

**PETROL İSTASYONU ÇALIŞANLARINDA KROMOZOM
DÜZENSİZLİKLERİNİN VE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİM (SİSTER
CHROMATİD EXCHANGE) ORANLARININ İNCELENMESİ**

114171

AYLA ÇELİK

**Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

Biyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Etem AKBAŞ**

**MERSİN
HAZİRAN 2001**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Doktora Tezi olarak kabul ediyoruz.



Tez Danışmanı

Yard.Doç.Dr. Etem AKBAŞ



Jüri Üyesi

Doç.Dr. Serap ERGENE GÖZÜKARA



Jüri Üyesi

Doç.Dr. M. Emin ERDAL

Jüri Üyesi

Yard.Doç.Dr. Mehmet Korkmaz




Jüri Üyesi

Yard.Doç.Dr. Oya B. Sarı (Nalçacı)



Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulunun 16/10/2001.. tarih ve 2001/20-24..sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK

Not : Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZET

Bu çalışmada mesleki yaşantıları gereği yoğun miktarda petrol ürünlerinden etkilenen petrol istasyonu çalışanlarında petrol ve ürünlerinin “Kromozomal Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı” ve “Yapısal Kromozom Düzensizlikleri” temelinde klastojenik etkileri, “Sister Chromatid Exchange = Kardeş Kromatid Değişim (KKD = SCE) oranları temelinde genotoksik etkileri araştırılmıştır. Sigaranın da klastojenik ve genotoksik ajanlar içermesi nedeniyle deney grubu sigara içenler ve içmeyenler olarak iki gruba ayrılmıştır. Deney grubu ile aynı yaş grubundan ancak yakın geçmişlerinde bilinen bir klastojen ve ya genotoksik ajandan etkilenmemiş bireylerden sigara içenler ve içmeyenlerden olmak üzere iki ayrı kontrol grubu oluşturulmuştur.

Elde edilen verilere göre; kromozomal düzensizlik içeren hücre oranları açısından kontrol ve deney grubu arasında ve hem kontrol ve hem de deney grubunda sigara içen ve içmeyen arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.01$). Yapısal kromozom düzensizliği oranları açısından da kontrol ve deney grubu arasında ve hem kontrol ve hem de deney grubunda sigara içen ve içmeyen arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.01$). Kardeş kromatid değişimi oranları açısından kontrol ve petrolün etkisinde kalan deney grubunda elde edilen farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Sigara içen ve içmeyenler arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: Kromozomal düzensizlikler, kardeş kromatid değişimi, benzen, sigara, petrol.

ABSTRACT

It is investigated that the effects of petroleum on the metaphases including chromosomal aberrations, structural chromosomal aberrations and sister chromatid exchange rates in the workers at petroleum stations.

Because of the fact that cigarette involves in clastogenic and genotoxic agents, exposed group was divided into two subgroups as smokers and non-smokers. Control group was chosen from same age, who have not been exposed to benzene or other mutagenic/and carcinogenic substance in the their near future. Control group was also divided into two subgroup as smokers and non-smokers.

The results of these study indicated that there was a significant difference between control and exposed group and between non-smoker, smoker in control and exposed group for the rates of cell including chromosomal aberrations and chromosomal aberration frequency ($p < 0.01$).

It is found that difference is significant between control and exposed group for SCE frequency. A significant differences is determined between smokers and non-smokers for SCE frequency ($p < 0.05$).

Keywords: Chromosomal aberations, sister chromatid exchange, benzene, cigarette smoking, petroleum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen, her konuda destek olan ve bilgilerinden yararlandığım Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Danışman Hocam sayın *Yrd. Doç. Dr. Etem AKBAŞ'a*, göstermiş olduğu yakın ilgisinden ve çalışmam süresince her konudaki desteğinden dolayı Bölüm Başkanım sayın Hocam *Doç. Dr. Serap ERGENE GÖZÜKARA'ya*, istatistik hesaplamalarda bilgilerinden yararlandığım sayın *Yrd.Doç.Dr. ARZU KANIK'a* ve *Yrd.Doç Dr. Handan ÇAMDEVİREN'e* Araştırma Görevlisi *Tolga CAVAŞ'a* ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Genel Bilgiler	9
2.1.1. Karsinojenite	15
2.1.2. Hematolojik Etkiler	20
2.1.3. Benzenin Genotoksik Etkileri	24
2.1.3.1. Mutajenite	24
2.1.4. Benzenin Neden Olduğu Hastalıklar	26
2.1.5. Benzenin Kan Sistemindeki Toksik Etkileri	26
2.1.6. Sitogenetik Toksisite	27
2.1.6.1. Kardeş Kromatid Değişimi Oranları Üzerine Etkileri	27
2.2. Sigara Kullanımı ve Etkileri	31
2.2.1. Sigara İçmenin Sağlık Üzerine Etkileri	32
2.2.1.1. Sigarada Bulunan Toksik Ajanlar	32
2.3. Kromozom Düzensizlikleri	33
2.3.1. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler	33
2.3.1.1. Kromozomların Morfolojik Özellikleri	33
2.3.1.2. Kromozomların Adlandırma Sistemi	34
2.3.1.3. Kromozom Düzensizlikleri	35

3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Gereç	46
3.1.1. Araştırma Populasyonu	46
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	46
3.1.2.1. Besi yerinin Hazırlanması	46
3.1.2.2. Çözeltiler	47
3.2. Yöntem	48
3.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi	48
3.2.2. Kardeş Kromatid Değişimi Preparatlarının Boyanması	50
3.3. Değerlendirme	51
3.3.1. Preparatların Değerlendirilmesi	51
3.3.2. İstatistiksel Değerlendirme	52
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	53
4.1. BULGULAR	53
4.1.1. Kontrol Grubu Sigara İçmeyen Bireylere ait Bulgular	54
4.1.2. Kontrol Grubu Sigara İçen Bireylere ait Bulgular	58
4.1.3. Deney Grubu Sigara İçmeyen Bireylere ait Bulgular	64
4.1.4. Deney Grubu Sigara İçen Bireylere ait Bulgular	69
4.1.5. İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	75
4.2. TARTIŞMA	80
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	90
KAYNAKLAR	92
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.Benzen Metabolitleri	10
Çizelge 4.1.Kontrol Grubu Sigara İçmeyen Bireylere Ait Genel Bulgular	57
Çizelge 4.2.Kontrol Grubu Sigara İçen Bireylere Ait Genel Bulgular	59
Çizelge 4.3.Deney Grubu Sigara İçmeyen Bireylere Ait Genel Bulgular	68
Çizelge 4.4.Deney Grubu Sigara İçen Bireylere Ait Genel Bulgular	70
Çizelge 4.5.Kontrol ve Deney Gruplarına ait Bulguların İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	76



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Etmenlerin Mutajenik Etki Mekanizmaları	6
Şekil 2.2. Benzen Metabolitleri	12
Şekil 2.3. Benzenin Genotoksik Etki Mekanizması	15
Şekil 2.4. Tümörün Kimyasal Olarak Oluşumundaki Temel Mekanizmalar	21
Şekil 2.5. Benzenin Metabolik Yolu	24
Şekil 4.1. Sağlıklı Bir Erkek Bireye Ait Giemsa-Tripsin Bantlama Yöntemi ile Hazırlanmış Metafaz Örneği	55
Şekil 4.2. Sağlıklı Bir Erkek Bireye Ait Giemsa-Tripsin Bantlama Yöntemi ile Hazırlanmış Metafaz Plağı ve Karyotip Örneği	56
Şekil 4.3 A.Dq izokromatid gap, Aq kromatid kırık.	60
Şekil 4.4 İzokromatid gap, İzokromatid kırık	61
Şekil 4.5. Giemsa-Tripsin Bantlama Yapılmış Endoredüplikasyon Kökenli Tetraploid Hücre	62
Şekil 4.6. Endomitoz Kökenli Tetraploid Hücre	63
Şekil 4.7. A.Aq Kromatid Gap, B.Bq Kromatid Kırık	65
Şekil 4.8. Aq kromatid kırık.	66
Şekil 4.9 Disentrik kromozom	67
Şekil 4.10 Kardeş Kromatid Değişimlerinin Olduğu Noktalar	71
Şekil 4.11. Bq Kromatid Kırık	72
Şekil 4.12. Kardeş Kromatid Değişimlerinin Oluştuduğu Noktalar	74
Şekil 4.13. Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı Oranları	77
Şekil 4.14. Yapısal Kromozom Düzensizlik Sayısı Oranları	78
Şekil 4.15 KKD/Metafaz Sayısı	79

1.GİRİŞ

Günümüzde teknoloji ve bilim insanlık tarihinde görülen en hızlı gelişim sürecini yaşamaktadır. Geçmişte soyut olarak açıklanabilen kavramlar şimdi çoğunlukla somut bilgiler net verilerle açıklanabilmektedir. İnsanların sahip oldukları olanaklar gözden geçirildiğinde, en değerli olanının sağlıklı yaşama hakkı olduğu mutlaktır. İnsanlığın evreler halinde gerçekleştirdiği bilimsel ve teknoloji alanındaki gelişmelerle ulaştığı bilgi birikimi, insan sağlığı sorunlarını daha anlamlı ve kesin çözüm yollarını önerecek netlikte ortaya koymaktadır.

İnsan sağlığı ile ilgili sorunlar toplum yaşamında önemli bir yer tutmaktadır. Sorunların çözümü için öncelikle sorunun kökeninin ortaya konması gerekmektedir. İnsanlar yaşam alanlarındaki olumsuz koşullarından biyolojik ve fiziksel olarak etkilenmektedirler. Olumsuz koşullar içinde çevresel kirleticiler ve sanayi atıkları önemli yer tutmaktadır. Bu çevresel etmenlerin en olumsuz etkisi: Canlılığın temelini oluşturan biyomoleküller, özellikle de yaşamsal olayların yönetiminden sorumlu deoksiribonükleik asit (DNA) üzerine olanıdır.

Yaşam ve yaşama ilgili tüm aktivitelerimizin gizi DNA adı verilen genetik materyalin yapısını oluşturan dört bazın (Adenin, Guanin, Sitozin, Timin) sonsuz kombinasyonda farklı dizilişi ve her dizilişin belirli bir yaşamsal anlam taşımasındadır. Genetik biliminin doğuşunda en büyük pay sahibi Mendel ve arkadaşlarının uzun süren çalışmalarından sonra canlılara ait özelliklerin sonraki kuşaklara aktarım kalıpları ortaya konmuştur. Bu aktarımdan sorumlu ünitelerin de genlerden oluştuğu saptanmıştır. Genlerin canlı hücrelerin nukleuslarında yer alan kromozomlar üzerinde bulunduğunun Griffit tarafından bulunması, günümüzde genetik hastalıkların belirlenmesinde ve tanımlanmasında önemli bir aşamayı oluşturmaktadır. Yeryüzünde yaşayan milyonlarca canlıyı birbirinden farklı kılan en önemli ölçüt türe özgü kromozom sayısı ve kromozomlar üzerindeki genlerin sayısı ve lokalizasyonudur. Kromozomlar üzerinde normalde inaktif halde bulunan ve onkogen adı verilen genler bulunmaktadır. Onkogenlerin sayısı, yerleri ve hangi kromozomlar üzerinde buldukları bilinmektedir [1]. Sadece 10, 13, 19, X ve Y

kromozomları üzerinde onkogen bulunmamaktadır. Onkogenler, normalde temel hücrede gerçekleşen pek çok yaşamsal aktivitenin yürütülmesinde görev almaktadır. Bu fonksiyonlardan en önemlisi ise hücre bölünmesidir. Sanayi atıkları, polisiklik hidrokarbonlar, radyasyon, sigara zehirleri gibi çevresel kirleticilerin bir çoğu bu onkogenlerin durumunu değiştirebilmekte ve değişen onkogen aktifleşerek kansere neden olabilmektedir [1].

Bu çalışmada petrol istasyonunda çalışan sigara içen bireylerde, sigaranın ve petrolde bulunan ve kanserojen etkisi bilinen benzenin etkileri incelenmiştir. Bu etkinin sigara içilmesiyle artıp artmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Yakın zamana kadar çevresel etmenler sonucu ortaya çıktığına inanılan kanserin artık genetik temelli olan bir hastalık olduğu tüm çıplaklığıyla ortaya konmuştur [1]. Bilinen tüm kanser olgularının ortak bir kökeni ya da ortak bir nedeni vardır. Bünyemizi oluşturan trilyonlarca hücrenin hepsinde nukleuslarda değerli bir hazine gibi saklanan DNA zincirinin kimyasal yapısının değişmesi, daha bilimsel bir deyimle mutasyona uğramasıdır. Hücre çekirdeğinde iplik yumağına benzer biçimde ve kromozom dediğimiz gruplar halinde saklı tutulan bu değerli DNA zinciri, her canlının varoluş temelini oluşturur. İnsanın olgun alyuvarları dışında kalan bütün hücrelerinde aynı basım kopyalar halinde bulunan bu DNA zinciri her hücrenin oluşumundan ölümüne kadar tüm yaşamsal aktivitelerinin programını taşımaktadır. Adenin-A; Sitozin-S; Guanin-G; ve Timin-T olmak üzere dört çeşit nükleotidin arka arkaya sıralanması ile oluşan bu dev bilgi deposu, 100 milyar harften ya da 100.000 kitaptan oluşan dev bir kütüphaneye benzetilebilir. Çok özel işlevleri olan birkaç hücre dışında, insan vücudunu oluşturan milyarlarca hücrenin her birinde bu dev kütüphanenin aynı basım kopyası bulunmaktadır. Diğer bir deyişle, insan hayatını başlatan döllenmiş yumurtadaki bilgiler, hücre her bölündüğünde kopyalanmakta ve milyarlarca kez tekrarlanan bu kopyalanma işlemi hemen hemen hiç hata oluşturmadan gerçekleşmektedir [2].

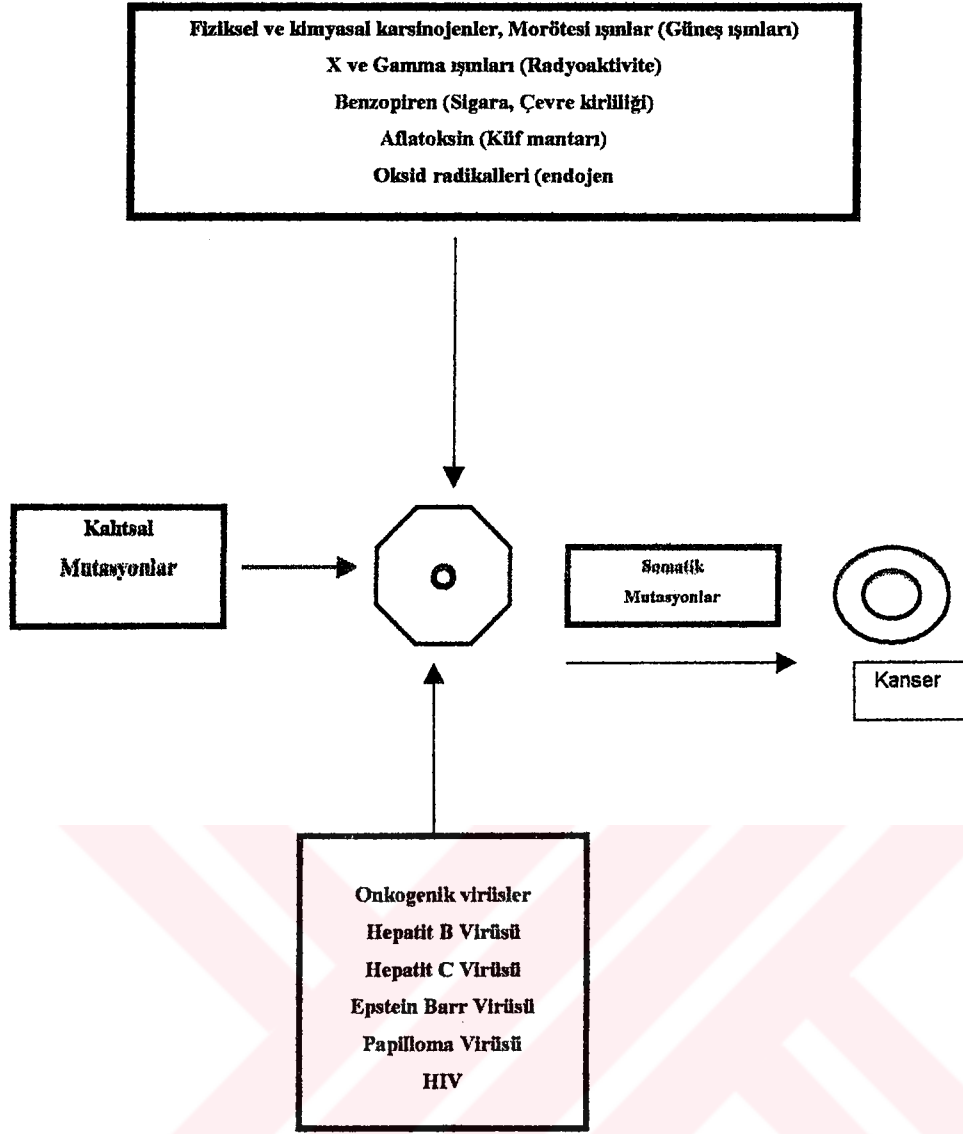
Kopyalamada hata oranı yalnızca yüz milyonda bir görülür. Bu çok güçlü kopyalama sisteminin en önemli işlevi, genetik bilgilerin stabilitesini sağlamaktır. DNA zincirindeki anahtar bilgiler yüz milyar nükleotidin arasına öbekler halinde serpiştirilmiştir. Bilim dilinde gen olarak isimlendirilen bu kimyasal bilgi öbekleri her insanda yaklaşık 100 bin civarındadır. Gen olarak isimlendirilen bilgi öbekleri yaşamın her evresinde etkin olabilmektedir. Genler aracılığı ile hücre, yaşam evresinde bazen bölünerek yavrulama (hücre çoğalması), bazen bir işlevi yerine getirme yeteneği (salgılama yeteneği) kazanabilir, bazen de bu işlev dinlenme olabilir. Bu bilgilerin içinde insanı şaşırtacak derecede beklenmeyenleri de vardır. Örneğin; hücrenin programlı bir şekilde yaşamının sonlandırılması (apoptosis) gibi; [2].

