

Το κάπνισμα και οι βιολογικοί δείκτες της επιζήμιας δράσης του

Peter G. Shields

Journal of the National Cancer Institute 2002; Vol. 94 (19); 1435–44

Ελεύθερη απόδοση στα ελληνικά: ΦΩΤΗΣ ΒΛΑΣΤΟΣ
Πνευμονολόγος, Επιμελητής Α', ΚΑΑ-ΝΘΑΑ

Η μείωση του κινδύνου από το κάπνισμα και η συσχέτισή του με τα χαρακτηριστικά της έκθεσης είναι πολύπλοκες διαδικασίες. Ο τρόπος με τον οποίο καπνίζουν οι άνθρωποι και ο τρόπος με τον οποίον αποκρίνονται στα καρκινογόνα προϊόντα του καπνού ποικίλουν. Συνεπώς, η εκτίμηση της μείωσης στην έκθεση σε αυτές τις ουσίες απαιτεί εργασία ομάδας πολλών ειδικοτήτων και περιλαμβάνει in vitro κυτταρικές καλλιέργειες, μελέτες σε πειραματόζωα και επιδημιολογία.

Τα προγράμματα ελέγχου του καπνίσματος έχουν μέχρι σήμερα στοχεύσει στην πρόληψη της έναρξης και στη διακοπή της επικίνδυνης αυτής συνήθειας. Ωστόσο, για πολλούς εν ενεργεία καπνιστές αυτοί οι στόχοι είναι ανέφικτοι. Συνεπώς, ένα ρεαλιστικό αντικαπνιστικό πρόγραμμα πρέπει να περιλαμβάνει επίσης μεθόδους μείωσης των κινδύνων για τα άτομα που συνεχίζουν να καπνίζουν. Οι μέθοδοι αυτές είναι εφικτές, σύμφωνα με το Ινστιτούτο Ιατρικής¹ και μειώνουν το επίπεδο έκθεσης των καπνιστών στα καρκινογόνα προϊόντα στο χαμηλότερο δυνατό.

Οι μέθοδοι μείωσης της έκθεσης περιλαμβάνουν μείωση των τσιγάρων ανά ημέρα με την ταυτόχρονη χρήση υποκατάστασης νικοτίνης ή προϊόντων που θυμίζουν το τσιγάρο και που αποδίδουν νικοτίνη αλλά όχι τα υπόλοιπα τοξικά προϊόντα του καπνού. Πάντως, η μόνη γνωστή μέθοδος δραστηκής μείωσης της έκθεσης στους κινδύνους του καπνού είναι η πλήρης διακοπή του καπνίσματος. Εάν οι νεότερες προσεγγίσεις μπορούν πράγματι να μειώσουν σημαντικά τον κίνδυνο, τότε θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι το επιδημιολογικό όφελος θα είναι μεγάλο, αν και όχι τόσο όσο αναμένεται με την πλήρη διακοπή του καπνίσματος. Πρέπει πάντως να ομολογηθεί ότι η μείωση του κινδύνου δεν προκύπτει πάντοτε μετά από μείωση της έκθεσης. Δε γνωρίζουμε ακόμη πόση μείωση έκθεσης απαιτείται για να προκύψει μετρήσιμη μείωση του κινδύνου. Επίσης δε γνωρίζουμε πόσα και ποια καρκινογόνα στάδια μπορεί να αναστραφούν, ενώ συνε-

χίζεται μια μειωμένη έκθεση στον καπνό. Επιπλέον, αν και αναμένονται οφέλη για τον πληθυσμό των καπνιστών που μειώνουν το κάπνισμα, υπάρχουν ερωτήματα που πρέπει να συνεκτιμηθούν μαζί με τα οφέλη αυτά: 1) μερικοί καπνιστές μπορεί να καθυστερούν τη διακοπή επειδή πιστεύουν ότι διέφυγαν τον κίνδυνο μειώνοντας το κάπνισμα, 2) πρώην καπνιστές μπορεί να επιστρέψουν στο κάπνισμα επειδή θεωρούν ότι η μείωσή τους τους προστατεύει από τους κινδύνους, 3) οι μη καπνιστές ενδέχεται να αρχίσουν το κάπνισμα επειδή θεωρούν ότι υπάρχουν τρόποι να το μετριάσουν. Συνεπώς, αυτές οι «ασφαλέστερες» μέθοδοι μπορούν να αυξήσουν δυνητικά τον αριθμό των καπνιστών, επιδρώντας αρνητικά και όχι θετικά στην προσπάθεια για μείωση της επίπτωσης των βλαβερών συνεπειών του καπνού στην υγεία.

Η επιστημονική πρόκληση έγκειται λοιπόν στην ταυτοποίηση των προϊόντων που μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο από την έκθεση (potential exposure reduction products, PERPs). Αν και η έννοια της μείωσης του κινδύνου είναι ελκυστική, ο τρέχων ενθουσιασμός μετρίζεται από την παλαιότερη εμπειρία με τα PERPs. Ιδιαίτερα, τα φίλτρα και τα τσιγάρα με χαμηλή νικοτίνη θεωρήθηκαν αρχικά σαν μια αποδεκτή εναλλακτική λύση έναντι της διακοπής του καπνίσματος. Ωστόσο, στην πράξη οι καπνιστές αυτοί φαίνεται ότι εισπνέουν μεγαλύτερη δόση καπνού προκειμένου να αντισταθμίσουν τη μειωμένη πρόσληψη νικοτίνης. Αυτή η προσπάθεια αντιστάθμισης αυξάνει τον κίνδυνο από τον καπνό². Επιπλέον, η πρόσφατη αύξηση των αδενοκαρκινωμάτων

του πνεύμονα έχει αποδοθεί στην αύξηση της κατανάλωσης των τσιγάρων με χαμηλή νικοτίνη, λόγω της βαθύτερης εισπνοής που επιβάλλουν στους καπνιστές τους και στην αύξηση των νιτροζαμινών στον καπνό τους^{3,4}. Μια πρόσφατη αναφορά του National Cancer Institute κατέληξε στα παραπάνω συμπεράσματα⁵.

Λόγω των ενδείξεων ότι τα τσιγάρα με χαμηλή πίσσα και νικοτίνη δεν παρέχουν επιπλέον οφέλη και ίσως αυξάνουν τον κίνδυνο, η πρόσφατη ανακοίνωση του IOM¹, καταλήγει ότι αποδείξεις για μείωση του κινδύνου μπορούν να προκύψουν από επιδημιολογικές μελέτες. Ωστόσο, η χρονική απόσταση που απαιτείται για να προκύψουν τέτοια στοιχεία και η εξελισσόμενη φύση των PERPs καθώς εξελίσσεται η τεχνολογία καθιστά την επιδημιολογική ανάλυση προβληματική, εφόσον τα συμπεράσματα θα προκύψουν μόνον όταν ένας μεγάλος αριθμός ανθρώπων θα έχουν εμφανίσει νέους όγκους. Προκειμένου να κατανοήσουμε εάν η χρήση των PERPs είναι ωφέλιμη, πρέπει να καταφύγουμε σε αξιόπιστους βιολογικούς δείκτες έκθεσης που θα μπορούν να προγνώσουν κλινικά σημαντική μείωση του κινδύνου.

Η χρήση των βιοδεικτών για την εκτίμηση των PERPs

Πολλοί δυνητικοί PERPs μελετώνται σήμερα. Μέσω της εφαρμογής της θεραπείας υποκατάστασης της νικοτίνης ή της χρήσης φαρμάκων που βοηθούν στη διακοπή του καπνίσματος (πχ βουπρόπιον), οι καπνιστές είναι δυνατό να μειώσουν τον αριθμό των τσιγάρων που καπνίζουν ημερησίως. Νέα προϊόντα έρχονται από τις καπνοβιομηχανίες τα ο- ➡

⇒ ποία θερμαίνουν μάλλον παρά καίνε τον καπνό, γεγονός που ίσως οδηγήσει σε μειωμένη απελευθέρωση καρκινογόνων έως και κατά 70%⁶ (π.χ. Eclipse της R.J. Reynolds Tobacco Company και Accord by Philip Morris U.S.A., το πρώτο θερμαίνει τον καπνό ανάβοντας ένα κεντρικό στοιχείο και το δεύτερο θερμαίνει τον καπνό με χρήση ηλεκτρισμού). Άλλες προσεγγίσεις περιλαμβάνουν την αλληλαγή της φύσης του καπνού ώστε να αποδεσμεύει λιγότερα καρκινογόνα, όπως νιτροζαμίνας ή πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες (π.χ. StarCure της Star Scientific, Inc. και Omni της Vector Tobacco, Ltd).

