

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇIRÇIR FABRİKASI İŞÇİLERİNDE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ

(SCE) SIKLIĞI

123919

YÜKSEKLİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN

Tıbbi Biyolog Münevver ATMACA

123919

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI

T.C. PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

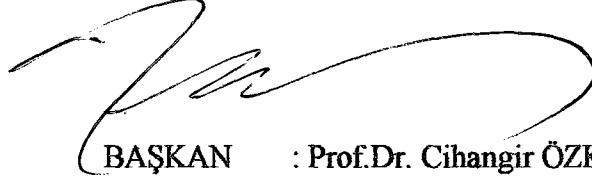
DENİZLİ – 2002





Bu alışma Pamukkale Üniversitesi Araştırma Fonu 2001TPF012 nolu proje ile desteklenmiştir.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İş bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.


BAŞKAN : Prof.Dr. Cihangir ÖZKINAY


ÜYE : Prof.Dr. Hüseyin BAĞCI


ÜYE : Yard.Doç.Dr. İbrahim AÇIKBAŞ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

08/11/2002


Prof.Dr. Serap ÖZDEN
Enstitü Müdür V.

TEŞEKKÜR

Tezim süresince bana yardım eden başta danışmanım Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI olmak üzere, Anabilim Dalımızın diğer üyelerine ve her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
BULGULAR.....	29
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	37
ÖZET.....	47
SUMMARY.....	48
KAYNAKLAR.....	49

TABLÖLAR

SAYFA NO:

Tablo-I: Ülkeler itibariyle dünya pamuk üretim durumu.....	6
Tablo-II: Olgu grubunun çalışma süresi ve bölümüne göre istatistiksel değerleri.....	30
Tablo-III: Olgu ve kontrol grubunun KKD ve kromozom gruplarındaki kırık istatistikleri.....	30
Tablo-IV: Kontrol grubunun KKD değerleri, hastalık ve sigara/alkol kullanımı.....	31
Tablo-V: Olgu grubunun KKD değerleri, hastalık ve sigara/alkol Kullanımı.....	31
Tablo-VI: Olgu ve kontrol gruplarının yaş aralığına göre Sınıflandırılması.....	32
Tablo-VII: Kontrol grubunda kromozom gruplarında gözlenen kırıklar	32
Tablo-VIII: Olgu grubunda kromozom gruplarında gözlenen kırıklar	33
Tablo-IX: Çalışma ortamına göre olgu grubu ve ortalama KKD değerleri.....	33

ŞEKİLLER VE RESİMLER

SAYFA NO:

Şekil-1: Pamuğun kullanım alanları.....	2
Şekil-2: Pamuğun gelişim aşamaları.....	8
Şekil-3: FPG yönteminde BrdU'in DNA'ya girişi.....	12
Şekil-4: Periferik Kan Lenfositlerinde Kromozom Çalışması....	27
Resim-1: Olgu grubuna ait metafaz örneği	
a) 1'li kırık b) 2'li kırık c) 3'lü kırık.....	35
Resim-2: Olgu grubuna ait metafaz örneği.....	35
Resim-2: Kontrol grubuna ait metafaz örneği.....	36
Resim-2: Kontrol grubuna ait metafaz örneği.....	36

GİRİŞ

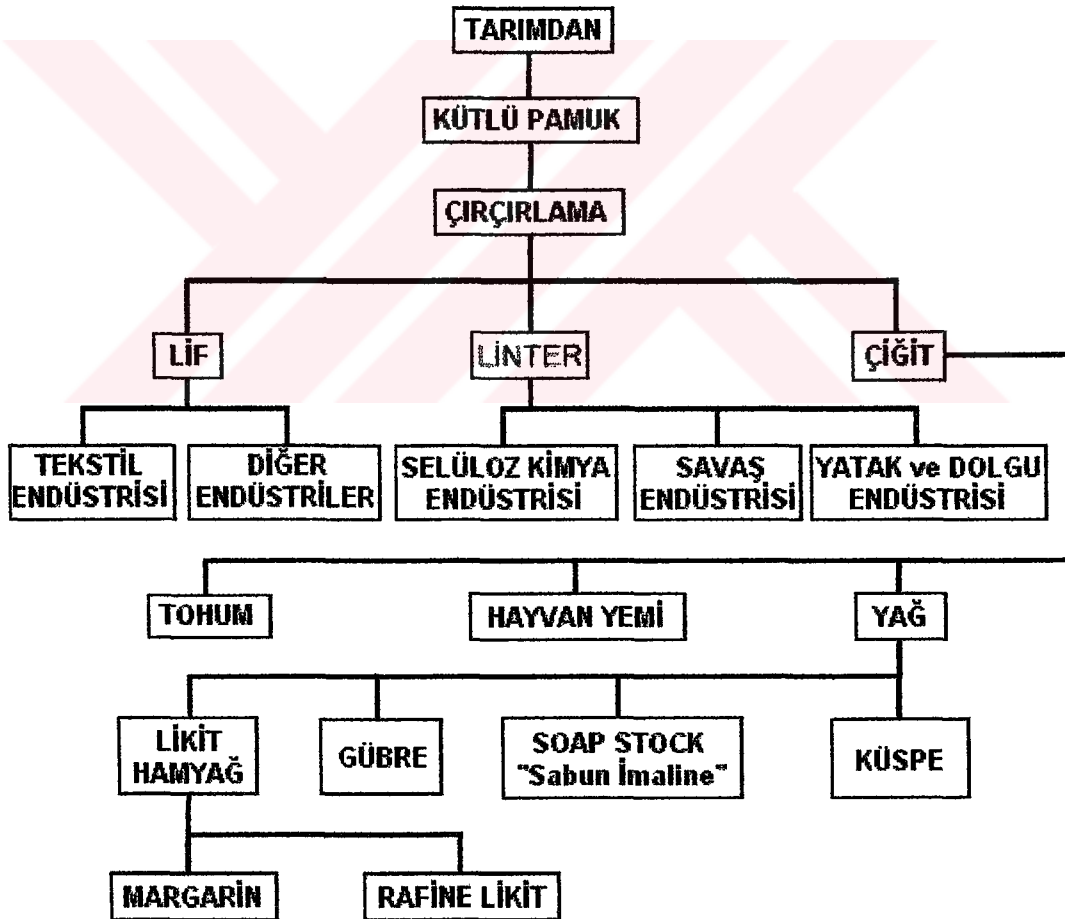
Kardeş kromatid değişimleri (KKD=SCE; Sister chromatid exchange) analizi, çevresel faktörlerle uyarılmış DNA hasarını belirlemede kullanılan en duyarlı sitolojik metodlardan biridir ve uzun yıllardır KKD sıklığının analizi, mutajenler ve karsinojenlerin belirlenmesinde kabul edilir bir metot olarak uygulanmaktadır. KKD'ler, hasara uğrayan bir DNA'daki kromozomun kardeş kromatidlerinin idantik odaklarında oluşan DNA replikasyonunun değişimiyle gözlenirler (1,2).

Birçok insan meslekleri dolayısıyla kimyasal maddeler, radyasyon, toz, lif ve duman gibi farklı çevresel etkenlere maruz kalmaktadır. Toz, lif ve organik ya da inorganik kimyasalları içeren bu maddeler endüstriyel süreçte üretim esnasında ya da üretimin sonunda hammadde ya da ara ürün olarak kullanılırlar. Daha önceden yapılan çalışmalarda odun tozu, kömür tozu, dizel emisyon partikülleri gibi etkenlerle yapılan çalışmalarda KKD'nin anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Pamuk tozunun ise pulmoner fonksiyon ve respiratuar sistemdeki etkileri incelenmiş olmakla beraber, genotoksisiteleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Biz de pamuk üretiminin fazla olduğu bölgemizde, Çırçır fabrikası işçilerinin pamuk tozuna fazla miktarda maruz kalmalarından dolayı periferik kan lenfositlerinde *in vivo* olarak KKD çalışmayı ve bu yöntemi laboratuvara oturtmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

A1. PAMUK

Endüstri bitkileri içinde lif ve yağ bitkilerinden biri olan pamuk, bir çok sanayinin temel hammaddesini karşılayan önemli bir bitkidir. Lifi ile tekstil sanayinin, çekirdeğinden elde edilen pamuk yağı ile bitkisel yağ sanayinin, kapçık ve kûspesi ile yem sanayinin, ayrıca lifleri ile de selüloz sanayinin önemli hammaddesini oluşturmaktadır. Bu çerçevede, Şekil-1'deki şema ile pamuğun kullanım alanlarını özetleyebiliriz.



Şekil-1: Pamuğun kullanım alanları

Günümüzde 69 ülkede tarımı yapılan pamuk, gerek lifi gerekse çiğidinden elde edilen yağı ve diğer yan ürünleriyle ekonomik değeri çok yüksek olan bir bitkidir. Lifinin doğal oluşu, teri absorbe edişi, ısıtılıp kaynatıldığında diğer liflere göre sağlam kalışı, statik elektriği daha az iletmesi, hava geçirgenliği ve hijyenik özellik taşıma avantajları ile beşeri ihtiyaçların karşılanmasında diğer bitkisel ve sentetik elyaflara tercih edilmektedir.

Pamuk tohumlarında ortalama %20 oranında bulunan çiğit yağı ile bitkisel yağ, linteri ile de selüloz sanayinin hammaddesini teşkil etmekte, kalan aminoasitlerce zengin küspesi ise hayvanlarda yem maddesi olarak kullanılmaktadır. Pamuk bitkisi, dünyada soya fasulyesinden sonra ikinci önemli bitkisel yağ kaynağıdır. Dünya pamuk yağı üretimi 3,8-4,3 milyon ton arasında değişirken, ülkemizde 130-150 bin ton arasında olup bitkisel yağ ihtiyacımızın %25 'ini karşılamaktadır (3).

PAMUĞUN TARİHTEKİ YERİ

İnsanlar tarafından tarımının yapılma tarihi çok eski dönemlere rastlayan pamuk, lifi işlenen ilk bitkidir. Pamuğun eski dünyadaki beşiği olan Hindistan'da, pamuk tarımının en az 5000 yıl önce yapıldığı, kumaş dokumasında kullanılmasının da M.Ö. 3000 yılına rastladığı arkeolojik kazılarda belirlenmiştir. Manejo-Daro'da yapılan kazılarda gümüş vazolar içinde pamuktan dokunmuş harika kumaşlara rastlanmıştır. Pamuk hakkındaki ilk literatür de M.Ö 15. asra aittir. M.Ö. 8. asırda yazılan Manu Kanunları'nda pamuktan söz edilmiş olup, en güvenilir kaynaktır. Burada pamuğa "Karpasi" denilmiştir. Manu Kanunları'na göre, pamuk rahipler tarafından tapınak bahçelerinde yetiştirilmekte ve dini bir simge olarak, pamuktan yapılma kumaş alınlara yapıştırılmıştır. Hintliler pamuklu kumaş dokuma sanatını 2000 yıl kadar tekellerinde tutmuşlardır.

Asurlular ancak günümüzden 3000-3500 yıl önce bu sanatı öğrenebilmişlerdir. Pamuğun Akdeniz sahillerinde yetiştirilmesi ancak günümüzden 2200 yıl önce Pelepones yarımadasının batısındaki küçük bir adada (Elis Adası) başlamıştır ve büyük bir pamuk üretim alanı oluşturularak, Akdeniz'in liman şehirlerinde dokunan pamuklu kumaşlar değer olarak altınla aynı kabul edilmiştir.

Yeni Dünyada Peru' da yapılan arkeolojik kazılarda M.Ö. 2500 yılına ait dokunmuş pamuk parçaları bulunmuştur. Böylece farklı kromozom ve genetik yapılı eski ve Yeni Dünya pamuklarının farklı kıtalardan çıkması, pamuğun dünyanın değişik bölgelerinden türediğini ortaya koymaktadır. Anadolu'nun dünya pamuk üretimine katılması günümüzden 1900 yıl öncesine kadar uzanır. Pamuk Anadolu'ya 1.yüzyılda Hindistan'dan getirilmiş olup Bizans, Selçuklu ve Osmanlı dönemlerinde tarımı yapılmıştır. Bu dönemlerde ekilen pamuk çeşitleri, kapalı kozalı Eski Dünya pamuklarıdır. 19. yüzyıldan itibaren ise dönemin uluslararası taleplere uygun Yeni Dünya orijinli, açık kozalı Upland varyeteleri getirilip ekilmeye başlanmış ve Osmanlı Devleti 27.01.1862 tarihli genelgesiyle pamuk tarımını geliştirmek için geniş önlemler almıştır (3).

Pamuk tarımında asıl gelişme Türkiye Cumhuriyeti döneminde olmuştur. Pamuk ıslah istasyonları kurulmuş ve ABD'den getirilen çeşitlerle pamuk araştırmaları başlatılmıştır. Günümüze kadar geliştirilerek sürdürülen bu araştırmalar sonucunda, ülke ve uluslararası pazar istekleri ile bölge ekolojilerine uygun bir çok pamuk çeşidi elde edilmiştir.

EKONOMİK ÖNEMİ

Bitkisel bir tekstil hammaddesi olan pamuk değişik kullanım alanlarıyla ülkemiz ve dünya tarım, sanayi ve ticaretinde önemli bir konuma sahiptir. Dünya nüfusunun hızla artması, öte yandan sanayileşen ve kalkınan toplumlarda hayat seviyesinin yükselmesi pamuk tüketim ve gereksinimi arttırmıştır. Pamuk lifi kullanımı son verilere göre, tüm kullanılan lifler içerisinde %49'luk bir paya sahip olup, tüketilen tekstil bitkileri içerisinde son 10 yıl içerisinde en yüksek olan lifdir. Geçtiğimiz 30 yıl içerisinde toplam dünya pamuk tüketimi %50'nin üzerinde artarak, yaklaşık 19 milyon tona ulaşmıştır. Kimyasal lifler hala tüketilen lifler içerisinde daha yüksek bir paya sahip olmalarına rağmen, insanların doğal maddelere olan tutkularının artması ve kimyasal liflere doğal liflerdeki bir çok özelliğin kazandırılmaması sebebiyle pamuk, cazibesini artan bir şekilde muhafaza etmektedir (3).