Tüm canlılar sürekli çevresiyle etkileşim halindedir. İnsanın çevresiyle uyum kapasitesi arttıkça yaşam şansı ve başarısı artarken, uyum kapasitesinin düşmesi yaşamsal sorunları daha ağırlıklı olarak hissetmesine hatta ölümüne neden olur. Bu durum bünyemizde hücreler için de aynen geçerlidir. Ait olduğu dokuya uyum yeteneğini kaybeden, işlevlerini yeterince yerine getiremeyen yıpranmış ve yaşlanmış hücrelerin ölümü kaçınılmaz bir sonuçtur. Hücreler çevresiyle iletişimini hücre membranı aracılığı ile sağlar. Hücre, bu membran aracılığı ile komşu hücreler ile doğrudan fiziksel ilişki kurar ya da salgıladığı özel kimyasal maddeler (hormonlar, toksinler,...) ile diğer hücrelerle iletişim kurar. Hücre, membran yapısında yer alan alıcı reseptör proteinler aracılığıyla mesajları algılar, değerlendirir ve ne yapması gerektiğine karar verir [1].

Kanser açısından en önemli hücre işlevlerinden birisi; çevreden gelen mesajlara göre çoğalma, farklılaşma ve apoptosistir. Bu hücre işlevleri insanın bir bütün olarak bir hücreden bünye oluşturabilmesi (gelişim) ve çevreden gelen zararlı etkenlerden (viruslar, kimyasal toksik maddeler, güneş ışınları vb.) kendini koruyabilmesidir. Her hücre ait olduğu organizmayı ayakta tutabilmek için gereken davranışı seçmek durumundadır. Bazen ölen hücrelerin yerine (örneğin bağırsak ya da derideki hücreler) yenilerini koymak gerekebilir, bazen de fazladan hücre yapımı (örneğin virüslerle savaşmak için bağışıklık hücrelerinin çoğaltılması) gerekebilir. Hücre yenilenmesi ya da vücudun gereksinimine göre bazı dokularda gerekli yeni yapılanmalar (örneğin meme dokusunun genç kızlarda gelişmesi ve menapozdan sonra küçülmesi) için sürekli düzenlenmesi gereken çoğalma-farklılaşma-ölüm programları, sayıları yüzün üstünde olan değişik proteinler tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinler: hücrenin çoğalmasını sağlayan bir çeşit yeşil ışık görevini yapan proteinler, hücre çoğalmasını durduran ve bir çeşit kırmızı ışık görevini yapanlar ve hücrenin ömrünü noktalayan yaşlanma ve intihar proteinleri olmak üzere üçe ayrılır. Kanser olgusunun başlangıcı bu proteinleri kodlayan genlerden birinin yapısındaki değişime (mutasyona uğraması) dayanmaktadır. Bazen bu genler ana ya da babadan çocuğa hatalı olarak aktarılabilir. Her on kanser olgusundan birine yol açtığı bilinen bu tür aksaklıklar kanserin bazı kişilerde kalıtım

yolu ile geçen bir hastalık olarak ortaya çıkmasının temel nedenidir. Bazen aynı genler çevredeki kanser yapan kimyasal maddeler tarafından mutasyona uğratılabilir. Örneğın; bilinen kötü huylu kanserlerin yarıya yakınıını oluşturan solunum yolu kanserleri sigaradaki kanser yapan maddelerin (**özellikle benzopiren**) yol açtığı gen mutasyonlarına bağlıdır. Tedavisi kolay olduğu için sayısı genellikle kaydedilmeyen, ama insanda en sık görülen kanser tipi olan deri kanseri (**epidermoid tipi**) güneşın yaymış olduğu morötesi (**ultraviöle**) ışınların yol açtığı gen mutasyonlarına bağlıdır. Çevredeki kimyasal ya da fiziksel etkenlerden köken alan kanserlerin oranı, dokulara göre değişmesine karşın, yüzde ellinin üstündedir. Her on kanserden ikisi de viral etmenlerden köken almaktadır. Kanser yapan viruslardan papilloma virüsü de genellikle hücre proteinlerini taklit eden virüs proteinleri sentezleyerek düzenleyici genlerin işlevlerini bozmakta ve hücrelerin aşırı çoğalmasına neden olarak kanserleşmeye yol açmaktadır. Henüz oranı tam saptanamayan ve özellikle yaşlılarda görülen kanserlerin kaynağında ise hücre yaşlanmasının daha doğrusu yaşlanma sırasında hücrelerde biriken toksik maddeler nedeniyle kendiliğinden oluşan mutasyon birikmesinin bulunduğu tahmin edilmektedir [2].

Kanser konusunda çalışan bilim adamlarının son yıllarda sıkça kullandığı Cell fate terimine hücre kaderi diyebiliriz. Hücre kaderi ya da yaşam periyodundan kast edilen; hücrenin doğumundan ölümüne kadar geçireceği dört ayrı evreyi belirleyen bir genetik programın olduğudur. Her hücre, çoğalma, farklılaşma, yaşlanma ve ölüm seçeneklerini belirleyen genetik programları yapısında içerir. Hücrelerin kanserleşmesi dış çevreden gelen etkenler aracılığıyla oluşabilmektedir. Bu olay aşğıdaki gibi şematize edilebilmektedir [2].

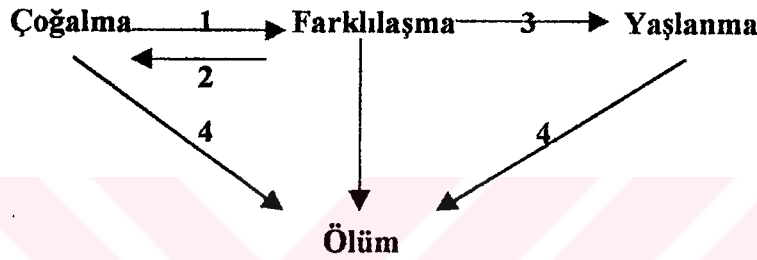


Şekil.2.1. Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Etmenlerin Mutajenik Etki Mekanizmaları [2]

Çoğalmakta olan bir hücrenin yaşam aktivitelerinin yürütmesi ve kendi benzerlerini oluşturması için geçirdiği evrelerin tümüne birden hücrenin yaşam döngüsü adı verilir. Bir yaşam döngüsü sonunda bir hücreden iki hücre oluşur ve gereksinimler oranında yeni oluşan hücreler yeni döngüler yaparak çoğalmaya devam ederler. Hücrenin yaşam döngüsü: Hücrenin normal yaşamsal etkinliklerini gerçekleştirdiği ve bölünme öncesi hazırlıkların yapılmasını içeren İnterfaz ve bölünmenin gerçekleşerek çoğalmanın sağlandığı mitoz olmak üzere iki aşamadan

oluşur. İnterfaz protein ve RNA sentezinin yürütüldüğü G_1 , S ve G_2 olmak üzere üç evreden oluşur. S (sentez) evresinde ayrıca hücre DNA'sı sentezleme yoluyla kopyalanarak iki katına çıkarılır. Mitoz aşamasında ise ikiye katlanmış olan DNA iki yavru hücre için kullanılmak üzere eşit biçimde ikiye ayrılır, ayrılan DNA'ların çevresinde hücredeki diğer yapıların yine eşit olarak öbeklenmesi ve hücre zarının ikiye ayrılması ile iki yeni hücre oluşur.

HÜCRE YASAMINI BELİRLEYEN GENETİK PROGRAMLAR



1. **Hücre çoğalmasını durduran ve farklılaşmayı sağlayan genler.** Kanseri hücrelerde etkinliklerini yitirirler.
2. **Hücre çoğalmasını sağlayan genler.** Etkinliği kanseri hücrelerde artar.
3. **Hücrelerin yaşama ve bölünme yeteneklerini zamanla sınırlı olarak programlayan genler.** Kanseri hücrelerde etkinliklerini yitirirler.
4. **Hücre ölümünü programlayan genler.** Kanseri hücrelerde etkinliklerini yitirirler.

Kanseri hücreler sürekli bölünme eğilimi olan hücrelerdir. Kanseri hücrelerdeki bozukluklar genellikle G_1 evresini düzenleyen genler üzerindedir. Bugün insan kanserlerinde gözlemlenen gen bozukluklarının tamamına yakını G_1 evresindeki ilerlemeyi doğrudan ya da dolaylı olarak düzenleyen genler üzerindedir. Kanseri etmeni aksaklıkları taşıyan genleri de iki ana sınıfa ayırmak mümkündür [2].

1. **Onkogenler:** İlk keşfedildiği zaman kanserin tek nedeni olduğu sanılmaktaydı. Onkogenler hücre çoğalmasında itici görev yapan genlerdir. Onkogenlerin aslında proto-onkogenlerin (onkogen olmaya aday gen) bozulması sonucu ortaya çıktığı yetmişli yılların sonlarında belirlenmiştir. Sahiplerine nobel ödülünü getiren bu buluş kanser konusunda bir dönüm noktası oluşturmuştur. Böylece, ajan provakatörler (kanserojenler) dış kaynaklı olsa bile kanserin hücre içi hastalık olduğu yani yaşamı ayarlayan genetik programların yanlış amaçlı olarak çalıştırılması sonucu ortaya çıktığı anlaşılmıştır [1].

2. **Tümör Süpressör Genler:** Proto-onkogenlerin tersi işlev yapan genlerdir. Bu genler kanserin oluşmasına set oluşturan, asıl işlevi normal hücrenin kötü yola sapmasını engellemek olan, bir çeşit bekçilik ödevi yaparlar. İlk örneği 1986'da bulunan bu gen grubu etkinliklerini kaybettikleri zaman kansere neden olurlar. İnsan kanserlerinde en sık bozulmaya uğrayan onkogen *ras* onkogenidir, bunu *myc*, *siklin D*, *ret*, *erb-B*, *bcl2*, *mdm2*, *abl* gibi diğer onkogenler izler. Bu genlerden bir kısmı hücre çoğalmasını doğrudan düzenlemektedirler. Diğer bir kısmı ise hücreye sürekli çoğal sinyali gönderen proteinleri sentezler. Tümör süpressör baskılayıcı genler için *p53*, *RBI*, *p16*, *BRCA1*, *BCRA2*, *APC*, *WT1*, *VHL* örnekleri verilebilir [1].

Hücre çoğalması, her ne kadar kanserde en sık bozulan program olsa da, son yıllarda hücre ölümü ile kanser arasında da ilginç bir ilişki ortaya çıkmıştır. Hücre ölümü kaza sonucu olabildiği gibi bilerek ya da önceden programlanmış ölüm biçiminde de olabilir. Her hücrede nasıl ki çoğal ve çoğalma ikilemini düzenleyen bir denge varsa aynı şekilde ölüm ve yaşam ikilemini de düzenleyen bir denge vardır. Birbirini dengeleyen terazi kefeleri biçiminde evrim sırasında ortaya çıkan bu sistem sayesinde, hücre her an ölmeye hazır durumda beklemektedir. Şimdiye kadar bu işlevi yürüten on kadar gen belirlenmiştir. Bu durumda kanser gen bozulması sonucu oluştuğuna göre bu bozulmayı oluşturan nedenler önem kazanmaktadır. Kanser karşısında bireyler ve toplumlar aynı şansa sahip değildirler. Bunun en belirgin nedeni çevre ve yaşam koşullarındaki farklılıklardır [2]. Karsinojenler olarak isimlendirilen belirli çevresel ajanlar kansere yol açabilen mutasyonlara neden

olurlar. Bu mutasyonlar onkogenleri aktive eder ya da tümör supressör genleri inaktive ederler [3].

Birçok insan popülasyonu çeşitli kimyasal maddelerden mesleki yaşantıları gereği ister istemez etkilenmek durumundadır. Bu maddelerin bazılarının mutajen ve kanserojen oldukları bilinmektedir. Bu maddelerden bir tanesi de günlük yaşantımızda her alanda kullanılan petroldür. Petrol bir çok ürünün ham maddesidir. Petrol, insan ve hayvanlar için kanserojen maddeler olan polisiklik ve alifatik hidrokarbonlar içerir. Bu maddeler yüksek derecede değişken kompleks bir karışım olup içeriğinde benzen ve 1-3 butadien taşır. Benzen kanserojen bir maddedir ve aynı zamanda petrolün içeriğinde de yer alır. Benzen başta boya ve mobilya sanayiinde kullanılan maddeler ve yapıştırıcılar olmak üzere pek çok maddenin yapısında çözücü olarak kullanılır. Benzenin farelerde klastojenik ve insanlarda ise karsinojenik olduğu belirlenmiştir [4].

Pek çok meslekten insan popülasyonu doğrudan ve dolaylı olarak benzen etkisinde kalmaktadırlar. Bunlardan birisi petrol pompa istasyonu çalışanlarıdır. Bu çalışmada, Mersin ili içerisinde bulunan petrol pompa istasyonlarında çalışan işçilerden alınan kan örnekleri ile yapılan lenfosit kültürlerinde, petrolün içinde bulunan benzenin insan kromozomlarında Yapısal Kromozom Düzensizlikleri temelinde klastojenik ve Kardeş Kromatid Değişimi (KKD: Kardeş Kromatid Değişimi) temelinde genotoksik etkileri araştırılmıştır.

2.1.GENEL BİLGİLER

Aromatik hidrokarbonlar içeriklerinde sadece C ve H'den oluşan doymamış yapıda, karakteristik olarak güzel kokulu bileşiklerdir. Yapısında bulunan C ve H sayısı eşittir. 1825 yılında Faraday tarafından benzenin gaz yağından elde edilmesinden sonra bütün aromatik bileşiklerin yapılarında benzen içerdikleri belirlenmiştir. Benzen başta petrol olmak üzere birçok organik maddenin yapısında bulunmaktadır. Benzen oda sıcaklığında renksiz, aromatik yapıda bir sıvıdır. İyi bir

çözücü olması yanında organik çözücülerin çoğunda çözünür. Suda çözünürlüğü çok düşüktür. Benzenin diğer kimyasal özellikleri çizelge 2.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Benzenin kimyasal özellikleri

Molekül Ağırlığı	78.11
Donma Noktası	5.5 ⁰ C
Kaynama noktası	80.1
Yoğunluk	0.879
Viskosite	0.654 mPa.s
Alevlenme Noktası	-11 ⁰ C
Kendiliğinden tutuşma noktası	595 ⁰ C

Benzen (C₆H₆) halkalı bir bileşik olup altı karbon birbirine bağlanmıştır. Her karbon sp² melezleşmesi yapmıştır ve halka düzlemsel yapıdadır. Her bir karbon bir hidrojene bağlıdır ve halka düzlemine dik bir P orbitali taşır. Bu altı P orbitali Pi bağı yapmak üzere birer elektron içerir. Benzenin yapısında yer alan altı P elektronu üç Pi bağı yapar.

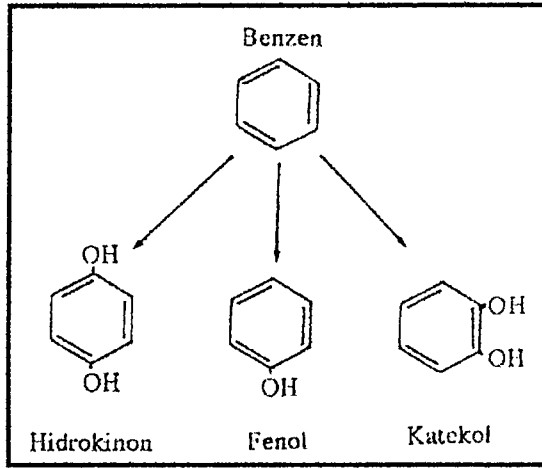
Benzende bütün karbon-karbon bağı uzunlukları eşittir ve 1.40 Å⁰ dur. Bütün bağlar C-C çift bağından daha uzun, C-C tek bağından daha kısadır. Benzen halkası eğer üç tek bağla ayrılmış lokalize üç bağdan oluşsaydı, bağı uzunlukları farklı olurdu. Bütün karbon-karbon bağları eşit uzunlukta olduğundan, halkada ardışık çift bağı ve tek bağı yoktur. Bağı uzunluklarının eşit olması benzenin simetrik bir molekül olmasını ve halkadaki bağların tamamen birbiri ile aynı olmasını sağlar [5].