Οι βιοδείκτες που εξετάζονται σ' αυτό το κείμενο ορίζονται σαν κάθε δοκιμασία που παρέχει κάποια μέτρηση σε ανθρώπινο ιστό (π.χ. το επίπεδο ενός συστατικού του καπνού, μια μεταβολή σε κυτταρικό επίπεδο, βλάβες στο DNA), στον εκπνεόμενο αέρα, στα πτύελα, στο σίελο, στο αίμα, στα ούρα, στο δέρμα, σε εσωτερικά όργανα του σώματος. Η έκθεση ορίζεται σαν αλληλεπίδραση μεταξύ του καπνού ή των συστατικών του και του σωματικού μικροπεριβάλλοντος (π.χ. στο κυτταρικό επίπεδο). Η απόδοση του καπνού ορίζεται σαν το ποσό των παραγώγων του καπνού που αποδίδεται από ένα τσιγάρο και μετράται στο ύψος της κάφτρας του τσιγάρου με τη χρήση της μηχανής που καπνίζει. Δεν αντανakλά κατ' ανάγκη την πραγματική έκθεση του καπνιστή.

Υπάρχουν 4 είδη δοκιμασιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν όταν αξιολογείται ένα προϊόν με πιθανή αποτελεσματικότητα στη διαδικασία μείωσης κινδύνου από το κάπνισμα. Όπως περιγράφεται στην αναφορά της IOM¹, η πρώτη είναι οι μετρήσεις της εξωτερικής έκθεσης (π.χ., η απόδοση, δεν είναι βιοδείκτης). Οι άλλες αφορούν βιοδείκτες εσωτερικής έκθεσης, βιοδείκτες που υπολογίζουν τη βιολογικά δραστική δόση⁷ και βιοδείκτες δυνητικού κινδύνου. Οι τελευταίοι δύο βιοδείκτες αφορούν στα αποτελέσματα της έκθεσης στο κυτταρικό επίπεδο και μπορούν να δώσουν πληροφορίες σχετικές με τις δράσεις συγκεκριμένων χημικών συστατικών του σύνθετου καπνού που εισέρχονται στον οργανισμό⁸. Δεδομένου του μεγάλου αριθμού των διαθέσιμων ή υπό ανάπτυξη βιοδεικτών, απαιτείται ένα πλαίσιο αξιολόγησης της συνεισφοράς του. Συνεπώς, είναι σημαντικό να αξιολογείται η ποιότητα, η αξιοπιστία, η καταλληλότητα και η χρησιμότητα ενός βιοδείκτη. Επειδή πολλοί βιοδείκτες έχουν δυνητική χρησιμότητα στην εκτίμηση του καπνιστικού κινδύνου και της μείωσής του, ενώ η



σύγχρονη τεχνολογία μας προσφέρει και νέους, είναι απαραίτητη η αυστηρή αξιολόγησή τους.

Η δοκιμασία ενός βιοδείκτη πρέπει να ελέγχεται ως προς την ευαισθησία και ειδικότητά της στο επίπεδο της ανθρώπινης έκθεσης και σε χαμηλότερα επίπεδα ώστε να περιλαμβάνονται και οι κίνδυνοι κατά τη φάση της μείωσης του καπνιστικού κινδύνου. Οι βιοδείκτες θα έπρεπε να ελέγχονται επίσης σαν δείκτες κινδύνου σε πρώην καπνιστές, επειδή εάν δεν υπάρχουν διαφορές στα αποτελέσματα σε πρώην καπνιστές συγκριτικά με τους ενεργούς, η δοκιμασία δεν είναι αρκετά ευαίσθητη για να ανιχνεύσει μικρές μεταβολές του καπνιστικού κινδύνου. Όταν αναπτύσσονται νέες δοκιμασίες, συχνά είναι χρήσιμο να υπάρχουν συμπληρωματικές δοκιμασίες που μπορούν να μετρήσουν την ίδια μεταβολή ή μια συνέπεια αυτής της μεταβολής. Οι μελέτες κάθε βιοδείκτη πρέπει να περιλαμβάνουν τη μέτρηση της επαναληψιμότητας (π.χ. coefficient of variation), τη διεργαστηριακή μεταβλητότητα, τη μεταβλητότητα μεταξύ των καπνιστών και στον ίδιο καπνιστή με την πάροδο του χρόνου.

Ο τρόπος με τον οποίον αξιολογείται ένας δείκτης αντανakλά τη χρησιμότητά του. Λόγω των δυσκολιών στην πραγματοποίηση δοκιμασιών στο επίπεδο της ανθρώπινης έκθεσης και λόγω της ύπαρξης πολλών μεταβλητών, μπορούμε ενίοτε να αξιολογούμε τους βιοδείκτες χρησιμοποιώντας υψηλότερα επίπεδα έκθεσης σε μοντέλα in vitro. Ωστόσο, τα μοντέλα αυτά μπορούν να δώσουν διαφορετικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τους

ανθρώπους^{9,10}. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μετρήσεις του σχηματισμού in vivo μιας ουσίας ή ενός μεταβολίτη μπορεί να αποτελέσει παράγοντα σύγχυσης εάν συνυπάρχουν και εξωγενείς πηγές¹¹.

Η εκτίμηση της εξωτερικής έκθεσης

Η πλέον μελετημένη μέθοδος εκτίμησης της ανθρώπινης έκθεσης και πρόβλεψης κινδύνου καρκίνου του πνεύμονα είναι το ατομικό καπνιστικό ιστορικό¹²⁻²¹. Η αθροιστική τοξική έκθεση εκτιμάται με το δείκτη «πακέτα-χρονιές» ή με τη σωρευτική έκθεση στην πίσσα¹⁴. Πάντως, δεν είναι εύκολο να εκτιμηθεί ο τρόπος εισπνοής του καπνού ή το πώς ο οργανισμός αντιδρά στην έκθεση. Το καπνιστικό ιστορικό εκτιμά αδρά το επίπεδο της έκθεσης αλλά δε βοηθά ιδιαίτερα την εκτίμηση της μείωσης της έκθεσης. Η περιεκτικότητα σε πίσσα και νικοτίνη αναγράφονται στα πακέτα των τσιγάρων και στις σχετικές διαφημίσεις. Αυτή η μέτρηση της πίσσας έχει θεσμοθετηθεί από το 1967. Η σχετική μεθοδολογία χρησιμοποιεί μια μηχανή καπνίσματος που υπολογίζει την αποδιδόμενη δόση σε ένα άτομο και συγκρίνει τα τσιγάρα μεταξύ τους. Το τσιγάρο εισάγεται στη μηχανή και ανάβεται. Στη συνέχεια, προσομοιάζοντας τον τρόπο του ανθρώπινου καπνίσματος, η μηχανή «εισπνέει περιοδικά» ασκώντας αρνητική πίεση μέσω μιας σύριγγας (35 mL σε διάστημα 2 δευτερολέπτων, κάθε 60 δευτερόλεπτα) μέχρι να «τελειώσει» το τσιγάρο. Η σωματιδιακή φάση του καπνού συλλέγεται σε ειδικό φίλτρο της μηχανής και ζυγίζεται. Η νικοτίνη, που δεν ανήκει

στη σωματιδιακή φάση, μελετάται χωριστά. Η πίσσα μετράται σαν ολικό σωματιδιακό υλικό μείον την νικοτίνη, τα άλλα αλκαλοειδή και το νερό.

Υπάρχουν σημαντικά προβλήματα με την παραπάνω (FTC) μέθοδο, επειδή δεν αντιπροσωπεύει τον τρόπο με τον οποίο καπνίζουν οι περισσότεροι άνθρωποι, ο οποίος καθορίζεται κυρίως από την ποσότητα της νικοτίνης που απορροφούν και άλλους παράγοντες. Για παράδειγμα, η μηχανή δεν μπορεί να αναλύσει μεταβολές στην καπνιστική συμπεριφορά για όσους περνούν από τσιγάρα υψηλής περιεκτικότητας σε πίσσα και νικοτίνη σε τσιγάρα χαμηλής περιεκτικότητας, γεγονός που αντιρροπεί με βαθύτερη και συχνότερη εισπνοή καπνού^{4, 22, 23}. Στην πραγματικότητα, όταν πρωτοχρησιμοποιήθηκε αυτή η μέθοδος, δεν υπήρχαν τσιγάρα φίλτρου και ο καπνός περιείχε 3.4–3.8 mg νικοτίνης. Στα 1990, οι περισσότεροι καπνιστές είχαν περάσει σε τσιγάρα με φίλτρο και ένα τυπικό τσιγάρο απέδιδε 0.85–0.9 mg νικοτίνης.