ÜRETİLDİĞİ ÜLKELER VE ÜRETİM DURUMU

Dünyada pamuk üretimi yapan ülkeler sırasıyla, Türkiye, ABD, Çin, Hindistan, Bağımsız Devletler Topluluğu (Azerbaycan, Kazakistan, Kırgızistan, Tacikistan, Türkmenistan, Özbekistan), Pakistan, Brezilya, Arjantin, Mısır, Yunanistan, Suriye, Meksika, İran, Sudan, Tanzanya, Paraguay, Peru, Kolombiya, İsrail, Nikaragua ve Guatemala' dır.

Dünya pamuk üretimi, ülkeler itibariyle incelendiğinde 1999/2000 sezonu gerçekleşen rakamlarına göre ülkeler bazında pamuk üretiminde Çin' in en büyük üretici ülke olduğu görülmektedir. Çin' i, toplam içindeki %19.28' lik payı ile ABD izlemektedir. 2000/2001 sezonu tahminlerine göre en büyük üretici ülke konumunda ABD bulunmaktadır. Tablo-1'de ülkelere göre pamuk üretim durumları görülmektedir.

Türkiye dünya pamuk ekim alanlarının %2'sine sahip bulunmakta ve yaklaşık 750.000 hektarlık alanı ile yedinci sıradadır. Öte yandan Türkiye, dünya pamuk üretiminde %4 pay ile yaklaşık 2 milyon ton kütlü pamuk (800.000 ton lif pamuk) üreterek altıncılık sırasında yer almaktadır (4).

Tablo-I: Ülkeler itibariyle dünya pamuk üretim durumu (1000 ton)

ÜLKE ADI	96/97	97/98	98/99	99/00*	00/01*
Çin	4.203	4.602	4.501	3.900	3.500
ABD	4.124	4.092	3.030	3.690	4.200
Hindistan	3.024	2.686	2.710	2.750	2.700
Pakistan	1.594	1.561	1.480	1.800	1.550
BDT**	1.438	1.551	1.437	1.670	1.671
Türkiye	784	838	882	791	740
Avusturalya	613	689	726	660	680
Brezilya	306	370	420	569	580
Diğerleri	3.521	3.641	3.365	3.309	3.375
TOPLAM	19.607	20.030	18.551	19.139	18.996

* Tahmini rakamlardır

** BDT: Bağımsız Devletler Topluluğu

A2. ÇIRÇIR

Kütlü pamuğun tekstil, yağ ve yem sanayinde kullanılabilmesi için çekirdeği (çiğidi) ile lifinin birbirinden ayrılması gerekir. Pamuk lifi ile çiğidin birbirinden ayrılarak, pamuk lifinin yabancı maddelerden temizlenmeye çalışıldığı işleme çirçirlama adı verilir. Çirçirlama işlemi çirçir-prese fabrikalarında genelde

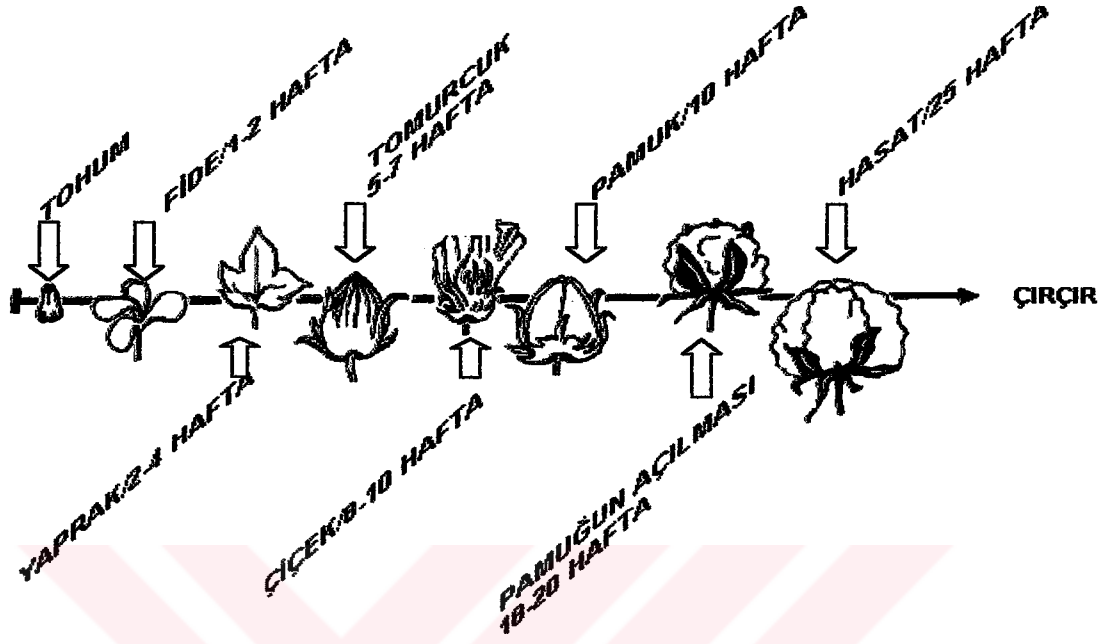
testerele (sawgin) ve/veya merdaneli (rollergin) ırır makineleri ile yapılır. Pamuğun ekimden ırır iŐlemine kadar geliŐimi Şekil-2 'de görülmektedir.

Pamuk bitkisinin yapısında yaklaşık %90 selüloz, %6 nem bulunur. Çırçır fabrikasına getirilen kütlü pamuğun nem oranları belirlenerek aynı nem oranına sahip pamuklar bir grup haline getirilmelidir. Nemi %14'den fazla olanlar, depolanmaksızın hemen ırırlanmalıdır. Nem oranı %10 veya daha az olan pamuklar ise emniyetli olarak depolanabilirler.

İyi bir ırırlama ve temizleme için pamuğun gerektiği kadar kurutulması çok önemlidir. ırırlama için istenen lif nem oranı %5-7 arasındadır. Nem oranına bağlı olarak pamuğun, ırır tesisi kurutucularında istenen sıcaklıktaki sıcak hava ile kurutulmasına dikkat edilmelidir (4,5).

Çırçır sanayi, dokuma sektörünün birinci aŐamasını meydana getiren temel bir sanayi koludur. Denizli'de motor gücüyle çalışan ilk büyük ırır fabrikası 1950 yılında bir kooperatif iŐletmesi olarak kurulmuŐtur. Sonraki yıllarda (1962 ve 1968'de) zel sektör eliyle 2 ırır fabrikası daha faaliyete geçmiŐtir. 1970'li yıllardan itibaren Denizli'de dokuma ve iplik sanayinin geliŐmesine paralel olarak 1974 ve 1977 yıllarında da iki ırır fabrikası kurulmuş, 1985 tarihinde bir tesis daha iŐletmeye açılmıŐtır. Bu tesislerin yıllık kapasitesi 150.000 tonun üzerindedir.

Pamuk ırırlama işi mevsimlidir. Fabrikalar Ekim ayında çalışmaya baŐlayıp, Mart sonunda çalıŐmalarını tamamlamaktadırlar. İŞçilerin büyük bir kısmı da bu sezonlarda çalıŐmakta, çok az bir kısmı ise sürekli olarak fabrikada bulunmaktadırlar.



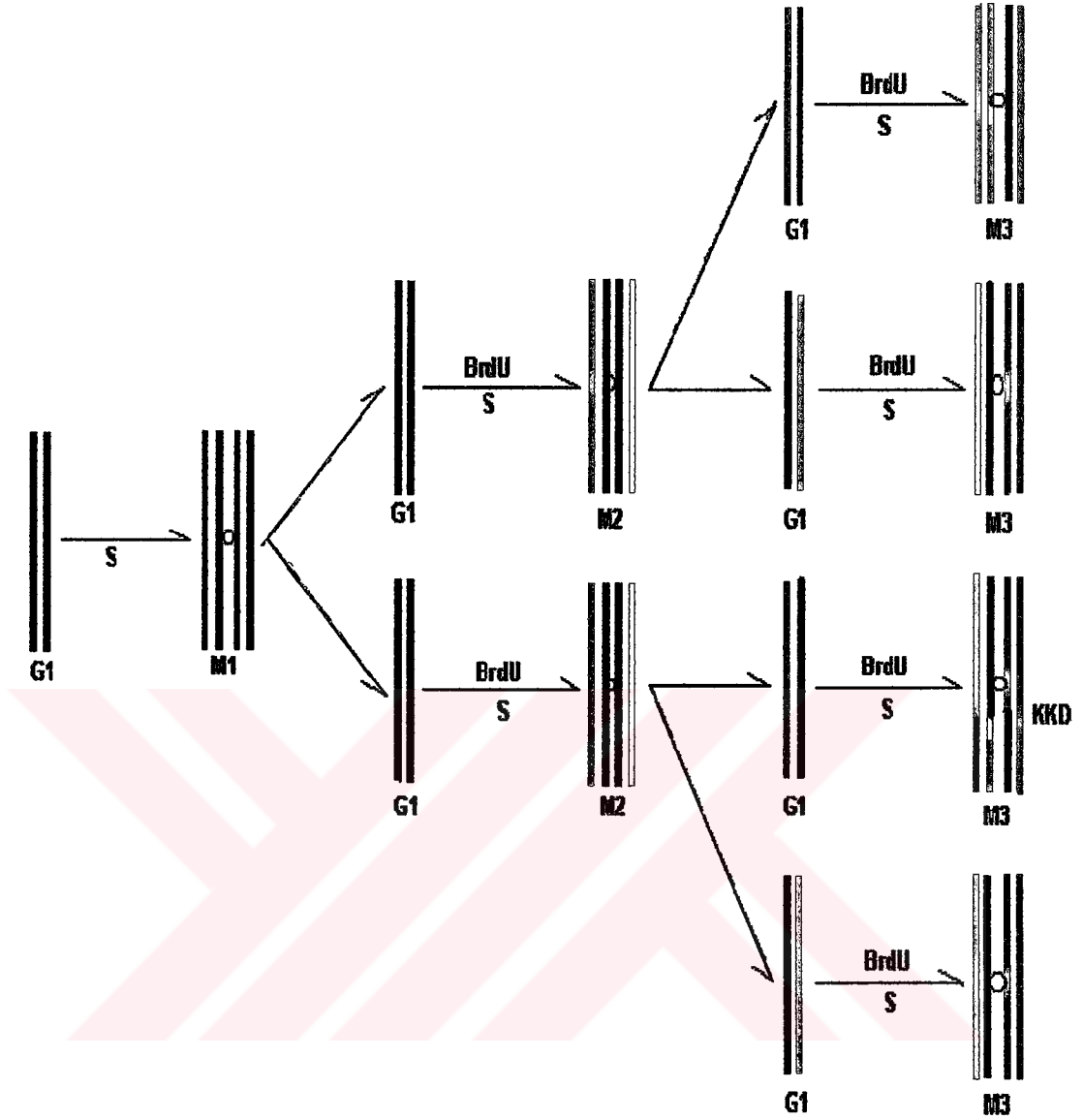
Şekil-2: Pamuğun gelişim aşamaları

A3. KKD

KKD, DNA replikasyonu sırasında kardeş kromatidlerin karşılıklı olarak yer değiştirmesidir. Hücre bölünmesinin normal bir özelliği olarak meydana gelebilmekle birlikte, kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmamaktadır (2, 6, 7). KKD, *in vitro*, somatik hücrelerdeki mitotik kromozomların her bir kromatidinin farklı boyanmasıyla gösterilebilir. Bu durum iki ardışık hücre siklusunda replike olan DNA içine timidin analogu olan bromodeoxyuridine (BrdU)'in inkorpore olmasıyla sağlanır ve sonuçta fotodegradasyon meydana gelir. Böylece BrdU içeren DNA'daki kromatidinin boyanması ile kardeş kromatid değişikliği gözlenebilir.

KKD analizi, çevresel faktörlerle uyarılmış DNA hasarını belirlemede kullanılan en duyarlı sitolojik metodlardan biridir ve uzun yıllardır mutajenler ve karsinojenlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde kabul edilir bir metod olarak farklı alanlarda uygulanmaktadır (1, 7- 9).

KKD, ilk olarak 1957 yılında Taylor tarafından bitki hücrelerinin mitotik kromozomlarında otoradyografi yöntemi kullanılarak gözlenmiştir. Bitki hücrelerine ait kromozomların H^3 Timidin varlığında birinci mitozda kendini eşlemesine izin verilmiş, sonraki eşleşme ise izotopsuz ortamda gerçekleşmiştir. DNA'nın semikonservatif eşleşmesi sonucunda, otoradyografik yöntemle bir kromatidin işaretlendiği görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda, kromatidler arasında simetrik değişimler gözlenmiş ve bu değişimler araştırmacı tarafından "kardeş kromatid değişimi" olarak adlandırılmıştır. Otoradyografi yöntemi kullanılarak, çeşitli kimyasal ajanların KKD görülme sıklığını arttırabildiği gözlenmiştir. Ancak, uzun sürede tamamlanması ve duyarlılığının düşük olması



Şekil-3: FPG yönteminde BrdU'in DNA'ya girişi

KKD OLUŞUM MODELLERİ

KKD'nin oluşumu ile ilgili farklı modeller ileriye sürülmüş olmakla birlikte, henüz kesinlik kazanmış bir mekanizmayı tanımlamak olanaksızdır. KKD oluşum mekanizmasını incelemek için yapılan ilk çalışmalarda, tetraploid hücreler (4n) kullanılmıştır. Bu hücrelerde her bir kromozom iki kardeş kromatidle ifade edilir. KKD oluşumunun gözlenebilmesi için, BrdU kullanılarak iki replikasyon

KKD'nin genel mekanizması şöyle açıklanabilir:

- 1** Diploid hücrenin ($2n$) interfaz Gap 1 (G1) kromozomu siyah çizgi ile gösterilmektedir.
- 2** Semikonservatif DNA sentezi sonucunda, Sentez 2 (S2) evresinde ortamda bulunan BrdU yeni sentez edilen DNA'da timin yerine geçer. BrdU içeren DNA kırmızı çizgilerle gösterilmektedir.
- 3** İkinci mitozda (M2) yeni sentezlenen kardeş kromatidlerin sadece birinde BrdU olması nedeniyle, FPG boyama tekniği ile kromozomlar koyu boyanmaktadır.
- 4** Mitoz sonunda her kromatid farklı bir kardeş hücreye girmektedir.
- 5** BrdU varlığında devam eden DNA sentezi sırasında, BrdU yeni sentez edilen DNA'nın yapısına girmektedir (S3).
- 6** DNA'da kırılma meydana gelmekte ve kromatidler arasında KKD oluşmaktadır.
- 7** Böylece kromatidlerden biri BrdU içeren iki zincir, diğeri BrdU içeren bir zincir taşımaktadır. BrdU içeren iki zincir taşıyan kromatid açık renk, BrdU içeren tek zincir taşıyan kromatid koyu renk boyanmaktadır.

nedeni ile diğer araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmamıştır (6).

