidemiologische studies over de oorzaken van kanker bij de mens.

- Het carcinogeen effect van één welbepaald agens in het leefmilieu kan slechts bij uitzondering kan worden aangetoond omdat epidemiologische studies slechts zelden toelaten risico factoren leidend tot relatieve risico's kleiner dan 1,5 à 2 te detecteren (Ehrenberg et al., 1996).
- In epidemiologische studies wordt telkens weer een groep personen blootgesteld aan één of andere risicofactor vergeleken met een algemene populatie die voor een groot deel zelf is blootgesteld aan tal van andere risicofactoren die hetzelfde soort kanker verwekken als de risicofactor onder studie. Daarbij zal frequent een vorm van negatieve "confounding" voorkomen (besproken door Axelson, 1986) omdat deze controle populatie voor een deel bestaat uit groepen personen die een meer intense blootstelling vertonen aan één van de niet bestudeerde (confounding) risicofactoren dan de studiepopulatie. Een aanwijzing voor het belang van dit fenomeen wordt gegeven door het feit dat Zweedse onderwijzers in de periode 1961-1979, na correctie voor het confounding effect van tabaksrook, een RR van 0,48 vertoonden voor longkanker (Carstensen et al., 1988). Dit impliceert dat de algemene populatie, die dikwijls als controlegroep genomen wordt in epidemiologische

- In vele epidemiologische studies is de duur van opvolging te kort, in vergelijking met de latentietijd van kanker bij de mens, om het carcinogene effect van een blootstelling tenvolle te kunnen vaststellen (cfr. cijfers over inductie van vaste tumoren door de nucleaire explosies in 1945, Shimizu et al., 1990). Meestal heeft een carcinogeen agens een multiplicatief effect op de kankerincidentie (Ehrenberg, 1996);
- De synergistische actie van tabaksrook met moeilijk te identificeren beroeps- en omgevingsfactoren heeft mogelijk geleid tot een aanzienlijke onderschatting (Kvale et al., 1986) van het effect van deze laatste. Veel tabaksrook-gerelateerde kankers kunnen mee onder invloed van carcinogene agentia uit arbeidsmiddelen of leefmilieu ontstaan zijn;
- In studies waarin naar een dosis-antwoord verband wordt gezocht, onnauwkeurigheden in het bepalen van de blootstelling (en deze zijn legio) zullen leiden tot een onderschatting van de stijging van het risico (Freudenheim & Marshall, 1988);
- Wanneer de verhouding van binnen-persoon tot interpersoon componenten van varantie van de onafhankelijke variabele (inwendige blootstelling) groot is, dan resulteert dit in een schijnbaar afzwakken (mindere helling) van de lineaire blootstelling-gezondheidseffect curve (Rappaport et al., 1995).
- De blootstelling aan veel polluenten, die primaire luchtpolluenten zijn zoals de polycyclische aromatische koolwaterstoffen, grijpt hoofdzakelijk via de voeding plaats (Phillips, 1999). Luchtpolluenten slaan in belangrijke hoeveelheden neer op plantaardige voedingsmiddelen die rechtstreeks of onrechtstreeks (via dieren voor menselijke consumptie), door de mens geconsumeerd worden.

Median cumulative lifetime cancer risk based on personal exposures was 3-fold greater than estimates based on US EPA Assessment system for population exposure nationwide (ASPEN) model. Payne- Sturges et al 2004 EHP 112 (5): 589-598

Dit heeft als gevolg dat :

- er een onderschatting is van het aandeel van arbeidsmiddelen- en milieufactoren.
- er zelden kankerverwekkende effecten bij de mens worden aangetoond veroorzaakt door een in dieren kankerverwekkende stof die ook voorkomt in het milieu of arbeidsmiddelen
- er een onderschatting is van het risico verbonden aan de blootstelling aan een bepaalde kankerverwekkende stof, aanwezig in milieu en arbeidsmiddelen.

Addendum 1

Niet-genotoxische carcinogenen en/of Tumopromotors

Het begrip niet-genotoxisch carcinogen is in essentie een mechanistisch begrip. Het overlapt echter grotendeels met het begrip tumorpromotor, dat in essentie voortvloeit uit experimentele waarnemingen m.b.t. agentia die het ontstaan van tumoren bij proefdieren bevorderen wanneer zij toegediend worden na een kanker-initiërend (genotoxisch) agens.

Niet-genotoxische carcinogenen beïnvloeden genexpressie via

- hormonale effecten
- andere receptor-gemedieerde effecten. De tumorpromoverende phorbol-12-myristaat-13-acetaat (TPA) bindt aan een plasmamembraanreceptor; het dioxine TCDD bindt op de Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) die behoort tot de bHLH (basic helix-loop-helix) superfamilie van DNA bindende eiwitten (zie Fernandez-Salguero P et al., 1995).
- verstoring van de signaaltransductie van de plasmamembraan naar de celkern
- toxische of verwondingseffecten
- metabole effecten. Bijzonder belangrijk is hier het verhogen, door gestegen productie of door verminderde inactivatie, van de intracellulaire concentratie aan geactiveerde vormen van zuurstof (zoals H₂O₂, het superoxide anion O₂⁻, het hydroxyl radikaal °OH). Dit leidt tot auto-oxidatieve kettingreacties waarbij allerlei vrije radicalen worden gevormd. De verhoging van de concentratie aan actieve vormen van zuurstof speelt wellicht een belangrijke rol bij de tumorpromotie door hypolipidemiërende geneesmiddelen die een proliferatie van peroxisomen induceren en de bèta oxydatie van vetzuren intensifiëren.

om, op een rechtstreekse wijze of middels het

- stimuleren van de celdeling
- verbreken van de cel-cel communicatie
- verbreken van de cel-cel adhesie
- bevorderen van andere kenmerken van het tumorale fenotype
- beïnvloeden van differentiatie
- bevorderen van de instabiliteit van het genoom door inductie van recombinogene activiteit.

te leiden tot de expressie van de kankerinitieerende mutaties die reeds gebeurd zijn in genen betrokken bij sociale controle en, eventueel als resultaat hiervan, tot de expansie van een kloon van gemuteerde cellen.

Het bestaan van een kloon cellen die één of meerdere kankerinitieerende mutaties dragen, verhoogt de kans dat een bijkomende initiërende (of tot progressie leidende) mutatie zich voordoet in een cel die reeds andere initiërende mutaties draagt. De bevordering van de instabiliteit van het genoom draagt uiteraard op zichzelf bij tot een verhoogde kans op bijkomende mutaties (in de brede zin van het woord). Dat tumorpromotie in elk geval bijdraagt tot het proliferatief aspect van het tumorale fenotype blijkt onder meer uit het feit dat, bij de inductie van huidkankers bij muizen, toepassing van een carcinogeen gevolgd door een tumorpromotor, de verhouding goedaardige tumoren versus kwaadaardige tumoren doet stijgen, in vergelijking met enkel een carcinogeen zonder erop volgende tumorpromotor.

Meestal wordt aangenomen dat de dosis-antwoord curve voor de inductie van kanker bij lage dosis verloopt volgens een multiplicatief lineair model beschreven door $P(D) = (1 + \beta D) P^{\circ}$, waarin P en P° respectievelijk het totale en het achtergrond risico voorstellen, D de dosis van een bepaald agens en β een risicocoefficient (Storer et al., 1988). Dit houdt in dat, bij lage dosis, een carcinogen alleen tumoren zou verwekken van een soort en in omstandigheden waarin die ook spontaan minstens in een zekere mate voorkomen. Blootstelling aan tumorpromotors leidt ertoe dat een lage dosis van een carcinogen ook tumoren verwekt die spontaan niet voorkomen (Burns et al., 1983; Eherenberg et al., 1996).

Van belang met betrekking tot chemopreventie van kanker, is het concept dat tumorpromotie wellicht binnen de tien jaren vóór de klinische diagnose plaats grijpt; zo is de gemiddelde latentieperiode tussen de start van promotie door externe oestrogenen en de diagnose van endometriumkanker gemiddeld zeven jaar (Jick et al., 1979).

Niet-genotoxische carcinogenen zullen in sommige gevallen slechts actief zijn boven een kritische dosis; wanneer zij echter interageren met receptoren waarmee zij een hoge affiniteit vertonen en die ook reeds door andere stoffen of door endogene hormonen geactiveerd worden, is het veilig aan te nemen dat er geen echte kritische dosis kan onderscheiden worden en dat ook zeer lage concentraties een zeker effect kunnen hebben.

Addendum 2. (In samenwerking met Dr. ir. Filip Beirens)

Carcinogeen effect van lage dosissen. Extrapolatie uitgaande van hoge dosissen

Laten we een vereenvoudigd model beschouwen, waarin kanker ontstaat door de accumulatie van onafhankelijke mutaties in β verschillende genen gekozen uit ∂ genen waarvan de mutatie tot de carcinogenese kan bijdragen. De incidentie van kanker zal, in dit model, bij benadering, functie zijn van de macht β van de mutatiefrequentie (Armitage, 1985) of, voor β klein in vergelijking met ∂ , van de macht β van de frequentie m van het voorkomen van een mutatie in één van de ∂ genen, met $m=\partial f$, waarin f de (gemiddelde) mutatiefrequentie per gen voorstelt. De spontane mutatiefrequentie f per gen of $m=\partial f$ voor ∂ genen zal overeenstemmen met een relatief risico (RR) op kanker gelijk aan 1 (wat uiteraard een vereenvoudiging is, onder meer omdat mutaties ook kunnen optreden in de afwezigheid van celdeling (Hall, 1991; Strauss, 1992) en omdat sommige mutaties een belangrijk effect kunnen hebben op de frequentie van daarop volgende mutaties). Wanneer de mutatiefrequentie stijgt tengevolge van een blootstelling aan mutagene agentia dan zal, in dit eenvoudig model, de stijging van het relatief risico op kanker gegeven worden door:

$$RR_C(m) = 1 + m^\beta/s^\beta = (1+g)^\beta \quad (1)$$

waarin $RR_C(m)$ het RR bij mutatiefrequentie m voorstelt, met $m= s + gs= s(1+ g)$, s zijde de spontane mutatiefrequentie, g de fractie van bijkomende mutatiefrequentie en $\beta =$ het aantal onafhankelijke mutaties nodig voor het ontstaan van kanker.