Ένα τροποποιημένο πρωτόκολλο FTC που προσομοιάζει καλύτερα με την ανθρώπινη εισπνοή κατακρατά περισσότερη πίσσα και ειδικά καρκινογόνα του καπνού. Με άλλα λόγια, οι καπνιστές που αντιροπούν εισπνέοντας περισσότερο καπνό από τα τσιγάρα χαμηλής περιεκτικότητας σε πίσσα και νικοτίνη είναι περισσότερο εκτεθειμένοι στη νικοτίνη, στη πίσσα και στα καρκινογόνα του καπνού^{4,22,23}. Αν και τα συμπεράσματα από τη μέθοδο FTC ίσως επιτρέπουν μια σύγκριση μεταξύ των διαφόρων τσιγάρων, υπάρχει μια ευρεία εφίπνευση μεταξύ προβλεπόμενων και πραγματικών περιεκτικότητων μεταξύ των διαφόρων ειδών τσιγάρων. Οι καπνιστές τσιγάρων με χαμηλή νικοτίνη μπορεί να εμφανίζουν υψηλότερες στάθμες νικοτίνης στο αίμα από τους καπνιστές «βαρύτερων» τσιγάρων²³⁻²⁵. Επιπλέον, η κύρια διαφορά περιεκτικότητας σε πίσσα μεταξύ των διαφόρων τσιγάρων οφείλεται στον «αερισμό» (μείξη του καπνού με τον αέρα μέσω των πόρων του χαρτιού του τσιγάρου) και όχι στον τύπο του καπνού. Πολλοί καπνιστές μεταβάλλουν την αποδοτικότητα του φίλτρου καλύπτοντας τις τρύπες αερισμού των φίλτρων με τα χείλη τους ή τα δάχτυλά τους, γεγονός που αυξάνει την περιεκτικότητα. Καθώς κυκλοφορούν προϊόντα που μοιάζουν με τα τσιγάρα αλλά έχουν διαφορετική διαμόρφωση από αυτά, η μέθοδος FTC κρίνεται ακατάλληλη για να τα συγκρίνει με τα συμβατικά τσιγάρα. Συνεπώς, η αξιολόγηση των PERPs πρέπει να γίνεται με ανθρώπι-

νη έκθεση, όχι μηχανές καπνίσματος.

Η εκτίμηση της εξωτερικής έκθεσης μπορεί επίσης να περιλάβει το πώς κανείς καπνίζει ένα τσιγάρο, γεγονός που αναφέρεται στη βιβλιογραφία σαν καπνιστική τοπογραφία (π.χ. όγκος εισπνοής, αριθμός εισπνοών ανά τσιγάρο, μεσοδιαστήματα μεταξύ εισπνοών)²⁶⁻³⁰. Η τοπογραφία μετράται καπνίζοντας ένα τσιγάρο μέσω ενός σωλήνα όμοιας διαμέτρου με το τσιγάρο, εφοδιασμένο με ένα μετατροπέα της ροής του αέρα^{31,32}. Οι μελέτες τοπογραφίας έδειξαν ότι οι καπνιστές καπνίζουν διαφορετικά ώστε να επιτύχουν τα επιθυμητά επίπεδα νικοτίνης στο αίμα τους όταν περνούν σε ελαφρύτερα τσιγάρα^{28,31,33-37}.

Η αξιολόγηση των βιοδεικτών

Οι βιοδείκτες της έκθεσης περιλαμβάνουν κάθε δοκιμασία η οποία χρησιμοποιεί βιολογικό υλικό για να μετρήσει ένα παράγωγο ή ένα μεταβολίτη του καπνού. Δεν πρόκειται για μέτρηση του πώς αυτά τα παράγωγα αλληλεπιδρούν με τις οργανικές λειτουργίες ή τις μακρομοριακές ενώσεις ώστε να προκαλέσουν βλάβη. Το εκπνεόμενο μονοξείδιο του άνθρακα (CO) είναι μεταξύ των χρησιμοποιούμενων βιοδεικτών έκθεσης επειδή δεν υφίσταται μεταβολική ενεργοποίηση. Ο μικρός χρόνος παραμονής του τον καθιστά δείκτη πρόσφατης έκθεσης, αν και όταν συνυπολογισθεί σαν δείκτης καπνιστικής τοπογραφίας μαζί με το καπνιστικό ιστορικό, βελτιώνει την πρόγνωση του νεοπλασματικού κινδύνου³⁸. Οι περιορισμοί στις μετρήσεις του CO είναι το ότι δεν είναι ειδικός δείκτης του καπνίσματος, εφόσον υπάρχουν και άλλες πηγές έκθεσης όπως οι αναθυμιάσεις των αυτοκινήτων και ότι τα επίπεδα μπορεί να επηρεαστούν από τη φυσική δραστηριότητα, το φύλο και την παρουσία πνευμονικής νόσου.

Ένας άλλος συχνά χρησιμοποιούμενος βιοδείκτης έκθεσης είναι τα επίπεδα της νικοτίνης στο αίμα, αλλά λόγω του ότι η νικοτίνη έχει βραχύ χρόνο ημιζωής στο αίμα, προτιμάται η μέτρηση της κοτινίνης, ενός μεταβολίτη της νικοτίνης με μακρύτερο χρόνο ημιζωής³⁹⁻⁴¹.

Πάντως, αυτοί οι βιοδείκτες έκθεσης εμφανίζουν πολλές διακυμάνσεις μεταξύ των καπνιστών λόγω διαφορών στο μεταβολισμό της νικοτίνης. Τα άτομα εμφανίζουν διαφορετικούς μεταβολικούς ρυθμούς ως προς την μετατροπή της νικοτίνης σε κοτινίνη από το κυτόχρωμα P450 και ως προς το ρυθμό οξειδωσης της κοτινίνης σε trans-3-υδροξυ-κοτινίνη.

Η καπνιστική τοπογραφία εκτιμάται καλύτερα μετρώντας τη νικοτίνη ή τα επίπε-

δα του CO πριν και μετά από το κάπνισμα ενός τσιγάρου. Σε άτομα που χρησιμοποιούν θεραπεία υποκατάστασης με νικοτίνη, μια εναλλακτική μέθοδος είναι η μέτρηση των επιπέδων των άλλων αλκαλοειδών του καπνού, όπως η αναταμβίνη ή η αναβασίνη, στα ούρα⁴². Υπάρχουν τεχνολογίες για την άμεση μέτρηση της εξωτερικής έκθεσης των συστατικών του καπνού στα όργανα-στόχους μέσω βιοψιών, όπως οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες στους πνεύμονες⁴³ και για τη μέτρηση καρκινογόνων μεταβολιτών, όπως τα προϊόντα των νιτροζαμινών στα ούρα⁴⁴⁻⁴⁶. Ο καπνός είναι ένα μίγμα από χημικές ουσίες, μέταλλα και ίνες. Η μέτρηση της έκθεσης σε αυτό το μίγμα περιλαμβάνει τον καθορισμό της μεταλλαξιογόνου δράσης στα ούρα του καπνιστή⁴⁷⁻⁴⁹. Τα επίπεδα αναφέρεται ότι μειώνονται με τη χρήση προϊόντων που θερμαίνουν και δεν καίνε τον καπνό⁶. Η βιολογικά δραστηκή δόση⁷ αντιπροσωπεύει το καθαρό αποτέλεσμα από τη δράση των συστατικών του καπνού (μόνα ή σε συνδυασμό) σε μια κυτταρική μεγαλομοριακή ένωση (πχ πρωτεΐνη ή DNA) μετά από μεταβολική ενεργοποίησή τους σε δραστικά ενδιάμεσα, μειωμένο ρυθμό απομάκρυνσης, μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης και μειωμένο ρυθμό κυτταρικού θανάτου.

Μια κατηγορία δοκιμασιών προσφέρονται για τον καθορισμό των καρκινογόνων μακρομοριακών συμπλόκων σε ανθρώπινους ιστούς^{10,50-53}, κάθε μια από τις οποίες έχει την ισχύ και τους περιορισμούς της. Ένας συνήθης τρόπος εκτίμησης της βιολογικά δραστικής δόσης είναι η μέτρηση των συμπλόκων καρκινογόνο-DNA, που σχηματίζονται όταν οι καρκινογόνοι μεταβολίτες αλληλεπιδρούν σε νουκλεοτίδια. Τα επίπεδα των συμπλόκων του DNA αντανακλούν την έκθεση και εκφράζουν το φαινότυπο της ατομικής ικανότητας για μεταβολική ενεργοποίηση, απομάκρυνση, επιδιόρθωση του DNA, ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Μερικές από τις βλάβες αυτών των συμπλόκων του DNA ευνοούν τις μεταλλάξεις. Αυτό αποτελεί σοβαρή ένδειξη συσχέτισης του σχηματισμού συμπλόκων του DNA με τον κίνδυνο καρκινογένεσης⁵³. Μεταξύ των σημαντικότερων πειστηρίων είναι το εύρημα ότι υψηλότερα επίπεδα συμπλόκων στο αίμα μπορούν να προγνώσουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πνευμονικού καρκίνου⁵⁴⁻⁵⁷. Κλινικές μελέτες επιβεβαιώνουν αυτή τη συσχέτιση τόσο για τον καρκίνο του πνεύμονα, όσο και για τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης⁵⁸⁻⁶¹.