1973 yılında Latt, DNA çift sarmalına BrdU bağlandığında, bisbenzimid (Hoechst 33258) boyasının fluoresansı azalttığını rapor etmiştir. Perry ve Wolf ise, 1974 yılında DNA ile birleşen BrdU'nun kromozom yapısına Giemsa girişini azalttığını göstermişlerdir (10). Bu bulguların eşliğinde günümüzde de tercih edilen Floresans Plus Giemsa (FPG) tekniği geliştirilmiştir. Bu teknik temel olarak iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta, iki hücre siklüsü için replike olan DNA içine BrdU'nun inkorporasyonu sağlanır. İkinci basamakta ise, ya fluorokrom ya da Giemsa boyası kullanılarak, Timidin ve BrdU'nun yer değiştirdiği kromatidler arasındaki değişiklikler gözlemlenir. Aynı zamanda FPG tekniğinin geliştirilmesi ile kalıcı preparatlar elde edilebilmiştir (2).

Fluoresan bir boya olan bisbenzimid (Hoechst 33258) DNA yapısıyla interkalasyon yapabilen bir ajandır. Bu boya normalde poly (dA-dT)'e bağlandığında şiddetli fluoresans verir. Fakat poly (dA-BrdU)'e bağlandığında ise fluoresansı söner. DNA replikasyonu sırasında bir timin analoğu olan BrdU her yeni oluşan kardeş zincirde timin yerine geçer. Her bir kromatid bir timinli ve bir de BrdU'li DNA zinciri içerir. Bunlar mitoz sırasında farklı kardeş hücrelere giderler. Devam eden ikinci sentezde de BrdU timin yerine girer. BrdU varlığında geğerilen iki replikasyon sonrası Hoechst 33258 ile boyama yapıldığında tek ipliğinde yer değiştirme olmuş kromatid her iki ipliğinde yer değiştirme olmuş kromatide göre daha parlak fluoresans verir. Floresan mikroskobu ile incelendiğinde iki BrdU içeren zinciri taşıyan kromatid açık, bir timinli bir de BrdU'li zincir taşıyan kromatid ise koyu renk olarak gözlenir.

zamanının tamamlanması gerekmektedir. Tetraploid hücrelerde ikinci mitoz (M2) sonunda, kardeş kromatidlerin sadece birinde meydana gelen değişim “tek KKD”, M2 sonunda kardeş kromatidlerin her ikisinde meydana gelen değişim ise “çift KKD” olarak adlandırılır. Çift KKD, homolog kromozomların aynı lokuslarında meydana gelmektedir (11).

KKD oluşum modelini açıklayan bir diğer model Replikasyon Bypass Modeli'dir. Bu model, DNA ile çapraz bağlanma yapabilen kimyasal ajanların meydana getirdiği KKD'nin oluş mekanizmasını açıklamaktadır. Bu mekanizmada, hücre siklusunun ilk S evresinde (S_1) KKD oluşumuyla beraber meydana gelen çapraz bağ devam etmektedir, fakat sonraki S evresinde (S_2) mekanizma kendini iptal eder ve çapraz bağlanma olduğu yerde KKD gözlenemez. Böylece, takip eden S evresinde çapraz bağ tamir edilmez ise çift KKD oluşumu söz konusu değildir. Bu bilgiler temel alınarak Replikasyon Bypass Modeli'ni maddeler halinde açıklamak mümkündür;

1. Diploid hücrelerdeki ($2n$) interfaz G1 kromozomunda, kimyasal ajan nedeniyle çapraz bağlanma meydana gelmektedir. İki replikasyonun başlangıç orijini “O” şeklinde gösterilmektedir.

2. BrdU ilavesinden sonra, iki yönlü semikonservatif DNA sentezi S_1 evresinde başlamaktadır. Yeni sentezlenen ve BrdU içeren DNA kesikli çizgi ile gösterilmektedir.

3. Yeni oluşan sarmallar çapraz bağ bölgesinden ileriye gitmezler ve parental sarmalda sentez, Okazaki fragmanları şeklinde devam etmektedir. Çapraz bağlantının var olduğu bölgede DNA replikasyonu önlenir.

4. Parental sarmaldaki çapraz bağlantı noktalarından kırılmalar meydana gelmektedir.

5. Kardeş kromatidler arasında, DNA kırılma noktalarında değişim meydana gelmektedir.

6. Okazaki fragmanlarının araları, DNA polimeraz I ve DNA ligaz enzimleri yardımlarıyla tamamlanarak çift zincirli DNA yapısı oluşmaktadır. Çapraz bağlanma, uzaklaştırılmaması nedeniyle bir kromatidin yapısına girmektedir.

7. İlk mitozda (M_1), yeni sentezlenen kardeş kromatidlerin yalnızca birinde BrdU olması nedeniyle FPG boyama yöntemi ile koyu boyanmaktadır. Bu aşamada KKD gözlenememektedir.

8. İkinci mitozda (M_2), kardeş kromatidlerin herbiri, kardeş hücelere ayrılır. Ancak, kardeş kromatidlerin biri halen çapraz bağ içermektedir.

9. S_2 evresinde, BrdU varlığında iki yönlü semikonservatif DNA replikasyonu başlamaktadır.

10. Birinci kardeş hücre çapraz bağ içermediği için, replikasyon başlama noktasından itibaren DNA sentezi devam etmektedir. İkinci kardeş hücrede kromatid çapraz bağ içermektedir ve DNA sentezi iki yönlü Okazaki fragmanları şeklinde devam etmektedir. Fakat DNA sentezi, çapraz bağlanma bölgesinde meydana gelmemektedir.

11. İkinci kardeş hücrede çapraz bağlanma noktalarından kırılma meydana gelmektedir ve kırılma noktalarında kromatidler arasında değişim meydana gelmektedir.

12. Birinci kardeş hücre ve ikinci kardeş hücrede ve yeni sentez edilen DNA parçalarının araları tamamlanmakta ve yeni kromatid yapısı meydana gelmektedir.

13. FPG boyama yöntemi ile birinci kardeş hücrede, ikinci mitozda, tek DNA zincirinin BrdU içermesi koyu renk, her iki DNA zincirinin BrdU içermesi açık renk boyanmasına neden olmaktadır ve KKD gözlenebilmektedir (12).

“Replikasyon Bypass Modeli”ne göre, ikinci kardeş hücrede çapraz bağlanma içeren kardeş kromatidlerden sadece bir DNA zinciri BrdU içermekte ve koyu renk boyanmaktadır. Diğer kromatid yapısını oluşturan her iki DNA zinciri BrdU içermekte ve açık renk boyanmaktadır. Bu nedenle oluşan kromozom yapısının bir tarafı tamamen açık renk, diğer tarafı koyu renk boyanmaktadır ve kromatid değişimi gözlenmemektedir. Bu modele göre, sadece birinci kardeş hücrede KKD gözlenmektedir. Bu modelle çift KKD oluşumu açıklanamamaktadır. Çift KKD oluşum mekanizmasını şu şekilde açıklayabiliriz:

1. Diploid hücredeki ($2n$) interfaz G_1 kromozomu düz çizgi şeklinde gösterilmektedir.
2. Semikonservatif DNA replikasyonu başlamaktadır. S_1 evresinde, yeni sentez edilen DNA’da BrdU timin yerine geçmektedir. BrdU içeren DNA kesikli çizgi ile gösterilmektedir.
3. DNA sarmallarında kırılmalar ve buna bağlı olarak kardeş kromatidler arasında değişimler meydana gelmektedir.
4. M_1 evresinde, yeni sentez edilen kardeş kromatidlerin sadece birinde BrdU olması nedeniyle FPG boyama tekniği ile koyu boyanmaktadır.
5. İnterfaz G_2 kromozomu, M_1 ’de kolçisin ilave edilmesiyle tetraploid hücreler elde edilmektedir.
6. Semikonservatif DNA sentezi başlamaktadır. S_2 evresinde ortamda bulunan BrdU, yeni sentez edilen timin yerine geçerek DNA’nın yapısına girmektedir.
7. DNA sarmallarında kırılmalar ve kardeş kromatidler arasında değişimler meydana gelerek KKD oluşmaktadır (12, 13).

KKD oluşum mekanizmasını açıklayan bir diğer model Holliday Modeli’dir. Bu modele göre hücrelerin BrdU varlığında bir mitoz geçirmeleri yeterlidir. Bu

metodun basamakları tek iplikcikte kırılma (nick), iplikcikte invazyon, ligasyon (holliday bağlantısı), parça değişimi, izomerizasyon, çapraz bağlanmayan iplikciklerde tek-iplikcik kırıklar ve tekrar ligasyon olarak sıralanabilir (14, 15).

FPG boyama yöntemi ile boyanan kromatidlerde açık boyananların koyu renk boyananlardan daha uzun olduğu saptanmıştır. Kromatidlerin farklı boyanması protein ile BrdU içeren DNA arasındaki etkileşimin farklı olmasından dolayıdır. Proteinler BrdU içeren DNA'ya, BrdU içermeyenden daha sıkı bağlanmakta ve kromozomların spiralizasyonu ve kondensasyonu zorlaşmaktadır. Açık boyanan her iki kromatidde dönmeler daha gevşek olmakta ve kondensasyonunda değişimler oluşmaktadır.

Kromozomlarda KKD dağılımı genellikle rastgele olmaktadır. Bunun nedeni bilinmemektedir. İnsan kromozomlarındaki KKD bölgeleri, G bandı alan ve almayan bölge sınırında veya G bandı almayan bölgelerde yer almaktadır. KKD dağılımı kromozom gruplarında farklılık göstermektedir. A1, A2, A3 ve B grubu kromozomlarındaki KKD dağılımı E, F ve G grubu kromozomlarından daha fazladır. En az KKD G grubu kromozomlarında gözlenmektedir. KKD'nin kromozom uzunluğu ile arttığı da belirtilmektedir (2, 7).

Genetik materyaldeki hasar, kromozom aberasyonu ya da KKD olarak gözlenir. Böylece potansiyel karsinojenlere maruz kalma sonucunda oluşan biyolojik etkilerin tanımlanması sağlanır. Bu biyolojik marker'lar meslek dolayısıyla kalınan maruziyeti değerlendirmede sıklıkla kullanılmalarının yanısıra çevresel olarak etkilenen popülasyonun değerlendirilmesinde de aynı sıklıkta kullanılmaktadırlar (9, 16-18).

KKD değişikliklerini birçok ökaryotik hücrelerde gözlemek mümkündür. Normal insan hücrelerindeki KKD'lerin sayısı, hücre tipine göre değişmekle birlikte genellikle 2-20 KKD/hücre arasındadır. Ortalama sıklık ise 5-8 arasındadır. Literatürde KKD'lerin sıklığının yaşla ilişkisini araştıran çalışmalarda birbiriyle uyumlu bulgular bulunmamaktadır (19,20). Maksimum KKD sıklığı 30-40 yaş arasında gözlenebilmektedir. Ancak KKD'deki bu durumun doğal olarak meydana gelen değişikliklerden mi, yoksa DNA içine BrdU'nun girmesiyle oluşan bir iç etki nedeniyle mi olduğu henüz kesinlik kazanmamıştır. Kardeş kromatid değişikliğinde, BrdU baz alınarak yapılan teknolojik gelişmeler KKD'lerin skorlandırılmasında büyük başarı sağlamaktadır ve daha önceki dönemlerde radyoaktif nükleotidlerin kullanıldığı metotlardan teknik olarak çok daha kolaydır. Günümüzde, bu teknik birçok mutajenik faktörün değerlendirilmesinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (2, 7).

Bilinen birçok klastojenin KKD sıklığında artışa neden olduğunun bilinmesine rağmen, test ajanlarının %70'inde pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Oysa diğer ajanlarda böyle bir korelasyon saptanamamıştır. Bu gözlem, belli test ajanlarının KKD'leri açığa çıkarırken, yapısal kromozom aberasyonlarını belirleyememesi açısından ilginçtir. Benzer çalışmalar sonucunda, KKD'lerin ve yapısal kromozom aberasyonlarının farklı olduğu gösterilmiştir ve mutajenle uyarılan hasarın bağımsız ekspresyonları sözkonusudur. Bu da muhtemelen farklı sonuçlara neden olmaktadır. Örneğin; yapısal aberasyonlu hücrelerin sayısı çoğu zaman yaşla birlikte artar. Fakat KKD'li hücreler yaşla birlikte artmazlar. KKD'ler mutajenlerin uzun süre etkisini yansıtabilen, primer gözlenebilir olaylardır. KKD analizi birçok yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilmesi ve biyolojik açıdan yorumlanmasındaki zorluklara rağmen, mutajenlerin neden olduğu sitogenetik etkilerin gösterilmesinde önemli bir

parametredir (2, 7, 9, 21). BrdU işaretleme metodunun 1., 2. ve 3. jenerasyon mitozisin ayırımında uygulanabilmesi nedeniyle, kardeş kromatid farklılığı, hücre kinetiği ile ilgili çalışmalarda da yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (8, 22).