XIX. yüzyılın sonlarından beri yüksek oranlarda benzenin etkisinde kalma, ciddi hematolojik baskılanmalara neden olabilmektedir. Benzenden etkilenmiş popülasyonlarda alyuvar, akyuvar ve trombosit sayılarında önemli azalmalara neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [6]. Benzenin kemik iliğı depresyonu ve lösemi üzerine etkileri ilk olarak 1897-1928 yılları arasında keşfedilmiştir. 1987

yılında OSHA (Occupational Safety and Health America) tarafından benzen limiti, 8 saat ve üzerinde etki altında kalanlar için 10 ppm olarak duyurulmuştur [7].

Benzen uçucu ve çözücü özelliği nedeniyle solunum, deri ve oral yol ile bünyeye alınmaktadır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) genel olarak kan zehirleri grubuna girerler. Bunların içinde en toksik olanı benzendir. Benzenin insanlarda leukomojenik etkisi de bir çok çalışma ile kanıtlanmıştır. [8]. Polisiklik aromatik karbon bileşikleri hücrel metabolizma ile epoksitlere (siklik eterler) ya da radikallere dönüştürülürler. 3,4-benzopiren endoplazmik retikulumda sitokrom p450 katılımıyla arenoksite, arenoksit de epoksit hidrataz tarafından bir transdihidrodiol dönüşür. Geçici kanserojen (proksimat karsinojen) olarak tanımlanan bu kanserojenden sitokrom p450 ile yeni bir epoksidasyonla kesin kanserojen (ultikate karsinojen) etki kazanır. Bir epoksit (trans-isomer-7, 8- diol-9, 10) olan bu son ürün epoksit halkasının parçalanmasıyla Guaninin amino grubu gibi nükleofilik bazlarla kovalent bağlar kurar. Bu olaya paralel seyreden zehirsizleştirme metabolizmasına sahip karaciğer sayesinde yabancı kimyasal maddelerin oksidatif metabolizmalarında, kimyasal, inert kanserojenlerin kesin kanser oluşturan maddelere dönüştürmesi de doğanın açık bir paradoksudur. Sitokrom P450 ve epihidrataz benzopirenlerin yıkılımı ve olası metabolitlerden güçlü kanserojenlerin oluşumunda beraberce görev yapan enzim sistemini oluştururlar [9].

Benzen İnsanlarda lösemiye indükler ve hayvanlarda çoklu organ kanserlerine neden olmaktadır. Ancak yoğun araştırmalara karşın henüz lösemiye neden olma mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Karsinojen ajanların aksine benzen DNA'ya zayıf bağlanma yeteneği gösterir. Bu alanda yapılan çalışmalarda, translokasyon, kromozomlarda meydana gelen rearanjmanlar, rekombinasyon, ya da anöploidi gibi sitogenetik değişimlerin bu ajan tarafından oluşturulan karsinogeneziste önemli bir rol oynadığı sanılmaktadır [4, 10, 11, 12,13]. Benzenin en önemli metabolitleri fenol, katekol ve hidroquinondur.



Şekil.2.2. Benzen metabolitleri [14]

Benzenin fenolik metabolitleri insanlarda lösemiye neden olabilmektedir. Hidroquinon immun sistem hücrelerine sitotoksik etki gösterir. İnsanlarda dermatosis adı verilen deri reaksiyonlarına neden olabilmektedir. Hidroquinonun teratojenik bir etkisinin olup olmadığı henüz bilinmemektedir [15]. Hidroquinon klastojenik etkisi bilinmekle beraber etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Hidroquinon'un olası klastojenik etkisi oksijen radikalleri oluşturma yeteneği ile veya DNA'ya kovalent olarak bağlanması ile açıklanabilir. Ya da DNA polimeraz, RNA polimeraz ya da DNA replikasyonunda ve transkripsiyonunda rol oynayan Ligaz ve Topoizomeraz gibi enzimleri inhibe etme şeklinde olabilir. Benzen metabolitlerinin hem yapısal hem de sayısal kromozom düzensizliklerini oluşturabildiğinin gösterilmesi benzenin neden olduğu lösemiye ışık tutabilir. Kromozomal düzensizlikler belirli tümörlerin neoplastik gelişiminde önemli rol oynar. Çeşitli onkogenlerin, tümör supressör genlerin ve büyüme faktör genlerinin kromozomal lokalizasyonunun karsinojenik yollarla oluşabilen kromozomal segment ya da kromozomal translokasyonlar, eksilmeler ya da artışlar, potansiyel moleküler mekanizmayı belirlemektedir [11].

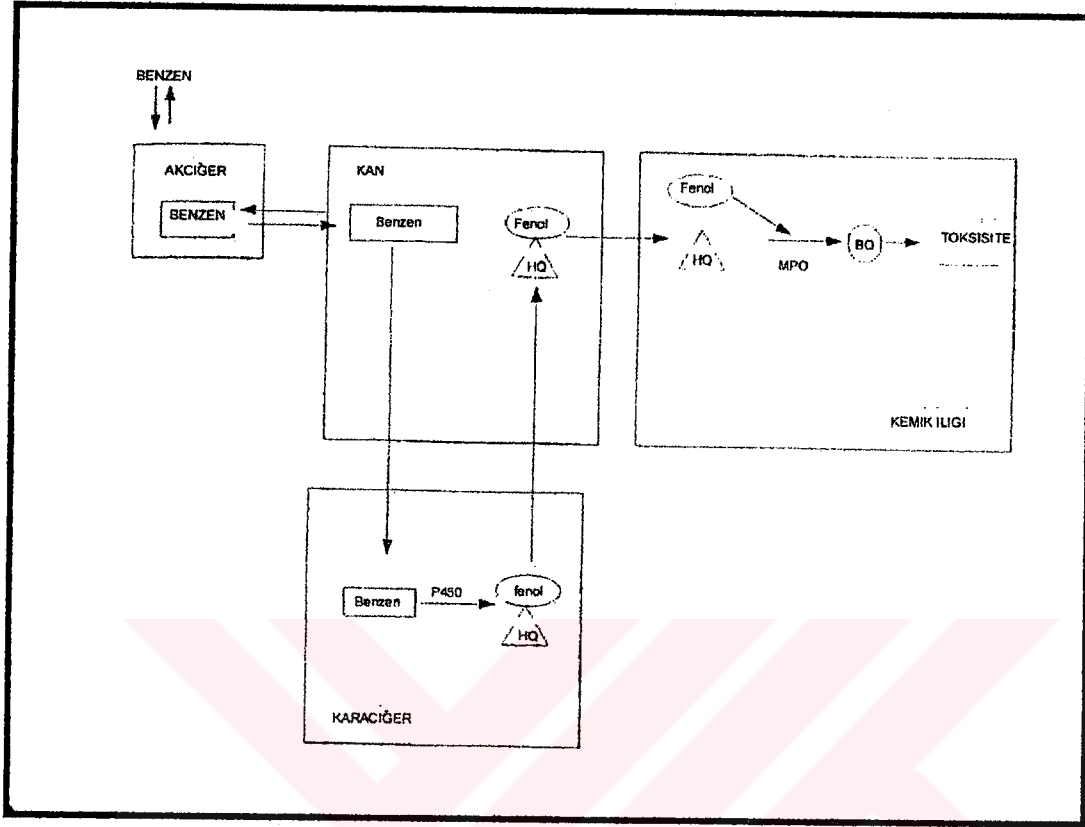
İnsanlarda benzenin major metabolizması karaciğerde oluşur. Benzen en küçük ve en stabil olan aromatik hidrokarbondur. Toksik olması için benzenin ara ürünlere metabolize olması gerekmektedir. Çeşitli yollarla organizmaya giren

kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girer ve böylece aktif metabolitlere dönüşürler [16]. Karsinojenik kimyasalların birçoğu esas karsinojen olarak bilinen kimyasal olarak reaktif formunun metabolik aktivasyonundan sonra ya da kendi kendine biyolojik makromoleküllerle kovalent bağ yapabilirler. Biyolojik makromoleküllerde oluşan bu bağ, eğer duyarlı olan DNA ile yapılmış ise doğrudan kalıtsal hasar oluşturabilir. DNA'daki bu hasar, hücre bölünmesine kadar tamir edilmemişse tümör oluşumunda rol oynayan bir mutasyon oluşturabilir.

Kanserojen maddeler etki mekanizmalarına göre genotoksik ve epigenetik kanserojenler olmak üzere ikiye ayrılır. DNA ile etkileşerek kanserojen etki gösteren kimyasal maddeler genotoksik kanserojenler olarak adlandırılırlar. Birçok kanserojen maddenin kendilerinin ve metabolitlerinin kuvvetli elektrofil oldukları ve böylece DNA ile etkileşerek değişme yaptığı gösterilmiştir. Benzen genotoksik bir ajandır. Epigenetik kanserojenler ise genotoksik etki göstermeyen kimyasal kanserojenler sınıfını oluşturur. Epigenetik kanserojenlerin kronik doku hasarı, hormonal dengesizlik, immunolojik etkiler ve hücrelerde genetik nedenle veya genotoksik kanserojen maddelerin etkisi ile başlatılan etkiyi, teşvik edici mekanizma ile kanser oluşturdukları ileri sürülmektedir. Kanserojenler sadece çok duyarlı bir molekül olan DNA'yı etkilemekle kalmaz aynı zamanda çeşitli RNA ve proteinleri de etkiler. Bu makromoleküllerden bazıları hücrenin büyümesinin kontrolünde veya DNA replikasyonunda önemli rol oynar, bu da tümör başlangıç mekanizması için epigenetik olarak önemlidir. Bununla birlikte, DNA ile oluşan karşılıklı bağların, RNA ve proteinlerle oluşturulan bağlardan daha fazla tümör etkisi gösterdiği saptanmıştır [17]. Benzen ve metabolitlerinin hemaopoetik etkileri de sözkonusudur. Benzen ve metabolitleri kemik iliği toksisitesine ve lenfosit sayısında azalmalara neden olmaktadır. Benzen hepatosellüler dokuda dejenerasyona neden olarak, hücre çoğalmasını kısıtlamaktadır. Böylece aplastik anemiyi ve lenfopeniyi oluşturmaktadır. Akut myeloid lösemiye ve lenfoma gibi kanserlere de yol açmaktadır [18].

Benzenin biyolojik etkileri oldukça karmaşıktır. Bu nedenle toksik etkilerinin ortadan kaldırılması için metabolize edilmesi gerekir. Fenol, karaciğerde Sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi tarafından benzenin oksidasyonu ile oluşturulur. Benzenin temel metaboliti hidroquinon ve katekoldür. Bunlardan Hidroquinon karaciğerde fenolün hidroksilasyonu ile, katekol ise benzen dihidrodolün dehidrojenasyonu ile oluşturulur. Hemaopoetik dokuda toksisitesi olduğu için benzenin ve metabolitlerinin kan tarafından taşınması gereklidir. Daha sonraki metabolik yol kemik dokuda geçmektedir. Kemik iliği benzeni metabolize etmek için sınırlı bir kapasiteye sahip olmasına rağmen dokudaki metabolitlerini ölçmek yetersiz görünebilir. Fenol hızlı olarak kemik iliğinde metabolize edilir. Benzenin quinon metabolitlerinin toksik olduğu hem in vivo hem de in vitro çalışmalarla lenfoid hücrelerde gösterilmiştir [19, 20]. Benzen metabolizmasında ilk adım, fenolün oluşumudur. Bu adım, benzenin sitokrom P₄₅₀ monooksijenaz metabolizmasını kapsamaktadır. Benzen P₄₅₀ IIE1 izoenzimi için bir substrattır ve P₄₅₀ monooksijenaz fenolün hidroquinona ve katekole metabolize edilmesinde aktiftir. Fenol epoksit halkasının açılmasıyla asit katalizörlüğünde benzen oksitten oluşturulabilir. Geri dönüşümlü sistemlerde benzenden fenolün oluşumu sırasında, izoenzim P₄₅₀ IIE1'in radikal hidroksil manitol, Dimetilsülfoksit (DMSO), katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz tarafından inhibe edildiği rapor edilmiştir. Bu bulgular hidrojen peroksitten oluşan hidroksil radikalleri tarafından sitokrom P₄₅₀'ye bağımlı fenol oluşumuna aracılık ettiği iddia edilmektedir. Sitokrom P₄₅₀'nin aracılık etmiş olduğu fenol metabolizması hidroquinon, katekol ve 1,2,4-benzentriol'ün oluşmasına yol açar. Katekolün oluşması için diğer bir yol epoksit hidrolaz tarafından benzen oksitin benzen-trans dihidrodiole metabolizmasını gerektirir. Benzen oksit, glutatyon transferazın etkisi altında glutatyonla reaksiyona girer. Hidroksile olmuş aromatik benzen metabolitleri daha sonra sulfata ve glukuronik asit bileşenlerine metabolize edilir [21]. Solunum yoluyla alınan benzen akciğerlerden kan yoluyla karaciğere taşınır. Burada fenol ve hidroquinona dönüşür (hepatik değişim). Benzenden oluşan fenol ve hidroquinon burada yine kan yolu ile kemik iliğine taşınır (Metabolitlerin kemik iliğine seçici toplanması hidroquinon oksidasyonunun fenole bağlı uyarıcılarının lokalize olması) ve burada peroksidatif enzimlerden myeloperoksidaz (MPO) ile oldukça toksik bir madde olan 1,4 -

benzokinon oluşur. Benzenin kabul edilen genotoksisite oluşturma mekanizması şekil 2.3'te verilmiştir .



Şekil 2.3. Benzenin Genotoksik Etki Mekanizması [17]

2.1.1. Karsinojenite

Yüksek dozda benzenden etkilenme ile lösemi ve diğer bazı hastalıklar arasında ilişki vardır. 1977 'de akut myeloid lösemisinin 54 çeşidinin benzenden etkilenme ile ilişkili olduğu ortaya çıkarılmış ve aplastik aneminin alt türleri ilişkisi belirlenmiştir. Erytrollösemi, akut monositik lösemi, kronik myeloid lösemi, akut lenfoblastik lösemi, kronik lenfositik lösemi ve myeloid metaplazia gözlenmiştir. Bir çok türde geniş olarak yapılan çalışmalar göstermiştir ki; benzen etkisinde kalma ile lösemi arasında bir ilişki vardır. Benzene bağlı lösemnin mekanizması aydınlatıldığında, düşük doz benzenden etkilenme sonucu oluşan lösemi araştırılmış ve kesin kanıtlar açığa çıkarılmıştır. Benzenin insanlarda ve kemiricilerde bir kanserojen olduğu genel olarak kabul edilir. İnsanlarda lösemi ve lenfoma tipi

kanserler oluşmasına rağmen, kemiricilerde ise Zymbal glandlarındaki kanserler görülmektedir. Bireylerin benzenden etkilenme açısından duyarlılıkları farklılıklar gösterir. Benzenden etkilenme süresi ve doz yanında yaş, genotip, immünokompetans ve yaşam biçimi bu duyarlılıkları etkilemektedir.

Kemirgenlerde yapılan çalışmalar, benzen metabolitlerinin makromoleküllere irreversibl olarak bağlandığını göstermişlerdir. Metabolitler öncelikle mikrozomal proteünlere, ikincil olarak ta RNA'ya bağlanır. Bağlanma olayından ise benzen oksitten daha çok fenolün sorumlu olduğu gösterilmiştir [19]. Benzenin karsinogenezdeki rolünü araştırmak, uygun bir hayvansal modelin bulunmasındaki güçlükler nedeniyle zordur. Benzenden etkilenen farelerde ve ratlarda akut ve kronik myeloid lösemi oluşturabilmektedir. Daha önceki savlar, karsinogenezin oluşması ya DNA'ya ara ürünlerin kovalent bağlanması - ya da DNA'nın oksidatif parçalanmasıyla oluşması şeklinde idi. Benzen ve benzen metabolitlerinin B lenfositlerdeki immunoglobulinleri kodlayan bir genle bir protoonkogenin ilişkisini doğurmakta bu olay translokasyonla t(15;17) sonuçlanmaktadır. Bunun sonucu olarak Retinoik asit reseptörünün mutant geni oluşmaktadır. Böylece kromozomal düzensizlik tipleri olan sayısal ve yapısal düzensizliklerde, mikronukleus oluşumunda ve kardeş kromatid değişimi oranlarında artışlar olmaktadır [21].

Kromozomlardaki yeniden düzenlenmeler, protoonkogenlerin ve tümör süpressör genlerin aktivasyonunda önemli rol oynarlar. Kansere genetik yatkınlığın birçok tipi yapısal kromozom düzensizliği ile ilişkilidir. Bununla beraber neoplastik hücrelerin bütün tiplerinde, karyotip farklılıklarına rastlanmıştır ve bu farklılıklar tanıda sık olarak kullanılmaktadır [22].