⇒ Στους ανθρώπους, το καπνιστικό ιστορικό συσχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα συμπλόκων στους πνεύμονες⁶²⁻⁶⁴ και στο αίμα^{60,63,65}. Αυτά τα επίπεδα μπορεί να ποικίλουν ανάλογα με τις κληρονομικές εγγενείς μεταβολικές δυνατότητες του καθένα⁶⁶⁻⁷³.

Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι τα επίπεδα των συμπλόκων στο αίμα έχουν προγνωστική ισχύ όσον αφορά τα επίπεδά τους στα όργανα στόχους, όπως οι πνεύμονες, συνεπώς οι μετρήσεις στο αίμα αποκτούν ιδιαίτερη σημασία⁷⁴⁻⁷⁶. Μέθοδοι ανίχνευσης συμπλόκων πρωτεΐνης-καρκινογόνου ουσίας⁵⁹ έδειξαν ότι τα επίπεδα των συμπλόκων της αιμοσφαιρίνης είναι υψηλότερα στους καπνιστές συγκριτικά με τους μη καπνιστές⁷⁷ ή με τους καπνιστές διαφορετικών ειδών καπνού (ξανθός έναντι μαύρου)⁷⁸. Μια μείωση των συμπλόκων ακολουθεί μια βραχεία ή μακρόχρονη διακοπή του καπνίσματος, ούτως ώστε αυτές οι μετρήσεις μπορεί να είναι ποσοτικά αρκετά αξιόπιστες ώστε να δείξουν μεταβολές από τη χρήση των PERPs^{79,80}.

Τα σύμπλοκα αυτά ανευρίσκονται στους πνεύμονες των πρώην καπνιστών⁸¹, αλλά δεν είναι γνωστό εάν η παραμονή αυτή οφείλεται στο σχηματισμό νέων συμπλόκων από παλαιότερη εναπόθεση μακρόβιων προϊόντων του καπνού, από έκθεση σε περιβαλλοντολογικό καπνό ή από άλλες μορφές έκθεσης όπως η διαίτα ή η μόλυνση του αέρα⁸². Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι τα σχετικά επίπεδα είναι χαμηλότερα στους καπνιστές τσιγάρων με φίλτρο⁵⁹. Η χημική ειδικότητα βοηθά στην αξιολόγηση των προϊόντων μείωσης καπνιστικού κινδύνου όταν τα σύμπλοκα μπορούν να προέλθουν μόνο από τα συστατικά του καπνού (π.χ. οι ειδικές του καπνού νιτροζαμίνας ή το 4-αμινοδιφαινύλιο, απουσία επαγγελματικής έκθεσης), ενώ η μέτρηση των συμπλόκων που μπορεί να προέρχονται και από ενδογενείς εστίες (π.χ. οξειδωτικές βλάβες, μεθυλίωση) είναι δυσκολότερο να χρησιμοποιηθούν σαν εργαλείο αξιολόγησης των PERPs.

Οι βιοδείκτες των δυντικών βλαβών μπορούν να αφορούν ένα ευρύ φάσμα κινδύνων, από τις μη λειτουργικές δράσεις σε κύτταρα που χρησιμεύουν σαν έμμεσοι δείκτες τρεχουσών βλαβών μέχρι αληθείς νόσους σε προκλινικό ή κλινικό στάδιο. Αν και αυτές οι μετρήσεις είναι λιγότερο ειδικές από την εξέταση ιστών από τα όργανα στόχους του καπνίσματος, μια σύγχρονη μείωση ενός έμμεσου δείκτη ενώ το άτομο βρίσκεται σε αγωγή με PERPs θα αποτελούσε ισχυρό τεκμήριο ότι έχει επέλθει μείωση τόσο στην έκθεση όσο και

στις τοξικές συνέπειές της, ανάλογα με τη δοκιμασία. Ωστόσο, η πρόκληση βρίσκεται στην κατανόηση του εάν η ποσοτική μείωση μπορεί πράγματι να αποτελέσει προγνωστικό κριτήριο για μετρήσιμη μείωση στην επίπτωση των νόσων.

Μεταξύ των πλέον υποσχόμενων δοκιμασιών με βιοδείκτες στα πλαίσια της αξιολόγησης των PERPs συγκαταλέγονται όσοι βασίζονται στη γενετική και δίνουν πληροφορίες σχετικά με τις βλάβες του DNA ή τις ανωμαλίες στη λειτουργία του γονιδιώματος (μεταλλάξεις, σοβαρές μεταβολές των χρωματοσωμάτων ή υπερμεθυλίωση των επαγωγικών περιοχών του DNA). Οι χρωματοσωματικές βλάβες μπορούν να μετρηθούν με κλασσικές δοκιμασίες κυτταρογενετικής⁸³⁻⁸⁵, σχηματισμός μικροπυρηνίων⁸⁶, η δοκιμασία Comet^{87,88} ή ο υβριδισμός in situ^{83,89,90}. Οι μέθοδοι της PCR που εκτιμούν την απώλεια ετεροζυγωτίας στα πνευμονικά κύτταρα έδειξαν ότι οι ανωμαλίες στα χρωματοσώματα 3p14, 9p21 και 17p13 είναι συχνότερες στους καπνιστές συγκριτικά με τους πρώην καπνιστές⁹¹. Πρόσφατα, έγινε επικτή η μέτρηση των μεταλλάξεων σε γονίδια που σχετίζονται με την καρκινογένεση σε μη καρκινικούς ιστούς⁹¹⁻⁹³. Ένας ενδιαφέρων χώρος έρευνας είναι η μελέτη της γονιδιακής σιγής λόγω ανώμαλης μεθυλίωσης των επαγωγικών περιοχών των γονιδίων. Βλάβες στο γονίδιο p16 στα πτύελα των καπνιστών συσχετίστηκαν με το κάπνισμα⁹⁴, συνεπώς αυτές οι δοκιμασίες είναι κατάλληλες για την αξιολόγηση των PERP. Ο ρόλος των βλαβών του μιτοχονδριακού DNA εξετάζεται τελευταία αναφορικά με τον κίνδυνο καρκινογένεσης⁹⁵. Αυτές οι βλάβες, όταν συσχετίζονται με το κάπνισμα, ίσως αποδειχτούν χρήσιμες για τη μελλοντική αξιολόγηση των PERP⁹⁶. Οι βιοδείκτες των παθοφυσιολογικών δράσεων του καπνού περιλαμβάνουν και τους μορφολογικούς δείκτες των προνεοπλασματικών βλαβών (πχ δυσπλασία) ή τροποποιημένη φαινοτυπική έκφραση φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών (πχ υπερέκφραση του πρωτοογκογόνου Erb-B2).

Γενετική προδιάθεση για καπνιστική συμπεριφορά και καπνιστικός κίνδυνος

Είναι σαφές ότι η ποικιλία στο μεταβολισμό των καρκινογόνων και στη διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA επηρεάζει τον κίνδυνο της καρκινογένεσης. Συνεπώς, τα άτομα ποικίλουν ως προς τη δυνατότητα μείωσης του κινδύνου με τη χρήση των PERP. Επιπλέον, με δεδομένη τη δι-

αφορά στην επίπτωση ορισμένων γενετικών χαρακτηριστικών μεταξύ των διαφόρων εθνοτήτων και φυλών, τα PERP μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο αποτελεσματικά, ανάλογα με την ομάδα των χρηστών. Επίσης, μπορεί να υπάρχουν και διαφορές ανάλογα με το φύλο και την ηλικία που να επιδρούν στην αποτελεσματικότητα των PERP. Μπορεί να αντιτίθει κανείς ότι τα PERP θα επιδράσουν διαφορετικά σε διαφορετικούς χρήστες, ανάλογα με την ηλικία, για παράδειγμα, επειδή η ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA μειώνεται με την ηλικία^{97,98}.