Normal insan hücreleri ile karşılaştırıldığında, KKD'lerin sayısında önemli bir artış, kromozom kırılma sendromları arasında yer alan Bloom sendromunda gözlenmiştir. Fankoni anemisi, ataksi telenjektazi ve Kseroderma pigmentozum gibi diğer kromozom kırılma sendromlarında ise KKD'lerde bir artış bildirilmemiştir. Ancak Kseroderma pigmentozumlu bireylerin hücrelerinin UV radyasyona veya karsinojen 4-nitro quierin 1 okside maruz kalması sonucunda KKD sıklığında bir artış gözlenmiştir (2).

Birçok araştırmacı, ekzojen ajanların büyük bir kısmının KKD'leri indüklemeye kabiliyetine sahip olduklarını göstermiştir. Alkileyici ajanlar ve Etoposide, Cisplatin gibi kemoterapi ilaçlarına maruziyetten sonra KKD sayısının önemli bir şekilde arttığı rapor edilmiştir. Bununla ilişkili mekanizma henüz tam olarak açıklanamamakla birlikte, replikasyon sonrası DNA tamir mekanizmasındaki değişiklikler üzerinde durulmaktadır. DNA hasarını yansıtan KKD sıklığındaki artış, yüksek karsinojenik potansiyeli yansıtmaktadır (1, 8, 23).

Uzun bir süredir asbestos, dizel emisyon partikülleri, odun tozu, krom, arsenik, vinil klorid, benzen gibi endüstriyel ajanların kanser riski ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İnsan kanserlerinin % 4'ünün meslekle ilişkili maruziyet sonrasında şekillendiği rapor edilmiştir. Buna bağlı olarak, potansiyel genotoksik ajanlara maruz kalan işçiler; i) toz ve partiküllere maruz kalanlar, ii) duman ve sıvılarla temasta olanlar ve iii) lifler, kimyasallar ve radyasyona maruz kalanlar olmak üzere 3 grupta incelenmektedirler. Silika, dizel emisyon partikülleri, kömür tozu ve

odun tozu meslekle ilişkili en yaygın toz ve partiküllerdir. Silikanın, en çok taş kırma ünitesindeki işçilerin periferik kan lenfositlerinde KKD ve kromozom aberasyon seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Dizel emisyon partiküllerinin çeşitli memeli hücrelerinde mikronükleus, KKD, kromozom aberasyonu ve morfolojik hücre transformasyonunu indükledikleri bilinmektedir. Hayvan çalışmaları sonucunda dizel eksozunun potansiyel olarak ko-kanserojenik olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, dizel eksozuna mesleksel olarak ağır maruziyete uğrayan trafik polislerinde hem akciğer kanseri riskinin hem de diğer pulmoner hastalıklar için ölüm riskinin arttığını göstermiştir (9, 24-26).

Pamuk tozu nedeniyle olduğu düşünülen solunum yolu hastalıkları ile ilgili gözlemler 18. yüzyıla kadar uzanmaktadır. 19. yüzyılın ortalarında tekstil işçilerinde astıma benzer şikayetler tanımlanmaya başlamıştır. İlk kez Proust (1877) ve Oliver (1902) tarafından bisinosis terimi İngiltere'de kullanılmıştır. Bisinosis ile ilgili modern yaklaşımlar Shilling ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaların ardından gelişmiştir. Bisinosis; pamuk, keten ve kenevir tozuna maruz kalan işçilerde ortaya çıkan ve çalışma haftasının ilk günlerinde göğüste sıkışma hissi ve nefes darlığının gözlemlendiği bir meslek hastalığıdır.

Uluslararası İş Komisyonu'nun Organik Tozlar Komitesi'nin girişimi ile 1986 yılında bir toplantı yapılmış ve bu toplantıda pamuk tozu maruziyetinin ardından gelişen reaksiyonlar tanımlanarak, araştırma hedefleri belirlenmiştir. Bunlar Manchester kriterleri olarak anılmaktadır ve aşağıda belirtilmektedir:

1. İşyeri Ateşi (Mill Fever); İlk çalışma gününde öğleden sonra veya akşamında akut olarak ateşin yükselmesidir. Daha sonra tolerans gelişir.
2. Solunum fonksiyonlarında azalma; Pamuk tozu maruziyetinin

ardından, solunum fonksiyonlarında değişiklikler ortaya çıkar. Bunlardan biri bronkokonstrüksiyon nedeni ile solunum fonksiyonlarında yavaş yavaş azalma olmasıdır ve FEV 1 ile ölçülür. Tatil sonrası ilk gün gözlenir. Pamuk işçilerinin çok küçük kısmında ise, işe başladıktan sonra ilk yarım saat içinde ortaya çıkan solunum fonksiyonlarındaki azalma çalışma ilerledikçe artmaktadır. Bu bireylerin mesleki astım tanısı ile erken evrede pamuk endüstrisini terk etmeleri önerilir.

3. Göğüste sıkışma hissi; Pamuk tozuna uzun yıllar maruziyetin arkasından ortaya çıkar.

4. Solunum yollarında hiperaktivite; Pamuk tozuna akut maruziyet sonucunda ortaya çıkar.

5. Kronik bronşit; Pamuk tozu göğüste sıkışma ve solunum yollarında irritasyon şeklinde iki ana klinik yanıt oluşturur. Bunlar ayrı ayrı ya da birlikte gözlenir (5, 27, 28).

Pamuk işçileri de kronik bronşit, bisinozis gibi mesleksel hastalıklar için risk altındadırlar. Bu tür hastalıklarda erken semptomlar, genellikle pulmoner fonksiyonlardaki reversibl değişikliklerle ilişkilidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, genellikle kısa süreli solunum problemleri değerlendirildiğinden, pamuk tozuna maruz kalımda pulmoner fonksiyonlardaki kaybın kronik ya da permanent olup olmadığı henüz kesinlik kazanmamıştır. Christiani ve ark., pamuk tozunun solunum sistemi üzerindeki kronik etkilerini değerlendirmek için 15 yıllık bir survey çalışması yapmışlardır. Söz konusu çalışmada, uzun süre pamuk tozuna maruz kalma ile pulmoner fonksiyon kaybı arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. Belli aralıklarla yapılan değerlendirmede, pamuk tozuna maruz kalan bireylerde solunum sistemi ile ilişkili şikayetler bildirilmiş ve zamanla bu şikayetlerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular, laboratuvar sonuçları ile

de doğrulanmıştır. İpek ile çalışan bireylerde ise benzer bulgular elde edilmemiştir (29).

Pamuk işçileri ile sentetik pamuk işçileri arasında yapılmış çalışmalarda solunum yakınmaları, pamuk işçilerinde daha fazla gözlenmiştir. Pamuk tozu yüksek oranda Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler ve mantarlar içermektedir. Bisinosis ile ilgili çalışmalar Gram negatif bakterilerin endotoksinleri nedeniyle olduğu yönüne kaymıştır. Son çalışmalar, endotoksinin bisinosisin oluşmasındaki rolünün kronik etkisi ya da pamuk tozu ve bileşikleri ile oluşturduğu karışık etkisi yoluyla olabileceği üzerindedir (5).

GEREÇ YÖNTEM

GEREÇ

KONTROL GRUBU

Kontrol grubu olarak yaşları 22-52 arasında değişen 14'ü kadın, 6'sı erkek olmak üzere 20 birey değerlendirildi. Bu grup pamuk tozuna maruz kalmayan, pestiside maruz kalmayan, sigara ve alkol kullanmayan ve ilaç tedavisi almayan sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Bu bireylerden heparin ile yıkanmış steril enjektör yardımı ile 2 ml periferik kan örneği alındı.

OLGU GRUBU

Çalışmamızda olgu grubunu çirçir fabrikasında çalışan işçiler oluşturdu. Olgu grubunun yaş aralığı 29-54 arası idi. Aşağıdaki anket formu değerlendirilerek, olgu grubu için 20 birey seçildi. Bu bireylerden de çalışma sezonu sonunda, 2000 yılı Nisan ayının ilk haftalarında heparin ile yıkanmış steril enjektör yardımı ile 2 ml periferik kan örneği alındı.

Hem kontrol hem de olgu grubu için seçilen bireylere hastalık hakkında bilgi verildi ve gönüllü katılımları esas alındı.

ÇIRÇIR FABRİKASI İŞÇİLERİNE UYGULANAN ANKET

1. Adınız Soyadınız:
2. Yaşınız:
3. Çalıştığınız fabrikanın adı:
4. Telefon:
5. Cinsiyetiniz:E () K ()

6. Sigara kullanıyor musunuz?

- a) Evet b) Hayır c) Daha önce içtim.(Ne zaman bıraktınız?)

Cevabınız evet ise;

- a) Ara sıra b) Her gün

7. Alkol kullanıyor musunuz?

- a) Evet b) Hayır

Cevabınız evet ise;

- a) Ara sıra b) Her gün 1 kadeh c) Her gün 2 kadeh ve üzeri

8. En son ne zaman röntgen filmi çektiniz?

9. Devam eden bir hastalığınız var mı?

10. Sürekli kullandığınız ilaç var mı? (Bayanlar için oral kontraseptif ilaçlar dahil)

İlacın adı?

11. En son ne zaman ilaç aldınız?

12. Ne kadar süredir bu işte çalışıyorsunuz?

- a) 6 aydan az b) 6 ay c) 1-2 yıl d) 3-5 yıl

e) 5 yıldan fazla

13. Ek bir işte çalışıyor musunuz?

- a) Evet b) Hayır

14. Cevabınız evet ise çalıştığınız işin adı ve süresi nedir?

15. Tarla, bahçe ilaçlama işi yapıyor musunuz? En son ne zaman yaptınız?

ÇALIŞMADA KULLANILAN SOLUSYONLAR

2xSSC Tamponu

0.3 M NaCl (Merck) 17.530 g/l

0.3 M Tri-Na Sitrat (Merck) 8.823 g/l

pH'sı 7.2'ye ayarlandı. Oda ısısında saklandı.

Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS)

NaCl (Merck)	8.0 g
KCl (Merck)	0.2 g
Na ₂ HPO ₄ (Carlo Erba)	0.92 g
KH ₂ PO ₄ (Merck)	0.2 g

1 litre bidistile suda çözüldü ve pH'sı 7.0'a ayarlandı. Oda ısısında saklandı.

Sörensan Tamponu

Na ₂ HPO ₄ (Carlo Erba)	11.88 g/l
KH ₂ PO ₄ (Merck)	9.08 g/l

Önce Na₂HPO₄, sonra KH₂PO₄ ilave edilerek pH'sı 6.8'e ayarlandı.

Mc Ilvaine Tamponu

0.2 M Sitrik asit (Carlo Erba)	19.2 g/lt	A solüsyonu
0.2 M Na ₂ HPO ₄ (Carlo Erba)	28.4 g/lt	B solüsyonu

8 ml A + 92 ml B karıştırılarak pH 7.5'e ayarlandı.

Hipotonik Çözeltisi

KCl (Merck)	5.592 g/l
-------------	-----------

Oda ısısında saklandı.

Fiksatif Çözeltisi

Metanol (Merck): Glasiyal Asetik Asit (Merck)	3:1
---	-----

0 °C'de saklandı.

Hoechst 33258 Stok Çözeltisi

25 mg'lık Hoechst 33258 (Sigma) şişesi 5 ml bidistile su ile sulandırıldı.

Karanlıkta ve -20 °C'de saklandı.

5-Bromo-2'-deoksiüridin Çözeltisi

5-Bromo-2'-deoksiüridin (BrdU) (Sigma) 0.0026g tartıldı ve 5 ml RPMI 1640 ile sulandırıldı. Alüminyum folyo ile sarılarak karanlıkta ve +4 °C'de saklandı.

Kültürde son konsantrasyonu 10^{-2} M'di.

Giemsa boyası

95 ml Sörensan tamponu + 5 ml Giemsa (Merck) karıştırıldı.