Zij $RR_C(m_1)$ de waarde van het relatief risico, bereikt bij een totale uiteindelijke mutatiefrequentie gelijk aan m_1 , van waaruit een lineaire interpolatie met het punt ($m=s$, $RR_C(m)=1$) wordt uitgevoerd. Zij $RR_I(m^*)$ het relatief risico, berekend middels deze lineaire interpolatie, bij een mutatiefrequentie m^* , met $s < m^* < m_1$, en $RR_C(m^*)$ het relatief risico bij deze mutatiefrequentie m^* berekend volgens de curve bepaald door uitdrukking (1). Men kan aantonen dat, wanneer g afneemt naar nul en m dus afneemt naar s , de verhouding $(RR_I(m^*)-1) / (RR_C(m^*)-1)$ toeneemt naar een limietwaarde gegeven door $(RR_C(m_1)-1) / [\beta((\beta\sqrt[\beta]{RR_C(m_1)})-1)]$ of, anders uitgedrukt, door RR_1'/β , waarin $RR_1' = (RR_1-1) / ((\beta\sqrt[\beta]{RR_1})-1)$, of nog

$$\lim_{m \rightarrow s} (RR_I(m^*)-1) / (RR_C(m^*)-1) = RR_1'/\beta = (RR_C(m_1)-1) / [\beta((\beta\sqrt[\beta]{RR_C(m_1)})-1)] \quad (2)$$

Deze uitdrukking geeft dus de maximumwaarde aan van de factor waarmee men, in het beschouwd model, de stijging van het relatief risico zou kunnen overschatten wanneer men lineair interpoleert naar een lagere waarde van de bijkomende, geïnduceerde mutatiefrequentie. Voor lineaire interpolatie vanuit een punt overeenstemmend met een relatief risico = 10 naar een $RR=1$ bedraagt deze maximumwaarde 3,077 voor $\beta=5$, 3,206 voor $\beta=6$ en 3,301 voor $\beta=7$.

Een min of meer realistisch voorbeeld

Nemen we als voorbeeld een omstandigheid waarin kanker ontstaat door de accumulatie van onafhankelijke mutaties in 6 verschillende genen gekozen uit 200 genen (oncogenen, tumorsuppressorgenen, cell cycle genen, genen betrokken bij DNA herstel en synthese) waarvan de mutatie tot de carcinogenese kan bijdragen. De incidentie van kanker zal, in dit model, bij benadering, functie zijn van de zesde macht van de mutatiefrequentie.

De spontane mutatiefrequentie voor de bij de carcinogenese betrokken genen is niet gekend. De gemiddelde mutatiefrequentie voor een gemiddeld gen coderend voor een eiwit met 300 à 400 aminozuren wordt, in de geslachtscellen en ook in cellen in vitro, geschat op $1 \cdot 10^{-6}$ (Alberts et al., 1994). De metingen van de mutatiefrequentie in somatische cellen bij de mens in vivo liggen echter duidelijk hoger voor de enkele genen waarvoor men deze reeds heeft kunnen meten en tonen een duidelijke stijging met toenemende leeftijd: $3 \cdot 10^{-6}$ tot $10 \cdot 10^{-6}$ voor het GPA gen, $7,1 \cdot 10^{-6}$ tot $65,3 \cdot 10^{-6}$ voor het HLA gen, $2 \cdot 10^{-6}$ tot $15 \cdot 10^{-6}$ voor het hprt gen (Albertini and O'Neill, 1995). Bovendien is het zeer waarschijnlijk dat tijdens de latere fasen van de carcinogenese de mutatiefrequentie hoger ligt dan in een gezond weefsel (Alberts et al., 1994). In ons voorbeeld, in het kader van een berekening van het risico op kanker, lijkt het dan ook niet onredelijk de gemiddelde spontane mutatiefrequentie op $6 \cdot 10^{-6}$ te nemen voor somatische cellen.

Belangwekkend is dat het hier gekozen voorbeeld voorspelt dat het risico op het spontaan ontstaan van kanker, over de totale levensduur van de mens genomen, 2,99 % bedraagt, een cijfer dat zeer dicht ligt bij het spontane risico berekend op basis van epidemiologische gegevens. Inderdaad, een mutatiefrequentie van $6 \cdot 10^{-6}$ per gen per celdeling of $1,2 \cdot 10^{-3}$ voor 200 genen per celdeling leidt tot een kans van $2,99 \cdot 10^{-18}$ dat in één cel zes van de 200 beschouwde genen gemuteerd zijn; men neemt aan dat in een menselijk lichaam 10^{16} cellen ontstaan (Stein, 1991), met als gevolg een kankerrisico van $2,99 \cdot 10^{-2}$.

De spontane mutatiefrequentie ($6 \cdot 10^{-6}$ per gen per celdeling of $1,2 \cdot 10^{-3}$ voor 200 genen per celdeling) zal overeenstemmen met een relatief risico (RR) op kanker gelijk aan 1. Het RR zal met 77,2 % stijgen bij een mutagene dosis die de globale mutatiefrequentie met 10 % zou doen stijgen. Het relatief risico op kanker zou met een factor tien stijgen bij een mutagene dosis die de globale mutatiefrequentie met 46,78 % zou doen stijgen (fig. 5); bij lineaire interpolatie vanuit deze dosis naar nul (geen stijging van de totale mutatiefrequentie) vindt men dat, voor een dosis die, in vergelijking met de vorige, slechts 10 % van het aantal mutaties induceert en die de globale mutatiefrequentie zou doen stijgen met 4,678 %, het relatief risico op kanker 1,896 zou bedragen. Berekent men het relatief risico volgens het model (dat een exponentieel verlopende curve impliceert) dan vindt men, voor een mutagene dosis die de globale mutatiefrequentie doet stijgen met 4,678 %, slechts een relatief risico van 1,316. Wanneer men dus, in ons model, uitgaat van een blootstelling aan een mutageen agens dat het relatief risico op kanker vertienvoudigt en lineair interpoleert naar een dosis die, in vergelijking met de vorige, slechts 10 % van het aantal mutaties induceert, overschat men de stijging van het relatief risico met een factor 2,83. (fig. 5) Interpoleert men naar een dosis die, in vergelijking met de vorige, slechts 0,1 % van het aantal mutaties induceert, dan resulteert dit in een overschatting met een factor 3,20.

Bij lage dosissen is de relatie tussen dosis en frequentie van geïnduceerde mutaties in de meeste gevallen lineair volgens de International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens (Ehrenberg et al., 1982) (zie ook Lutz, 1990a;

Ehrenberg et al. ,1996). Dit impliceert dat de bovenstaande redenering ook geldt voor extrapolatie van hoge naar lage dosis van een agens. Deze oefening toont aan dat, in de omstandigheden van ons vrij realistisch model, voor waarden van het relatief risico op kanker van de grootte-orde waargenomen in dierproeven en in epidemiologische studies met intense blootstelling (RR=10), lineaire extrapolatie naar extreem lage dosis slechts tot een overschatting, van de stijging van het relatief risico, met maximaal een factor van de grootte-orde van 3 leidt.

Addendum 3.

Het kankerverwekkend effect van een welbepaalde dosis van een genotoxische kankerverwekkende stof neemt toe naarmate de populatie die de blootstelling ondergaat een hogere mutatiefrequentie vertoont tengevolge van diverse andere blootstellingen.

Laten we hetzelfde vereenvoudigd model beschouwen als in addendum 1. Wanneer de mutatiefrequentie stijgt tengevolge van een blootstelling aan mutagene agentia zal, in dit eenvoudig model, de stijging van het relatief risico op kanker gegeven worden door:

$$RR_C(m) = 1 + m^\beta / s^\beta = (1+g)^\beta \quad (1)$$

waarin $RR_C(m)$ het RR bij mutatiefrequentie m voorstelt, met $m = s + gs = s(1 + g)$, s zijde de spontane mutatiefrequentie, g de fractie van bijkomende mutatiefrequentie en β = het aantal onafhankelijke mutaties nodig voor het ontstaan van kanker.

- Zij situatie I een toestand waarin een populatie geen enkele genotoxische blootstelling ondergaat en een mutatiefrequentie gelijk aan s vertoont.
- Zij situatie II een toestand waarin een populatie enkel is blootgesteld aan het genotoxisch kankerverwekkend agens A, in een welbepaalde lage dosis; Zij a de fractie van bijkomende mutatiefrequentie geïnduceerd door deze welbepaalde lage dosis.
- Zij b de fractie van bijkomende mutatiefrequentie geïnduceerd door diverse genotoxische agentia waaraan blootstelling bestaat in situatie III.
- Zij situatie IV een toestand waarin dezelfde blootstelling aan diverse genotoxische agentia bestaat als in situatie III resulterend in een toename van de mutatiefrequentie met dezelfde bijkomende fractie b , met daarbovenop een blootstelling aan het genotoxisch kankerverwekkend agens A, in dezelfde welbepaalde lage dosis die een fractie van bijkomende mutatiefrequentie a induceert.

Het relatief risico op kanker in situatie I (RR_I) bedraagt per definitie 1.

Het relatief risico op kanker in situatie II (RR_{II}) bedraagt $(1+a)^\beta$.

Het relatief risico op kanker in situatie III (RR_{III}) bedraagt $(1+b)^\beta$.

Het relatief risico op kanker in situatie IV (RR_{IV}) bedraagt $(1+a+b)^\beta$.