Για τη μελέτη του καπνιστικού κινδύνου μπορούν να μελετηθούν τόσο ο φαινότυπος όσο και ο γονότυπος. Οι δοκιμασίες που αφορούν στο φαινότυπο περιλαμβάνουν την εκτίμηση του μεταβολισμού των καρκινογόνων (π.χ. μεταβολίτες στα ούρα της καφεΐνης του CYP1A1 και δραστηριότητα της NAT2, N-ακετυλτρανσφεράσης 2)⁹⁹, την αναγωγή της αρυλνδροκαρβουδροξυλάσης^{100,101}, τους μεταβολικούς λόγους των οιστρογόνων¹⁰², την επιδιόρθωση του DNA μέσω της δοκιμασίας ευαισθησίας σε μεταλλάξιγονα¹⁰³⁻¹⁰⁷ και άλλες τεχνικές. Πρέπει να σημειωθεί ότι το κάπνισμα προκαλεί αύξηση στη στάθμη ορισμένων ενζύμων επιδιόρθωσης¹⁰⁸⁻¹¹⁰, συνεπώς ορισμένες από τις δοκιμασίες του φαινοτύπου πρέπει να ερμηνευθούν προσεκτικά.

Οι γενετικοί πολυμορφισμοί που σχετίζονται με τον καπνιστικό κίνδυνο έχουν μελετηθεί εντατικά^{111,112}. Τα σχετικά παραδείγματα περιλαμβάνουν το NAT2¹¹³⁻¹¹⁵, την τρανσφεράση S της γλυουταθειόνης M1 (GSTM1)^{113,114,116-120} και τα γονίδια CYP1A1^{121,122}, το γονίδιο της τρανσφεράσης S της γλυουταθειόνης⁶⁷ και άλλα^{118,123,124}. Αυτοί και άλλοι γενετικοί πολυμορφισμοί αναμένεται να επηρεάζουν τα επίπεδα των βιοδεικτών, όπως των συμπλόκων του DNA^{66,67,72,125}. Επίσης, ενδέχεται να αυξάνουν τον κίνδυνο για μεταλλάξεις του γονιδίου p53¹²⁶⁻¹²⁹. Γενετικοί πολυμορφισμοί στα ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA πράγματι υπάρχουν¹³⁰. Οι μελέτες που δείχνουν μια δράση αυτών των γενετικών παραληλαγών στο συνδεόμενο με το κάπνισμα κίνδυνο καρκινογένεσης¹³¹⁻¹³⁶ βρίσκονται στη φάση της ολοκλήρωσής τους.

Τελευταία, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για τους προγνωστικούς δείκτες της εξάρτησης από το κάπνισμα και για το πώς καπνίζουν οι άνθρωποι. Η καπνιστική συμπεριφορά (αριθμός τσιγάρων την ημέρα και καπνιστική τοπογραφία) καθορίζει το πώς οι καπνιστές ρυθμίζουν τη δόση τους ⇒

⇒ και συνεπώς αυτή η συμπεριφορά έχει επίπτωση στη μείωση του καπνιστικού κινδύνου. Υπάρχουν στοιχεία υπέρ της άποψης ότι η καπνιστική συμπεριφορά έχει ένα γενετικό υπόστρωμα. Τα στοιχεία αυτά περιλαμβάνουν μελέτες διδύμων τόσο ως προς την μήση στο κάπνισμα όσο και ως προς τη διατήρησή του¹³⁷⁻¹³⁹ και γενετικές μελέτες που αφορούν στους ντοπαμινεργικούς μηχανισμούς της επιβράβευσης¹⁴⁰⁻¹⁴³. Επειδή παθήσεις όπως η κατάθλιψη επηρεάζουν το κάπνισμα¹⁴⁴, πρέπει να συνεκτιμώνται με βιολογικές δράσεις των PERP.

Προοπτικές

Μέχρι σήμερα, η μόνη μέθοδος που αποδείχθηκε ικανή να μειώσει τον κίνδυνο καρκινογένεσης από το κάπνισμα είναι η διακοπή του καπνίσματος. Χρειάζονται εναλλακτικές λύσεις για όσους δε θέλουν ή δεν μπορούν να το διακόψουν. Ωστόσο, αυτές οι εναλλακτικές λύσεις δεν πρέπει να υιοθετούνται χωρίς αξιολόγηση. Η πρόσφατη έκθεση του IOM¹ συμπεραίνει ότι η μείωση του κινδύνου είναι εφικτή, αλλά η τεκμηρίωση αυτής της μείωσης απαιτεί σημαντικό ερευνητικό έργο. Τα PERP και άλλες μέθοδοι μείωσης του κινδύνου μελετώνται αυτή την εποχή και κυκλοφορούν ή πρόκειται να κυκλοφορήσουν στο εμπόριο. Αν και απαγορεύονται σαφείς αναφορές περί οφελών στην υγεία, η καπνοβιομηχανία διαφημίζοντας προϊόντα «που μοιάζουν με τσιγάρα» υπονοεί καθαρά ότι υπόσχονται οφέλη για την υγεία, γεγονός που μπορεί να παρασύρει τους καπνιστές σε νέους, επικίνδυνους δρόμους. Αν και μέχρι σήμερα, τα οφέλη από τα PERP παραμένουν αναπόδεικτα, φαίνεται ότι η καπνοβιομηχανία χρειάζεται να κάνει τους ανθρώπους να πιστέψουν ότι δεν έχουν τίποτε να χάσουν υιοθετώντας αυτές τις μεθόδους, εφόσον είναι ωφέλιμες τουλάχιστον θεωρητικά. Αυτή η επιλογή δε βασίζεται σε ορθή και πλήρη ενημέρωση, όπως φάνηκε από την περίπτωση των «ελαφρών» τσιγάρων και τη μέθοδο FTC για την εκτίμηση της πίσσας. Επίσης, δεν μπορούμε να προεξοφλήσουμε ότι όλοι θα χρησιμοποιήσουν τα PERP με τον ίδιο τρόπο ή ότι η μείωση της έκθεσης έως ένα βαθμό θα καταλήξει σε αληθή μείωση του κινδύνου της νοσηρότητας. Πρέπει να θυμόμαστε ότι οι πρώην καπνιστές, αν και διατρέχουν μικρότερο κίνδυνο από τους ενεργούς καπνιστές, διατρέχουν πάντοτε πολύ σοβαρότερο κίνδυνο από τους μη καπνιστές^{145,146}. Συνεπώς, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε ότι το μέγιστο όφελος που μπορεί να προσφέρουν τα PERP παραμένει κατώτερο από το όφελος της πλήρους διακοπής του καπνίσματος.