BESİYERİ

RPMI 1640 (Biochrom)	100 ml
Fetal bovine serum (Biochrom)	25 ml
Fitohemaglutinin (Biochrom)	3.8 ml
Penisilin-Streptomisin (Biochrom)	1.2 ml
L-Glutamin (Biochrom)	1.3 ml

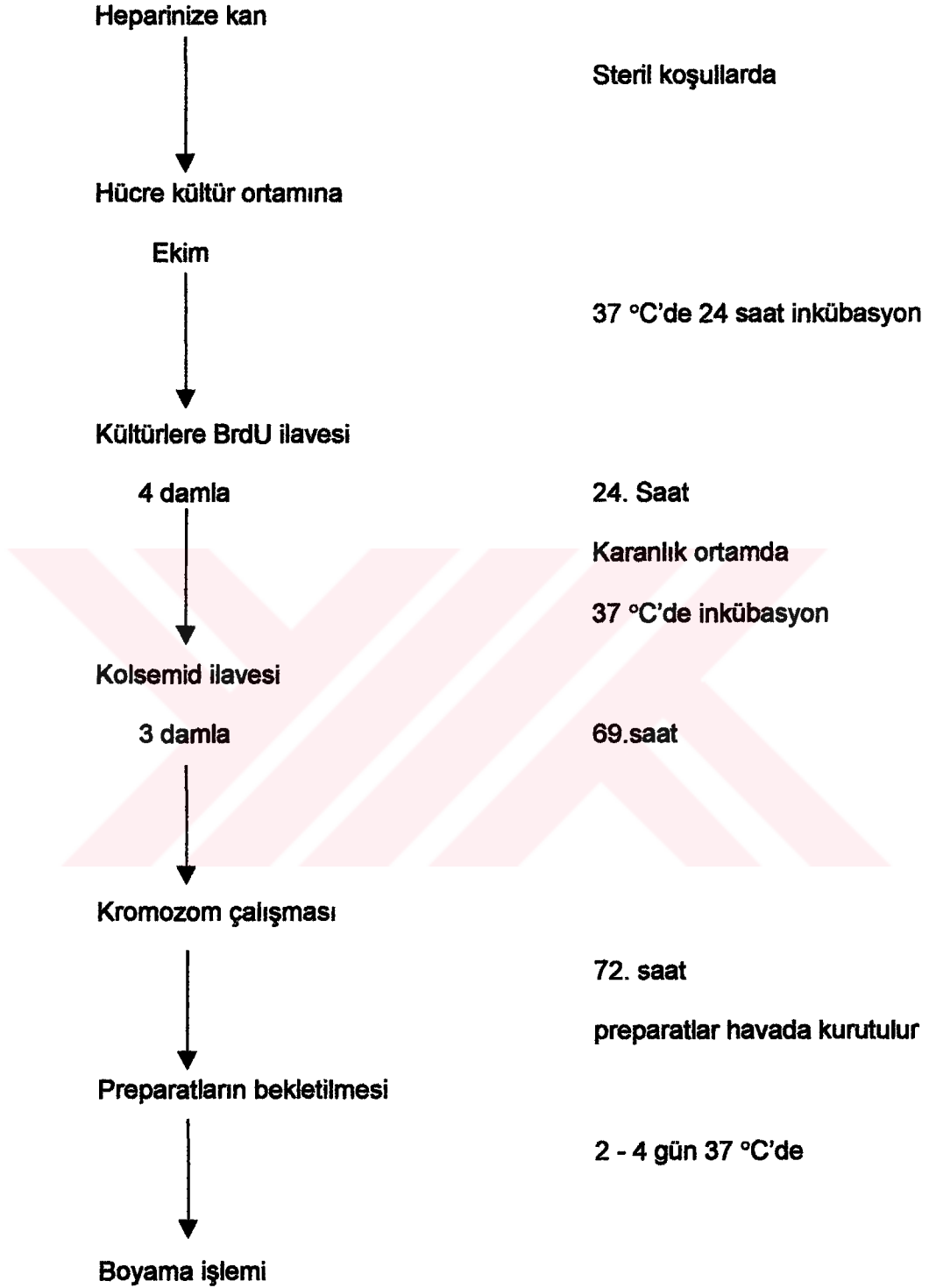
YÖNTEM

LENFOSİT KÜLTÜRÜ

Daha önceden hazırlanan ve 5'er ml olarak kültür tüplerine bölünmüş olan besiyerleri, kullanımdan en az 1 saat önce derin dondurucudan çıkarıldı. Bu tüpler 37°C aerobik etüve (Memmert BE-400) yerleştirilerek ısılarının 37°C'ye ulaşması sağlandı. LaminAir flow kabinet (Holten-2000/1.2) içinde, steril ortamda, kontrol ve olgu grubundan alınan kan örneklerinden herbir tüpe daha önceden

laboratuvarda optimize edildiği gibi 12 kalın damla olacak şekilde ekim yapıldı. Ekim yapılan tüpler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra 10⁻² M stok BrdU çözeltisinden 4 kalın damla eklendi. Tüpler alüminyum folyo ile sarılarak karanlık ortam oluşturuldu. Böylece fotodegradasyon önlendi. Tüpler, 37°C'deki etüve kaldırılarak inkübasyona devam edildi. Kültürün 69. saatinde kolsemid (Democolcine-Biochrom) solüsyonundan 3 kalın damla eklenerek, kültürün son 3 saati tamamlandı. Kültürün 72. saatinde, etüvden çıkarılan tüpler 1000 rpm de 10 dakika santrifüj (Nüve-NF 815) edildi. Pastör pipeti yardımı ile üstten süpernatant atıldı. Tüpe yavaşça vurularak kalan pelet homojenize edildi. Üzerine 37°C'deki 0.075 M KCl (hipotonik) çözeltisinden toplam 6 ml olacak şekilde vortex (Velp Scientifica-ZX3) üzerinde eklendi ve hemen 37°C etüve kaldırıldı. Etüvde 12 dk inkübe edildi. Tüpler 1000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Yaklaşık yarım saat önce hazırlanmış ve buzdolabında soğutulmuş olan taze fiksatif yine vortex üzerinde, pastör pipeti yardımı ile tüpe damla damla olacak şekilde 5 ml ilave edildi. Tüpler ilk fiksatifte, buzdolabında (+4°C) 1 saat bekletildiler. Fiksatifleme işlemi peletin rengi berraklaşana kadar tekrar edildi. Son fiksatifleme işleminden sonra süpernatant atıldı ve pelet pastör pipeti yardımı ile homojenize edildi. Daha önceden yıkanmış olan ıslak ve soğuk lamlara, yaklaşık 50 cm yükseklikten 45 ° lik açı ile pelet damlatıldı. Her bireyden 6-7 lam hazırlandı. Lamalar havada kurduktan sonra 37°C'deki etüve yerleştirildiler. Lamalar 2-4 gün eskitmeden sonra FPG tekniği ile boyandılar.

Şekil-4'te periferik kan lenfositlerinde kromozom çalışması şematize edilmiştir.



Şekil-4: Periferik Kan Lenfositlerinde Kromozom Çalışması

FLUORESANS PLUS GIEMSA TEKNİĞİ İLE BOYAMA

Alüminyum folyoya sarılı bir şale içine preparatlar yerleştirildi. 100 ml PBS tampon çözeltisi içinde 5 dakika bekletildi. Daha sonra 0.5 µg/ml konsantrasyonundaki 100 µl stok Hoechst 33258 solüsyonundan eklendi ve 20 dk karanlık ortamda bekletildi. Süre sonunda şaleden çıkarılan preparatlar Mc Ilvaine solüsyonu ile çalkalanarak yıkandı. Islak lamaların üzerine 50X24 mm lamel kapatılarak 15 cm yükseklikte duran 366 nm UV lambasının altına yerleştirildi. Karanlık ortam sağlandı ve 30 dakika inkübe edildi. Süre sonunda lamalar distile su içinde çalkalanarak lamellerin düşmesi sağlandı. 1-2 saat önceden 60 °C'deki benmaride (Nüve-BM 402) bekletilerek ısıtılmış olan 2XSSC solüsyonuna lamalar yerleştirildi ve burada 1 saat inkübe edildi. Preparatlar distile su ile yıkandı. % 5'lik Giemsa solüsyonu ile 5-7 dk boyandı. Tekrar distile su ile yıkandı. Kuruyan preparatların üzeri lamelle kapatıldı. Metafaz alanları mikroskopta (Olympus BX50 veya Nikon E-600) 1000x büyütmede değerlendirildi.

DEĞERLENDİRME

Her bireyden 46 kromozoma sahip toplam 25 metafaz alanı değerlendirildi. Kromozom kırıkları A1 (1), A2 (2), A3 (3), B (4,5), C-X (6,7,8,9,10,11,12,X), D (13,14,15), E (16,17,18), F (19,20) ve G-Y (21,22,Y) gruplarına göre 1'li, 2'li, 3'lü, 4'lü, 5'li değişiklikler olarak kaydedildi. İstatistiksel değerlendirmeler için Student-t testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

KONTROL GRUBU

Kontrol grubundaki bireylerden alınan periferik kan örneklerinden lenfosit kültürü yapıldı. FPG tekniğine göre boyandı. Değerlendirme için 46 kromozoma sahip metafazlar seçildi. Her bireyden toplam 25 metafaz alanı değerlendirildi ve ortalama KKD değeri hesaplandı. Kontrol grubuna ait en yüksek KKD ortalaması 13.28 iken en düşük ortalama 7.84 olarak hesaplandı. Kontrol grubuna ait 20 bireyin incelenen metafaz alanlarındaki KKD ortalaması 10.40'dı.

OLGU GRUBU

Olgu grubundaki bireylerden alınan periferik kan örneklerinden lenfosit kültürü yapıldı. FPG tekniğine göre boyandı. Değerlendirme için 46 kromozoma sahip metafazlar seçildi. Her bireyden toplam 25 metafaz alanı değerlendirildi ve ortalama KKD değeri hesaplandı. Olgu grubuna ait en yüksek KKD ortalaması 23.56 iken en düşük ortalama 9.88 olarak hesaplandı. Olgu grubuna ait 20 bireyin incelenen metafaz alanlarındaki KKD ortalaması 14.66'ydı.

Olgu grubu çalışma süresine ve çalışma yerlerine göre Tablo-II'de gruplandırılmıştır ve elde edilen istatistiksel değerleriyle gösterilmiştir.

Tablo-II: Olgu grubunun çalışma süresi ve bölümüne göre istatistiksel değerleri

	KKD $\bar{X} \pm SS$	p
Çalışma süresi - 10 yıl ve altı - 10 yılın üzeri	15,42 ± 3.73 13.89 ± 4.65	0.273
Bölüm - Makine - Meydan	15.61 ± 4,36 12.90 ± 3.44	0.142

Olgu ve kontrol grubunun Student-t testi ile yapılan ortalama KKD değerleri ve gruplara göre KKD değerleri Tablo-III'te görülmektedir.

Tablo-III: Olgu ve kontrol grubunun KKD ve kromozom gruplarındaki kırk istatistikleri

	Olgu $\bar{X} \pm SS$	Kontrol $\bar{X} \pm SS$	p
KKD	14.66 ± 4.18	10.40 ± 1.37	p<0.0001
A1	31.80 ± 11.69	22.65 ± 4.68	0.003
A2	34.30 ± 9.93	25.35 ± 4.73	0.001
A3	28.85 ± 11,08	19.40 ± 4.24	0.002
B	55.85 ± 17.82	39.15 ± 8.97	0.001
C-X	143.55 ± 43.13	103.35 ± 16.68	0.001
D	30.90 ± 9.03	21.30 ± 5.76	p<0.0001
E	25.95 ± 8.45	18.65 ± 5.76	0.003
F	10.20 ± 3.86	7.55 ± 3.88	0.037
G-Y	5.00 ± 3.59	2.80 ± 2.33	0.027

Kontrol grubu ve olgu grubunun ortalama KKD değerleri, sigara ve alkol kullanma alışkanlıkları ve hastalık durumları kontrol grubu için Tablo-IV, olgu grubu için Tablo-V'te gösterilmektedir.

Tablo-IV: Kontrol grubunun KKD değerleri, hastalık ve sigara/alkol kullanımı

KONTROL NO	YAŞ	ÇALIŞMA SÜRESİ (YIL)	ORTALAMA KKD	HASTALIK	SİGARA KULLANIMI	ALKOL KULLANIMI
K-1	22	-	11.72	-	-	-
K-2	22	-	8.92	-	-	-
K-3	23	-	13.28	-	-	-
K-4	25	-	10.40	-	-	-
K-5	26	-	9.16	-	-	-
K-6	27	-	12.84	-	-	-
K-7	28	-	10.24	-	-	-
K-8	31	-	8.76	-	-	-
K-9	33	-	9.16	-	-	-
K-10	35	-	10.76	-	-	-
K-11	37	-	10.20	-	-	-
K-12	38	-	10.32	-	-	-
K-13	39	-	7.84	-	-	-
K-14	39	-	11.60	-	-	-
K-15	41	-	10.24	-	-	-
K-16	41	-	10.60	-	-	-
K-17	41	-	11.68	-	-	-
K-18	45	-	9.20	-	-	-
K-19	46	-	10.04	-	-	-
K-20	52	-	11.20	-	-	-

Tablo-V: Olgu grubunun KKD değerleri, hastalık ve sigara/alkol kullanımı

OLGU NO	YAŞ	ÇALIŞMA SÜRESİ (YIL)	ORTALAMA KKD	HASTALIK	SİGARA KULLANIMI	ALKOL KULLANIMI
O-1	49	21	16.40	-	-	-
O-2	52	18	11.32	HT	-	-
O-3	47	17	23.56	-	-	-
O-4	38	16	10.04	-	-	-
O-5	52	15	10.88	-	-	-
O-6	48	14	10.60	HT	-	-
O-7	48	14	18.36	-	-	-
O-8	51	14	10.48	-	-	-
O-9	38	13	16.96	-	-	-
O-10	48	12	10.32	-	-	-
O-11	46	10	20.04	-	-	-
O-12	40	10	18.20	-	-	-
O-13	37	7	18.20	-	-	-
O-14	54	6	9.88	HT	-	-
O-15	48	5.5	16.76	-	-	-
O-16	29	5	20.32	-	-	-
O-17	42	4	12.64	-	-	-
O-18	32	4	13.64	-	-	-
O-19	35	4	11.32	-	-	-
O-20	45	2	13.28	-	-	-

HT: Hipertansiyon

Kontrol ve olgu grubunun yaş gruplarına göre ortalama KKD değerleri Tablo-VI'da görülmektedir.

Tablo-VI: Olgu ve kontrol gruplarının yaş aralığına göre sınıflandırılması

YAŞ ARALIĞI	OLGU	ORTALAMA KKD	KONTROL	ORTALAMA KKD	TOPLAM
20-29	1	20.32	7	10.93	8
30-39	5	14.03	7	9.80	12
40-49	10	16.01	5	10.35	15
50-59	4	10.64	1	11.20	5

Kontrol ve olgu grubunda gruplarda gözlenen toplam kırık sayıları Tablo-VII ve Tablo-VIII'de gösterilmiştir.