Het verschil in het relatief risico op kanker, en dus ook het absoluut aantal gevallen van kanker geïnduceerd als gevolg van blootstelling aan A, zal echter groter zijn wanneer men situatie IV vergelijkt met situatie III dan wanneer men situatie II vergelijkt met situatie I, of, anders gezegd, wanneer een bepaalde blootstelling aan agens A plaatsgrijpt in een context waarin tengevolge van blootstelling aan diverse agentia de mutatiefrequentie reeds verhoogd is, dan zal die bepaalde blootstelling aan A meer gevallen van kanker induceren dan wanneer dezelfde blootstelling plaats heeft in omstandigheden waarin de mutatiefrequentie gelijk is aan de spontane en niet verhoogd wordt door andere blootstellingen.

Inderdaad,

$$(RR_{II}) - (RR_I) = (1+a)^\beta - 1$$

$$(RR_{IV}) - (RR_{III}) = (1+a+b)^\beta - (1+b)^\beta$$

$$\text{en } (1+a+b)^\beta - (1+b)^\beta \text{ is steeds groter dan } (1+a)^\beta - 1$$

Cijfervoorbeeld:

zij $a = 0.001$, $b = 0.1$ en $\beta = 6$ (zoals wellicht voor het merendeel van de kankers)

$$(RR_{II}) - (RR_I) = 1.001^6 - 1 = 0.006015$$

$$(RR_{IV}) - (RR_{III}) = 1.101^6 - 1.1^6 = 1.781246 - 1.771561 = 0.009685$$

In ons cijfervoorbeeld (met naar mijn mening vrij realistische waarden voor a maar een lage waarde voor b) blijkt de blootstelling aan een welbepaalde lage dosis van agens A 61% meer gevallen van kanker te induceren in een situatie waarin er ook andere blootstellingen aan diverse agentia zijn (zoals in reële omstandigheden) dan in een situatie met minder of geen andere blootstellingen (zoals in experimentele omstandigheden).

Literatuur

34th Annual Meeting of the Environmental Mutagen Society, Miami Beach, Florida, May 10-14, 2003

Adami H.O., Bergstrom R., Sparen P., Baron J, (1993) Increasing cancer risk in younger birth cohorts in Sweden, *Lancet*, 341(8848): 773-7,

Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D., (1994) *Molecular biology of the cell*, Garland Publ. Inc. blz 243.

Alves S; PrataMJ; FerreiraF; AmorimA (2000) Screening of thiopurine S-methyltransferase mutations by horizontal conformation-sensitive gel electrophoresis, *Hum-Mutat*, 2000; 15(3): 246-53

Amaral-Mendes J.J., Pluygers E., Farina, J. (1995) Environmental health and ecotoxicology: an indispensable link, In: D.J Rapport, CL Gaudet and P Calow (Eds) *Evaluating and monitoring the health of large-scale ecosystems* Springer-Verlag, Berlin NATO ASI Series, vol 128, pp 77-93

Ames BN; Gold LS (1998): he causes and prevention of cancer: the role of environment *Biotherapy* 1998;11(2-3):205-20

Ammenheuser-MM; Hastings-DA; Whorton-EB Jr; Ward-JB Jr (1997) Frequencies of hprt mutant lymphocytes in smokers, non-smokers, and former smokers, *Environ-Mol Mutagen*, 30(2): 131-8.

Amos-CI; Xu-W; Spitz-MR(1999) Is there a genetic basis for lung cancer susceptibility? In 'Chemoprevention of Cancer A clinical update' Eds H-J Senn, A Costa and VC Jordan Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1999, p3-12 (A book in the Series "Recent Results in Cancer Research", Vol 151).

Andreasen A.H., Andersen K.W., Madsen M., Mouridsen H., Olesen K.P., Lyng E. (1994) Regional trends in breast cancer incidence and mortality in Denmark prior to mammographic screening, *Br. J. Cancer*, 70(1): 133-7.

Armitage P. (1985) Multistage models of carcinogenesis, *Environ. Health. Perspect*, 63: 195-201.

Armitage, P. and R. Doll. The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis. *Br. J. Cancer* 8: 1-12 (1954)

Artuso-M; Angotzi-G; Bonassi-S; Bonatti-S; De-Ferrari-M; Gargano-D; Lastrucci-L; Miligi-L; Sbrana-C; Abbondandolo-A: Cytogenetic biomonitoring of styrene-exposed plastic boat builders. *Arch-Environ-Contam-Toxicol*; VOL 29, ISS 2, 1995, P270-4

Au W.W. (2001) : Life style factors and acquired susceptibility to environmental disease, *Int-J-Hyg-Environ-Health*,2001 Oct; 204(1): 17-22,.

Au W.W.; Ramanujam V.M.; Ward –J.B. Jr.; Legator M.S. (1991): Chromosome aberrations in lymphocytes of mice after sub-acute low-level inhalation exposure to benzene, *Mutat-Res*, 1991 Jun; 260(2): 219-24.

Axelrod, D, Burns,K, Davis, D.,van Larebeke, N.(2004): "Hormesis- An Inappropriate Extrapolation from the Specific to the Universal. *Int. J. Occup. Environ. Health* 10:335-339.

Axelsson O. (1986) *Environmental epidemiology, Proceeding of the First International Symposium on Primary Prevention and Cancer, Antwerp, Belgium, March 19-22.*

Azzam, E.I.,G.P. Raaphorst andR.E.J.Michel. Radiation- induced adaptive response for protection against micronucleus formation and neoplastic transformation in C3H 10T½ mouse embryo cells. *Radiat. Res.* 138: S28- S31 (1994).

Barquinero JF, Barrios L, Caballin MR, Miro R, Ribas M, Subias A, et al. Occupational exposure to radiation induces an adaptive response in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 1995 Feb;67(2):187-91.

Bastlova Tatiana; Vodicka Pavel; Peterkova Katerina; Hemminki Kari; Lambert Bo (1995): yrene oxide-induced HPRT mutations, DNA adducts and DNA strand breaks in cultured human lymphocytes,*Carcinogenesis*; 16:10, 2357-62, 1995.

Beninson, D. (1996) Risk of Radiation at Low Dose, The Sievert Lecture Proceedings of the 9th Conference of the International Radiation protection Association, Vienna, 14/4/96.

Bercht M, Flohr-Beckhaus C, Osterod M, Runger TM, Radicella JP, Epe B. Is the repair of oxidative DNA base modifications inducible by a preceding DNA damage induction? *DNA Repair (Amst)* 2007 Mar 1;6(3):367-73.

Bettega D; Calzolari P; Chiorda GN; Tallone-Lombardi L: Transformation of C3H 10T1/2 cells with 4.3 MeV alpha particles at low doses: effects of single and fractionated doses. *Radiation research [Radiat Res]* 1992 Jul; 131 (1), pp. 66-71.

Beyersmann-D; Hechtenberg-S: Cadmium, gene regulation, and cellular signalling in mammalian cells. *Toxicol-Appl-Pharmacol.* 1997 Jun; 144(2): 247-61

Bhattacharjee-D (1996): Role of radioadaptation on radiation-induced thymic lymphoma in mice. *Mutat-Res.* 1996 Nov 4; 358(2): 231-5

Bingham E. & Maltoni C. op het Symposium "Preventive Strategies for living in a Chemical World" van het Collegium Rammazinni te Washington 3 tot 5 november 1995

Binkova B, Giguere Y, Rossner P Jr, Dostal M, Sram RJ.: The effect of dibenzo[a,1]pyrene and benzo[a]pyrene on human diploid lung fibroblasts: the induction of DNA adducts, expression of p53 and p21(WAF1) proteins and cell cycle distribution. *Mutat Res.* 2000 Nov 20;471(1-2):57-70.

Birnbaum L.S. (1994), The mechanism of dioxin toxicity: relationship to risk assessment, *Environ Health Perspect* 102(Suppl 9) 157-167.

Bjartveit K, Tverdal A. Health consequences of smoking 1-4 cigarettes per day. *Tob Control* 2005 Oct;14(5):315-20.

Blair V., Birch J.M. (1994a) Patterns and temporal trends in the incidence of malignant disease in children: I, Leukaemia and lymphoma, *Eur. J. Cancer*, 30A(10): 1490-8.

Blair V., Birch J.M. (1994b) Patterns and temporal trends in the incidence of malignant disease in children: II, Solid tumours of childhood, *Eur. J. Cancer*, 30A(10): 1498-511.

Blankenship-A; Matsumura-F (1997) 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced activation of a protein tyrosine kinase, pp60src, in murine hepatic cytosol using a cell-free system, *Mol-Pharmacol*, 1997 Oct; 52(4): 667-75.

Bobola MS, Blank A, Berger MS, Silber JR. O6-methylguanine-DNA methyltransferase deficiency in developing brain: implications for brain tumorigenesis. *DNA Repair (Amst)* 2007 Aug 1;6(8):1127-33.

Boström C.E., Almen J., Steen B., Westerholm R., (1994) Human exposure to urban air pollution, *Environ. Health Perspect*, 102 (Suppl 4): 39-47.

Bouffler SD (1998): Involvement of telomeric sequences in chromosomal aberrations, *Mutat Res* 1998 Aug 3;404(1-2):199-204

Brasseur, G., Hitchman, M.H. (1988) Stratospheric response to trace gas perturbations: Changes in ozone and temperature distributions, *Science*, 240(4852); 634-637,

Brenner DJ, Hall EJ. The inverse dose-rate effect for oncogenic transformation by neutrons and charged particles: a plausible interpretation consistent with published data. *Int J Radiat Biol* 1990 Nov;58(5):745-58.

Bunin G.R., Feuer E.J., Witman P.A., Meadows A.T. (1996) Increasing incidence of childhood cancer: report of 20 years experience from the greater Delaware Valley Pediatric Tumor Registry, *Paediatr Perinat Epidemiol*; 10 (3):319-338.