Βιβλιογραφία

- Institute of Medicine, Committee to Assess the Science Base for Tobacco Harm Reduction, Board on Health Promotion and Disease Prevention. Clearing the smoke: assessing the science base for tobacco harm reduction. Washington (DC): National Academy Press; 2001.
- Augustine A, Harris RE, Wynder EL. Compensation as a risk factor for lung cancer in smokers who switch from nonfilter to filter cigarettes. *Am J Public Health* 1989; 79:188-91.
- Stellman SD, Muscat JE, Hoffmann D, Wynder EL. Impact of filter cigarette smoking on lung cancer histology. *Prev Med* 1997; 26:451-6.
- Hoffmann D, Hoffmann I. The changing cigarette, 1950-1995. *J Toxicol Environ Health* 1997; 50:307-64.
- National Cancer Institute. Risks associated with smoking cigarettes with low machine-measured yields of tar and nicotine. Smoking and tobacco control [Monograph 13]. 2002.
- Smith CJ, McKarns SC, Davis RA, Livingston SD, Bombick BR, Avalos JT, et al. Human urine mutagenicity study comparing cigarettes which burn or primarily heat tobacco. *Mutat Res* 1996; 361:1-9.
- Perera FP. Molecular cancer epidemiology: a new tool in cancer prevention. *J Natl Cancer Inst* 1987; 78:887-98.
- Vineis P, Porta M. Causal thinking, biomarkers, and mechanisms of carcinogenesis. *J Clin Epidemiol* 1996; 49:951-6.
- Santella RM, Weston A, Perera FP, Trivers GE, Harris CC, Young TL, et al. Interlaboratory comparison of antisera and immunoassays for benzo [a]pyrene-diol-epoxide-I modified DNA. *Carcinogenesis* 1988; 9:1265-9.
- Farmer PB, Shuker DE. What is the significance of increases in background levels of carcinogen-derived protein and DNA adducts? Some considerations for incremental risk assessment. *Mutat Res* 1999; 424: 275-86.
- Prevost V, Shuker DE. Cigarette smoking and urinary 3-alkyladenine excretion in man. *Chem Res Toxicol* 1996; 9:439-44.
- U.S. Department of Health, Education and Welfare (DHEW). Smoking and health. A report of the Surgeon General. Washington (DC): 1988 DHEW Publ No. (PHS) 79-50066. p. 5-11.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: tobacco smoking. Vol. 38. Lyon (France): IARC; 1986.
- Zang EA, Wynder EL. Cumulative tar exposure. A new index for estimating lung cancer risk among cigarette smokers. *Cancer* 1992; 70:69-76.
- La Vecchia C, Bidoli E, Barra S, D'Avanzo B, Negri E, Talamini R, et al. Type of cigarettes and cancers of the upper digestive and respiratory tract. *Cancer Causes Control* 1990; 1:69-74.
- Kaufman DW, Palmer JR, Rosenberg L, Stolley P, Warshauer E, Shapiro S. Tar content of cigarettes in relation to lung cancer. *Am J Epidemiol* 1989; 129:703-11.
- La Vecchia C, Liati P, Decarli A, Negrello I, Franceschi S. Tar yields of cigarettes and the risk of oesophageal cancer. *Int J Cancer* 1986; 38:381-5.
- Stellman SD, Garfinkel L. Lung cancer risk is proportional to cigarette tar yield: evidence from a prospective study. *Prev Med* 1989; 18:518-25.
- Wilcox HB, Schoenberg JB, Mason TJ, Bill JS, Stenham A. Smoking and lung cancer: risk as a function of cigarette tar content. *Prev Med* 1988; 17:263-72.
- Lubin JH, Blot WJ, Berrino F, Flamant R, Gillis CR, Kunze M, et al. Patterns of lung cancer risk according to type of cigarette smoked. *Int J Cancer* 1984; 33:569-76.
- Vutuc C, Kunze M. Tar yields of cigarettes and male lung cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71:435-7.
- Fischer S, Spiegelhalter B, Preussmann R. Influence of smoking parameters on the delivery of tobacco-specific nitrosamines in cigarette smoke—a contribution to relative risk evaluation. *Carcinogenesis* 1989; 10:1059-66.
- Djordjevic MV, Stellman SD, Zang E. Doses of nicotine and lung carcinogens delivered to cigarette smokers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 106-11.
- Byrd GD, Davis RA, Caldwell WS, Robinson JH, deBethizy JD. A further study of FTC yield and nicotine absorption in smokers. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 139:291-9.
- Byrd GD, Robinson JH, Caldwell WS, deBethizy JD. Comparison of measured and FTC-predicted nicotine uptake in smokers. *Psychopharmacology (Berl)* 1995; 122:95-103.
- Bridges RB, Humble JW, Turbek JA, Rehm SR. Smoking history, cigarette yield and smoking behavior as determinants of smoke exposure. *Eur J Respir Dis Suppl* 1986; 146:129-37.
- Herning RI, Jones RT, Benowitz NL, Mines AH. How a cigarette is smoked determines blood nicotine levels. *Clin Pharmacol Ther* 1983; 33: 84-90.
- Gritz ER, Rose JE, Jarvik ME. Regulation of tobacco smoke intake with paced cigarette presentation. *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 18:457-62.
- Kolonen S, Tuomisto J, Puustinen P, Airaksinen MM. Puffing behaviour during the smoking of a single cigarette in a naturalistic environment. *Pharmacol Biochem Behav* 1992; 41:701-6.
- Hofer I, Nil R, Wyss F, Battig K. The contributions of cigarette yield, consumption, inhalation and puffing behaviour to the prediction of smoke exposure. *Clin Invest* 1992; 70:343-51.
- Benowitz NL, Jacob P 3rd, Kozlowski LT, Yu L. Influence of smoking fewer cigarettes on exposure to tar, nicotine, and carbon monoxide. *N Engl J Med* 1986; 315:1310-3.

- Benowitz NL, Jacob P 3rd, Yu L, Talcott R, Hall S, Jones RT. Reduced tar, nicotine, and carbon monoxide exposure while smoking ultralow but not low-yield cigarettes. *JAMA* 1986; 256:241-6.
- Benowitz NL, Zevin S, Jacob P 3rd. Suppression of nicotine intake during ad libitum cigarette smoking by high-dose transdermal nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 287:958-62.
- Hill P, Marquardt H. Plasma and urine changes after smoking different brands of cigarettes. *Clin Pharmacol Ther* 1980; 27:652-8.
- Ebert RV, McNabb ME, McCusker KT, Snow SL. Amount of nicotine and carbon monoxide inhaled by smokers of low-tar, low-nicotine cigarettes. *JAMA* 1983; 250:2840-2.
- Benowitz NL, Hall SM, Herning RI, Jacob P 3rd, Jones RT, Osman AL. Smokers of low-yield cigarettes do not consume less nicotine. *N Engl J Med* 1983; 309:139-42.
- Bridges RB, Combs JG, Humble JW, Turbek JA, Rehm SR, Haley NJ. Puffing topography as a determinant of smoke exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37:29-39.
- Law MR, Morris JK, Watt NJ. The dose-response relationship between cigarette consumption, biochemical markers and risk of lung cancer. *Br J Cancer* 1997; 75:1690-3.
- Bono R, Russo R, Arossa W, Scursatone E, Gilli G. Involuntary exposure to tobacco smoke in adolescents: urinary cotinine and environmental factors. *Arch Environ Health* 1996; 51:127-31.
- Benowitz NL. Biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *Environ Health Perspect* 1999; 107 Suppl 2:349-55.
- Crawford FG, Mayer J, Santella RM, Cooper TB, Ottman R, Tsai WY, et al. Biomarkers of environmental tobacco smoke in preschool children and their mothers. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:1398-402.
- Jacob P 3rd, Yu L, Shulgin AT, Benowitz NL. Minor tobacco alkaloids as biomarkers for tobacco use: comparison of users of cigarettes, smokeless tobacco, cigars, and pipes. *Am J Public Health* 1999; 89:731-6.
- Lodovici M, Akpan V, Giovannini L, Miglioni F, Dolara P. Benzo[a]pyrene diol-epoxide DNA adducts and levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in autopsied samples from human lungs. *Chem Biol Interact* 1998; 116:209-212.
- Carmella SG, Akerkar SA, Richie JP Jr, Hecht SS. Intraindividual and interindividual differences in metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in smokers' urine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4:635-42.
- Carmella SG, Akerkar S, Hecht SS. Metabolites of the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in smokers' urine. *Cancer Res* 1993; 53:721-4.
- Atawodi SE, Lea S, Nyberg F, Mukeria A, Constantinescu V, Ahrens W, et al. 4-Hydroxy-1-(3-pyridyl)-1-butanone-hemoglobin adducts as biomarkers of exposure to tobacco smoke: validation of a method to be used in multicenter studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 817-21.
- Yamasaki E, Ames BN. Concentration of mutagens from urine by absorption with the nonpolar resin XAD-2: cigarette smokers have mutagenic urine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74:3555-9.
- Jaffe RL, Nicholson WJ, Garro AJ. Urinary mutagen levels in smokers. *Cancer Lett* 1983;20:37-42.
- Mohtashamipour E, Norpoth K, Lieder F. Isolation of frameshift mutagens from smokers' urine: experiences with three concentration methods. *Carcinogenesis* 1985; 6:783-8.
- Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1194-210.
- Lee CK, Brown BG, Reed EA, Coggins CR, Doolittle DJ, Hayes AW. Ninety-day inhalation study in rats, using aged and diluted sidestream smoke from a reference cigarette: DNA adducts and alveolar macrophage cytogenetics. *Fundam Appl Toxicol* 1993; 20:393-401.
- Wang LE, Bondy ML, de Andrade M, Strom SS, Wang X, Sigurdson A, et al. Gender difference in smoking effect on chromosome sensitivity to gamma radiation in a healthy population. *Radiat Res* 2000; 154: 20-7.
- La DK, Swenberg JA. DNA adducts: biological markers of exposure and potential applications to risk assessment. *Mutat Res* 1996; 365:129-46.
- Tang D, Phillips DH, Stampfer M, Mooney LA, Hsu Y, Cho S, et al. Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the Physicians Health Study. *Cancer Res* 2001; 61:6708-12.
- Nakayama J, Yuspa SH, Poirier MC. Benzo(a)pyrene-DNA adduct formation and removal in mouse epidermis in vivo and in vitro: relationship of DNA binding to initiation of skin carcinogenesis. *Cancer Res* 1984; 44:4087-95.
- Ashurst SW, Cohen GM, Nesnow S, DiGiovanni J, Slaga TJ. Formation of benzo(a)pyrene-DNA adducts and their relationship to tumor initiation in mouse epidermis. *Cancer Res* 1983; 43:1024-9.
- Pelkonen O, Vahakangas K, Nebert DW. Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons to DNA: comparison with mutagenesis and tumorigenesis. *J Toxicol Environ Health* 1980; 6:1009-20.
- Dunn BP, Vedal S, San RH, Kwan WF, Nelems B, Enarson DA, et al. DNA adducts in bronchial biopsies. *Int J Cancer* 1991; 48:485-92.
- Van Schooten FJ, Hillebrand MJ, Van Leeuwen FE, Lutgerink JT, van Zandwijk N, Jansen HM, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in lung tissue from lung cancer patients. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1677-81.
- Tang D, Santella RM, Blackwood AM, Young TL, Mayer J, Jaretski A, et al. A molecular epidemiological case-control study of lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4:341-6.
- Peluso M, Airoldi L, Armelle M, Martone T, Coda R, Malaveille C, et al. White blood cell DNA adducts, smoking, and NAT2 and GSTM1 genotypes in bladder cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7:341-6.
- Schoket B, Phillips DH, Kostic S, Vincze I. Smoking-associated bulky