Tablo-VII: Kontrol grubunda kromozom gruplarında gözlenen kırıklar

KONTROL NO	A1	A2	A3	B	C-X	D	E	F	G-Y	TOPLAM
K-1	25	18	21	29	90	19	22	6	-	230
K-2	15	24	20	52	102	18	18	5	2	256
K-3	14	26	17	51	86	12	12	1	-	219
K-4	31	26	24	37	121	18	22	11	3	293
K-5	20	22	17	40	102	24	22	6	3	256
K-6	27	22	16	36	102	22	23	7	5	260
K-7	20	23	23	20	89	13	7	1	-	196
K-8	27	20	19	35	88	13	16	5	-	223
K-9	28	36	20	50	144	25	13	13	3	332
K-10	21	21	12	35	90	25	16	7	2	229
K-11	25	20	20	43	94	33	15	13	2	265
K-12	21	30	13	33	117	26	20	9	-	269
K-13	19	21	29	41	91	14	31	7	2	255
K-14	20	26	19	47	119	31	21	7	2	292
K-15	19	25	17	46	121	23	25	9	5	290
K-16	25	26	16	51	84	20	19	7	3	251
K-17	25	28	19	33	107	26	23	12	7	280
K-18	28	33	20	26	96	21	21	8	5	258
K-19	26	31	28	45	130	19	19	15	8	321
K-20	17	29	18	33	94	24	8	2	4	229
TOPLAM	453	507	388	783	2067	426	373	151	56	5204

Tablo-VIII: Olgu grubunda kromozom gruplarında gözlenen kırklar

OLGU NO	A1	A2	A3	B	C-X	D	E	F	G-Y	TOPLAM
O-1	50	43	45	90	190	44	28	9	2	501
O-2	20	20	19	38	115	33	17	6	4	272
O-3	24	28	19	32	96	22	20	9	1	251
O-4	37	48	40	58	194	28	26	16	12	459
O-5	25	34	18	47	83	33	14	6	2	262
O-6	40	40	26	58	167	37	37	11	3	419
O-7	24	36	17	44	140	24	24	4	3	316
O-8	42	38	29	71	187	42	28	12	5	454
O-9	20	20	24	37	91	23	18	9	5	247
O-10	36	31	28	39	127	21	33	14	3	332
O-11	53	52	53	95	238	46	28	18	6	589
O-12	17	22	15	57	104	18	23	7	2	265
O-13	28	38	31	49	167	37	39	11	10	410
O-14	42	53	44	69	199	36	44	16	5	508
O-15	16	24	18	39	105	16	24	9	6	257
O-16	26	26	28	51	102	24	19	6	1	283
O-17	33	37	40	68	152	35	34	12	13	424
O-18	35	34	32	45	127	36	17	13	2	341
O-19	18	25	16	51	124	23	15	6	5	283
O-20	50	37	35	79	163	40	31	10	10	455
TOPLAM	636	686	577	1117	2871	618	519	204	100	7328

Olgu grubu kendi içinde çalışma ortamına göre makine ve meydan olarak gruplandırılmış, Mann-Whitney U istatistiksel analiziyle karşılaştırılmıştır (Tablo-IX).

Tablo-IX: Çalışma ortamına göre olgu grubu ve ortalama KKD değerleri

MAKİNALARDA ÇALIŞAN OLGU GRUBU			MEYDANDA ÇALIŞAN OLGU GRUBU		
Ortalama KKD	Çalışma süresi	Çalışma şekli	Ortalama KKD	Çalışma süresi	Çalışma şekli
10.04	16	Mevsimlik	9.88	6	Mevsimlik
10.60	14	Mevsimlik	10.32	12	Mevsimlik
11.32	18	16 yıl süreli, son 2 yıl mevsimlik	10.48	14	Mevsimlik
11.32	4	Mevsimlik	10.88	15	Mevsimlik
12.64	4	Mevsimlik	13.64	4	Süreli
13.28	2	Mevsimlik	16.76	5.5	3 yıl süreli, son 2.5 yıl mevsimlik
16.40	21	Mevsimlik	18.28	14	Mevsimlik
16.96	13	9 yıl süreli, son 4 yıl mevsimlik			
18.20	7	Mevsimlik			
18.20	10	Mevsimlik			
20.04	10	Mevsimlik			
20.32	5	Mevsimlik			
23.56	17	Mevsimlik			
Ortalama KKD:14.34			Ortalama KKD:12.89		

*** Meydanda Çalışan olgu grubu (pamuğın torbalardan boşaltılması ve aspiratöre verilmesi aşamasında çalışan grup)**

Olgu ve kontrol grubunun ortalama KKD değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi Student-t testi ile yapıldı ($p < 0.0001$). Olgu grubu kendi içinde çalışma süresine göre ($p > 0.05$) ve çalışma ortamına göre ($p > 0.05$) Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.





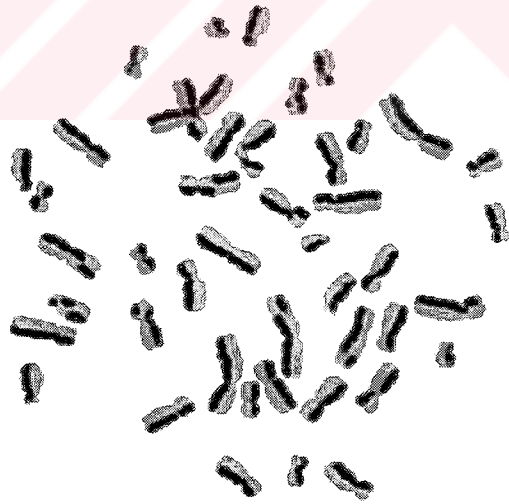
Resim-1: Olgu grubuna ait metafaz örneği a) 1'li kırk b) 2'li kırk c) 3'lü kırk



Resim-2: Olgu grubuna ait metafaz örneği



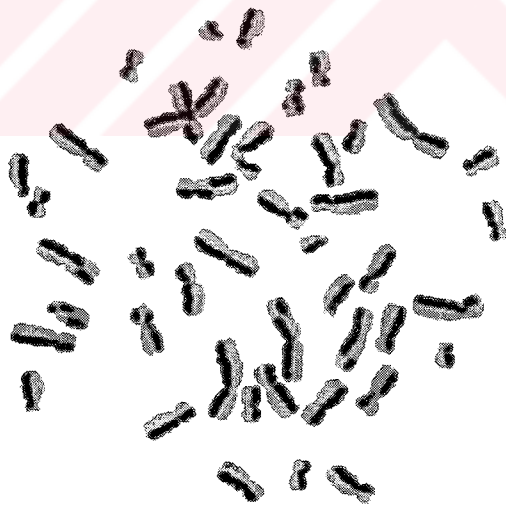
Resim-3: Kontrol grubuna ait metafaz örneği



Resim-4: Kontrol grubuna ait metafaz örneği



Resim-3: Kontrol grubuna ait metafaz örneği



Resim-4: Kontrol grubuna ait metafaz örneği

TARTIŞMA VE SONUÇ

KKD, DNA replikasyonu sırasında kardeş kromatidlerin karşılıklı olarak yer değiştirmesidir. KKD analizi, çevresel faktörlerle uyarılmış DNA hasarını belirlemede kullanılan en duyarlı sitolojik metodlardan biridir ve uzun yıllardır KKD sıklığının analizi, mutajenler ve karsinojenlerin belirlenmesinde kabul edilir bir metod olarak uygulanmaktadır (1). KKD'ler hasara uğrayan bir DNA'daki kromozomun kardeş kromatidlerinin idantik odaklarında oluşan DNA replikasyonunun değişimiyle gözlenir (2).

Periferal kan lenfositlerinde, sitogenetik yöntemler mutajenik ya da karsinojenik ajanlara maruz kalan işçilerin mesleki sağlık survey programlarında 1960'lardan beri kullanılmaktadır. Sitogenetik yöntemlerden biri olan kromozom aberasyon frekansının belirlenmesi, mutajen maruziyetinin bir biyolojik belirtisi olmasının yanı sıra karsinogenezis sırasında genetik hasarların değerlendirilmesinde oldukça yararlıdır. Periferal kan lenfositlerindeki mikronükleus, mitozda kromozom fragmanlarının ayrılması ile veya tüm kromozomların geç kalması ile oluşan küçük ek nükleus oluşumunu gösterir. Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Sitogenetik Marker ve Sağlık Çalışma Grubu ve Amerika Ulusal Meslek Güvenliği ve Sağlığı Enstitüsü gibi uluslararası ve ulusal sağlık merkezleri tarafından sitogenetik testlerin kanseri belirleyebilme potansiyellerini değerlendirmek için farklı epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmalar devam etmektedir (2, 8, 9).

Uzun bir süredir, özellikle mutajenlerin ve karsinojenlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla farklı metodlar uygulanmakta ve bu metodlar arasında sıklıkla KKD yer almaktadır. Doğada, suda ve toprakta oldukça yaygın

bir biçimde bulunan arsenikle ilgili epidemiyolojik ve klinik çalışmalar sonunda, bu maddenin hem çevre hem de insan için önemli bir karsinojen olduğu bilinmektedir (30, 31). Arsenik pestisidlerin hazırlanması, odun koruyucusu, camın işlenmesi, kağıt ve yarı iletkenlerin imalatı gibi birçok alanda ticari olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda da çevre kirliliğine bağlı olarak, belli bölgelerdeki su kaynaklarının arsenikle kontamine olduğu rapor edilmiştir. Buna bağlı olarak aynı bölgelerde yapılan çalışmalarda, arsenikle kontamine içme suyu ile temas halindeki insan grupları ile deri ve iç organ kanserleri arasında önemli bir ilişki bulunmuştur (30). Liou ve ark., Tayvan'da, 6 yıllık bir süre içinde, 55 birey ile tamamladıkları bir çalışmada, KKD'nin arseniazis ile ilişkili kanser riskini belirlemede önemli bir marker olmadığını rapor etmişlerdir (31).

Günümüze kadar pestisidler olarak sınıflandırılan 1000'den fazla kimyasal tanımlanmış ve bu kimyasalların birçoğunun genotoksik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (32,33). Pestisidlere maruz kalan populasyonlar üzerinde birçok longitudinal çalışmalar yapılmış ve olası genotoksik hasar KKD analizi ile değerlendirilmiştir. Zeljezic ve ark., meslekleri dolayısıyla pestisidlere maruz kalan bireylerde yaptıkları çalışmada atrazine, alachlor, cyanazine, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid ve malathion'dan oluşmuş pestisid karışımının etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu amaçla 3 farklı dönemde kan örnekleri almışlardır. Bu bireylerin ortalama KKD değerleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur (34). Terbutrin, herbisit olarak tanımda yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bu pestisidin ve/veya metabolitlerinin çevrede (nehir sedimentlerinde yaklaşık 180 gün kadar), içme suyunda ve endüstriyel gıda ürünlerinde uzun süre kaldığı bilinmektedir. İtalya'da yapılan bir çalışmada, terbutrine maruz kalan bireylerdeki sitogenetik hasar ve primer DNA hasarı arasındaki ilişki değerlendirilmiş ve bu pestisidin primer DNA hasarına

neden olduğu rapor edilmiştir (35). Benzer bir çalışma İsrail’de Ulusal Meslek ve Çevre Sağlığı Enstitüsü tarafından yapılmıştır. Pestisidlere maruz kalan 104 sera işçisi ve 44 kontrol grubu olmak üzere 148 bireyde tamamladıkları bu çalışmada, KKD skorlandırmasını iki grupta tamamlamışlardır. İlk grupta kromozom başına KKD’lerin ortalaması alınmıştır. İkinci grupta ise yüksek frekanslı hücrelerin (8’den fazla KKD içeren hücreler) oranı belirlenmiştir. Buna göre; her iki skorlandırmada da, pestisidlere maruz kalan işçilerdeki ortalama değerler kontrol grubuna ait değerlerden oldukça yüksek bulunmuştur (36).

Çevre sağlığı ile ilgili bir diğer konu da hava kirliliğidir. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda çevre kirliliğine neden olan birçok kimyasal madde tanımlanmıştır. Bunlar kimi zaman bir kimyasal atık, kimi zaman da toz partikülleri, duman veya sıvı atık olarak değerlendirilmişlerdir. Birçok araştırmacı tarafından çevresel kirliliğe neden olan etkenlerin, insan popülasyonları üzerindeki genotoksik etkilerini değerlendirilmiştir. Michalska ve ark., bir sanayi şehrinde, hava kirliliğine neden olan kimyasallara maruz kalan bireylerde yaptıkları çalışmada, KKD sıklığının arttığını gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada KKD ile birlikte kromozom aberasyonu da değerlendirilmiş ve KKD testinin kromozom aberasyonu ölçümünden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (37). Aynı bulgular, eksoz dumanına maruz kalan trafik polislerinde yapılan çalışma sonucunda da elde edilmiştir (38).

Son yıllarda hava kirliliğine neden olan etkenlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde insan periferik kan lökositleri dışında, bitki ve hayvan hücrelerinde de benzer çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle bitki hücrelerinde mikronükleus ve KKD sıklığının belli ajanlar tarafından stresle-ilişkili peroksidaz enziminin spesifik aktivitesini artırması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (39, 40).

Birçok çalışmada KKD düzeyinin farklı kimyasallarla arttığı rapor edilmesi ile birlikte, bu düzeyin bireyin sosyoekonomik durumu, sigara ve alkol kullanımı gibi yaşam alışkanlıkları ve diğer endojen faktörlerle ilişkili olduğu da kesinlik kazanan bir diğer önemli bulgudur. Polisiklik aromatik hidrokarbonların, akciğer kanserinin gelişiminde risk oluşturdukları bilinmektedir. Van Delft ve ark., polisiklik aromatik hidrokarbonlara maruz kalan kok kömürü ile çalışan fırın işçilerinin biyolojik izleminde KKD, yüksek frekanslı KKD, mikronükleus ve Comet testini kullanmışlardır. Sigara içen işçilerde, bu hidrokarbonların biyolojik etkinliklerinin arttığı belirlenmiştir (41). Benzer şekilde ABD'de Ulusal Meslek Güvenliği ve Sağlık Enstitüsü tarafından hastane çalışanlarında yapılan bir çalışmada, kimyasal endüstride ara madde olarak kullanılan ve genotoksik karsinojen olan etilen oksidin etkisi değerlendirilmiştir. Etilen okside maruz kalan bireylerde KKD sıklığının arttığı ve sigara kullanan bireylerde ise bu değerler oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (42). Benzer çalışmaların bulguları ışığında, çalışmamızda hem kontrol hem de olgu grubumuzu sigara içmeyen bireylerden oluşturduk.