Buntinx R, Cloes E, Dhollander D, Lousbergh D, Op De Beek L, Lummens JL, Salk E, Van Denbrande J, Van Waes A, (2000) Incidence of cancer in the Belgian Province of Limburg 1996-1998, *Limburgse kankerstichting Hasselt, Diepenbeek*.

Burkhart-Schultz-KJ; Thompson-CL; Jones-IM (1996) Spectrum of somatic mutation at the hypoxanthine phosphoribosyltransferase (hprt) gene of healthy people, *Carcinogenesis*, 17(9): 1871-83.

Burns-F; Albert-R; Altshuler-B; Morris-E (1983), Approach to risk assessment for genotoxic carcinogens based on data from the mouse skin initiation-promotion model, *Environ-Health-Perspect*, 1983 Apr; 50: 309-20

Buss-P; Caviezel-M; Lutz-WK (1990): Linear dose-response relationship for DNA adducts in rat liver from chronic exposure to aflatoxin B1. *Carcinogenesis*. 1990 Dec; 11(12): 2133-5

Calabrese EJ, Baldwin L: (2003): Toxicology rethinks its central belief. Hormesis demands a reappraisal of the way risks are assessed. *Nature*, 421: 691-692.

Calabrese EJ, Baldwin L: (2003): Toxicology rethinks its central belief. Hormesis demands a reappraisal of the way risks are assessed. *Nature*, 421: 691-692.

Carere-A; Antoccia-A; Crebelli-R; Degraffi-F; Fiore-M; Iavarone I; Isacchi-G; Lagorio-S; Leopardi-P; Marcon-F; et-al (1995): Genetic effects of petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station attendants, *Mutat-Res*; VOL 332, ISS 1-2, 1995, P17-26

Carstensen, JM, Pershagen, G, Eklund, G (1988) Smoking-adjusted incidence of lung cancer among Swedish men in different occupations, *Int. J. Epidemiol.*, 17(4): 753-8.

Cebulska-Wasilewska A, Binkova B, Sram RJ, Kalina I, Popov T, Farmer PB. Repair competence assay in studies of the influence of environmental exposure to c-PAHs on individual susceptibility to induction of DNA damage. *Mutat Res* 2007 Jul 1;620(1-2):155-64.

Chaloupka-K; Harper-N; Krishnan-V; Santostefano-M; Rodriguez-LV; Safe-S (1993): Synergistic activity of polynuclear aromatic hydrocarbon mixtures as aryl hydrocarbon (Ah) receptor agonists, *Chem-Biol-Interact*, 1993 Dec; 89(2-3): 141-58

Cislaghi & Nimis 1997 *Nature* 387: 463-464

Coebergh JW, van der Does-van den Berg A, van Wering ER, van Steensel-Moll H,A,, Valkenburg HA, van 't Veer MB, Schmitz PI, van Zanen GE (1989) Childhood leukaemia in The Netherlands, 1973-1986: temporary variation of the incidence of acute lymphocytic leukaemia in young children, *Br J Cancer*; 59 (1):100-105.

Coen,-N; Mothersill,-C; Kadhim,-M; Wright,-E-G: Heavy metals of relevance to human health induce genomic instability. *J-Pathol.*2001 Oct; 195(3): 293-9.

Coleman, MP, Esteve, J, Damiecki, P, Arslan, A, Renartd, H (1993) Trends in cancer incidence and mortality. IARC Scientific Publication n° 121, Lyon.

Collis SJ; Schwaninger JM; Ntambi AJ; Keller TW; Nelson WG; Dillehay LE; Dewese TL: Evasion of Early Cellular Response Mechanisms following Low Level Radiation-induced DNA Damage. *Journal of biological chemistry [J Biol Chem]* 2004 Nov 26; 279 (48), pp. 49624-32.

Crompton-NE; Barth-B; Kiefer-J: Inverse dose-rate effect for the induction of 6-thioguanine-resistant mutants in Chinese hamster V79-S cells by 60Co gamma rays, *Radiat-Res*, 1990 Dec; 124(3): 300-8

Curry,-J; Khaidakov,-M; Glickman,-B-W: Russian mutational spectrum differs from that of their Western counterparts. *Hum-Mutat.*2000; 15(5): 439-46.

Da-Cruz-AD; Curry-J; Curado-MP; Glickman-BW (1996) Monitoring hprt mutant frequency over time in T-lymphocytes of people accidentally exposed to high doses of ionizing radiation, *Environ Mol Mutagen*, 27(3): 165-75.

Davies,-S-M; Robison,-L-L; Buckley,-J-D; Radloff,-G-A; Ross,-J-A; Perentesis,-J-P:
Glutathione S-transferase polymorphisms in children with myeloid leukemia: a Children's
Cancer Group study, Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev,2000 Jun; 9(6): 563-6.

Davis S, Day RW, Kopecky KJ, Mahoney MC, McCarthy PL, Michalek AM, et al. Childhood
leukaemia in Belarus, Russia, and Ukraine following the Chernobyl power station accident:
results from an international collaborative population-based case-control study. *Int J*
Epidemiol 2006 Apr;35(2):386-96.

Davis, DL, Bradlow, HL (1995) Can environmental estrogens cause breast cancer?,*Sci. Am.*,
273(4): 167-72.

Davis, DL, Dinse, GE, Hoel, DG (1994) Decreasing cardiovascular disease and increasing
cancer among whites in the United States from 1973 through 1987, *Good news and bad news.*
JAMA, 271(6): 431-7.

De Nully Brown P, Hertz H, Olsen J, Yssing M, Scheibel E, Jensen O (1989) Incidence of
childhood cancer in Denmark 1943-1984, *Int. J. Epidemiol.*; 18 (3):546-555.

de Toledo & Azzam 2006 *Dose-Response* 4(4):291-301

de Toledo SM, Asaad N, Venkatachalam P, Li L, Howell RW, Spitz DR, et al. Adaptive
responses to low-dose/low-dose-rate gamma rays in normal human fibroblasts: the role of
growth architecture and oxidative metabolism. *Radiat Res* 2006 Dec;166(6):849-57.

Dedrick, R.L., Morrison, P.F. (1992) Carcinogenic potency of alkylating agents in rodents and
humans, *Cancer Res.*, 52(9): 2464-7.

Deman J., N. van Larebeke, N.(1997). Beschadiging en herstel van DNA. Ontstaan van
mutaties.Fundamentele processen bepalend voor het ontstaan van kanker, waarvan het
begrijpen essentieel is voor het interpreteren van risico's verbonden aan blootstelling aan lage,
environmentele dosissen van kankerverwekkende stoffen Rapport aan de Vlaamse
Milieumaatschappij. Te verkrijgen bij de Vlaamse Milieumaatschappij.

Deman J. & N. van Larebeke: Carcinogenesis: "Mutations and mutagens." *Tumour Biol.* 2001
Mar;22(3):191-202. (The journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology
and medicine).

DeMarini DM. Influence of DNA repair on mutation spectra in Salmonella. *Mutat Res* 2000
May 30;450(1-2):5-17.

DePinho RA (2000): The age of cancer. *Nature* 2000 Nov 9;408(6809):248-54

Devesa, S.S., Blot, W.J., Stone, B.J., Miller, B.A., Tarone, R.E., Fraumeni, J.F.Jr (1995)
Recent cancer trends in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.*, 87(3): 175-82.

Dockery DW, Pope CA 3rd, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris BG Jr, Speizer FE.
(1993) An association between air pollution and mortality in six U.S. cities., *N Engl J*
Med.;329(24):1753-9.

Doll R (1998): Epidemiological evidence of the effects of behaviour and the environment on
the risk of human cancer. *Recent Results Cancer Res* 1998;154:3-21

Doll R, Wakeford R. Risk of childhood cancer from fetal irradiation. *Br J Radiol* 1997 Feb;70:130-9.

Doll, R., Peto, R. (1981). The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J-Natl-Cancer-Inst.* 1981 Jun; 66(6): 1191-308

Ehrenberg L, Moustacchi E., Osterman-Golkar S, with an appendix (II) by G Ekman. (1983) International Commission for Protection against Environmental mutagens and carcinogens. Working paper 4/4. Dosimetry of genotoxic agents and dose-response relationship of their effects. *Mutation Res.*, 123, 121-182.

Ehrenberg, L., Granath, F., Törnqvist, M. (1996): Macromolecule adducts as biomarkers of exposure to environmental mutagens in human populations. *Environ Health Perspect* 1996 May;104 Suppl 3:423-8

Epstein, S.S., Swartz, J.B. (1981) Fallacies of lifestyle cancer theories. *Nature*, 289 (5794): 127-30.

Epstein, S.S., Swartz, J.B. cosigned by others (1984) Letter to the editor. *Science*, 224: 660-666.

Evans-MK; Taffe-BG; Harris-CC; Bohr-VA (1993) DNA strand bias in the repair of the p53 gene in normal human and xeroderma pigmentosum group C fibroblasts. *Cancer Res.* 53(22): 5377-81.

Ezer R., Alonso M., Pereira E., Kim M., Allen J.C., Miller D.C., Newcomb E.W. (2002). Identification of glutathione S-transferase (GST) polymorphisms in brain tumors and association with susceptibility to pediatric astrocytomas. *J-Neurooncol.* Sep; 59(2): 123-34.

Fearon-ER.(1997) Human Cancer Syndromes: Clues to the Origin and Nature of Cancer. *Science* 278: 1043-1050.

Feltbower R.G., Moorman A.V., Dovey G., Kinsey S.E., McKinney P.A. (2001). Incidence of childhood acute lymphoblastic leukaemia in Yorkshire, UK. *Lancet*; 358 (9279):385-387.

Fernandez-Salguero P et al.(1995) Immune system impairment and hepatic fibrosis in mice lacking the dioxin-binding Ah receptor. *Science*, 268, 722-726

Feychting, M., Svensson, D., and Ahlbom, A. (1998). Exposure to motor vehicle exhaust and childhood cancer. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health*, 24 (1), 8-11.