- ⇒ DNA adducts in bronchial tissue related to CYP1A1 MspI and GSTM1 genotypes in lung patients. *Carcinogenesis* 1998; 19:841-6.
63. Wiencke JK, Kelsey KT, Varkonyi A, Semey K, Wain JC, Mark E, et al. Correlation of DNA adducts in blood mononuclear cells with tobacco carcinogen-induced damage in human lung. *Cancer Res* 1995; 55:4910-4.
 64. Phillips DH, Hewer A, Martin CN, Garner RC, King MM. Correlation of DNA adduct levels in human lung with cigarette smoking. *Nature* 1988; 336:790-2.
 65. Vineis P, Bartsch H, Caporaso N, Harrington AM, Kadlubar FF, Landi MT, et al. Genetically based N-acetyltransferase metabolic polymorphism and low-level environmental exposure to carcinogens. *Nature* 1994; 369: 154-6.
 66. Kato S, Bowman ED, Harrington AM, Blomeke B, Shields PG. Human lung carcinogen-DNA adduct levels mediated by genetic polymorphisms in vivo. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:902-7.
 67. Ryberg D, Skaug V, Hewer A, Phillips DH, Harries LW, Wolf CR, et al. Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 1997; 18:1285-9.
 68. Rojas M, Alexandrov K, Cascorbi I, Brockmoller J, Likhachev A, Pozharisski K, et al. High benzo(a)pyrene diol-epoxide DNA adduct levels in lung and blood cells from individuals with combined CYP1A1 MspI/MspI*0/*0 genotypes. *Pharmacogenetics* 1998; 8:109-18.
 69. Badawi AF, Hirvonen A, Bell DA, Lang NP, Kadlubar FF. Role of aromatic amine acetyltransferases, NAT1 and NAT2, in carcinogen-DNA adduct formation in the human urinary bladder. *Cancer Res* 1995; 55:5230-7.
 70. Stern SJ, Degawa M, Martin MV, Guengerich FP, Kaderlik RK, Ilett KF, et al. Metabolic activation, DNA adducts, and H-ras mutations in human neoplastic and non-neoplastic laryngeal tissue. *J Cell Biochem Suppl* 1993; 17F:129-37.
 71. Grinberg-Funes RA, Singh VN, Perera FP, Bell DA, Young TL, Dickey C, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in smokers and their relationship to micronutrient levels and the glutathione-S-transferase M1 genotype. *Carcinogenesis* 1994; 15:2449-54.
 72. Pastorelli R, Guanci M, Cerri A, Negri E, La Vecchia C, Fumagalli F, et al. Impact of inherited polymorphisms in glutathione S-transferase M1, microsomal epoxide hydrolase, cytochrome P450 enzymes on DNA, and blood protein adducts of benzo(a)pyrene-diolepoxide. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7:703-9.
 73. Wiencke JK, Thurston SW, Kelsey KT, Varkonyi A, Wain JC, Mark EJ, et al. Early age at smoking initiation and tobacco carcinogen DNA damage in the lung. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:614-9.
 74. Bardeesy N, Falkoff D, Petrucci MJ, Nowak N, Zabel B, Adam M, et al. Anaplastic Wilms' tumour, a subtype displaying poor prognosis, harbours p53 gene mutations. *Nat Genet* 1994; 7:91-7.
 75. Wada M, Bartram CR, Nakamura H, Hachiya M, Chen DL, Borenstein J, et al. Analysis of p53 mutations in a large series of lymphoid hematologic malignancies of childhood. *Blood* 1993; 82:3163-9.
 76. Mustonen R, Schoket B, Hemminki K. Smoking-related DNA adducts: 32P-postlabeling analysis of 7-methylguanine in human bronchial and lymphocyte DNA. *Carcinogenesis* 1993; 14:151-4.
 77. Bryant MS, Skipper PL, Tannenbaum SR, Maclure M. Hemoglobin adducts of 4-aminobiphenyl in smokers and nonsmokers. *Cancer Res* 1987; 47:602-8.
 78. Bryant MS, Vineis P, Skipper PL, Tannenbaum SR. Hemoglobin adducts of aromatic amines: associations with smoking status and type of tobacco. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:9788-91.
 79. Jahnke GD, Thompson CL, Walker MP, Gallagher JE, Lucier GW, Di-Augustine RP. Multiple DNA adducts in lymphocytes of smokers and nonsmokers determined by 32P-postlabeling analysis. *Carcinogenesis* 1990; 11:205-11.
 80. Mooney LA, Santella RM, Covey L, Jeffrey AM, Bigbee W, Randall MC, et al. Decline of DNA damage and other biomarkers in peripheral blood following smoking cessation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4:627-34.
 81. Randerath E, Miller RH, Mittal D, Avitts TA, Dunsford HA, Randerath K. Covalent DNA damage in tissues of cigarette smokers as determined by 32P-postlabeling assay. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81:341-7.
 82. Rothman N, Poirier MC, Baser ME, Hansen JA, Gentile C, Bowman ED, et al. Formation of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in peripheral white blood cells during consumption of charcoal-broiled beef. *Carcinogenesis* 1990; 11:1241-3.
 83. Ramsey MJ, Moore DH, Briner JF, Lee DA, Olsen L, Senft JR, et al. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutat Res* 1995; 338: 95-106.
 84. Bender MA, Awa AA, Brooks AL, Evans HJ, Groer PG, Littlefield LG, et al. Current status of cytogenetic procedures to detect and quantify previous exposures to radiation. *Mutat Res* 1988; 196:103-59.
 85. Obe G, Vogt HJ, Madle S, Fahning A, Heller WD. Double-blind study on the effect of cigarette smoking on the chromosomes of human peripheral blood lymphocytes in vivo. *Mutat Res* 1982; 92:309-19.
 86. Thorne S, Mullen MJ, Clarkson P, Donald AE, Deanfield JE. Early endothelial dysfunction in adults at risk from atherosclerosis: differential responses to L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:110-6.
 87. Speit G, Hartmann A. The comet assay (single-cell gel test). A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. *Methods Mol Biol* 1999; 113:203-12.
 88. Poli P, Buschini A, Spaggiari A, Rizzoli V, Carlo-Stella C, Rossi C. DNA damage by tobacco smoke and some antitubercular drugs evaluated using the Comet assay. *Toxicol Lett* 1999; 108:267-76.
 89. Pressl S, Edwards A, Stephan G. The influence of age, sex and smoking habits on the background level of fish-detected translocations. *Mutat Res* 1999; 442:89-95.
 90. van Diemen PC, Maasdam D, Vermeulen S, Darroudi F, Natarajan AT. Influence of smoking habits on the frequencies of structural and numerical chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. *Mutagenesis* 1995; 10:487-95.
 91. Mao L, Lee JS, Kurie JM, Fan YH, Lippman SM, Lee JJ, et al. Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:857-62.
 92. Aguilar F, Harris CC, Sun T, Hollstein M, Cerutti P. Geographic variation of p53 mutational profile in nonmalignant human liver. *Science* 1994; 264:1317-9.
 93. Sidransky D. Nucleic acid-based methods for the detection of cancer. *Science* 1997; 278:1054-9.
 94. Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:11891-6.
 95. Fliss MS, Usadel H, Caballero OL, Wu L, Buta MR, Eleff SM, et al. Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science* 2000; 287:2017-9.
 96. Liu CS, Kao SH, Wei YH. Smoking-associated mitochondrial DNA mutations in human hair follicles. *Environ Mol Mutagen* 1997; 30:47-55.
 97. Wei Q, Matanoski GM, Farmer ER, Hedayati MA, Grossman L. DNA repair and aging in basal cell carcinoma: a molecular epidemiology study. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:1614-8.
 98. Liu Y, Hernandez AM, Shibata D, Cortopassi GA. BCL2 translocation frequency rises with age in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8910-4.
 99. Butler MA, Lang NP, Young JF, Caporaso NE, Vineis P, Hayes RB, et al. Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites. *Pharmacogenetics* 1992; 2:116-27.
 100. Kellermann G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *N Engl J Med* 1973; 289:934-7.
 101. Kouri RE, McKinney CE, Slomiany DJ, Snodgrass DR, Wray NP, McLemore TL. Positive correlation between high aryl hydrocarbon hydroxylase activity and primary lung cancer as analyzed in cryopreserved lymphocytes. *Cancer Res* 1982; 42:5030-7.
 102. Feigelson HS, Henderson BE. Estrogens and breast cancer. *Carcinogenesis* 1996; 17:2279-84.
 103. Cloos J, Spitz MR, Schantz SP, Hsu TC, Zhang ZF, Tobi H, et al. Genetic susceptibility to head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:530-5.