Benzen insanlarda aplastik anemiye, akut myeloid lösemiye (AML) ve myelodisplastik sendrom'a (MDS) neden olan bir lökomojendir. Kromozomlardaki sayısal artışlara neden olur. Benzen metabolitlerinden, özellikle, Hidroquinon ve 1,2,4 benzentriol AML'de spesifik kromozom düzensizliklerinden 5 ve 7 nolu kromozomlarda oluşan anomalilerdir. Bu iki metabolitten Hidroquinon benzen metabolizmasında oluşan temel üründür. Hidroquinon'un benzoquinona oksidasyonu

ile benzenden etkilenmiş bireylerde gösterilen aberasyonların temel nedenidir. Benzenin neden olduğu AML'de meydana gelen kromozomal değişikliklerin kemoterapötik ilaçların neden olduğu kromozomal değişikliklere eşittir. Benzen etkisinde kalmış bireylerde 1, 5 ve 7 nolu kromozomların tetrazomisinin arttığı gösterilmiştir. Periferik kan lenfositlerinde AML'ye özgü düzensizliklerin sayılması (hesaplanması), benzen gibi genotoksik ajanların etkisiyle oluşan lösemi riskini ve kromozomal hasarın ölçülmesini sağlar. Kromozom 5 ve 7'nin uzun kolundaki hasarlar gösterilen major yapısal düzensizliklerdir. Benzenin kromozom 5'in uzun koluna etkisi, kromozom 7'nin uzun koluna olan etkiden daha fazladır. Benzene maruz kalma bazı kromozomlarda telomer kayıplarına neden olur. Telomer eliminasyonu kromozomlarda kayıplara neden olmaktadır [23].

Benzenin AML riskini arttıran bir kimyasal olduğu belirlenmiştir. 8 ve 21 nolu kromozomun trizomisini kapsayan kromozom düzensizlikleri ve bu iki kromozom arasındaki translokasyon (8;21) (q22;q22) genellikle AML'de görülmektedir. 8;21 translokasyonu AML'de görülen en özgün translokasyondur. AML'nin alt tiplerinde değişik gen bölgelerinde değişiklikler oluşmaktadır. AML-M2 tipinde 21 nolu kromozom üzerindeki AML1 (CBFA2) gen bölgesi ve 8 nolu kromozom üzerindeki ETO (MTG8) gen bölgesi etkilenir.

Benzenden etkilenme kromozom 8'de kırıkların artmasına ve 8 ve 21 nolu kromozom ve diğer kromozomlar arasındaki translokasyonlara neden olmaktadır. Ve t(8;21) translokasyonunun, benzenden etkilenmiş bireylerde 15 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Günümüzde iyi bilinen konu benzen ve metabolitlerinden uzun süreli olarak etkilenme insanlarda lenfoma, lösemi ve kemiricilerde ise Zymbal glandlarında ve hepatosellüler karsinoma gibi kanser türlerine neden olabileceği bilinmektedir. Hem insanlarda hem de deney hayvanlarında kanın hücresel elemanlarında azalmalar görülmektedir. Kan elemanlarındaki azalmalar lenfositopeni ve trombositopeniyi kapsamaktadır ve ayrıca aplastik anemiye neden olabilmektedir. 100 ppm'in üzerindeki derişimlerdeki benzenden etkilenme insanlarda AML ve muhtemelen

lenfomayı indüklediği bilinmektedir. Bireylerin benzenden etkilenmesi ile ortaya çıkan etkiler bireyler arasında yaş, genotip, yaşam tarzı, immunokompetans gibi faktörlerin farklı olmasına bağlı olarak değişmektedir [24].

Benzen aynı zamanda, çoğunlukla gap ve kırıkları içeren kromozomal düzensizliklere neden olmaktadır. Benzene maruz kalmış bireylerde KKD oranlarının arttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, kromozomal düzensizliklerin ve mitotik rekombinasyonların benzenin insanlarda lösemiye oluşturma mekanizmasında temel oluşturduğunu göstermektedir. Benzen belirli kromozomlarda, özellikle, C grubu kromozomlarda sitogenetik değişimlere neden olmaktadır. Bundan başka C grubu kromozomlardan herhangi birinin trizomisine de neden olmaktadır. C grubu kromozomlarının sayısal ve yapısal değişimleri benzenin neden olduğu lösemi oluşumunda önemli rol oynayabilir.

Benzenin fenolik metabolitlerinin, DNA problemleri ve geliştirilmiş kinetik teknikleri kullanılarak kromozomal kırılmalara neden olduğu ve kromozomların normal dağılımlarının değişmesine neden oldukları gösterilmiştir. Kromozomlarda yanlış dağılım sonucu C grubu kromozomlarda trizomiler oluşmaktadır. 1, 7 ve 9 nolu kromozomlar için sentromerik problemler kullanılarak yapılan Fluoresan In Situ Hibridizasyon (FISH) çalışmalarında bu kromozomlarda hiperploidi olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar kromozomlardaki kırılmalardan, artış ve azalmalardan benzenin fenolik metabolitinin sorumlu olduğu bildirilmiştir. Benzen metabolitlerinin neden olduğu kromozomal etkiler ve kromozomların yanlış dağılmasına neden olan mekanizma açık bir şekilde tanımlanmamıştır. Ancak çok çeşitli mekanizmalar önerilmektedir. Bu mekanizmalar, serbest radikallerin aracılık ettiği hasar, DNA'ya kovalent bağlanma ve DNA replikasyonunda ve transkripsiyonunda ilişkili enzimleri içermektedir. Petrolden etkilenmiş bireylerde yapılan araştırmaya göre; benzenin en etkili madde olduğu ortaya konmuştur [25].

Benzenin Metabolitlerinden olan 1,4-benzokininin Biyolojik Etkileri

1,4-Benzokininin biyolojik etkileri sekiz ana başlıkta toplanır.

1. DNA ve proteini bağlarını etkileme.

2. Mikrotübül oluşumunu engelleme.
3. DNA ve RNA sentezini engelleme.
4. Tek iplikte DNA kırıklarına neden olma.
5. İn vitro olarak insan lenfositlerinde Kardeş Kromatid Değişim oranlarında artışa neden olma.
6. Hücre bölünmesi esnasında kromozomal parçalanmalara neden olma.
7. Metafaz sırasındaki etkiler ile hücre bölünmesini engelleyici sonuçlar oluşturma.
8. Kemik iliği blastogenesisine ve aglütünasyonuna neden olma.

Yukarıda da belirtildiği gibi 1, 4-benzokinon mikrotübül oluşumuna etkide bulunarak bölünmenin seyrinde değişikliklere neden olarak poliploidi oluşumuna neden olabilmektedir. DNA ve RNA sentezini etkilemesi sonucunda da vücut için gerekli olan proteinler yapılamamakta, bu da organizmanın fizyolojisinde değişikliklere neden olabilmektedir. Ayrıca kemik iliğinin stromal hücrelerinin büyümesine engel oluşu ile lenfosit üretiminde dolaylı olarak ta immün sistemde çalışma bozukluğuna neden olabilmektedir. Bunun yanında lenfositler üzerinde yapmış olduğu doğrudan etkiler ile onların üremesine ve aglütünasyonuna neden olmaktadır. Bu biyolojik etkilerinden başka DNA hasarı, kromozomal kırıklar, aneuploidi ve genotoksisiteye neden olma gibi etkileri bulunmaktadır. Petrol ve petrol ürünlerinden etkilenmiş MDS/AL hastalarında daha çok 5 ve 7 nolu kromozomlarda düzensizlikler gözlenmiştir. Organik solventlerde bulunan benzen, toluen ve aromatik hidrokarbonlardan etkilenme aplastik anemiye lösemiye ve kemik dokuda dejenerasyonlara neden olabilmektedir [26, 27]. Petrolde bulunan benzenin ve metabolitlerinin kansere neden olabileceği birçok çalışma ile gösterilmiştir. Benzen ağır bir şekilde kullanılan endüstriyel kimyasaldır ve kurşunsuz benzinde yüksek derecede bulunmaktadır. Benzenin hemotoksik, genotoksik ve karsinojenik etkisi vardır. Benzenin toksisite oluşturması için biyoaktivasyona uğraması gerekir. Benzen metabolizmasının major bölgesi karaciğerdir. Benzenin primer metaboliti fenol, sekonder metaboliti ise katekol ve hidroquinondur [14]. Petrol alanları daha büyük mutajenik potansiyel oluşturmaktadır.

Benzenin lökomojenik potansiyeline ait çok az bilgiye sahip olmamıza rağmen benzenden etkilenmiş çalışanlarda lösemi görülme sıklığı artmıştır. Benzenden etkilenen doku hücrelerinde özellikle mitoz bölünme sırasında kromozomlar yanlış dağılım göstererek hiperploidiye neden olmaktadır. Bukkal hücrelerde yapılan çalışmalarda bölünen hücrelerin nukleusunda mikronukleus olarak adlandırılan küçük nuklear partiküllerin sitoplazmada görünmesi benzenden kaynaklanmaktadır. İnsan lenfositlerinde in vitro ve farelerde in vivo olarak yerine getirilen FISH çalışmalarında, benzen ve benzen metabolitlerinin hem klastojenik hem de anojenik aktivitelerinin özellikle kromozom 9 düzensizliklerine neden olduğu ortaya konmuştur. [12].

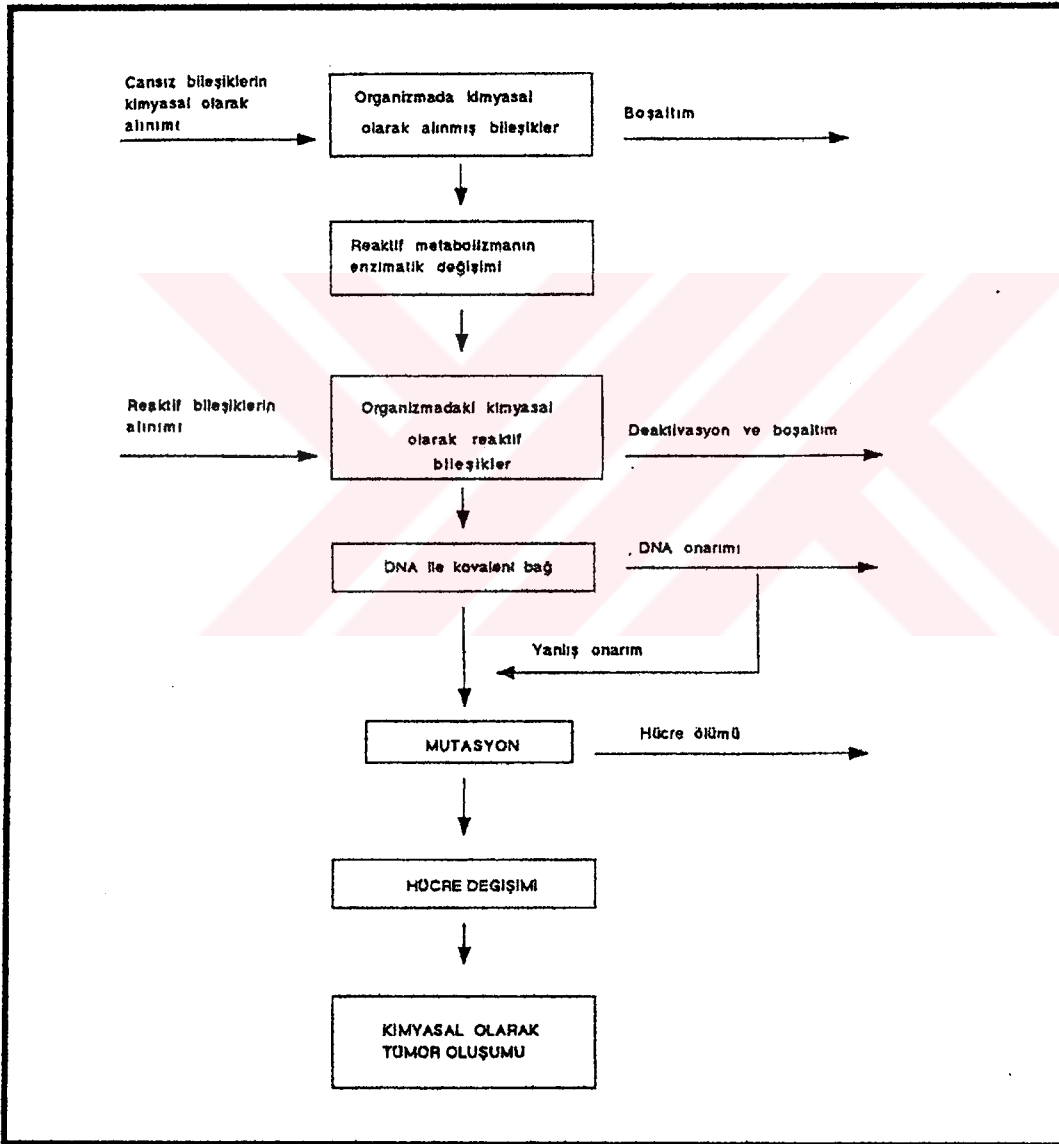
Benzenin metaboliti olan hidroquinonun (HQ). birçok çalışmada HQ'un mutajenitesi test edilmiştir. Özellikle L5178Y fare lenfoma hücrelerindeki küçük mutant kolonilerde ve fare kemik doku hücrelerinde HQ'un mikronukleus oluşumuna ve fare kemik doku hücrelerinde kromozomal düzensizliklere neden olduğu bildirilmiştir [28]. Organik kimyasal karsinojenlerin yapısal çeşitliliğinin fazlalığı nedeniyle uzun süre karsinojenik aktivasyon anlayamamıştır. Bugün organik karsinojenlerden etkilenme ile tümör oluşumundan sorumlu bölüm için gerçek kanıtlar bulunmuştur. Tümör oluşturma mekanizması Şekil 2.4' te özetlenerek şematik olarak verilmektedir [17].

2.1.2. Hematolojik Etkiler

Benzenin en önemli hematolojik etkisi aplastik anemiye yol açan kemik iliği depresyonudur. Bu etki kök hücre ve progenitor hücre adı verilen hücrelerde oluşturulan değişiklikler ve yapı bozukluklarıdır. Kemik iliği depresyonu ile asıl oluşması gereken eritrositler, fibroblastlar, megakaryositler ve monositler gibi birçok hücre eritropoetin interleukin gibi proteinleri oluştururlar. Bu proteinler birçok olaylarda anahtar role sahiptir. Bu hücrelerin üretilmemesi yada hatalı üretilmesi sonucunda pirimitif kan hücreleri olgunlaşamaz. Bu nedenle bu bireylerde kanın hücresel elemanlarında azalmalar olur ve kan hastalıkları oluşur. Kan elemanlarındaki bu azalmalar işlev bozukluklarını da beraberinde getirmektedir. Yapılan çalışmalarda petrol istasyonlarında çalışan bireylerde lösemi insidansının

normal populusyona göre 333 kez daha yüksek olduğu ve petrolün en tehlikeli bileşiminin benzen olduğu belirlenmiştir [7, 26].

Benzene duyarlılık bireyler arasında farklılıklar gösterebilmektedir ve bazı bireylerde ailesel duyarlılık yatkınlığı da olabilmektedir. Benzenin kırmızı kan hücrelerindeki en olası etkisi korpüsküler volüm olarak bilinen ortalama hücre büyüklüğündeki artıştır. Ortalama korpüsküler volümdeki artış folik asit eksikliği ve B₁₂ vitamini eksikliği ile oluşur . Folik asit eksikliği ve B₁₂ vitamini eksikliği hastalıkları kemik iliği hücrelerindeki DNA sentezi ile bağlantılıdır [17].



Şekil 2.4. Tümörün Kimyasal Olarak Oluşumunda Temel Mekanizmalar [17].

Daha önceki çalışmalar benzenin tek başına toksik bir etkisinin olmadığını göstermekte idi. Ancak benzen metabolizması sırasında oluşan ve kemik iliğine giden metabolitler hepatik metabolizması ile dönüşüme uğramakta ve toksik etkiler ortaya çıkarmaktadırlar. Bununla beraber benzen kemik iliğinde tek başına doğrudan aktive olamamaktadır. Benzene veya benzen içeren organik maddelerden etkilenme sürecinde kemik iliğinde benzen metabolitleri olarak katekol, fenol ve hidroquinonun derişimleri artmaktadır.