Finkel, A.M. (1995) Toward less misleading comparisons of uncertain risks: the example of aflatoxin and alar. *Environ. Health. Perspect.*, 103(4): 376-85.

Flachsbart PG (1995): Long-term trends in United States highway emissions, ambient concentrations, and in-vehicle exposure to carbon monoxide in traffic. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 1995 Oct-Dec;5(4):473-95

Frederica Perera, Columbia University, EMS congress, Miami May 2003

Freudenheim, J.L., Marshall, J.R. (1988) The problem of profound mismeasurement and the power of epidemiological studies of diet and cancer. *Nutr. Cancer*, 11(4): 243-50.

Fucic A, Zeljezic D, Kasuba V, Kopjar N, Rozgaj R, Lasan R, et al. Stable and unstable chromosome aberrations measured after occupational exposure to ionizing radiation and ultrasound. *Croat Med J* 2007 Jun;48(3):371-7.

Germanier M, Defais M, Bohr VA, Larminat F. Transcription-coupled repair is inducible in hamster cells. *Nucleic Acids Res* 2000 Dec 1;28(23):4674-8

Gold L.S., Slone T.H., Ames B.N. (1998): What do animal cancer tests tell us about human cancer risk? Overview of analyses of the carcinogenic potency database. *Drug Metab.* 30: 359-404

Gourabi-H; Mozdarani-H A cytokinesis-blocked micronucleus study of the radioadaptive response of lymphocytes of individuals occupationally exposed to chronic doses of radiation. *Mutagenesis* 13: 475-480 (1998)

Grawé J; Abramsson-Zetterberg L (1998): Low dose effects of chemicals as assessed by the flow cytometric in vivo micronucleus assay. *Mutat Res* 1998 Sep 20;405(2):199-208

Greenblatt-MS; Bennett-WP; Hollstein-M; Harris-CC (1994) Mutations in the p53 tumor suppressor gene: Clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.* 54: 4855-4878.

Grombacher T, Eichhorn U, Kaina B. p53 is involved in regulation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) by DNA damaging agents. *Oncogene* 1998 Aug 20;17(7):845-51.

Grosch S, Fritz G, Kaina B. Apurinic endonuclease (Ref-1) is induced in mammalian cells by oxidative stress and involved in clastogenic adaptation. *Cancer Res* 1998 Oct 1;58(19):4410-6.

Gurney J.G., Davis S., Severson R.K., Fang J.Y., Ross J.A., Robison L.L. (1996). Trends in cancer incidence among children in the U.S., *Cancer*; 78 (3):532-541.

Haber JE. (1999). *Trends Biochem Sci.*, 24, 271–275.

Haber JE. (2000). *Trends Genet.*, 16, 259–264.

Hagmar L; Bonassi S; Stromberg U; Brogger A; Knudsen LE; Norppa H; Reuterwall C (1998) Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 1998 Sep 15;58(18):4117-21

Hall EJ, Miller RC, Brenner DJ. Neoplastic transformation and the inverse dose-rate effect for neutrons. *Radiat Res* 1991 Oct;128(1 Suppl):S75-S80.

Hall-BG (1991). Is the occurrence of some spontaneous mutations directed by environmental challenges? *New-Biol* 1991 Aug; 3(8): 729-33

Hanawalt PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene* 2002 Dec 16;21(58):8949-56.)

Han-CZ; Guo-Y; Jing-JX [A study on the relationship between malignant tumour mortality and environmental pollution in Beicun countryside of Datong City]. *Chung Hua Liu Hsing Ping Hsueh Tsa Chih* 1995 Apr;16(2):101-4

Heddle-JA (1999) On clonal expansion and its effects on mutant frequencies, mutation spectra and statistics for somatic mutations in vivo. *Mutagenesis*. 14(3): 257-60.

Heddle-JA; Cosentino-L; Dawod-G; Swiger-RR; Paashuis-Lew-Y (1996) Why do stem cells exist? *Environ Mol Mutagen*. 28(4): 334-41.

Hei-TK; Wu-LJ; Liu-SX; Vannais-D; Waldren-CA; Randers-Pehrson-G: Mutagenic effects of a single and an exact number of alpha particles in mammalian cells. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 1997 Apr 15; 94(8): 3765-70.

Hemminki-K; Pershagen-G (1994) Cancer risk of air pollution: epidemiological evidence. *Environ-Health-Perspect*; VOL 102 Suppl 4, 1994, P187-92

Henderson-BE; Ross-RK; Pike-MC (1991): Toward the primary prevention of cancer. *Science* 254: 1131-1138 (1991)

Hengstler JG, Bolm-Audorff U, Faldum A, Janssen K, Reifenrath M, Gotte W, Jung D, Mayer-Popken O, Fuchs J, Gebhard S, Bienfait HG, Schlink K, Dietrich C, Faust D, Epe B, Oesch F. Occupational exposure to heavy metals: DNA damage induction and DNA repair inhibition prove co-exposures to cadmium, cobalt and lead as more dangerous than hitherto expected. *Carcinogenesis*. 2003 Jan;24(1):63-73.

Hengstler-JG; Arand-M; Herrero-ME; Oesch-F: Polymorphisms of N-acetyltransferases, glutathione S-transferases, microsomal epoxide hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility. In 'Genes and Environment in Cancer'; Eds M. Schwab, H. Rabes, K. Munk and P.H. Hofschneider. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1998. p.47-85. (A book in the Series "Recent Results in Cancer Research", Vol. 154).

Hoel, D.G., Davis, D.L., Miller, A.B., Sondik, E.J., Swerdlow, A.J. (1992) Trends in cancer mortality in 15 industrialized countries, 1969-1986. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 84(5): 313-20.

Holmberg K, Meijer AE, Auer G, Lambert BO. Delayed chromosomal instability in human T-lymphocyte clones exposed to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1995 Sep;68(3):245-55.

Holmberg K, Meijer AE, Harms-Ringdahl M, Lambert B. Chromosomal instability in human lymphocytes after low dose rate gamma-irradiation and delayed mitogen stimulation. *Int J Radiat Biol* 1998 Jan;73(1):21-34.

Hough--A-M; Derwent R-G (1990) Changes in the global concentration of tropospheric ozone

due to human activities. NATURE (LONDON) 344(6267); 645-648.

Huff, J. (1993) Issues and controversies surrounding qualitative strategies for identifying and forecasting cancer causing agents in the human environment. *Pharmacol. Toxicol.*, 72 (Suppl 1): 12-27.

Huff, J., Hoel, D (1992) Perspective and overview of the concepts and value of hazard identification as the initial phase of risk assessment for cancer and human health. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, 18 (Suppl 1): 83-9.

Huff-JE; Salmon-AG; Hooper-NK; Zeise-L (1991) Long-term carcinogenesis studies on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and hexachlorodibenzo-p-dioxins. *Cell-Biol-Toxicol.* 1991 Jan; 7(1): 67-94

Hussain-SP; Harris-CC Molecular epidemiology of human cancer. In 'Genes and Environment in Cancer'; Eds M. Schwab, H. Rabes, K. Munk and P.H. Hofschneider. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1998. p.22-36. (A book in the Series "Recent Results in Cancer Research", Vol. 154).

IARC monographs on the evaluation of Carcinogenic risks to humans (1997). Volume 69. Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and Polychlorinated dibenzofurans (1997).

Ikushima-T; Aritomi-H; Morisita-J (1996): Radioadaptive response: efficient repair of radiation-induced DNA damage in adapted cells. *Mutat-Res.* 1996 Nov 4; 358(2): 193-8
Inga-A; Cresta-S; Monti-P; Aprile-A; Scott-G; Abbondandolo-A; Iggo-R; Fronza-G (1997) Simple identification of dominant p53 mutants by a yeast functional assay. *Carcinogenesis.* 18(10): 2019-21.

J.R. Silber, A. Blank, M.S. Bobola, B.A. Mueller, D.D. Kolstoe, G.A. Ojemann, M.S. Berger, Lack of the DNA repair protein O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase in histologically normal brain adjacent to primary brain tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93 (1996) 6941-6946]

Jacob J; Grimmer G; Hildebrandt A (1997): Long-term decline of atmospheric and marine pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in Germany. *Chemosphere* 1997 May;34(9-10):2099-108

Jiang T, Hayata I, Wang C, Nakai S, Yao S, Yuan Y, et al. Dose-effect relationship of dicentric and ring chromosomes in lymphocytes of individuals living in the high background radiation areas in China. *J Radiat Res (Tokyo)* 2000 Oct;41 Suppl:63-8.

Jick-H; Watkins-RN; Hunter-JR; Dinan-BJ; Madsen-S; Rothman-KJ; Walker-AM (1979). Replacement estrogens and endometrial cancer. *N-Engl-J-Med.* 1979 Feb 1; 300(5): 218-22

Joiner-MC; Lambin-P; Malaise-EP; Robson-T; Arrand-JE; Skov-KA; Marples-B (1996) Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance. *Mutat-Res.* 1996 Nov 4; 358(2): 171-83

Jones, K.C., Grimmer, G., Jacob, J., Johnston, AE. (1989) Changes in the polynuclear aromatic hydrocarbon content of wheat grain and pasture grassland over the last century from

one site in the U.K. *Sci. Total. Environ.*, 78: 117-30.

Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst)* 2007 Aug 1;6(8):1079-99.

Kale SP, Moore L, Deininger PL, Roy-Engel AM. Heavy metals stimulate human LINE-1 retrotransposition. *Int J Environ Res Public Health* 2005 Apr;2(1):14-23.