 104. Cloos J, Braakhuis BJ, Steen I, Copper MP, de Vries N, Nauta JJ, et al. Increased mutagen sensitivity in head-and-neck squamous-cell carcinoma patients, particularly those with multiple primary tumors. *Int J Cancer* 1994; 56:816-9.
 105. Spitz MR, Hsu TC, Wu X, Fueger JJ, Amos CI, Roth JA. Mutagen sensitivity as a biological marker of lung cancer risk in African Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4:99-103.
 106. Li D, Wang M, Cheng L, Spitz MR, Hittelman WN, Wei Q. In vitro induction of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in peripheral lymphocytes as a susceptibility marker for human lung cancer. *Cancer Res* 1996; 56:3638-41.
 107. Wei Q, Gu J, Cheng L, Bondy ML, Jiang H, Hong WK, et al. Benzo(a)pyrene diol epoxide-induced chromosomal aberrations and risk of lung cancer. *Cancer Res* 1996; 56:3975-9.
 108. Hall J, Breslin H, Donato F, Wild CP, Loktionova NA, Kazanova OI, et al. Alkylation and oxidative-DNA damage repair activity in blood leukocytes of smokers and non-smokers. *Int J Cancer* 1993; 54:728-33.
 109. Slupphaug G, Lettrem I, Myrnes B, Krokan HE. Expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase and uracil-DNA glycosylase in human placenta from smokers and non-smokers. *Carcinogenesis* 1992; 13:1769-73.
 110. Drin I, Schoket B, Kostic S, Vincze I. Smoking-related increase in O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity in human lung tissue. *Carcinogenesis* 1994; 15:1535-9.
 111. Shields PG. Epidemiology of tobacco carcinogenesis. *Curr Oncol Rep* 2000; 2:257-62.
 112. Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 1997; 278:1068-73.
 113. Brockmoller J, Cascorbi I, Kerb R, Roots I. Combined analysis of inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1, microsomal epoxide hydrolase, and cytochrome P450 enzymes as modulators of bladder cancer risk. *Cancer Res* 1996; 56:3915-25.
 114. Brockmoller J, Cascorbi I, Kerb R, Sachse C, Roots I. Polymorphisms in xenobiotic conjugation and disease predisposition. *Toxicol Lett* 1998; 102-103:173-83.
 115. Henning S, Cascorbi I, Munchow B, Jahnke V, Roots I. Association of arylamine N-acetyltransferases NAT1 and NAT2 genotypes to laryngeal cancer risk. *Pharmacogenetics* 1999; 9:103-11.
 116. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6:733-43.
 117. Cullen P, Schulte H, Assmann G. The Munster Heart Study (PROCAM): total mortality in middle-aged men is increased at low total and LDL cholesterol concentrations in smokers but not in nonsmokers. *Circulation* 1997; 96:2128-36.
 118. Jourenkova-Mironova N, Voho A, Bouchardy C, Wikman H, Dayer P, Benhamou S, et al. Glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes and the risk of smoking-related oral and pharyngeal cancers. *Int J Cancer* 1999; 81:44-8.
 119. Jourenkova N, Reinikainen M, Bouchardy C, Dayer P, Benhamou S, Hirvonen A. Larynx cancer risk in relation to glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes and tobacco smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7:19-23.
 120. Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1159-64.
 121. Ishibe N, Wiencke JK, Zuo ZF, McMillan A, Spitz M, Kelsey KT. Susceptibility to lung cancer in light smokers associated with CYP1A1 polymorphisms in Mexican- and African-Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6:1075-80.
 122. Bishop JM. The molecular genetics of cancer. *Science* 1987; 235:305-11.
 123. Wiencke JK, Spitz MR, McMillan A, Kelsey KT. Lung cancer in Mexican-Americans and African-Americans is associated with the wild-type genotype of the NAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6:87-92.
 124. Rosvold EA, McGlynn KA, Lustbader ED, Buetow KH. Identification of an NAD(P)H:quinone oxidoreductase polymorphism and its association with lung cancer and smoking. *Pharmacogenetics* 1995; 5:199-206.
 125. Yu MC, Ross RK, Chan KK, Henderson BE, Skipper PL, Tannenbaum SR, et al. Glutathione S-transferase M1 genotype affects aminobiphenylhemoglobin adduct levels in white, black and Asian smokers and nonsmokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4:861-4.
 126. Kawajiri K, Eguchi H, Nakachi K, Sekiya T, Yamamoto M. Association of CYP1A1 germ line polymorphisms with mutations of the p53 gene in lung cancer. *Cancer Res* 1996; 56:72-6.
 127. Oyama T, Kawamoto T, Mizoue T, Sugio K, Kodama Y, Mitsudomi T, et al. Cytochrome P450 2E1 polymorphism as a risk factor for lung cancer: in relation to p53 gene mutation. *Anticancer Res* 1997; 17:583-7.
 128. Ryberg D, Kure E, Lystad S, Skaug V, Stangeland L, Mercy I, et al. p53-mutations in lung tumors. Relationship to putative susceptibility markers for cancer. *Cancer Res* 1994; 54:1551-5.
 129. Lazarus P, Sheikh SN, Ren Q, Schantz SP, Stern JC, Richie JP Jr, et al. p53, but not p16 mutations in oral squamous cell carcinomas are associated with specific CYP1A1 and GSTM1 polymorphic genotypes and patient tobacco use. *Carcinogenesis* 1998; 19:509-14.
 130. Mohrenweiser HW, Jones IM. Variation in DNA repair is a factor in cancer susceptibility: a paradigm for the promises and perils of individual and population risk estimation? *Mutat Res* 1998; 400:15-24.
 131. Butkiewicz D, Rusin M, Enewold L, Shields PG, Chorazy M, Harris CC. Genetic polymorphisms in DNA repair genes and risk of lung cancer. *Carcinogenesis* 2001; 22:593-7.
 132. Ratnasinghe D, Yao SX, Tangrea J, Qiao YL, Andersen MR, Barrett MJ, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:119-23.
 133. Spitz MR, Wu X, Wang Y, Wang LE, Shete S, Amos CI, et al. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61:1354-7.
 134. Matullo G, Guarrera S, Carturan S, Peluso M, Malaveille C, Davico L, et al. DNA repair gene polymorphisms, bulky DNA adducts in white blood cells and bladder cancer in a case-control study. *Int J Cancer* 2001; 92: 562-7.
 135. Stern MC, Umbach DM, van Gils CH, Lunn RM, Taylor JA. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms, smoking, and bladder cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10:125-31.
 136. Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:874-97.
 137. Carmelli D, Swan GE, Robinette D, Fabsitz R. Genetic influence on smoking—a study of male twins. *N Engl J Med* 1992; 327:829-33.
 138. Heath AC, Cates R, Martin NG, Meyer J, Hewitt JK, Neale MC, et al. Genetic contribution to risk of smoking initiation: comparisons across birth cohorts and across cultures. *J Subst Abuse* 1993; 5:221-46.
 139. Heath AC, Martin NG. Genetic models for the natural history of smoking: evidence for a genetic influence on smoking persistence. *Addict Behav* 1993; 18:19-34.
 140. Shields PG, Lerman C, Audrain J, Bowman ED, Main D, Boyd NR, et al. Dopamine D4 receptors and the risk of cigarette smoking in African Americans and Caucasians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 453-8.
 141. Noble EP, St Jeor ST, Ritchie T, Syndulko K, St Jeor SC, Fitch RJ, et al. D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? *Med Hypotheses* 1994; 42:257-60.
 142. Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, Burchette R, Chiu C, Muhleman D. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics* 1996; 6:73-9.
 143. Spitz MR, Shi H, Yang F, Hudmon KS, Jiang H, Chamberlain RM, et al. A case-control study of the dopamine D2 receptor gene and smoking status in lung cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:358-63.
 144. Gilbert DG, Gilbert BO. Personality, psychopathology, and nicotine response as mediators of the genetics of smoking. *Behav Genet* 1995; 25: 133-47.
 145. Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors. *Br Med J* 1976; 2:1525-36.
 146. Halpern MT, Gillespie BW, Warner KE. Patterns of absolute risk of lung cancer mortality in former smokers. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 457-64.