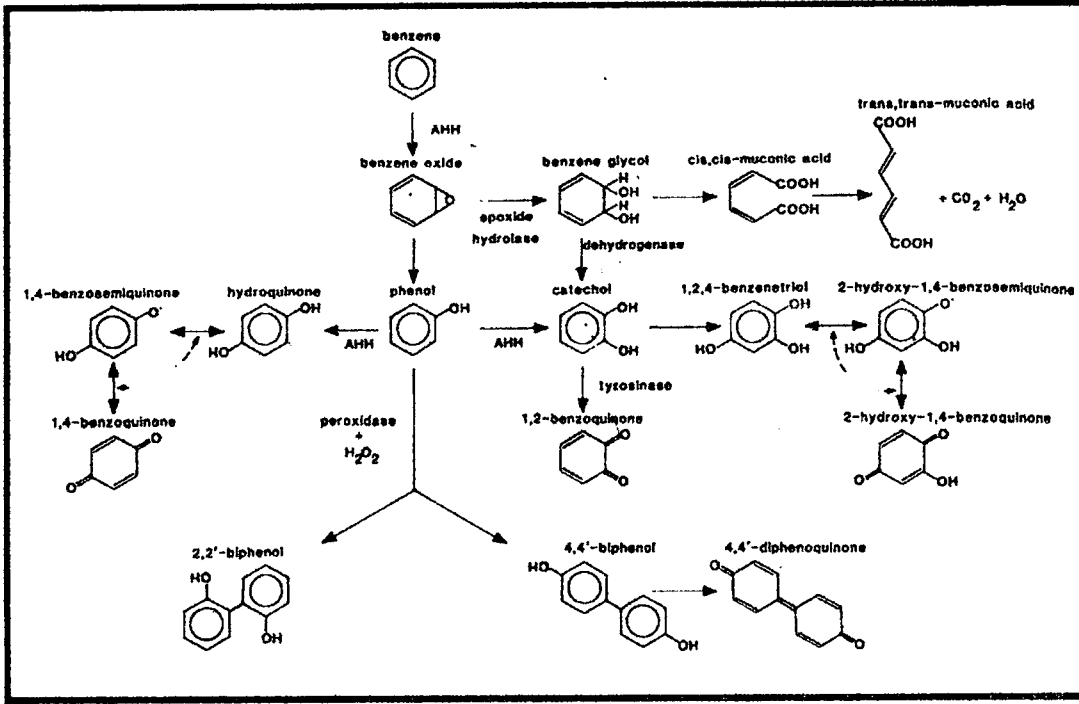
Benzenin karaciğerdeki sitokrom P₄₅₀ aracılığı ile benzen okside metabolize olduğu düşünülmektedir. Bu oluşan benzen oksidin büyük bir kısmı fenole dönüşür. Fenolün çoğu konjuge olur ve dışarı atılır. Benzen oksitin diğer kısmı hidroquinonu oluşturabilir. Hidroquinon ise kendiliğinden 1-4 benzoquinona oksitlenir. Benzen oksit ayrıca inaktivasyon ürünü fenil merkapturik asiti vermek için epoksit transferaz enzimi tarafından glutatyon ile konjuge edilir. İnsan lenfositlerinde bulunan epoksit hidrolazın etkisinde benzen oksit benzen glikole dönüşür. Benzen glikolün dehidrasyonu sonucunda ise katekol oluşur. Katekolün küçük bir kısmı 1,2,4-benzentriol'e dönüşürken, büyük kısmı ise dışarı atılır. Benzen karaciğerde metabolize edilmekte ancak toksisitesini kemik iliğinde gösterdiği için benzenin kan yolu ile transportu gereklidir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalar benzenin karaciğer DNA'sına kovalent olarak bağlandığını göstermiştir. Benzen ve metabolitleri makromoleküllere geriye dönüşümsüz olarak bağlanmaktadır [19].

Benzenin temel olarak iki metabolik yolu bulunmaktadır. Bunlardan biri halkalı hidroksile olmuş bileşikler oluşturması, diğeri ise halka açılımlı metabolik yoldur. Hidroksile olmuş bileşikler daha sonra sulfat bileşenlerine ya da glukuronidlere metabolize olurlar. Bu bileşikler detoksifikasyon ürünleridir ve ürinle atılırlar. Glutatyonlu konjugasyon merkapturik asitin üriner atılımı benzenin fenole metabolize olması sırasında ilk reaktif ara ürün olan benzen okside detoksifiye olan diğeri bir yoldur.

Benzen metabolizmasının büyük bir kısmı karaciğerde gerçekleşmektedir. Benzen çok küçük ve oldukça stabil olan bir aromatik hidrokarbondur. Toksik

olabilmesi için ara metabolitlere metabolize olması gerekmektedir. Tavşanlarda yapılan çalışmalarda benzenin üründe glukuronidlere, etheral sulfatlar olarak atılan, 1, 2, 4- benzentriole, HQ'a, katekole, ve fenole hidroksile olduğu bildirilmiştir [19]. Benzen metabolizmasında ilk aşama, fenolün oluşumudur ve benzen karaciğerde Faz I oksidasyon reaksiyonu ile fenole dönüştürülür. Benzen toksisitesinden yüksek olasılıkla benzen epoksit sorumludur. Benzen epoksit benzenin fenole dönüşümü esnasında oluşan ara bir üründür. Bu aşama benzenin sitokrom P₄₅₀ monooksijenaz metabolizmasını içerir. Benzen P₄₅₀ IIEI izoenzimi için bir substrattır ve P₄₅₀ monooksijenaz fenolün HQ'a ve katekole metabolize edilmesinde aktiftir. Fenol, epoksit halkasının açılmasıyla benzen oksitten oluşturulabilir. Geri dönüşümlü sistemlerde benzenden fenolün oluşumunda, izoenzim P₄₅₀ IIE1'in radikal hidroksil, mannitol, DMSO, katalaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz tarafından inhibe edildiği rapor edilmiştir [19].

Sitokrom P₄₅₀'nin aracılık ettiği fenol metaboliti, HQ katekol ve 1, 2, 4-benzentriolün oluşmasına yol açar. Katekolün oluşumu için diğer bir yol, epoksit hidrolaz tarafından benzenoksidin benzen-trans dihidroksile metabolize edilmesini gerektirir. Benzenoksid, glutatyon transferazın etkisi altında, glutatyonla reaksiyona girer. Hidroksile olmuş aromatik benzen metabolitleri daha sonra, sulfata ve glukronik asit bileşenlerine metabolize edilir. Benzenin mikrozomal metabolizması trans-trans muconaldehit oluşumuna neden olur. Quinon metaboliti ve muconaldehitin genotoksik oldukları birçok in vivo ve in vitro çalışmada belirlenmiştir. Karaciğerde metabolize olan benzen daha sonra kan yolu ile kemik dokuda ilerler. Kemik dokuda katekol ve HQ depolanır. Kemik doku düşük düzeyde sitokrom P₄₅₀, yüksek düzeyde peroksidaz içerir.



Şekil 2.5. Benzenin metabolik yolu [19]

Fenol, katekol ve HQ kemik dokuda yüksek derişimde bulunan peroksidaz olan myeloperoksidaz için mükemmel bir substrattırlar. Myeloperoksidaz metabolizması sürecinde bu fenolik metabolitler elektron oksidasyonu altındadırlar ve proteinlere kovalent olarak bağlanırlar [21].

2.1.3. Benzenin Genotoksik Etkileri

2.1.3.1. Mutajenite

Benzenin mikrobial sistemlerdeki mutajenite çalışmaları kullarılan adi agar plak teknikleri ile yapılan çalışmalarda mutajen olmadığı gösterilmiştir. Bu görüş; Ames Salmonella testi, Maya mutajenite testi, programlanmamış DNA sentezi, Fare lenfoma testi, Chinese Hamster V79 hücrelerinde 6-thioguanine dirençlilik testi, Chinese Hamster Over (CHO) hücrelerinde Oubain testi ve insan lenfoblast HGPRT ve TK testleri ile de desteklenmiştir. Ancak fare karaciğer mikrozomlarında benzenin pozitif Ames testi gösterdiği bildirilmiştir. Bazı

durumlar altında sitokrom P-450 IIE1 veya diğerk sitokrom P450 benzeni metabolize etmesine rağmen benzen metabolizmasının hepatik basamağından sitokrom P-450 IIE1 öncelikle sorumludur. Benzenin kemik iliğindeki metabolik aktivasyonu peroksidaz aktivitesini gerektirir. Hem karaciğerdeki hem de kemik iliğindeki her iki aktive edici enzim sisteminin yokluğunda mutajenik metabolitler oluşturulamayacak ve bunun sonucu olarak ta benzen mutajenik etkiye neden olmayacaktır. S9 enzim sistemleri çalışılarak benzen metabolitlerinden trans-1, 2-benzenedihydrodiol ve benzene diol epoksitin mutajenik olduğu bildirilmiştir. Trans- trans-mukonaldehit metabolitinin hücelere toksik olduğu birçok raporda bildirilmiştir. Trans- trans-mukonaldehit metaboliti CHO hücelerinde klastojendir. Böylece eğer benzen belirli bir metabolik aktivasyon altında ise bazı metabolitleri mutajenik özellik gösterebilir [21, 29].

2.1.4. Benzenin Neden Olduğu Hastalıklar

Benzenin etkisiyle, lökositopeni, trombositopeni, anemi, lenfositosis, granulositlerin fagositik fonksiyonlarında düşüş, glikojen oluşumunda azalma, nötrofil peroksidaz aktivitesinde azalma, nötrofillerin β -glukuronidaz aktivitesinde asit fosfatazda yükselme, alkalın fosfatazda azalma, nötrofillerin lipit bileşiklerinin oluşumu, spontan rozet oluşumunda azalma, serumda lökoaglutininlerin azalışı görülebilmektedir. Kronik benzen toksisitesindeki eozinofillerin, bazofil ve monositlerin azalışı tartışma konusudur. Bu problem, modern tekniklerle daha da araştırılması gereken bir konudur. Kronik benzen toksisitesine bağlı olan diğer bazı anormallikler de bulunmuştur [8]. Çeşitli kontrol analizleri, çözücülerden etkilenilen mesleklerde, diğerlerine göre lösemi oranının çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Endüstri işçilerinde çözücülerden etkilenme ile benzenin vucuda alımı sadece soluma ile değil deriden absorpsiyon ile de olmaktadır. Farelerde yapılan çeşitli araştırmalara göre benzenin yaklaşık olarak % 1'i deriden absorbe edilmektedir [30].

İnsan somatik hücrelerindeki sitogenetik araştırmalarda genellikle periferik kan lenfositleri kullanılmaktadır. Karsinogenetik işlemlerdeki kromozomal hasarlar sitogenetik temellere dayandırılarak açıklanmaya çalışılmıştır. Kromozomal hasarlar proto-onkogenlerin aktivasyonunda çok önemli rol oynamaktadır ve onların kanser oluşturmada sinergistik davranmaları nedeniyle dolaylı etki oluşturmaktadır. Birçok kimyasal mutajenin S fazına bağlı olarak oluşturdukları kromatid tipi hasarlar birinci bölünmeyi takip eden metafazda yüksek oranda kolaylıkla görülebilecek şekilde ortaya çıkabilirler. Böylece sitogenetik kontrollerde hemen birinci bölünmedeki metafazlar sonuç için kullanılabilir [31].

2.1.5. Benzenin Kan Sistemine Toksik Etkileri:

Benzen zehirlenmesi ile oluşan Aplastik anemi kan sistemi bileşiklerinin çoğunda toksik hasarlar oluşturur. Lösemi gelişimi ve myelotoksisite arasındaki yakın ilişkiden dolayı bu metabolitlerin de olaydan sorumlu oldukları

bildirilmektedir. Periferik lenfosit azalışı, hem insan hem de hayvan sistemlerinde benzen toksisitesinin ilk kanıtı olup, aplastik aneminin özelliklerini taşımaktadır. Fenol, hidrokinon ve katekol; lenfosit büyümesine baskı yapmakta ve kemik iliği ya da lenfoid organlarda onların konsantrasyonu ile in vitro olarak fonksiyonlarını etkilemektedir. Hidrokinon ve onun oksidasyonu ile üretilmiş olan p-benzokinon, kültürde lektin üreten lenfositlerde farklılaşmaya neden olmakta ve üremeyi durdurucu etki göstermektedir. Ayrıca mikrotübül oluşumunu etkilemektedir. Fenol (PH) ve katekol sitotoksik konsantrasyonlarda lenfosit aktivasyonunu baskı altında tutmaktadır. Hidrokinon ve katekol in vivo olarak immün sistem hücrelerini etkilemektedir. Hidrokinon, B hücrelerinde IgM üretimini uyaran mitojenleri ve B-lenfositleri oluşturan pre- B hücrelerinin sayısını azaltıcı etki göstermektedir. Özetle hidrokinon (HQ) ve katekol in vivo olarak B lenfositlerinin sayısını azaltmaktadır. Hidrokinon in vivo olarak lenfopeniyi arttırmaktadır. Lenfosit pregenitor hücrelerinin erginleşmesi ve üremesini polipeptid lenfokinez enzimi düzenler ki; bu da hem in vivo hem de in vitro olarak T lenfositleri tarafından üretilir. Benzen lenfositlerde p-benzokinon gibi metabolize olursa lenfokin üretimini inhibe eder. Hidrokinon ve p-benzokinon (BQ) ile yapılan çalışmalarda sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda (mikromolar düzeyinde) in vitro olarak fare dalak lenfositlerinde RNA sentezinin doza bağlı inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir [28].

2.1.6. Sitogenetik Toksikite

2.1.6.1. Kardeş kromatid değişimi oranları üzerine etkileri

Kardeş Kromatid Değişimi=Sister Chromatid Exchange (KKD=SCE) bir kromozomun kardeş kromatidleri arasında meydana gelen resiprokal değişimlerdir. KKD'ler kromozomun morfolojik yapısında herhangi bir değişikliğe neden olmazlar. Bilindiği gibi bu karşılıklı değişimler homolog loküslerde oluşmaktadır. DNA kırılmalarına ve yeniden oluşumlara neden olmasına rağmen, moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. KKD'ler ya bazı maddelerin DNA'ya kovalent olarak bağlanması sonucu ya da DNA tamir mekanizmasına müdahale

edilmesiyle indüklenmektedir [32]. Kardeş kromatid değişimleri (Sister kromatid exchange) DNA sarmalındaki değişiklikler ile oluşan kromatidlerde DNA'nın kırılmasına neden olmaktadır. Kardeş kromatid değişimleri bir loküsteki kardeş kromatidler arasındaki tam kromozom morfolojisinin değişimiyle sonuçlanmayan asimetrik değişimleri içerir. KKD analizi, herhangi bir mutajen etkisinde kalma ile oluşabilecek mutajenitenin ölçülmesinde diğer sitogenetik analizlerden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Fakat mekanizması tam olarak açıklanamadığı için kromozomal analizlerde kullanılmamaktadır. KKD analizinde kullanılan boyama yöntemi ilk olarak Chinese hamsterlerinde ve bitkilerde gösterilmiştir [33, 34]. KKD analizleri birkaç kalıtsal hastalığın tanımlanmasında da kullanılmaktadır. Bu hastalıklar Bloom sendromu, Fankoni Anemisi, Ataxia-telangiectasia and Xeroderma Pigmentosum gibi hastalıklardır. Bu kromozom fragilite hastalıkları KKD'yi indükleyen ajanlara farklı yanıt gösterirler. KKD'yi indükleyen ajanlar ya mutajenlerdir ya karsinojenlerdir ya da her ikisidirler. Allkillenmiş ajanlar gibi belirli bazı bileşikler KKD'yi inükleyebilirler. Belirtilen ajanlar kromozomal düzensizliklere neden olabildiği halde KKD'yi indüklemeyebilirler. Bu nedenle Mutajenik ve karsinojenik maddelerin etkilerini incelemede KKD ve kromozomal düzensizlik yöntemlerinin beraber kullanılmasının yararlı olacağı bildirilmektedir. KKD'ler hücre döngüsünün DNA sentezinin olduğu S fazında en yüksek düzeyde oluşmaktadır ve S fazının sonunda tamamen durmaktadır. KKD'ler DNA sarmalını değiştirmekle DNA'daki metabolizma olaylarına ya da tamir olaylarına engel olmakta, kovalent bağları bozmaktadır. KKD formasyonunun moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir. Fakat KKD'lerin mutasyonel ajanlardan kaynaklandığı bilinmektedir [35, 36].

Homolog kromozomlar sinaps yapmaz ve çift oluşturmaz. Mitozun profaz ve metafaz evresindeki kromozomların her biri iki eş kromatidden oluşur. Birçok deneysel çalışma resiprokal değişimlerin kardeş kromatidler arasında oluşan krosingovere eş olduğunu göstermiştir. Bu KKD'ler yeni allelik kombinasyonlar oluşturmazken, kanıtlar bu olayın anlamlı olduğu üzerinde yoğunlaşmıştır. KKD'nin tanımlanması ve çalışılması birçok modern boyama yöntemleri ile kolaylaşmıştır. Eğer hücrelere timidin analogu olan Bromodeoxyuridine (BrdU) varlığında replike

olmalarına izin verilirse ve daha sonra hücreler analogdan yoksun bir besi ortamına yerleştirilirse kromatidler BrdU'lu ve BrdU'suz olarak ayrılabilirler. Böylece BrdU içeren kromatid daha açık renkte görülecektir. KKD'nin anlamlılığı henüz kesin olarak bilinmezken, birçok gözlem bu olgunun çalışılmasına neden olmuştur. Kromozom düzensizliğine neden olan ajanlar (virüsler, X-ışını UV ve organik çözücüler, belirli kimyasal mutajenler) KKD sayısını artırmaktadır [37].

Kardeş kromatid değişim oranlarının belirlenmesinde kullanılan Bromodeoksiüridin boyama yöntemi son yıllarda çeşitli genotoksik ajanlardan etkilenen hücrelerde, DNA hasarlarının gösterilmesinde duyarlı bir yöntem olarak kullanılmaktadır [62]. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) (Sister kromatid exchange= SCE) DNA kırılmalarını ve yeniden birleşmelerini kapsayan homolog loküslerdeki DNA replikasyon ürünlerinin karşılıklı değişmelerini yansıtmaktadır. 5-bromodeoxyüridin (Brd-U) boyama tekniğinin geliştirilmesiyle genotoksik ajanlara in vivo veya in vitro olarak etkilendikten sonra KKD oranlarındaki değişimler birçok çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmalar mutajenlerin büyük bir kısmının KKD frekansını arttırdığını göstermiştir [38]. Bir maddenin genotoksik bir etkiye sahip olup olmadığının belirlenmesinde KKD testinin kullanılması, Perry ve Evans'ın bilinen mutajenlerin ve kanserojenlerin KKD oluşumunu indüklediklerini saptamalarından sonra başlamıştır. Bu çalışmadan sonra, birçok araştırmacı değişik mutajen ve kanserojenleri kullanarak yaptıkları deneylerde bu maddelerin çeşitli canlı hücrelerinde KKD'yi indüklediklerini saptamışlardır [39].