Karcher W., Hansen B.G., van Leeuwen C., Clements R., Hiromatsu K. The US-EU-Japanese trilateral collaborative project on QSARs; Lecture on the 7th international Workshop on QSAR in Environmental Sciences. QSAR 96 "Past, Present and Future". Org. by National Environmental Research Institute of Denmark. June 24-28, 1996. Elsinore (Helsingor) Denmark (1996).

Kassam SN, Rainbow AJ. UV-inducible base excision repair of oxidative damaged DNA in human cells. *Mutagenesis* 2009 Jan;24(1):75-83.

Katz, D.L., Zheng, T., Holford, T.R., Flannery, J (1994) Time trends in the incidence of renal carcinoma: analysis of Connecticut Tumor Registry data, 1935-1989. *Int. J. Cancer.* 1994 Jul 1; 58(1): 57-63.

Kelsey, K.T., A. Memisoglu, D. Frenkel et al. Human lymphocytes exposed to low doses of X-rays are less susceptible to radiation-induced mutagenesis. *Mutat. Res.* 263: 197-201 (1991).

Kinzler-KW; Vogelstein-B. (1997) Gatekeepers and caretakers. *Nature* 386: 761-763.
Knudson, A.G.Jr (1985) Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Cancer Res.*, 45(4): 1437-43.

Ko YC Air pollution and its health effects on residents in Taiwanese communities] *Kaohsiung journal of medical sciences* [Kaohsiung J Med Sci] 1996 Dec; 12 (12), pp. 657-69.

Korte JE, Hertz-Picciotto I, Schulz MR, Ball LM, Duell EJ (2000): The contribution of benzene to smoking-induced Leukemia. *Environ Health Perspect.* 2000 Apr;108(4):333-9

Krajcinovic,-M; Richer,-C; Sinnett,-H; Labuda,-D; Sinnett,-D : Genetic polymorphisms of N-acetyltransferases 1 and 2 and gene-gene interaction in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev.*2000 Jun; 9(6): 557-62.

Kvale, G., Bjelke, E., Heuch, I. (1986) Occupational exposure and lung cancer risk. *Int. J. Cancer*, 37(2): 185-93.

Levi, F., LaVecchia, C., Randimbison, L., Te, V.C. (1995a): Cancer incidence and mortality in young adults in Vaud, Switzerland, 1974-1992. *Int. J. Cancer*, 61(5): 606-10.

Levi, F., LaVecchia, C., Randimbison, L., Te, V.C. (1995b) Cancer incidence and mortality among teenagers in Vaud, Switzerland, 1974-1992. *Int. J. Cancer.*, 61(1): 40-3.

Lewtas J, Walsh D, Williams R, Dobias L. Air pollution exposure-DNA adduct dosimetry in humans and rodents: evidence for non-linearity at high doses. *Mutat Res* 1997 Aug 1;378(1-2):51-63.

Lewtas, J. (1993) Complex mixtures of air pollutants: characterizing the cancer risk of polycyclic organic matter. *Environ. Health. Perspect.*, 100, 211-8.

Li-H; Jin-S; Shi-S The trend of mortality of lung cancer and its association with air pollution]. *Chung Hua Liu Hsing Ping Hsueh Tsa Chih* 1994 Feb;15(1):38-41

Li-J; Yen-C; Liaw-D et al. (1997) PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 275: 1943-1947.

Lindell, B. (1996) The case of linearity SSI News, (1), 1966 Published by the Swedish Radiation Protection Institute.

Linet M.S. and Devesa S.S. (1991). Descriptive epidemiology of childhood leukaemia. *Br J Cancer*; 63 (3):424-429.

Lloyd DC, Edwards AA, Leonard A, Deknudt GL, Verschaeve L, Natarajan AT, et al. Chromosomal aberrations in human lymphocytes induced in vitro by very low doses of X-rays. *Int J Radiat Biol* 1992 Mar;61(3):335-43.

Lloyd DR, Hanawalt PC. p53-dependent global genomic repair of benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide adducts in human cells. *Cancer Res* 2000 Feb 1;60(3):517-21.

Loeb-LA (1991) Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res.* 51: 3075-3079.

Lutz, W.K. (1990a) Dose-response relationship and low dose extrapolation in chemical carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 11(8): 1243-7.

Lutz, W.K. (1990b) Endogenous genotoxic agents and processes as a basis of spontaneous carcinogenesis. *Mutation Res.*, 238(3): 287-95.

Lutz-WK; Fekete-T; Vamvakas-S (1998) Position- and base pair-specific comparison of p53 mutation spectra in human tumors: elucidation of relationships between organs for cancer etiology. *Environ Health Perspect.* 106(4): 207-11.

Lutz-WK; Schlatter-J Chemical carcinogens and overnutrition in diet-related cancer *Carcinogenesis (London)*; 13:12, 2211-16, 1992

Magnani C., Dalmaso P., Pastore G., Terracini B., Martuzzi M., Mosso M. L., Merletti F. (2003). Increasing incidence of childhood leukemia in Northwest Italy, 1975-98. *Int J Cancer*; 105 (4):552-557.

Majeed, F.A., Burgess, N.A. (1994) Trends in death rates and registration rates for prostate cancer in England and Wales., *Br-J-Urol.* 1994 Apr; 73(4): 377-81

Mangano-JJ: Cancer mortality near Oak Ridge, Tennessee *Int J Health Serv* 1994;24(3):521-33

Marder BA, Morgan WF. Delayed chromosomal instability induced by DNA damage. *Mol Cell Biol* 1993 Nov;13(11):6667-77.

Marnett, L.J., Burcham, P.C. (1993) Endogenous DNA adducts: potential and paradox. *Chem. Res. Toxicol.*, 6(6): 771-85.

Matsumoto, H., Wang, X., Ohnishi, T., 1995. Binding between wild-type p53 and hsp72 accumulated after UV and g-ray irradiation. *Cancer Letters* 92, 127–133.

McCormick, J.J., Maher, V.M. (1994) Analysis of the multistep process of carcinogenesis using human fibroblasts. *Risk. Anal.*, 14(3): 257-63.

McNally R.J., Alexander F.E., Birch J.M. (2002). Space-time clustering analyses of childhood acute lymphoblastic leukaemia by immunophenotype. *Br J Cancer*, 87(5):513-5.

McNally R.J., Cairns D.P., Eden O.B., Alexander F.E., Taylor G.M., Kelsey A.M., Birch J.M. (2002). An infectious aetiology for childhood brain tumours? Evidence from space-time clustering and seasonality analyses. *Br J Cancer*, 86(7):1070-7.

McWhirter W.R. and Petroschevsky A.L. (1991). Incidence trends in childhood cancer in Queensland, 1973-1988. *Med J Aust*; 154 (7):453-455.

McWhirter W.R., Dobson C., Ring I. (1996). Childhood cancer incidence in Australia, 1982-1991. *Int J Cancer*; 65 (1):34-38.

Michalska J; Motykiewicz G; Pendzich J; Kalinowska E; Midro A; Chorazy M: Measurement of cytogenetic endpoints in women environmentally exposed to air pollution. *Mutat Res* 1999 Sep 30;445(2):139-45

Miller AC; Xu J; Stewart M; Brooks K; Hodge S; Shi L; Page N; McClain D: Observation of radiation-specific damage in human cells exposed to depleted uranium: dicentric frequency and neoplastic transformation as endpoints. *Radiation protection dosimetry [Radiat Prot Dosimetry]* 2002; 99 (1-4), pp. 275-8.

Muir C, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S (1987). *Cancer Incidence in Five Continents, Volume V*. IARC Scientific Publication n° 88, International Agency for Research on Cancer, Lyon.

Nagasawa-H; Little-JB (1992):Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer-Res*; VOL 52, ISS 22, 1992, P6394-6

Nakachi-K; Imai-K; Hayashi-S; Kawajiri-K (1993) Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Research* 1993;53;2994-9.

Nebert DW (1999) : Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the

clinical geneticist? *Clin Genet*, 1999 Oct; Vol. 56 (4), pp. 247-58;

Ochs-K; Sobol-RW; Wilson-SH; Kaina-B (1999) Cells deficient in DNA polymerase beta are hypersensitive to alkylating agent-induced apoptosis and chromosomal breakage. *Cancer Res.* 59: 1544-1551.

Olsen, J.H., Boice, J.D.Jr., Seersholm, N., Bautz, A., Fraumeni, J.F.Jr. (1995) Cancer in the parents of children with cancer. *N. Engl. J. Med.*, 333(24): 1594-9.

Paashuis-Lew-YR; Heddle-JA (1998) Spontaneous mutation during fetal development and post-natal growth. *Mutagenesis.* 13(6): 613-7.

Pant MC; Liao XY; Lu Q; Molloy S; Elmore E; Redpath J: Mechanisms of suppression of neoplastic transformation in vitro by low doses of low LET radiation. *Carcinogenesis [Carcinogenesis]* 2003 Dec; 24 (12), pp. 1961-5.

Park, S.H., Lee, S.J., Chung, H.Y., Kim, T.H., Cho, C.K, Yoo, S.Y., Lee, Y.S., 2000. Inducible heat-shock protein 70 is involved in the radioadaptive response. *Radiation Research* 153, 318-326.

Parkin D.M., Kramarova E., Draper G.J., Masuyer E., Michaelis J., Neglia J., Qureshi S., Stiller C.A. and (Eds) (1998). *International Incidence of Childhood Cancer, Volume II.* IARC Scientific Publications, 144Lyon

Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L and Young J (1997). *Cancer Incidence in Five Continents Vol VII.* IARC Scientific Publications no 143, Lyon, France.

Pastorino U., Berrino F., Gervasio A., Pesenti V., Riboli E., Crosignani P. (1984): Proportion of lung cancers due to occupational exposure. *Int. J. Cancer* 33:231-237.