KKD ile ilgili yapılan çalışmaların bir kolu da tedavi amaçlı kullanılan ilaçların genotoksik etkinliğinin belirlenmesidir. Telez ve ark., İspanya'da yaptıkları bir çalışmada beta bloker antihipertansif ilaç olan atenolol ile uzun süreli tedavinin genotoksitesini belirlemeyi amaçlamışlardır. KKD ve mikronükleus frekanslarında kontrol grubu ile uzun süre tedavi alan bireyler arasında farklılık gözlenmediği için, genotoksik etkinin gözlenmediği sonucuna varmışlardır (43). Aynı araştırma merkezinde yapılan bir başka çalışmada antihipertansif ilaç olan nimodipin ile değerlendirilmişler ve benzer sonuçları elde etmişlerdir (44). Bizim çalışmamızda, olgu grubunda bulunan 3 hipertansiyonlu

bireyin KKD değerleri olgu grubunun ortalamasına göre düşük, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aynı görünmektedir. Bu 3 olgu kısıtlı sayıda olmakla birlikte literatürdeki bulgular ile uyumludur. Hongslo ve ark., 10 gönüllü bireyde yaptıkları çalışmada parasetamolün lenfositlerde KKD sıklığını ve kromozom aberasyonlarını arttırdığını ortaya çıkarmışlardır (45). Benzer bulgu, parasetamolün terapötik dozda kullanımı sonucu da elde edilmiştir. Genotoksik etkilerin ya sekonder olarak parasetamolle uyarılan DNA sentezinin inhibisyonu ya da parasetamol metabolitlerinin kovalent bağlanması nedeniyle olduğunu yorumlamışlardır (46).

Bilban-Jakopin ve ark., radyoterapi ve kemoterapi alan 30 Hodgkin' lenfomalı hastada yaptıkları çalışmada, KKD, mikronükleus ve kromozom aberasyonlarını içeren mutajenite testlerini uygulamışlardır. Bu testleri, tanı koyulduktan hemen sonra ve tedavi başlangıcından 6 ay sonra uygulamışlardır. Tedavi ncesi, kromozomal hasarın kontrol grubundan çok yüksek olmadığını gözlemlemelerine rağmen, tedavi tamamlandıktan sonra mitotik aktivitede inhibisyonla birlikte KKD, mikronükleus ve kromozom aberasyonları frekanslarında bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Radyoterapi ile tedavi olan hastalarda mikronükleus ve kromozom aberasyonları frekanslarında kemoterapi ile tedavi olanlara göre önemli farklılıklar bulmuşlardır. Altı ay sonra tedavi tamamlandığında, mitotik aktivitenin normale yakın olmakla birlikte kromozom hasarı gözlenmiştir (47). Çeşitli hastalıkların tedavisinde, yaygın bir biçimde kullanılan antibiyotikler ve anti-inflamatuarlarla da benzer çalışmalar yapılmıştır. İnsan lenfosit kültürleri ve fareler ile yapılan bir çalışmada, anti-inflamatuar ajan olarak kullanılan Centraterin'in klastojenik ve sitotoksik potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Uzun süreli tedavi sonrasında mitotik indekste azalma ile birlikte, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam kromozom aberasyonları ve KKD

frekanslarında artış rapor edilmiştir (48). Slapsyte ve ark., uriner sistem infeksiyonuna sahip 95 pediatrik hastada bir nitrofurantoin derivatı olan furagin tedavisini değerlendirmişlerdir. Tedavi süresince, bu hastaların lenfositlerinde KKD frekansının arttığını bildirmişlerdir (49). Kontrol ve olgu grubumuzu oluştururken bu çalışmaların sonuçları gözönüne alınmış ve herhangi bir tedavi almayan bireylerin seçilmesine özen gösterilmiştir .

İsrail'de 14 farklı hastanenin patoloji bölümünde çalışan ve mesleksi olarak formaldehite (ortalama 15.4 yıl) maruz kalan 90 bireyle yapılan çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kromozom başına ortalama KKD ve yüksek frekanslı hücrelerin (8'den daha fazla KKD'li hücre) oranlarının önemli oranda arttığı rapor edilmiştir (50). Bu çalışmada kromozom başına KKD sıklığı, kontrol grubunda 0.19 iken, formaldehite maruz kalanlarda 0.27 olarak hesaplanmıştır ve aralarındaki farklılık anlamlı olarak bildirilmiştir.

Bir diğer çalışmada ise anestezi uzmanları, teknisyenler ve hemşirelerden oluşan 43 hastane çalışmada anestezi gazlarının mutajenitesi değerlendirilmeye çalışılmıştır. Bu bireylerin kromozom aberasyonları, KKD ve mikronükleus sıklıkları hesaplanmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kromozom aberasyonları ve mikronükleus sıklıklarının arttığı bildirilmiştir (51). Benzer çalışmaların sonuçları ile, anestezi maddelerinin neden olabileceği kromozomal hasarın belirlenmesinde mikronükleus testinin daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (52).

Günümüzde, özellikle meslek hastalıkları ile ilgili yapılan çalışmalarda bir artış gözlenmektedir. Potansiyel genotoksik ajanlara maruz kalan işçilerde, kromozomal hasarın belirlenmesinde KKD sıklıkla kullanılan bir metoddur. Yavaş

ve ark., plastik endüstrisinde çalışan işçilerde, polivinil kloridin etkisinin belirlenmesi amacıyla sitogenetik incelemeler yapmışlardır. Bu amaçla mitotik indeks kromozom aberasyonları, KKD ve Satellit assosiasyonunu değerlendirmişlerdir. Tüm parametrelerin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, önemli bir artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir (53). Sprey boya işçilerinde yapılan bir çalışmada, 104 erkek bireyden oluşan olgu grubunda KKD sıklığının arttığı rapor edilmiştir (54). Tucker ve ark., kömür madeni işçilerinde gastrik kanser insidansının yüksek olduğunu gözlemlemişler ve NaNO_2 ile nitrozillenmiş kömür tozunun genotoksisitesini incelemişlerdir. *In vitro* yapılan bu çalışmada, 10 $\mu\text{l/ml}$ nitrozillenmiş kömür tozu ekstraktları ile işlenen insan lenfositlerinde KKD frekansı 31.6/hücre iken, toz ile işlenmeyen hücrelerde 9.2/hücre olarak bulunmuştur. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak kömür madeni işçilerinde yutulan kömür tozu nitrozasyonunun, gastrik kanser insidansının artmasından sorumlu olabileceği sonucuna varmışlardır (55).

Türkiye'de Baltacı ve ark., farklı tipteki over kanserli 30 hasta ile yaptıkları çalışmada KKD frekansının önemli bir oranda arttığını göstermişlerdir. Kromozom grupları A, B ve C'deki kırk frekansının diğer gruplara ait kromozom gruplarından yüksek olduğunu bildirmişlerdir. DNA hasarını göstermek için KKD ile birlikte Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE; Comet testi) uygulamışlar ve bu iki tekniğin birlikte, over kanserli kadınlarda DNA hasarının görüntülenmesinde başarılı ile kullanılabileceğini göstermişlerdir (56). Sanayinin farklı kollarında, farklı basamaklarında kullanılan kurşunun insanlarda zehirlenmelere neden olduğu bilinmektedir. Duydu ve ark., akümülatör fabrikasında çalışan işçilerde sözkonusu metalin genotoksisitesini belirlemeyi amaçlamışlar ve KKD frekanslarını değerlendirmişlerdir. Kurşun düzeyi ve KKD frekansı arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. İdrar delta-aminolevulinik asit (U-ALA) salgısı ile KKD frekansı arasındaki ilişkinin, kandaki kurşun düzeyi-KKD arasındaki ilişkiden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (57).

Farklı test sistemleri kullanılarak belli yiyecek katkı maddelerinin, özellikle antimikrobiyal maddelerin genotoksik olduğu bildirilmiştir. Yine bir yiyecek koruyucusu olan ve sitotoksik etkiye sahip olan sodyum metabisülfid (SMB) ile ülkemizde yapılan bir çalışmada, SMB'nin insan lenfositlerinde kromozom aberasyonlarını ve KKD'leri uyardığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada SMB'nin metabolik ürünlerinden biri olan bisülfidin insan lenfositlerinde kromozom aberasyonları, KKD ve mikronükleus oluşumunu uyarırken diğer bir ürün olan sodyum tuzlarının da Çin hamster akciğer fibroblast ve V79 hücrelerinde kromozom aberasyonlarına neden olduğu rapor edilmiştir (58).

Diğer bir çalışma da Öztürk ve ark., tarafından yapılmıştır. Akut karbonmonoksit zehirlenmesi nedeniyle Acil Servise başvuran 20 hastada, karboksihemoglobin konsantrasyonunu ve KKD frekansını belirlemeyi amaçlamışlardır. Metafaz başına ortalama KKD frekansı kontrol grubunda 6.33 ± 1.60 , olgu grubunda ise 8.11 ± 2.39 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma ile, odun yada kömürün yanma ürünlerinin akut maruziyet sonrasında genotoksik etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (59).

KKD sıklıklarının çalışmalar arasında farklılıklar gösterebilmesi ve bu varyasyonun genotoksik karsinojenlere maruz kalma sonucu oluşan etkiden daha yüksek olabilmesi nedeniyle kontrol gruplarından kan örneklerinin toplanması ve maruz kalan bireylerle birlikte çalışılması çok önemlidir. Çalışma kapsamına

alkol ve sigara kullanmayan bireyler dahil edilmiştir. Kontrol grubunun bir kısmı ile olgu grubunun büyük bir kısmı 2-4 hafta arasında değişen sürelerde X-ray akciğer filmi çektilmişlerdir. Erol ve arkadaşları invaziv kardiyoloji laboratuvarında çalışanlarda ionizan radyasyona mesleki olarak maruz kalan 11 bireyin KKD ve kromozom aberasyonlarının frekanslarını incelemişlerdir. On bir işçide yapılan bu çalışmada 0, 4, 8 ve 12. ayda kan örnekleri alınmıştır. Çalışmanın sonucunda KKD sıklıklarının ionizan ışınlarla maruz kalan bireylerde önemli bir biçimde değişmediğini belirtmişlerdir. Ancak kromozom aberasyonlarında belli bir düzeyde değişim gözlenmiştir (60).

Çalışmada her bir bireyden 25 metafaz olmak üzere toplam 1000 metafaz alanı değerlendirilmiştir. Pamuk tozuna maruz kalan olgu grubu ile kontrol grubunun KKD değerleri karşılaştırılıp istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunun ortalama KKD değeri 10.40 iken, olgu grubunda 14.66 olarak saptanmıştır. Bu değerler Student-t testi ile karşılaştırıldığı zaman aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$). Her bir kromozom grubu baz alındığında, olgu grubunun kontrol grubundan daha yüksek KKD değerine sahip olduğu bulundu.

Çırçır fabrikası işçileri çalışma ortamlarına göre makine ve meydana çalışanlar olmak üzere gruplandırıldığında, KKD değerleri arasında çok az sayısal farklılık gözlenmesine rağmen, Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Olgu grubu çalışma süresine göre 10 yıla kadar ve üzeri olarak gruplandırılmış ve çalışma süresi açısından, Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Pamuk tozunun solunum yolu hastalıklarında bir artışa neden olduğunun bilinmesine rağmen, daha önce genotoksik etkisinin belirlenmesi ile ilişkili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle elde edilen bulguları, benzer çalışmalarla karşılaştırma olanağı olmamıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda, çırçır fabrikasında çalışan işçilerde, pamuk tozunun genotoksik potansiyelini belirlemek için 20 adet kontrol ve 20 adet olgu grubuna ait toplam 40 bireyin periferik kan lenfositlerinde KKD frekansını değerlendirdik. Olgu grubunda yer alan bireylerin KKD frekansının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda arttığı ve pamuk tozunun olası bir mutajen olduğunu düşündürmüştür.

ÖZET

Potansiyel mutajenler/karsinojenlere maruz kalan insan popülasyonlarının genetik biyoizlemi, farklı genetik markırlar kullanılarak yapılabilmektedir. Kardeş kromatid değişimleri (KKD), DNA hasarına neden olan ajanların erken biyolojik etkilerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan sitogenetik markırlar arasında yer alır.

Literatürde pamuk tozu ile ilgili KKD çalışmasına rastlanmadığı ve tekstil sanayinin bölgemizde çok gelişmiş olmasından dolayı, pamuk tozuna maruz kalan çırçır fabrikası işçilerinin periferik kan lenfositlerinde KKD sıklığının saptanması ve pamuk tozunun olası bir mutajen olup olmadığının belirlenmesi amaçlandı. Bunun için çırçır fabrikası işçilerinden 20 bireyin ve kontrol grubu olarak pamuk tozuna maruz kalmayan 20 bireyin periferik kan lenfositleri FPG yöntemine göre boyandı ve KKD frekansları saptandı. İstatistiksel analiz için Student-t testi kullanıldı ve kontrol grubu (10.40 ± 1.37) ile karşılaştırıldığında, çırçır fabrikası işçilerinin lenfositlerinde (14.66 ± 4.18) KKD sıklığında artış bulundu ($p < 0.0001$). Pamuk tozuna maruz kalma süresinin (10 yıl ve 10 yılın üzeri) ve çalışma alanının KKD ile ilişkili olmadığı, Mann-Whitney U analizi ile gösterildi ($p > 0.05$).

Çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, pamuk tozuna maruz kalan bireylerin KKD sıklığında istatistiksel olarak önemli bir artış bulundu. Çalışmanın bulgularına dayanarak, pamuk tozunun olası bir mutajen olabileceği düşünüldü.