Mutajeniteyi değerlendirmede güvenilir yöntemlerden biri, kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kromozomların iki kromatidleri arasında değişimleri saymaktır. KKD sayısındaki bir artış mutajenlerin etkisini yansıtmaktadır. Mutajenlerin etkisini belirlemede kullanılan bir diğer yöntem ise mikronukleus ve kromozomal düzensizliklerinin belirlenmesidir Benzen mikronukleus, KKD, aneuploidi ve yapısal kromozom düzensizliklerinin oluşumuna neden olmaktadır [29, 40].

Bazı araştırmacılar düşük dozda, benzen ve metabolitlerinin T lenfositlerde hücre döngüsü kinetiğini, mitotik indeksi etkilediğini ve KKD sıklığına neden

olduğunu göstermişlerdir [14, 17]. Aynı araştırmacılar benzen ve metabolitlerinin de KKD sıklığındaki etkilerini göstermişlerdir: Katekol > 1, 4- benzoquinon > hidroquinon > 1,2,4-benzenetriol > fenol > benzen. Bu çalışmalardan katekolün benzenden 221 kez daha fazla aktiviteye, fenole ek olarak di ve trihydroxybenzen, 2-2'- bifenol ve 4, 4' bifenol metabolitlerinin de KKD 'nin indüklenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir. Morimoto ve Wolf [19] katekol, hidroquinon ve daha az boyutta fenolün fitohemaglutininle sitümüle edilmiş lenfositlerde KKD'yi indüklediklerini bulmuşlardır.

Benzen geniş olarak kullanılan endüstriyel bir kimyasaldır. İnsanlarda lösemi ve hayvanlarda ise çoklu organ kanserlerine neden olmaktadır. Çok geniş araştırmalara rağmen lösemi oluşturma mekanizması bilinmemektedir. Diğer karsinojenik ajanlara göre benzen DNA'ya zayıf bağlanma kapasitesine sahiptir. Bu sonuçlar genetik değişimlerin diğer tipleri olan translokasyon, delesyon, rekombinasyon ya da anöploidinin bu ajan tarafından oluşturulan karsinogenesiste önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir. Son yıllarda gelişen moleküler ve sitogenetik araştırmalar bu yapısal ve sayısal kromozom değişikliklerinin neoplastik gelişmede önemli bir role sahip olduklarını ortaya koymuştur. Benzenin fenolik metabolitlerinin sentromeri içeren ve içermeyen mikronukleus oluşturma kapasitesi ile ilgili çalışmalar, hidroquinonun hem kromozomal kayıplara hem de kromozomal kırılmaları oluşturmada etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Petrol çalışanlarında gösterilen bu kromozomal değişimlere ek olarak benzene maruz kaldıktan sonra lösemi ve myelodisplastik sendromlu hastalarda kromozom düzensizliklerinde bir artış gösterilmiştir. Bu hastaların arasında kromozom düzensizliği tipleri değişmesine rağmen bu hastalarda C grubu kromozomların trizomisinin sıklıkla olduğu rapor edilmiştir. C grubu kromozomlarından 9 nolu kromozomun trizomisine daha çok rastlanmaktadır. FISH: kromozoma özgü DNA problemleri kullanılarak ve son yıllarda geliştirilmiş moleküler sitogenetik tekniktir. Bu teknik insan hücrelerinde anöploidinin hızlı bir şekilde tanımlanmasına izin vermektedir. Aynı zamanda bir kromozomdaki artış ya da azalışların hızlı ve interfaz evresinde tanımlanabilmesidir [10, 41].

2.2. SİGARA KULLANIMI VE ETKİLERİ

Günümüzde insanların en yaygın kullandıkları zararlı maddelerin başında sigara gelmektedir. İlk tütün içiminin ilk defa 1555 yılında Avrupa'da başladığı bilinmektedir. 1965 yılında 20 yaşın üstündeki erkeklerin %52'si, kadınların %34'ü sigara içmekteyken 1990'lı yıllarda bu oran erkeklerde %38'e kadınlarda ise bu oran %30'lara düşmeye başlamıştır. Sigarada bulunan zararlı maddelerin bazılarının kanserojenik oldukları ve akciğer kanseri oluşumunun % 90'ının sigara kullanımından kaynaklandığı bilinmektedir. Sigara içenlerin içmeyenlere oranla kansere yakalanma riski 5-30 kez artmaktadır. Sigara kullanımı ile pankreas, mesane ve serviks kanserine olan eğilimi artırır. Sigara bağımlılığının ve genç kuşaklarda içme oranının artması korkutucu bir gerçektir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve bizim ülkemizde bu oran daha da fazladır. Sigaranın yaşam kalitesini düşürdüğü, hamilelikte içilmesiyle erken doğumlara ve düşük doğum ağırlığına neden olduğu, çeşitli kanser türleri ile doğrudan veya dolaylı etkisinin bulunduğu, çeşitli solunum hastalıklarına yol açtığı artık bilinmektedir. Sigara içen yetişkinlerde ömür oranı 1.7 olarak belirlenmiştir. Bu oran, içilen sigara miktarı ve içme süresi ile değişebilmektedir. Ölüm oranı genç yaşta sigaraya başlayanlarda daha yüksektir. 30-35 yaşlarında günde 2 paket (40 adet) sigara içen bir kişinin içmeyen bir yaşıtına göre ömrünün 8-9 yıl daha kısa olacağı ölçülmektedir [42].

Sigara içenler sigara dumanı ile birlikte 4000 çeşit maddeyi akciğerlerine almaktadırlar. Sigaranın katran fazı, nikotin, nem ve CO₂ çıkınca geri kalan maddelerin toplamına denir. Bunların bir grubu kanserojen (nitroz amin, diğer aromatik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar), bir grubu da irritandır (hidrosiyanik asit, furfural, nitritoksit, NO₂, fenol bileşikleri, akrolein). Bir sigara içimiyle bireye geçen katran ve nikotin miktarı, katran ve nikotin verimi olarak adlandırılır. Normal sigarada katran verimi 16-30 mg, nikotin verimi ise 1-2.5 mg'dır. CO₂ verimi ise sigaradan havaya verilen CO₂ oranıdır. CO₂ sigaranın kronik toksik etkinliğine katkıda bulunur [42]. Tütün kullanımının ve özellikle içilmesinin kanserin en önemli nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir. Sigara içilmesi ile DNA kırıkları arasında önemli ilişki vardır [43]. Sigara içen bireylerde

değişik türde akciğer kanserine yakalanma riskinin arttığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. [44].

2.2.1. Sigara İçmenin Sağlık Üzerine Etkileri

Sigara kullanımının neden olduğu temel sağlık sorunlarını sıralayacak olursak;

- **Kanser;** özellikle akciğer ve üst solunum yolu kanserleri ve aynı oranda özefagus, pankreas ve meme kanseri olmak üzere bazı kanser tiplerine yakalanma riskini arttırmaktadır. Günde ortalama 20 sigara içen bir kişinin kansere yakalanma riski 10 kat artmaktadır. Akciğer kanseri toplam kanser ölümlerinin yarısını oluşturmakta ve akciğer kanserinin % 90'ının sigaradan kaynaklandığı bildirilmektedir. Sigara içmenin pipo ve puro içmekten daha fazla zararlı olduğu bildirilmektedir. Sigaradaki nikotinden daha fazla katranın kanser riskini oluşturduğu bilinmektedir.
- **Koroner Kalp Hastalıkları,** günde 20 sigara içen 55-64 yaş arasındaki erkeklerde koroner trombosisten ölüm oranı sigara içmeyen erkeklere göre % 40 daha fazladır. Bu hastalıklardan başka direkt sigara ile ilişkili olan hastalıklar da vardır. Örneğin diabetik kangren. Sigaranın zararlı etkilerinden sorumlu olan maddelerin birisi nikotin diğeri ise karbon monoksittir.
- **Hamilelikte sigara kullanımı** özellikle hamileliğin son yarısında içilen sigaranın düşük doğum ağırlığına ve ölü doğumlara neden olduğu bildirilmiştir. Sigara içen hamilelerde spontan abortuslarda % 30 ile % 70 arasında bir artış olduğu kaydedilmiştir.

2.2.1.1. Sigarada bulunan toksik ajanlar:

1. **Katran ve iritanlar:** Sigara dumanındaki tar olarak isimlendirilen madde tümör promoterleri kadar etkili olan birçok karsinojenik hidrokarbonları içermektedir.
2. **Nikotin:** Fötal gelişimi etkileyerek gelişimin yavaşlamasına neden olmaktadır.
3. **Karbonmonoksit:** Sigaranın içerdiği ortalama karbon monoksit oranı % 3'tür. CO₂ hemoglobin için yüksek bir ilgiye sahiptir. Sigara içenlerin kanındaki tahmini karboksihemoglobin miktarı % 2.5'dir. Sigara içmeyenlerde ise bu oran % 0.4'tür.

Ağır sigara içicilerde hemoglobinin % 15'den fazlasının karbonmonoksitle kompleks oluşturduğu bilinmektedir. Bu kompleksin ratlarda fötüs gelişiminde gerilemeye neden olduğu gösterilmiştir. Fetal hemoglobinin yetişkin hemoglobinden karbonmonoksite karşı daha çok affiniteye sahip olduğu bildirilmiştir [43].

2.3. KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ

2.3.1.Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1.1. Kromozomların morfolojik zellikleri:

İnsan kromozomları ($2n=46$) ışık mikroskobu altında, hücrenin mitotik bölünmesi esnasında metafaz evresinde incelenerek tanımlanabilir [41].

Kromozomlarda görülen temel morfolojik özellikler şunlardır.

1. **Sentromer:** Boyandığında kromozomların en soluk boya alan kesimleridir. İnsan genomunda bulunan kromozomlar sentromerin konumuna göre e ayrılır. Her kromozomda bir sentromer bulunur ve bunlar hücre bölünmesi sırasında kromozomların iđ ipliklerine tutunmalarını sağlar.
 - a. **Median (Metasentrik) kromozom:** Sentromeri ortada olan ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomdur.
 - b. **Submedian (submetasentrik) kromozom:** Sentromeri merkeze yakın ancak iki kolu birbirine eşit olmayan kromozomlardır.
 - c. **Akrosentrik kromozom:** Sentromeri bir uca yakın olan kromozomlardır.
2. **Satellit:** İnsanda D ve G grubu kromozomların kısa kollarının ucunda bulunan yuvarlak dğme benzeri görüntüde yapılarıdır. Satellitler nukleolus oluşumu ile ilişkilidir.
3. **Sekonder Darlık:** 1, 3, 6, 9, 11 ve 16 numaralı kromozomlarda bulunan bir oluşumdur. Sentromerden farklı ve ayrı özelliklere sahiptir. Satellit gibi bunların da nukleolus oluşumu ile ilgili oldukları belirtilmektedir [41].

2.3.1.2. Kromozomların adlandırma sistemi

Tijo ve Levan'ın 1956 yılında insan kromozomlarının tam sayısının ($2n=46$) kesin olarak belirlemelerinden sonra, tanımlanan kromozomal hastalıkların tanımlanabilmesi daha kolay hale gelmiştir. Ancak yayınlar belirli bir sisteme göre düzenlenmediğinden bazı karışıklıklar ortaya çıkmıştır. Bunun üzerine 1960 yılında ABD'nin Denver kentinde uluslararası olarak düzenlenmiş Genetik kongresinde kromozomların adlandırılmasında bazı ortak ilkeler saptanmıştır. [45]. Daha sonraki yıllarda düzenlenen uluslar arası genetik kongrelerinde Denver Klasifikasyonu daha da geliştirilmiş ve insan kromozomları belirli ilkeler çerçevesinde ortak bir adlandırma sistemi kabul edilmiştir. Bu sisteme göre anlatılmak istenen tüm bilgi bir formülle verilebilir bir duruma gelmiştir. Formülde önce total kromozom sayısı, daha sonra ise varsa kromozom düzensizliği belirtilmektedir.

Denver klasifikasyonuna göre insan kromozomları A, B, C, D, E, F ve G olmak üzere 7 gruba ayrılmakta ve cinsiyet kromozomları hariç tutularak en büyükten en küçüğe doğru 1-22 arasında numaralandırılmaktadır [32]. Bazı genetikçiler cinsiyet kromozomlarını 22 nolu kromozomdan sonra gelecek şekilde yerleştirirken, bazıları X kromozomunu C grubu kromozomlara benzemesi nedeniyle 6 nolu kromozomdan hemen önce veya 12 nolu kromozomdan sonra, Y kromozomunu ise G grubu kromozomlardan sonra yerleştirmektedir. Denver klasifikasyonunda temel olan ölçütler esas alınarak ayrılan kromozomlar dizilerek "karyotip" hazırlanmaktadır. A grubu kromozomlar metasentrik, B grubu kromozomlar büyük submetasentrik, C grubu kromozomlar submetasentrik, D grubu kromozomlar büyük akrosentrik, E grubu kromozomlar küçük metasentrik, F grubu kromozomlar, küçük submetasentrik ve G grubu kromozomlar ise küçük akrosentrik kromozomlardır. Kromozomların tanısında göz önünde alınan temel ölçütler:

- a. Kromozomların toplam uzunluğu ve kolların boy uzunluğu
- b. Sentromerin kromozomdaki konumu.
- c. Kromozomdaki sekonder darlığın bulunup bulunmaması, eğer varsa konumu
- d. Kromozomların bant özellikleri

e. Kromozomlara ait otoradyografik bulgular'dır [41].

2.3.1.3. Kromozom düzensizlikleri

Normal bireylerin vücut hücrelerinde daima 46 olan kromozomlar, ya mutajen olarak nitelendirilen maddelerin etkisiyle ya da kendiliğinden sayı, şekil ve yapı bakımından bazı değişiklikler gösterebilmektedir. Kromozomlarda oluşan sayısal ve yapısal düzensizliklerin tanımlanması ilk olarak 1960'lı yılların başlarına dayanmaktadır. Kromozomal düzensizlikler sayısal ve yapısal olmak üzere iki ana gruba ayrılır [45].

Yapısal kromozom düzensizlikleri; 1. Doğrudan doğruya DNA'nın hasarlanması 2. Hasarlanmış DNA templatının replikasyonu 3. DNA sentezinin baskılanması olmak üzere temel olarak 3 şekilde meydana gelebilmektedir. Çok az ajan doğrudan doğruya DNA'yı etkileyebilirler. Bu ajanlar hücre döngüsünün G₀ dönemini etkiledikleri için bu ajanlar S fazına bağımlı olmayan ajanlar olarak isimlendirilirler ve bu ajanlardan in vivo etkilenme ile oluşan düzensizlikler kromozom tip düzensizliklerdir. Örneğin iyonizan radyasyon. S fazı bağımlı klastojenler ise kromatid tip düzensizliklere neden olmaktadır. Bu ajanlar genellikle 2. mekanizmada daha etkili olmaktadır. DNA sentezinin baskılanması olarak tanımladığımız 3. mekanizmada in vivo S fazı esnasında uygun ajanlarla (hidroksiurea) oluşmaktadır. İn vitro çalışmalarda kromozomal düzensizliklerden 3. mekanizma sorumlu değildir [36].

Benzenin kromozomal düzensizliklere neden olduğu birçok araştırma raporlarında kaydedilmiştir. Kromozomal etkiler hem kemik iliği hücrelerinde hem de periferik kan lenfositlerinde incelenmiştir. Benzenin kromozomlarda hasar oluşturduğu Pollini ve arkadaşları tarafından ilk raporlarından beri bilinmektedir. Benzenin hem sabit hem de değişken kromozomal düzensizlik meydana getirdiği yapılan çalışmalar tarafından bildirilmiştir. Sabit kromozomal düzensizlik formları inatçıdır ve lösemi oluşumuna neden olurlar. Kültüre edilmiş insan lenfositlerine benzen metabolitlerinin KKD'yi etkilediği açıktır [21].

Periferal kan lenfositlerinde karsinojenlerin etkisinde kalmış bireylerde kromozomal düzensizliklerin belirlenmesi ve görüntülenmesi birkaç yıldır yapılmaktadır. 8 numaralı kromozom ve 21 numaralı kromozomun trizomisi ve bu iki kromozom arasında translokasyonun olduğu gösterilmiştir. Yüksek düzeyde benzenen etkilenmiş bireylerde kromozom 8 ve 21'in resiprokal translokasyonunun olduğu bildirilmiştir [46].