Paz-y-Mino-C; Leone-PE; Chavez-M; Bustamante-G; Cordova-A; Gutierrez-S; Penaherrera-MS; Sanchez-ME: Follow up study of chromosome aberrations in lymphocytes in hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat-Res; VOL 335, ISS 3, 1995, P245-51.*

Pelevina II; Nikolaev VA; Gotlib VIa; Afanas'ev GG; Kozlova LE; Serebrianyi AM; Tereshchenko DG; Tronov VA; Khramtsova E: The adaptive reaction of the blood lymphocytes in persons subjected to chronic radiation exposure at low doses. *Radiats Biol Radioecol* 1994 Nov-Dec;34(6):805-1.

Pennisi-E.(1997) New tumor suppressor found - twice (news, comment). *Science* 275: 1876-1878.

Perera,-F; Hemminki,-K; Jedrychowski,-W; Whyatt,-R; Campbell,-U; Hsu,-Y; Santella,-R; Albertini,-R; O'Neill,-J-P: In utero DNA damage from environmental pollution is associated with somatic gene mutation in newborns. *Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev.*2002 Oct; 11(10 Pt 1): 1134-7.

Perera-FP (1997) Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 278: 1068-1073.

Peto-R; Gray-R; Brantom-P; Grasso-P (1991a) Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study *Cancer-Res.* 1991 Dec 1; 51(23 Pt 2): 6415-51

Peto-R; Gray-R; Brantom-P; Grasso-P (1991a) Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study *Cancer-Res.* 1991 Dec 1; 51(23 Pt 2): 6415-51

Peto-R; Gray-R; Brantom-P; Grasso-P (1991b) Dose and time relationships for tumor induction in the liver and esophagus of 4080 inbred rats by chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine. *Cancer-Res.* 1991 Dec 1; 51(23 Pt 2): 6452-69.

Phillips, D.H., Hewer, A., Martin, C.N., Garner, R.C., King, M.M (1988) Correlation of DNA adduct levels in human lung with cigarette smoking. *Nature*, 336(6201): 790-2.

Phillips-DH (1999) Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutat Res.* 443(1-2): 139-47.

Pierce DA, Preston DL. Radiation-related cancer risks at low doses among atomic bomb survivors. *Radiat Res* 2000 Aug;154(2):178-86.

Pluygers, E., Gourdin, P., Dardenne, G., Scoubeau, B. and Parfonry, A. (1993) Serum biomarkers in the on-site evaluation of suspected cancer risk in humans residing near hazardous waste sites. In: CC Travis (ed). *Use of biomarkers in assessing health and environmental impacts of chemical pollutants*. NATO ASI series, volume 250 - Plenum Press, New York, pp 209-226.

Podlutzky-A; Osterholm-AM; Hou-SM; Hofmaier-A; Lambert-B (1998) Spectrum of point mutations in the coding region of the hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (hprt) gene in human T-lymphocytes in vivo. *Carcinogenesis.* 19(4): 557-66.

Preston DL, Ron E, Tokuoka S, Funamoto S, Nishi N, Soda M, et al. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998. *Radiat Res* 2007 Jul;168(1):1-64.

Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Carstensen H, Jensen T, Bernhardtson T, Gjerris F, et al. Increasing incidence of childhood tumours of the central nervous system in Denmark, 1980-1996. *Br J Cancer* 2006;95:416-22.

Rafnsson V; Tulinius H; Jonasson JG; Hrafnkelsson J: Risk of breast cancer in female flight attendants: a population-based study (Iceland). *Cancer Causes Control* 2001 Feb;12(2):95-101.

Rappaport-SM; Symanski-E; Yager-JW; Kupper-LL (1995): The relationship between environmental monitoring and biological markers in exposure assessment. *Environ-Health-Perspect.* 1995 Apr; 103 Suppl 3: 49-53

REDPATH, J. L.; LU, Q.; LAO, X.; MOLLOI, S.; ELMORE, E.: Low doses of diagnostic energy X-rays protect against neoplastic transformation in vitro. *International Journal of Radiation Biology*, Apr2003, Vol. 79 Issue 4, p235, 6p

Redpath, J.L. and R.J. Antoniono. Induction of an adaptive response against spontaneous neoplastic transformation in vitro by low-dose gamma radiation. *Radiat. Res.* 149: 517- 520 (1998).

Renan, M.J. (1993) How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data. *Mol. Carcinog.*, 7(3): 139-46.

Ries LAG, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, Edwards BK (eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1973-1996*, National Cancer Institute, Bethesda MD, 1999.

Rigaud O and Moustacchi E. Radioadaptation for gene mutation and the possible molecular mechanisms of the adaptive response (Review). *Mutat Res* 358:127-34, 1996.

Rigaud, O., D. Papadopoulo and E. Moustacchi. Decreased deletion mutation in radioadapted human lymphocytes. *Radiat. Res.* 133: 94-101 (1993).

Rodriguez-Jimenez FJ, Moreno-Manzano V, Lucas-Dominguez R, Sanchez-Puelles JM. Hypoxia causes downregulation of mismatch repair system and genomic instability in stem cells. *Stem Cells* 2008 Aug;26(8):2052-62.

Rothkamm K, Lobrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 Apr 29;100(9):5057-62.

Saadat I., Saadat M. (2000). The glutathione S-transferase mu polymorphism and susceptibility to acute lymphocytic leukemia. *Cancer-Lett.* Sep 29; 158(1): 43-5.

Sadowska, A., Pluygers, E., Narkiewicz, M., Pawelczak, A., Lata, B. (1993) Environmental genotoxicity and cancer risk in humans: a combined evaluation correlating the results of the Tradescantia micronucleus assay in the field and human biomarker assessments in serum. I. The TRAD-MNC assay. *Eur. J. Cancer Prev.*, 3: 69-78.

Sanderson, B.J.S. and A.A. Morley. Exposure of human lymphocytes to ionising radiation reduces mutagenesis in subsequent ionising radiation. *Mutat. Res.* 164: 347-351 (1986).

Sasaki MS, Ejima Y, Tachibana A, Yamada T, Ishizaki K, Shimizu T, et al. DNA damage response pathway in radioadaptive response. *Mutat Res* 2002 Jul 25;504(1-2):101-18.

Sasaki S, Fukuda N. Dose-response relationship for induction of ovarian tumors in mice irradiated during prenatal, early postnatal and elder periods. *J Radiat Res (Tokyo)* 2008 Nov;49(6):623-33.

Schiestl RH, Khogali F, Carls N. Reversion of the mouse pink-eyed unstable mutation induced by low doses of x-rays. *Science* 1994 Dec 2;266(5190):1573-6.

Shaver-Walker-PM; Urlando-C; Tao-KS; Zhang-XB; Heddle-JA: Enhanced somatic mutation rates induced in stem cells of mice by low chronic exposure to ethylnitrosourea. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A.* 1995 Dec 5; 92(25): 11470-4

Shaver-Walker-PM; Urlando-C; Tao-KS; Zhang-XB; Heddle-JA: Enhanced somatic mutation rates induced in stem cells of mice by low chronic exposure to ethylnitrosourea. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 1995 Dec 5; 92(25): 11470-4

Shimizu, Y., Schull, W.J., Kato, H. (1990) Cancer risk among atomic bomb survivors. The RERF Life Span Study. Radiation Effects Research Foundation. *JAMA*, 264(5): 601-4.

Simoncini T., Hafezi-Moghadam A., Brazil D.P., Ley K., Chin W. & Liao J.K. (2000) Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase, *Nature*, 407: 538-541

Sinnett D., Krajinovic M., Labuda D. (2000). Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. Leuk-Lymphoma. Aug; 38(5-6): 447-62.

Smith-Warner SA; Spiegelman D; Yaun SS; van den Brandt PA; Folsom AR; Goldbohm RA; Graham S; Holmberg L; Howe GR; Marshall JR; Miller AB; Potter JD; Speizer FE; Willett WC; Wolk A; Hunter DJ (1998):Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies. JAMA : the journal of the American Medical Association [JAMA] 1998 Feb 18; 279 (7), pp. 535-40.

Soll-Johanning-H; Bach-E; Olsen-JH; Tuchsén-F Cancer incidence in urban bus drivers and tramway employees:a retrospective cohort study. *Occup Environ Med* 1998 Sep;55(9):594-8

Soto A.M.op de conferentie "Endocrine disruptors" georganiseerd in het kader van het Europees "Awareness Strategies for Pollution from Industries" ASPIS project, te Koss, Griekenland, 2-4 september 1999

Sparrow AH, Underbrink AG, Rossi HH. Mutations induced in *Tradescantia* by small doses of x-rays and neutrons: analysis of dose-Response curves. *Science* 1972 May 26;176(37):916-8.

Spencer-DL; Masten-SA; Lanier-KM; Yang-X; Grassman-JA; Miller-CR; Sutter-TR; Lucier-GW; Walker-NJ: Quantitative analysis of constitutive and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced cytochrome P450 1B1 expression in human lymphocytes. *Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev*. 1999 Feb; 8(2): 139-46

Staessen JA, Nawrot T, Hond ED, Thijs L, Fagard R, Hoppenbrouwers K, et al. Renal function, cytogenetic measurements, and sexual development in adolescents in relation to environmental pollutants: a feasibility study of biomarkers. *Lancet* 2001 May 26;357(9269):1660-9.