SUMMARY

Genetic biomonitoring of human populations exposed to potential mutagens/carcinogens can be performed using different genetic markers. Sister chromatid exchanges (SCEs) are among the most extensively used markers of early biological effects of DNA damaging agents.

It was aimed to determine SCE frequency in peripheral blood lymphocytes of cotton gin workers exposed to cotton dust and to identify whether the cotton dust is a potential mutagen or not, because SCE studies about cotton dust in literature could not able to come across and textile industry in our region become developed. Student's-t test was used for statistical analysis and an increased frequency of SCE was found in lymphocytes of workers of cotton gin factory (14.66 ± 4.18) as compared to controls (10.40 ± 1.37) ($p < 0.0001$). Analyses of Mann-Whitney U indicated that the duration of exposure to cotton dust (10 years and more than 10 years) and working area were not related to the frequency of SCE ($p > 0.05$).

In this study, a statistically significant increase was found in SCE frequencies of the subjects exposed to cotton dust compared with the control group. This study suggests that the cotton dust might be a possible mutagen.

KAYNAKLAR

1. Zhang Z, Yang L, Zhang Q, Cao X. Studies on the utilization of a plant SCE test in detecting potential mutagenic agents. *Mutat Res* 1991; 261: 69-73.
2. Verma RS, Babu A. Specialized Techniques, Sister Chromatid Differentiation. In: *Human Chromosomes Principles and Techniques*. Mc Graw-Hill: New York, 1995: 143-52.
3. <http://www.taris.com.tr>. İncir, Üzüm, Pamuk, Zeytin ve Zeytinyağı Tarım Satış Kooperatifleri Birlikleri, Pamuk Birliği Yönetimi, 2002.
4. Şalmal H, Akçakaya S. Söke yöresindeki çırçır fabrikalarının sorunları. 1. Ulusal Çukurova Tekstil Kongresi Bildiriler Kitabı, Adana, 6-8 Ekim 1999.
5. Bakırcı N, Tümerdem N. Pamuk iplik üretimi ve işçi sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Occupational Health and Safety* 2002, 9: 12-23.
6. Carrona AV, Natarajan AT. Considerations for populating monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 1988;204: 379-406.
7. Albertini RJ. Sister chromatid exchanges (SCE)s in lymphocytes. *Mutat Res* 2000; 463: 165-72.
8. Hagmar L, Strömberg U, Tinnerberg H, Mikoczy Z. The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2001; 204: 43-7.
9. Keshava N, Ong T. Occupational exposure to genotoxic agents. *Mutat Res* 1999; 437: 175-94.
10. Crossen PE, Morgen WF. Analysis of human lymphocyte cell cycle time inculture measured by sister chromatid differential staining. *Exp Cell Res* 1977;104:453-57.

- 11. Emre S. Antikanser ilaçların ve karsinojen maddelerin insan kromozomları üzerine etkilerinin in vitro sistemde kardeş kromatid değişimi (Sister chromatid exchange,SCE) analiz yöntemi ile belirlenmesi, Doktora, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1989.**
- 12. Stetga DG. Further analysis of replication by pass model for sister chromatid exchange. Hum Genet 1979; 49:63-9.**
- 13. Soysal Y. Mitomisin C ile indüklenmiş lenfosit hücre kültürlerinde melatonin ve β - karotenin in vitro sistemde kardeş kromatid değişimi oranları ve mitotik indeks değerleri üzerinde olan etkilerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara, 1999.**
- 14. Latt SA, Sehrek RR, Loveday KS, Dougherty CP, Schuler CF. Sister chromatid exchange. Adv Hum Genet 1980; 10: 267-331.**
- 15. Moore PD, Holiday R. Evidence for the formation of hybrid DNA during mitotic recombination in Chinese hamster cells. Cell 1976; 8: 573-79.**
- 16. Landin HH, Grummt T, Laurent C, Tates A. Monitoring of occupational exposure to epichlorohydrin by genetic effects and hemoglobin adducts. Mutat Res 1997; 381: 217-26.**
- 17. Kassie F, Parzefall W, Knasmüller S. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. Mutat Res 2000; 463: 13-31.**
- 18. Lazutka JR, Lekevicius R, Dedonyte V, Maciuleviciute- Gervers L, Mierauskiene J, Rudaitiene S, Slapsyte G. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in Lithuan populations: effects of occupational and environmental exposures. Mutat Res 1999; 445: 225-39.**
- 19. Schmidt MA, SangerWG. Sister chromatid exchange in aged human lymphocytes. Mech Ageing Dev 1981; 16(1): 67-70.**

20. De Arce MA. The effect of donor sex and age on the number of sister chromatid exchanges in human lymphocytes growing in vitro. *Hum Genet* 1981; 57(1): 83-5.
21. de Andrade M, Spitz MR, Wu X, Liang JC, Strom SS. Statistical models for analysis of cytogenetic biomarkers. *J Investig Med* 2000; 48 (4): 281-6.
22. Camoutsis C, Catsoulacos D, Karayiann V, Papageorgiou A, Mourelatos D, Mioglou E, Kritsi Z, Nikolaropoulos S. Comparative study of sister chromatid exchange induction and antitumor effects by homo-aza-steroidal esters of [p-[bis(2-chloroethyl)amino]phenyl]butyric acid. *Cancer Detect Prev* 2001; 25(6):558-64.
23. Liu WM, Bamford C, Slevin M,Joel SP. Effects of haemopoietic growth factors in combination with etoposide on sister chromatid exchange frequencies in peripheral blood mononuclear cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 1998; 41:343-6.
24. McClellan RO. Health effects of exposure to diesel exhaust particles. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1987; 27: 279-00.
25. Carere A, Andreoli C, Galati R, Leopardi P, Marcon F, Rosati MV, Rossi S, Tomei F, Verdina A, Zijno A, Crebelli R. Biomonitoring of exposure to urban air pollutants: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen *Mutat Res.* 2002; 518(2): 215-24.
26. Zhao X, Niu J, Wang Y, Yan C, Wang X, Wang J. Genotoxicity and chronic health effects of automobile exhaust a study on the traffic policemen in the city of Lanzhou. *Mutat Res* 1998; 425 (3): 185-90.
27. Sigsgaard T, Pederson OF, Juul S, Gravesen S. Respiratory disorders and atopy in cotton, wool and other textile mill workers in Denmark. *Am J Ind Med* 1992; 22(2): 163-84.

28. Beckett WS, Pope CA, Xu Xp, Christiani DC. Women's respiratory health in the cotton textile industry: an analysis of respiratory symptoms in 973 non-smoking female workers. *Occup Environ Med* 1994; 51(1): 14-8.
29. Christiani DC, Wang XR, Pan L, Zhang H, Sun B, Dai H, Eisen EA, Wegman DH, Olenchock SA. Longitudinal changes in pulmonary function and respiratory symptoms in cotton textile workers. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 847-53.
30. Basu A, Mahata J, Gupta S, Giri AK. Genetic toxicology of a paradoxical human carcinogen, arsenic: a review. *Mutat Res* 2001; 488(2):171-94.
31. Liou SH, Chen YH, Loh CH, Yang T, Wu TN, Chen CJ, Hsieh LL. The association between frequencies of mitomycin C-induced sister chromatid exchange and cancer risk in arseniasis. *Toxicol Lett* 2002; 129(3):237-43.
32. Soloneski S, Gonzalez M, Piaggio E, Apezteguia M, Reigosa MA, Larramendy ML. Effect of the dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation azzurro. I. Genotoxic evaluation on cultured human lymphocytes exposed in vitro. *Mutagenesis* 2001;16(6):487-93.
33. Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 2001;165(2-3):153-62.
34. Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V. Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Chemosphere* 2002;46(2):295-303.
35. Moretti M, Marcarelli M, Villarini M, Fatigoni C, Scassellati-Sforzolini G, Pasquini R. In vitro testing for genotoxicity of the herbicide terbutryn: cytogenetic and primary DNA damage. *Toxicol In Vitro* 2002;16(1):81-8.

36. Shaham J, Kaufman Z, Gurvich R, Levi Z. Frequency of sister-chromatid exchange among greenhouse farmers exposed to pesticides. *Mutat Res* 2001;491(1-2):71-80.
37. 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;445(2):139-45.
38. Carere A, Andreoli C, Galati R, Leopardi P, Marcon F, Rosati MV, Rossi S, Tomei F, Verdina A, Zijno A, Crebelli R. Biomonitoring of exposure to urban air pollutants: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen. *Mutat Res*. 2002;518(2):215-24.
39. Poma A, Arrizza L, Picozzi P, Spano L. Monitoring urban air particulate matter (fractions PM 2.5 and PM 10) genotoxicity by plant systems and human cells in vitro: a comparative analysis. *Teratog Carcinog Mutagen* 2002;22(4):271-84.
40. Parada R, Jaszczak K. A cytogenetic study of cows from a highly industrialized agricultural region. *Mutat Res* 1993; 300:259-63.
41. van Delft JH, Steenwinkel MS, van Asten JG, de Vogel N, Buijntjes-Rozier TC, Schouten T, Cramers P, Maas L, van Herwijnen MH, van Schooten F, Hopmans PM. Biological monitoring the exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons of coke oven workers in relation to smoking and genetic polymorphisms for GSTM1 and GSTT1. *Ann Occup Hyg* 2001;45(5):395-408.
42. Yong LC, Schulte PA, Wiencke JK, Boeniger MF, Connally LB, Walker JT, Whelan EA, Ward EM. Hemoglobin adducts and sister chromatid exchanges in hospital workers exposed to ethylene oxide: effects of glutathione S-transferase T1 and M1 genotypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(5): 539-50.

43. Telez M, Martinez B, Criado B, Lostao CM, Penagarikano O, Ortega B, Flores P, Ortiz-Lastra E, Alonso RM, Jim RM, Arrieta I. In vitro and in vivo evolution of the antihypertensive drug atenolol in cultured human lymphocytes: effects of long-term therapy. *Mutagenesis* 2000;15(3): 195-202.
44. Telez M, Martinez B, Criado B, Ortega B, Penagarikano O, Flores P, Ortiz-Lastra E, Arrieta I. Evaluation of the cytogenetic damage induced by the antihypertensive drug nimodipine in human lymphocytes. *Mutagenesis* 2001;16(4): 345-51.
45. Hongslo JK, Brojge C, Schwarze PE, Brogger A, Mann G, Thelander L, Holme JA. Paracetamol inhibits replicative DNA synthesis and induces sister chromatid exchange and chromosomal aberrations by inhibition of ribonucleotid reductase. *Mutagenesis* 1990; 5: 475-80.
46. Honslo JK, Brogger A, Bjorge C, Holme JA. Increased frequency of sister-chromatid exchange and chromatid breaks in lymphocytes after treatment of human volunteers with therapeutic doses of paracetamol. *Mutat Res* 1991; 261:1-8.
47. Bilban-Jakopin C, Bilban M. Genotoxic effects of radiotherapy and chemotherapy on circulating lymphocytes in patients with Hodgkin's disease. *Mutat Res* 2001; 497(1-2): 81-8.
48. Burim RV, Canalle R, Lopes JL, Vichnewski W, Takahashi CS. Genotoxic action of the sesquiterpene lactone centratherin on mammalian cells in vitro and in vivo. *Teratog Carcinog Mutagen* 2001;21(6):383-93.
49. Slapsyte G, Jankauskiene A, Mierauskiene J, Lazutka JR. Cytogenetic analysis of children under long-term antibacterial therapy with nitroheterocyclic compound furagin. *Mutat Res* 2001;491(1-2):25-30.

- 50.** Shaham J, Gurvich R, Kaufman Z. Sister chromatid exchange in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res* 2002; 514(1-2):115-23.
- 51.** Rozgaj R, Kasuba V, Jazbec A. Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anesthetic gases. *Mutagenesis* 2001;16(2): 139-43.
- 52.** Pasquini R, Scassellati-Sforzolini G, Fatigoni C, Marcarelli M, Monarca S, Donato F, Cencetti S, Cerami FM. Sister chromatid exchanges and micronuclei in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to enflurane and nitrous oxide. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001; 20(2): 119-26.
- 53.** Yadav JS, Chhillar AK. Cytogenetic damage in plastic industry workers exposed to polyvinyl chloride. *Cytobios* 2001; 104(407): 173-87.
- 54.** Gajalakshmi P, Mallick P, Venkatesan P, Santhiya ST, Ramesh A. Studies on sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of spray painters. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2002; 21(1): 63-5.
- 55.** Tucker JD, Whong WZ, Xu J, Ong T. Genotoxic activity of nitrosated coal dust extract in mammalian systems. *Environ Res* 1984; 35(1): 171-9.
- 56.** Baltaci V, Kayikcioglu F, Alpas I, Zeyneloglu H, Haberal A. Sister chromatid exchange rate and alkaline comet assay scores in patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 84(1): 62-6.
- 57.** Duydu Y, Suzen HS, Aydin A, Cander O, Uysal H, Isimer A, Vural N. Correlation between lead exposure indicators and sister chromatid exchange (SCE) frequencies in lymphocytes from inorganic lead exposed workers. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; 41(2): 241-6.
- 58.** Rencüzoğulları E, İla HB, Kayraldiz A, Topaktaş M. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. *Mutat Res* 2001; 490: 107-12.

59. Ozturk S, Vatansever S, Cefle K, Palanduz S, Guler K, Erten N, Erk O, Karan MA, Tascioglu C. Acute wood or coal exposure with carbon monoxide intoxication induces sister chromatid exchange. J Toxicol Clin Toxicol 2002; 40(2): 115-20.
60. Erol MK, Oztas S, Bozkurt E, Karakelleoglu S. Sister chromatid exchange analysis and chromosoma aberration studies in interventional cardiology laboratory workers: one war follow up study. Jpn Heart J. 2002; 43(2):159-66.



TC SAĞLIK BAKANLIĞI
BÜYÜKSAĞLIK BAKANLIĞI
BÜYÜKSAĞLIK BAKANLIĞI
BÜYÜKSAĞLIK BAKANLIĞI