Meslekleri yaşantıları gereği benzen etkisinde kalmış bireylerde benzenin kromozomal düzensizliklere neden olduğu, ayrıca kardeş kromatid değişim oranlarında artışlara neden olduğu birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Benzenen etkilenen meslek grubu içinde petrol istasyonu ve rafineri çalışanları önemli yer tutmaktadır. Benzenin dört metaboliti olan fenol, katekol, 1,4-benzokquinon ve hidroquinonuna in vitro olarak maruz kalmış kişilerin periferal kan lenfositlerinde yapılan çalışmada, fenolün kullanılan 50 µM dan 5000 µM'a doğru artan konsantrasyonlarda, 1,4-benzokquinonun 0.25 µM'dan 10 µM'a doğru artan konsantrasyonlarda, katekolün 0.5µM'dan 250µM'a doğru artan konsantrasyonlarda ve hidroquinonun 2 µM'dan 150µM'a doğru artan konsantrasyonlarda her bir konsantrasyon için yaklaşık olarak sayılan 1000 hücrede konsantrasyon artışına bağlı olarak mikronukleuslu hücre sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu metabolitler içerisinde yüksek konsantrasyonlarda hidroquinonun benzoquinondan daha genotoksik olduğu gösterilmiştir [11].

Sbrana ve arkadaşları [47] 1993'te hidroquinonun etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada sağlıklı insanlardan alınan periferal kan örneklerinde yapılan 72 saatlik ve 96 saatlik lenfosit kültürlerinde 6µM - 24µM arasında hidroquinon etkisinde bırakılmış ve artan doza bağlı olmaksızın hiperploid hücrelerde artış olduğunu belirlemişlerdir

Ciranni ve arkadaşları [28] 1991'de hidroquinonun erkek farelerin germ hücrelerinde klastojenik etkisinin olup olmadığının ve kromozomal düzensizlik oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi için yaptıkları çalışmada; 80mg/kg'lik hidroquinonla muameleden 1, 5, 9, 11 ve 12 gün sonra yapısal kromozom

düzensizliği içeren hücre sayısında artış olduğu belirlenmiştir. 120mg/kg'lik hidroquinon uygulamasından sonra kromozomal düzensizlik sayısında anlamlı bir artış olduğu bildirilmiştir. Buna bağlı olarak Hidroquinonun erkek farelerin germ hücrelerinde klastojenik etkilere sahip olduğu ve aynı etkileri fare kemik iliği hücrelerinde de gösterdiği belirlenmiştir. Aynı şekilde fare primer spermatozoidlerinde yapılan Hidroquinonun mumelesinden sonra sekonder spermatozoidlerinde de hiperploidi oluşumu gösterilmiştir. Hidroquinonun insan lenfositlerinde de kromozomal düzensizliklere neden olduğu ve mikronukleus oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir

Yardley-Jones ve arkadaşları [48] 1990'da düşük düzeyde benzen etkisinde bırakılmış 66 bireyin periferik kan lenfositlerinde yerine getirdikleri çalışmada gapları de kapsayan kromozomal düzensizliklerde özellikle kromozom tipi gaplarda, artış olduğunu belirlemişlerdir.

Robertson ve arkadaşları [49] 1991'de benzenin metabolitleri olan hidroquinon ve katekolün sinerjetik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, katekol ve hidroquinonun 75µM konsantrasyonlarda, mikronukleuslu hücrelerde 16 kattan daha fazla artış olduğu kaydedilmiştir. Katekol ve hidroquinonun mitotik ilişkilerin oluşumunu engelleyerek kromozom ayrılmasına neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak anöpoli içeren hücreler meydana gelebilmektedir. Bu çalışma ile insanlarda benzene bağlı lösemilerin oluşumundan en fazla sorumlu olan metabolitlerin katekol ve hidroquinon olabileceği ileri sürülmüştür. Belirli mutajenlere maruz kalmayla ilişkili kromozomlarda oluşan değişiklikleri incelemek amacıyla başvurulan metodlardan biri de kardeş kromatid değişim oranlarının saptanmasıdır. Kardeş kromatid değişimi oranları belirli mutajenlere in vivo veya in vitro maruz kalma ile değişmektedir [38].

Yardley ve arkadaşları [24] 1988'de düşük düzeyde benzen etkisinde kalmış petrol rafinerisi çalışanlarında yaptıkları çalışmada kardeş kromatid değişimi oranlarında günde 20 adet veya daha fazla sigara içen ve içmeyenler arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Proliferatif indeks oranlarında ise kontrol grubuna

göre benzenden etkilenmiş gruplarda anlamlı bir artış olduğunu belirlemiştir. Kardeş kromatid değişimi oranlarında ise küçük bir farkın oluşmasına karşın anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Yardley [24] 1988'den Sarto ve arkadaşları 1984'te düşük düzeyde benzenden etkilenmiş bireyler üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada kontrol grubu ile deney grubu arasında KKD oranları bakımından farkın anlamlı olmadığı, KKD oranlarındaki farkın anlamlı olduğu belirlemişlerdir

Lakhanisky [50] 1993'de çevresel olarak aromatik hidrokarbonlara -benzen, toluen, xylen ve ethylbenzen- Alisiklik hidrokarbonlara-metilsiklopentan, terpen, sikloheksan ve metilsikloheksan-, alifatik hidrokarbonlara- n-heptan, 2,3 dimetilbutan, n-hekzan ve 2- metilhekzan- ve klorlanmış tetrakloretilen-içeren atıklardan çevresel olarak etkilenmiş 51 bireyde kontrol olarak seçilmiş 52 kişide çalışma yapılmıştır. Seçilmiş 51 kişi yukarıda belirtilen maddelere değişik konsantrasyonlarda çevresel olarak maruz kalmışlardır. Kardeş kromatid değişim oranları bakımından sigara içmeyen yetişkinler ve çocuklar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Kontrol grubunda bulunan sigara içenler, çocuklar veya sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığı zaman sister kromatid exchange oranlarının sigara içenlerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Sigara içmeyenler ve eski içiciler karşılaştırıldığı zaman KKD oranı bakımından çok az bir farkın olduğu bildirilmiştir. Maruz kalmış altgruplar arasında yapılan istatistiksel analizlerde sigara içmeyenler ve sigara içenler veya sigara içmeyenler ve çocuklar arasında anlamlı bir farkın olmadığı gösterilmiştir. Maruz kalmış grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığı zaman çocuklarda, sigara içenlerde ve sigara içmeyenlerde yapılan istatistik analizlerde farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir .

Sasiadek ve arkadaşları [51] 1989'da mesleki olarak 10-26 yıl benzenden etkilenmiş 33 çalışmada yaptıkları çalışmada; toplam 147 metafazda % 4 oranında yapısal kromozom düzensizliği belirlemişlerdir. İstatistiksel analizler kromozomal düzensizliklerin dağılımının rastgele olmadığını göstermiş ve 2, 4 ve 9 numaralı kromozomlarda kırıklara iki kat duyarlıken 1 ve 2 numaralı kromozom da gaplere

iki kat duyarlıdır. İnsan lenfositleri in vitro olarak değişik konsantrasyonlarda katekol, fenol ve quinol'a maruz bırakıldıklarında kardeş kromatid değişim oranlarında anlamlı bir artış kaydedilmiştir

Hoerauf ve arkadaşları [40] 1999'da anestezi gazlarından etkilenen ve sigara içen bireylerde KKD oranlarının anestezi maddelerden etkilenen ancak sigara içmeyen bireylerde yapılan çalışmada yüksek olduğunu ve sigara içilmesiyle KKD oranının arttığını saptamışlardır.

Tumanin ve arkadaşları [52] 1991'de sigaranın mikronukleus üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında herhangi bir mutajenden etkilenmemiş sigara içen 45 sağlıklı bireyde mikronukleuslu hücre sayısında ve oranında anlamlı bir artışın olduğunu saptamışlardır.

Souza ve Puig [53] 1987'de % 2.6 benzen içeren tiner etkisinde kalmış bireylerde sigaranın etkisinin olup olmadığının araştırdıkları başka bir çalışmada; 34 kişide KKD değerleri incelenmiş ve sigaranın KKD üzerinde etkisinin olduğunu saptamışlardır.

Bolognasi ve arkadaşları [54] 1997'de benzen metaboliti olan benzoapirenden etkilenmiş trafik polislerinde yaptıkları mikronukleus çalışmasında sigara içenler ve içmeyenler arasında küçük bir farkın olduğu ancak farkın anlamlı olmadığını saptamışlardır.

Zhang ve arkadaşları [23] 1998'de benzene, toluene ve diğer aromatik solventlerden etkilenmiş 44 sağlıklı fabrika çalışanlarında yaptıkları FISH çalışmasında 1, 5 ve 7 nolu kromozomlarda meydana gelen düzensizlikleri incelemişler ve benzenin 1 numaralı kromozomun monozomisini etkilemediği ancak 5 ve 7 nolu kromozomların monozomisinin oluşumuna neden olduğunu saptamışlardır. Çalışma gruplara ayrılmış ve benzenden etkilenenler sınıflandırılmışlar ve 31 ppm'den daha fazla benzen etkisinde kalanlarda 5 ve 7 numaralı kromozomların monomisinde anlamlı ($p < 0.0001$) olarak arttığı

bildirilmiştir. Benzenden etkilenenlerin 7, 5 ve 1 nolu kromozomun trizomisinin anlamlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Trizomilerin artışı daha çok 31 ppm'den daha yüksek dozlarda görülmüştür. Aynı çalışmada her üç kromozomda meydana gelen diğer yapısal değişimler de incelenmiştir. 5, 7 ve diğer kromozomlar arasında meydana gelen translokasyonlar, bu kromozomlardaki delesyonlar ve uzun kol kırıkları incelenmiştir. 7 nolu kromozomda meydana gelen düzensizlik oranının kontrol grubunda 1.54 iken benzenden etkilenen grupta 4.26 olduğu belirlenmiştir. 5 ve 7 nolu kromozom ve diğer kromozomlar arasında oluşan translokasyonların 31 ppm'den daha yüksek benzen konsantrasyonlarına maruz kalan grupta oluştuğu gözlenmiştir. 5 nolu kromozom uzun kolunda meydana gelen kırıkların sadece 31 ppm'den yüksek olan benzen düzeylerine maruz kalan grupta oluştuğu belirlenmiştir.

Natarajan ve arkadaşları [56]; 1993'te mutajen olduğu kuşkusu taşıyan ya da bilinen on maddeyle yaptıkları çalışmada benzenin metaboliti olan hidrokinonun insan fibroblastlarında ve lenfositlerinde hem yapısal hem de sayısal kromozom düzensizlik oranlarını hem de mikronukleus oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir.

Rupa ve arkadaşları [57]; 1988'de çeşitli pestisitlere maruz kalmış 25 erkek bireyde yapmış oldukları çalışmada kromozomal düzensizlik ve kardeş kromatid değişim oranlarının arttığını belirlemişlerdir. Toplam kromozomal düzensizlik oranını maruz kalan grupta % 6.29, kontrol grubunda ise % 1.6 olarak bulmuşlardır. Kardeş kromatid değişim oranları ise pestisitlere maruz kalan grupta 10.94/metafaz, kontrol grubunda ise 7.65 olarak belirlenmiştir.

Bender ve arkadaşları [58]; 1988'de 30 kömür fırını çalışanının periferik lenfositlerinde yaptığı araştırmanın sonuçlarına göre ; 30 çalışanda KKD ve kromozomal düzensizlik oranlarının arttığını belirlemiştir.

Al-Sabti ve arkadaşları [59]; 1992'de kömür ocağı çalışanında yapılan çalışmada sigara içen bireylerde 50 metafazda gözlenen KKD değeri 469 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmede sigara içmeyenlerle

karşılaştırıldığında farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Kromozomal düzensizlik oranının da arttığını saptamışlardır.

Brandomi ve arkadaşları [60]; 1990'da mesleki yaşantıları gereği perkloroetilen, berilyum, karbon tetraklorid, benzen ya da trikloretilenden etkilenmiş sigara içen ve içmeyen toplam 21 kişide KKD ve kromozomal düzensizlik oranlarını inceledikleri çalışmada KKD ve kromozomal düzensizlik oranlarının sigara içenlerde içmeyenlere oranla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Stillman ve arkadaşları [48]; 1997'de yüksek derişimlerde kronik olarak benzen etkisinde kalan kişilerin myelodisplastik sendroma (MDS) ve akut myeloid lösemiye (AML) yakalanma riskinin yüksek olduğunu ve hidrokinonun 42, 49 ve 26 µM dozu etkisinde kalan kişiler ile AML ve MDS arasında doğrudan bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Bu dozlardaki HQ'un interfaz nukleuslarında FISH çalışmalarıyla 5, 7 ve 8 nolu kromozomlarda değişikliklere neden olabileceği gösterilmiştir. Bu amaçla dört prob kullanılmıştır. Digoksinin ile işaretlenmiş kromozom 7 için özelleşmiş alfa satellit DNA probu (D7Z1), biotin ile işaretlenmiş kromozom 8 için özelleşmiş alfa satellit DNA probu (D8Z2), biotin ile işaretlenmiş 5p15.2 probu ve digoksinin ile işaretlenmiş 5q31 probu kullanılmıştır. Sonuçta; kullanılan proba 5 nolu kromozomda kısmi kayıp, 7 ve 8 nolu kromozomda tamamıyla kayıplara yol açan HQ'un etkileri araştırılmıştır. Oluşan kromozomal kayıplarının anlamlı olduğunu saptamışlardır.

Yardley-Jones ve arkadaşları [24] 1988'de yapmış oldukları bir çalışmada benzen ve benzen metabolitlerinden etkilenmiş popülasyonda AML riskinin arttığını rapor etmişlerdir. 66 petrol rafinerisinde çalışan benzenden solunum yolu ile etkilenen kişilerde periferik lenfositlerde mitotik bölünmeyi artırıcı etkiye sahip olan fitohemaglutinine karşı yanıtın azaldığını gözlemişlerdir.

Hedner ve arkadaşları [62] 1983'te yapmış oldukları bir çalışmada çeşitli genotoksikantlardan etkilenen 91 bireyde KKD ve kromozomal düzensizlik oranları incelenmiştir. Herhangi bir maddeye maruz kalmayan ve sigara içen bireylerde

yapılan KKD ve kromozomal düzensizlik oranları ile sigara içmeyen gruptaki oranlar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır. Fark sigara içen ve herhangi bir maddeye maruz kalan gruptaki bireylerle herhangi bir genotoksik ajana maruz kalmayan ve sigara içmeyen bireyler arasında bulunmuştur .

Benzenin metaboliti olan hidroquinon (HQ) hem kromozomal kayıplarda hem de kırılmalarda etkili bir ajandır. HQ'un anöploidi ve kromozomlarda kırılma yapma yeteneği in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Mitotik ve mayotik hücre bölünmesi sırasında kromozom yapısının korunması hücre organellerinin ve nükleer ipliklerin fonksiyonuna ve bu ipliklerin üzerinde kromozomların hareketine bağlıdır. Bu fonksiyonlarda herhangi bir aksama olduğu zaman kromozomal yapıda da değişiklikler olabilmektedir. Bu değişim kromozom sayısında olabileceği gibi yapısında da olabilmektedir. Hidroquinonun memeli hücrelerinde lösemi insidansını arttıran ve kromozomal yapıda değişikliklere neden olabilen temel benzen metabolitidir [64].

Meng ve arkadaşları [63] 1990'da sülfür dioksite maruz kalmış bireylerde kromozomal düzensizliklerin ve kardeş kromatid değişim oranlarının arttığını rapor etmişlerdir.

Eastmond ve arkadaşları [10] 1994'te hidroquinonun neden olduğu hiperploidiyi saptamak için, insan periferik lenfositlerine 25'ten 125µM doğru artan hidroquinon uygulamışlardır. 10-125 µM arasındaki konsantrasyonlarda 3 ya da daha fazla hibridizasyon bölgesi saptamış ve doza bağlı olarak kromozom düzensizliklerinde bir artış olduğunu saptamışlardır. Kromozomal düzensizlikler içinde özellikle 9 numaralı kromozomun trizomisini anlamlı bulmuşlardır.

Pitarque ve arkadaşları [65] 1997'de petrol istasyonu çalışanları üzerinde yaptıkları çalışmada; petrol istasyonu çalışanları ile kontrol grubuna ait KKD ve kromozomal düzensizlik oranlarını karşılaştırdıklarında farkın anlamlı olmadığını, sigara içmeyenlere oranla sigara içen ve petrole maruz kalan bireylerde KKD ve kromozomal düzensizlik oranlarında ise artış olduğunu saptamışlardır.

Zhang ve arkadaşları [25] 1996'da ortalama 31 ppm düzeyindeki benzenden etkilenmiş 43 işçi ve kontrol grubundaki 44 kişiden alınan lenfositler üzerinde yaptıkları FISH çalışmalarında; trizomi 9 benzenden kaynaklanan en önemli hiperploidi tipi olduğunu saptamışlardır. Benzenin hematotoksitesinin belirleyicisi olarak, etkilenmiş bireylerde, lenfosit sayısı ve hiperploidi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu saptamışlardır.