Steenland-K, Deddens-J, Stayner-L Diesel exhaust and lung cancer in the trucking industry: exposure-response analyses and risk assessment. *Am J Ind Med* 1998 Sep;34(3):220-8

Steinmetz-R; Mitchner-NA; Grant-A; Allen-DL; Bigsby-RM; Ben-Jonathan-N (1998) The xenoestrogen bisphenol A induces growth, differentiation, and c-fos gene expression in the female reproductive tract. *Endocrinology*. 139(6): 2741-7

Storer, J.B., Mitchell, T.J., Fry, R.J. (1988) Extrapolation of the relative risk of radiogenic

- neoplasms across mouse strains and to man. *Radiat. Res.*, 114(2): 331-53.
- Strauss B.S. (1992). The origin of point mutations in human tumor cells. *Cancer Research* 52, 249-253.
- Swerdlow A.J., dos Santos Silva I., Reid A., Qiao Z., Brewster D.H. and Arrundale J. (1998). Trends in cancer incidence and mortality in Scotland: description and possible explanations. *Br J Cancer*; 77 Suppl 3 1-54.
- Tanimoto K; Hayashi S; Yoshiga K; Ichikawa T (1999): Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 gene involved in oral squamous cell carcinoma in association with a cigarette dose. *Oral Oncol*;35(2):191-6
- Tedeschi-B; Caporossi-D; Vernole-P; Padovani-L; Appolloni-M; Anzidei-P; Mauro-F ():Do human lymphocytes exposed to the fallout of the Chernobyl accident exhibit an adaptive response? 2. Challenge with bleomycin. *Mutat-Res.* 1995 Nov; 332(1-2): 39-44
- Thomas, D.B., Karagas, M.R. (1987) Cancer in first and second generation Americans. *Cancer Res.*, 47(21): 5771-6
- Tomatis L; Huff J; Hertz-Picciotto I; Sandler DP; Bucher J; Boffetta P; Axelson O; Blair A; Taylor J (1997): Avoided and avoidable risks of cancer. *Carcinogenesis* 18: 97-105
- Topinka J, Sevastyanova O, Binkova B, Chvatalova I, Milcova A, Lnenickova Z, et al. Biomarkers of air pollution exposure--a study of policemen in Prague. *Mutat Res* 2007 Nov 1;624(1-2):9-17.
- Törnqvist, M., Ehrenberg, L. (1994) On cancer risk estimation of urban air pollution. *Environm. Health Perspect.*, 102: 173-182.
- Trichopoulos, D., Petridou, E. (1994) Epidemiologic studies and cancer etiology in humans *Med. Exerc. Nutr. Health*, 3: 206-225.
- Tuschl H, Kovac R, Altmann H. UDS and SCE in lymphocytes of persons occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Health Phys* 1983 Jul;45(1):1-7.
- Ueno AM; Vannais DB; Gustafson DL; Wong JC; Waldren CA (1996): A low, adaptive dose of gamma-rays reduced the number and altered the spectrum of S1- mutants in human-hamster hybrid AL cells. *Mutat Res* 1996 Nov 4;358(2):161-9.
- Ulrich Elin M., Caperell-Grant Andrea, Jung Sin-Ho, Hites Ronald A., Bigsby Robert M. (2000) Environmentally Relevant Xenoestrogen Tissue Concentrations Correlated to Biological Responses in Mice, *EHP*, 108, 973
- Unsear 2000 Report Vol II: http://www.unsear.org/unsear/en/publications/2000_2.html
- Urbach F (1997): Ultraviolet radiation and skin cancer of humans. *J Photochem Photobiol B* 1997 Aug;40(1):3-7

Valerie K, Povirk LF. Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair. *Oncogene* 2003 Sep 1;22(37):5792-812.

Van Larebeke N.; Koppen,G.; Nelen,V.; Schoeters,G.; Van,Loon H.; Albering,H.; Riga,L.; Vlietinck,R.; Kleinjans,J.. Differences in HPRT mutant frequency among middle-aged Flemish women in association with area of residence and blood lead levels. *Biomarkers* 2004 Jan;9(1):71-84.

Van-Delft-JHM; Baan-RA; Roza-L.(1998): Biological effect markers for exposure to carcinogenic compound and their relevance for risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 28: 477-510.

Vineis P; Kogevinas M; Simonato L; Brennan P; Boffetta: Levelling-off of the risk of lung and bladder cancer in heavy smokers: an analysis based on multicentric case-control studies and a metabolic interpretation. *Mutat Res* 2000 Jul;463(1):103-10.

Vineis-P; Bartsch-H; Caporaso-N; Harrington-AM; Kadlubar-FF; Landi-MT; Malaveille-C; Shields-PG; Skipper-P; Talaska-G; et-al (1994): Genetically based N-acetyltransferase metabolic polymorphism and low-level environmental exposure to carcinogens. *Nature.* 1994 May 12; 369(6476): 154-6

Vlietinck R., Schoeters G., Van Loon H., Loots I. (2000) Ontwikkeling van een concept voor de opvolging en risico-evaluatie van blootstelling aan leefmilieupolluenten en hun effecten op volksgezondheid in Vlaanderen, Algemene koepeltekst, eindrapport van het onderzoek milieu en gezondheid, www.wvc.vlaanderen.be/gezondmilieu/onderzoeken/koepel/koepeltekst/pdf/koepel_tekst.pdf

Waldren C, Correll L, Sognier MA, Puck TT. Measurement of low levels of x-ray mutagenesis in relation to human disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 Jul;83(13):4839-43.

Ward-JB Jr; Ammenheuser-MM; Ramanujam-VM; Morris-DL; Whorton-EB Jr; Legator-MS (1992): The mutagenic effects of low level sub-acute inhalation exposure to benzene in CD-1 mice. *Mutat-Res.* 1992 Jul; 268(1): 49-57

Watanabe M; Suzuki M; Suzuki K; Nakano K; Watanabe K: Effect of multiple irradiation with low doses of gamma-rays on morphological transformation and growth ability of human embryo cells in vitro. *International journal of radiation biology [Int J Radiat Biol]* 1992 Dec; 62 (6), pp. 711-8.

Watson GE, Lorimore SA, Macdonald DA, Wright EG. Chromosomal instability in unirradiated cells induced in vivo by a bystander effect of ionizing radiation. *Cancer Res* 2000 Oct 15;60(20):5608-11.

Watson GE, Lorimore SA, Wright EG. Long-term in vivo transmission of alpha-particle-induced chromosomal instability in murine haemopoietic cells. *Int J Radiat Biol* 1996 Feb;69(2):175-82.

- Weinberg-RA. (1996) How Cancer Arises. *Scientific American* 275: 32-40.
- Weinberg-RA. (1998): Bumps on the road to immortality. *Nature* 396: 23-24 (1998)
- Whysner-J; Conaway-CC; Verna-L; Williams-GM (1996): Vinyl chloride mechanistic data and risk assessment: DNA reactivity and cross-species quantitative risk extrapolation. *Pharmacol-Ther.* 1996; 71(1-2): 7-28
- Wojcik A, Tuschl H. Indications of an adaptive response in C57BL mice pre-exposed in vivo to low doses of ionizing radiation. *Mutat Res* 1990 Jan;243(1):67-73.
- Wolff MS; Collman GW; Barrett JC; Huff J (1996): Breast cancer and environmental risk factors: epidemiological and experimental findings. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996;36:573-96
- Wolff-S (1996): Aspects of the adaptive response to very low doses of radiation and other agents. *Mutat-Res.* 1996 Nov 4; 358(2): 135-42
- Wood-RD (1996) DNA repair in eukaryotes. *Annu Rev Biochemistry* 65:135-137.
- Wouters-BG; Sy-AM; Skarsgard-LD: Low-dose hypersensitivity and increased radioresistance in a panel of human tumor cell lines with different radiosensitivity. *Radiat-Res.* 1996 Oct; 146(4): 399-413
- Yang J; Xu ZP; Huang Y; Hamrick HE; Duerksen-Hughes PJ; Yu YN: ATM and ATR: sensing DNA damage. *World journal of gastroenterology : WJG [World J Gastroenterol]* 2004 Jan 15; 10 (2), pp. 155-60.
- Yuan J, Chen J. MRE11/RAD50/NBS1 complex dictates DNA repair independent of H2AX. *J Biol Chem* 2009 Nov 12.
- Zava DT; Blen M; Duwe G (1997): Estrogenic activity of natural and synthetic estrogens in human breast cancer cells in culture. *Environ Health Perspect* 1997 Apr;105 Suppl 3:637-45
- Zhang H, Zhao W, Wang Y, Li N, Wu Z, Liu Y, et al. Induction of cytogenetic adaptive response in spermatogonia and spermatocytes by pre-exposure of mouse testis to low-dose (12)C(6+) ions. *Mutat Res* 2008 May 31;653(1-2):109-12.
- Zhang-XB; Urlando-C; Tao-KS; Heddle-JA (1995) Factors affecting somatic mutation frequencies in vivo. *Mutat Res.*338(1-6): 189-201.
- Zhitkovich A; Voitkun V; Kluz T; Costa M: Utilization of DNA-protein cross-links as a biomarker of chromium exposure. *Environ Health Perspect* 1998 Aug;106 Suppl 4:969-74
- Zhou H; Randers-Pehrson G; Waldren CA; Vannais D; Hall EJ; Hei TK: Induction of a bystander mutagenic effect of alpha particles in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 Feb 29;97(5):2099-104.

Zhou PK, Liu XY, Sun WZ, Zhang YP, Wei K. Cultured mouse SR-1 cells exposed to low dose of gamma-rays become less susceptible to the induction of mutagenesis by radiation as well as bleomycin. *Mutagenesis* 1993 Mar;8(2):109-11.

Zhou PK, Xiang XQ, Sun WZ, Liu XY, Zhang YP, Wei K. Adaptive response to mutagenesis and its molecular basis in a human T-cell leukemia line primed with a low dose of gamma-rays. *Radiat Environ Biophys* 1994;33(3):211-7.

Zhou, P.-K., W-Z. Sun, X-Y. Liu et al. Adaptive response of mutagenesis and DNA double-strand break repair in mouse cells induced by low dose of γ -ray. p. 271-274 in: *LowDose Irradiation and Biological DefenseMechanisms* (T. Sugahara et al., eds.). Elsevier, 1992.

Zimmer-DM; Aaron-CS (1997) In vivo mutagenesis in the cynomolgus monkey: time course of HPRT mutant frequency at long time points following ethylnitrosourea exposure. *Environ Mol Mutagen.* 29(2): 117-23.