Ward ve arkadaşları [6] 1996'da 34 ppm'lik dozda benzenden etkilenen lastik fabrikası çalışanlarında lösemi riskinin arttığı ve maruz kalma ile beyaz kan hücreleri sayısında düşüş arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Clare ve arkadaşları [66] 1984'te 1200 galon benzeni gemiye yükleme sırasında benzenden etkilenmiş 10 gemi işçisinde yaptıkları çalışmada KKD ve kromozomal düzensizlikler araştırmışlardır. Yapılan araştırmaya göre kromatid kırık, izokromatid kırık tipi düzensizlikler kaydedilmiştir. KKD oranlarında da artış saptamışlardır.

Tompa ve arkadaşları [4] 1994'te benzenin sitotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; Araştırma popülasyonunu; Kontrol I, kontrol II, 0-2 yıl benzenden etkilenen, 2-10 yıl benzenden etkilenen ve benzenden 10 yılın üzerinde etkilenen rafineri çalışanları olmak üzere beş gruba ayırmışlardır. KKD ve kromozomal düzensizlik oranları açısından toplam 262 bireyi inceledikleri bu çalışmada benzenden etkilenen üç grupta da bulunan KKD oranları kontrol gruplarınınkinden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Kromozomal düzensizlik ve yapısal kromozomal düzensizlik oranlarında da kontrol grubu ile benzenden etkilenen gruplara ait bulgular karşılaştırıldığında benzenden etkilenen gruplarda daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmanın sonucuna göre kromozom tipi düzensizlikten çok kromatid tip düzensizliklerin daha ağırlıklı olduğunu gözlemişlerdir.

Turkel ve Egeli [67] 1994'te uzun süre benzenin etkisinde kalan ayakkabı imalathanesi işçileri üzerinde yaptıkları çalışmada kromozomal düzensizlik oranlarının benzenden etkilenen grupta daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Ancak benzenden etkilenme süresi ile kromozomal düzensizlik oranları arasında bir ilişki olmadığını saptamışlardır. Sigara kullanılmasının ise kromozomal düzensizliklere etkisinin olmadığını saptamışlardır.

Karacic ve arkadaşları [68] 1995'te ayakkabı fabrikası çalışanları üzerinde 1987 ve 1992 yıllarında aynı bireyler üzerinde yaptıkları çalışmada; KKD ve kromozomal düzensizlikleri incelemiştir. Kromozomal düzensizliklerden özellikle disentrik kromozom frekansının ve KKD değerlerinin 1987'de yapılan analizlerde daha yüksek olduğu belirlemiştir.

Penzich ve arkadaşları [69] 1997'de kömür ocaklarında çalışan 45, kömür ocağı çevresinde yaşayan 38 ve kontrol olarak seçilen 64 sigara içen ve içmeyen toplam 147 bireyden yaz ve kış aylarına ait kan örnekleri üzerinde yaptığı KKD analizinde; Her bir gruptaki sigara içen bireylerde KKD frekansının sigara içmeyenlere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Carere ve arkadaşları [70] 1995'te petrol istasyonunda 20 yıl ve üzerinde çalışan sigara içmeyen 23 kişi ve kontrol grubu olarak seçilen 24 kişi üzerinde yaptığı KKD, kromozomal düzensizlik oranları ve mikronukleus'ları inceledikleri çalışmada; Petrol etkisinde kalan grupta KKD ve kromozomal düzensizlik oranları ve mikronukleus oranlarında çok az bir artış olduğunu saptamalarına karşın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirlemiştir.

Smith ve arkadaşları [46] 1998'de yapmış oldukları çalışmada benzenden etkilenmiş bir grupta 8 ve 21 numaralı kromozomlarda translokasyon ve bu kromozomların anöploidisini göstermişlerdir. Benzen etkisinde kalmış 44 fabrika işçisi ve aynı yaş grubundan 44 kişilik kontrol grubunda yaptığı FISH çalışmasında: Benzenden etkilenme ile 8 ve 21 numaralı kromozomların sayılarında artış olduğunu saptamışlardır. Aynı şekilde benzenden etkilenmiş bireylerde 8; 21 translokasyonunun kontrol grubuna göre 15 kat daha fazla olduğunu saptamışlardır. Kromozom 8 ve 21'de oluşan düzensizlikleri; kromozom kırıkları, delesyonlar ve translokasyonlar olmak üzere üç grupta incelemiştir. Translokasyonları ise kendi

içinde; 8 ve 21 nolu kromozom arasındaki translokasyonlar {t (8;21) }, 8 nolu kromozom ve tanımlanmamış bir kromozom arasındaki translokasyonlar {t (8;?) } ve 21 nolu kromozom ve tanımlanmamış başka bir kromozom arasındaki translokasyonlar {t (21;?) } olmak üzere üç başlık altında değerlendirmişler ve tüm translokasyon tiplerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Zhang ve arkadaşları [13]; 1999'da benzenle birlikte düşük dozda toluenden etkilenmiş bireyler üzerinde yaptıkları çalışmada; Hematotoksisiteye neden olmayan benzen dozunun kromozomal değişikliklere neden olduğunu saptamışlardır. Hem 31 ppm'den düşük ve yüksek dozların 7 numaralı kromozomun anöploidisine neden olduğunu belirlemişlerdir.

Léonard ve arkadaşları [71]; 1984'da nükleer enerji ve petrol alanlarında çalışan kişilerde kromozomal düzensizlikleri inceledikleri çalışmada; asentrik ve disentrik kromozomlar ve fragment oranlarında artış olduğunu saptamışlardır. Ayrıca düzensizlik içeren hücre oranlarının: nükleer alanlarda çalışanlarda - petrol alanlarında çalışanlara oranla daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Kasuba ve arkadaşları [20]; 2000'de sigara içen ve içmeyen ayakkabı tamircilerinde benzenin sitogenetik etkilerini inceledikleri çalışmada; disentrik kromozom oranlarının her iki grupta kontrollere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. KKD oranlarında kontrol grubu deney grubu arasında fark belirleyememişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Araştırma Populasyonu

Çalışma populasyonu yaşları 25-40 arasında değişen sağlıklı erkek bireylerden oluşmuştur. Tüm bireylerin yakın geçmişlerinde viral enfeksiyon geçirmemiş, röntgen filmi çekmemiş, ilaç kullanmamış, alkol ve benzeri bağımlılık yapıcı madde kullanmayanlardan seçilmesine özen gösterilmiştir. Çalışma populasyonu yukarıdaki ölçütler kapsamında iki kontrol iki de deney grubu olmak üzere 4 alt gruptan oluşmuştur: 1. Grup sigara içmeyen (kontrol I), 2. grup sigara içen (kontrol II), 3. grup sigara içmeyen petrol istasyonu çalışanları (deney I) ve 4. grup sigara içen benzin istasyonu çalışanlarından (deney II) oluşmuştur. Bu çalışma her grupta 15 olmak üzere toplam 60 erkek bireyde gerçekleştirilmiştir. Çalışma 4 grupta incelenmiştir. Çalışma populasyonunu oluşturan tüm bireylerden iki ml venöz kan alınarak iki farklı lenfosit kültürü hazırlanmıştır. Kültürlerin bir tanesi normal kromozom analizi prosedürüne göre, diğeri ise kardeş kromatid değişimi oranları analizinde kullanılmak üzere KKD prosedürüne göre hazırlanmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

3.1.2.1. Besi yerinin hazırlanması

Kan doku elemanlarından olan lenfosit hücrelerini steril ortamda üretebilmek için L-Glutaminli besi ortamına gereksinim vardır. Besi yeri ortamının kimyasal içeriği:

Besi ortamı	100 ml (Ham's F 10, Sigma)
FCS (Feotal Calf Serum)	18.5 ml (Sigma)
L-Glutamin	2 ml (Sigma)
Penisilin	0.2 ml
Streptomisin	0.1 ml
Fitohemaglutinin (PHA)	4 ml (Seromed)

3.1.2.2. Çözeltiler

a) Kolsisin (Colchicine) Çözeltisi

0,4 mg colchicine+100 ml bidistile su

b) Hipotonik Çözeltisi

5.592gr KCl 1000 bidistle su içerisinde çözülür. (0.075 M KCl)

c) Tespit Çözeltisi (fiksatif)

3 hacim metanol +1 hacim glacial acetic asit (Merck)

d) Penisilin Çözeltisi

1.000.000 U penisilin G-potasium+ 10 ml steril bidistile su

e) Streptomycine Çözeltisi

1 gr streptomycine sulfate+ 10 ml bidistile su

f) Phytohemaglutinin Çözeltisi

5 mg Phytohemaglutinin L (seromed) + 5 ml steril bidistile su

g) Sörenson Tampon Çözeltisi

11.88 gr Na₂HPO₄ 2H₂O+ 1000 ml distile su + 9.8 gr KH₂PO₄ + 1000 ml distile su. İki solüsyon birbiriyle karıştırılır. pH 6.8'e ayarlanır

h) Boya Çözeltisi

I. 5 ml Giemsa + 95 ml distile su

II. 5 ml Giemsa + 95 ml sörensan tampon solüsyonu

ı) BrdU Çözeltileri

6.5 mg BrdU (Sigma), 12.5 ml besi ortamında çözülür. Stok olarak hazırlanan bu solüsyon kapaklı bir tüpe konup üzeri alüminyum folyo ile kaplanır ve +4°C'de buzdolabında buzluk kısmında saklanır.

i) 2XSSC Çözeltisi

1.7530 gr NaCl (Merck; 0.3 M), 100 ml distile su içerisinde çözülür. 0.8823 gr NaSitrat (Merck; 0.03 M), 100 ml bidistile su içerisinde çözülür. İki solüsyon birbiri ile karıştırılır. pH= 7.2 olacak şekilde sitrik asit ile ayarlanır.

3.2. METOD

Bu çalışmadaki amaç, gerek spontan olarak ve gerekse mutajen olan petrolün içindeki benzenin neden olduğu kromozomal düzensizlikleri ve kardeş kromatid değişimi oranlarını saptamak olduğu için makro kültür yöntemi kullanılarak lenfosit kültürleri hazırlanmıştır.

3.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi

Çeşitli dokularda kromozomlar mitoz bölünmenin metafaz evresinde en iyi şekilde görülürler. Bu nedenle kromozomların iyi incelenebilmesi için çok sayıda metafaz plağı elde etmek gerekir. İncelenecek olan insan lenfositleri normal olarak % 1 gibi düşük bir oranda kendiliğinden (spontan) mitoz bölünmeye girerler. Bu nedenle fitohemaglutinin adı verilen bir kimyasal madde ile hücre kültürlerinde üretilen lenfositlerin yapay olarak mitozu teşvik edilmeleri ve sonradan da kolşisin adı verilen başka bir kimyasal madde ile mitoz bölünmenin metafaz evresinde durdurulmaları gerekmektedir. Lenfositlerin fitohemaglutinin ile muamelesinden 24 saat sonra ikinci mitozu girdikleri bilinmektedir. Bu nedenle lenfositler kültür ortamlarında 37⁰C'de 72 saat süre ile bekletilirler. Bu süre içerisinde hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmeleri için esasını amino asitler, vitaminler ve minerallerin oluşturduğu heterolog insan serumu ya da dana serumu içeren kültür ortamlarında tutulmaları gerekmektedir.

Çalışmada, Moorhead ve arkadaşlarının geliştirmiş oldukları standart ya da makro kültür yönteminin modifiye şekli olan mikroteknik ya da tüm kan tekniği olarak bilinen yöntemden yararlanılmıştır [41].

Çalışmanın deneysel uygulama aşamaları sırası ile aşağıdaki gibidir.

a. Kromozomal düzensizlik oranlarının belirlenmesi ve kardeş kromatid değişim oranlarının belirlenmesi için olmak üzere her bir birey için 2 kültür tüpü kullanılmıştır.

b. Aseptik koşullarda ve steril malzeme kullanılarak hazırlanmış ve buzdolabında muhafaza edilmiş stok kültür ortamı solüsyonu kullanılacağı zaman buzdolabından çıkarılarak her bir kültür tüpüne steril bir enjektörle 5 ml aktarılmıştır.

c. Steril heparinlenmiş enjektörle her bireyden alınan venöz kan aseptik koşullarda içinde kültür ortamı bulunan her bir tüpe 12 damla olacak şekilde eklenmiştir. KKD deneyleri için ayrılmış tüplere de aynı işlemler uygulanmış ve tüplerin karanlıkta kalmasını sağlamak amacıyla aliminyum folyo ile kapatılarak 100µl BrdU solüsyonu eklenerek bütün tüpler 72 saat süre ile 37°C'de inkübasyona bırakılmışlardır. Tüplerin üzerine hangi bireye ait olduğunu belirten etiketler yapıştırılmıştır.

d. Inkübasyondan 71 saat sonra etüvden çıkarılan kültür tüplerine insülin iğnesi ile 4 damla kolşisin solüsyonu eklenip, hafifçe çalkalandıktan sonra tekrar etüve konarak inkübasyon süresinin dolması beklenmiştir.

72. saatin sonunda kültürler etüvden çıkarılmış ve 2000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

e. Kültür sayısı kadar pastör pipeti kullanılmış ve pastör pipetleri bireye göre işaretlenmiştir. Santrifüj sonunda tüplerdeki hücre çöküntüsü üzerindeki sıvı (supernatant) atılmış geriye kalan hücre çöküntüleri üzerine 10 ml hipotonik solüsyondan eklenerek pipetaj yapılmış ve hücre ve nukleus membranlarının parçalanmasını sağlamak amacıyla 15 dakika süre ile etüvde bekletilmiştir.

f. 15 dakika hipotonik muamelesinden sonra etüvden çıkarılan tüpler tekrar 2000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı tekrar atılmıştır.

g. Kalan çöküntü üzerine hücreleri buldukları evrede tespit etmek için 5 ml tespit solüsyonu (fiksatif), tüp kenarından kaydırılarak damla damla eklenip, pipetaj yapıldıktan sonra tekrar 2000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

h. Aynı işlem 4 kez daha tekrarlanmış, üstteki sıvı atılarak, kalan hücre çöküntüsü üzerine onu örtecek kadar tespit solusyonu konarak çok hafif şekilde pipetaj yapılmış ve tüpteki tüm içerik pipete alınmıştır.

i. Kültür tüplerinin üzerinde yazılı olan bilgilerinin aynısının yazılı olduğu temiz lamalar üzerine pipet yardımı ile damlatılarak yayma işlemi yapılmış ve preparatlar havada kurumaya bırakılmışlardır. Her birey için hazırlanan preparat sayısı 8'dir. 4 preparat kromozomal düzensizlik (2 tanesi düz giemsa boyama ve 2 tanesi ise giemsa-tripsin bantlama olmak üzere) oranları için ve 4 preparat da KKD oranlarının belirlenmesi için hazırlanmıştır.

i. Kuruma işlemi tamamlandıktan sonra kromozomal düzensizlik oranlarının belirlenmesi için ayrılan preparatlardan 2 tanesi 1 numaralı giemsa boya solusyonu ile 20 dakika boyanmış, üzerindeki boya döküldükten sonra musluk suyundan geçirilerek yeniden kurumaya bırakılmıştır.

Kuruyan preparatlar 10-15 saniyelik süreler ile aseton, aseton-xylol ve xylol serilerinden geçirilmiş preparat üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatılmış ve böylece düz boyanmış daimi preparatlar elde edilmiştir.

j. Geriye kalan 2 preparat etüvde 5 gün bekletilerek yaşlanması sağlandıktan sonra, 37°C'de ayarlanmış tripsin çözeltisine 10-30 saniye süre ile daldırılmıştır. Tripsin çözeltisinden çıkarılan preparatlar iki seri distile sudan geçirilerek II numaralı Giemsa boya solusyonunda 5 dakika süre ile boyanmış ve tekrar distile sudan geçirilerek kurumaya bırakılmışlardır. Kuruyan preparatlar 15 saniye süre ile aseton, aseton-xylol ve xylol serilerinden geçirilmiş, kurutulmuş ve entellan damlatılıp lamel kapatılarak tripsin bantlı olarak boyanmış preparatlar elde edilmiştir.

3.2.2. Kardeş Kromatid Değişimi Preparatlarının Boyanması

Bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını (sister chromatid differentiation=SCD) sağlamak amacıyla **Fluoresan Plus Giemsa** metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu yöntemle göre aşağıdaki basamaklar izlenmiştir [24].

a. KKD oranlarının belirlenmesi için ayrılmış olan preparatlar Fluoresan Plus Giemsa metodunun modifiye şekli uygulanmak amacıyla 24 saat süre ile oda ısısında bırakılmışlardır. Bu süre sonunda preparatlar ışınlama kabına bırakılarak üzeri bir film gibi örtülecek şekilde Sorenson tamponu çözeltisi (pH 6.8) ile kapatılmıştır. Işınlama solüsyonunun fazla yada az olması kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını önemli derecede etkilediği görülmüştür. İnce bir tabaka halinde ışınlama solüsyonu ile örtülen preparatlar karanlıkta 15 cm yükseklikten ve 30 W'lık 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen tek ultraviyole (UV) lambası ile 30 dakika ışınlandırılmıştır.

b. Işınlandırılan preparatlar daha sonra hemen 58-60°C'deki etüvde bulunan 2XSSC solüsyonu içerisinde 45 dakika süre ile tutulmuşlardır. Daha sonra preparatların havada kurumaları sağlanmıştır. Kuruyan preparatların II numaralı Giemsa boya solüsyonunda 26 dakika süre ile boyanmaları sağlanmıştır. Boyanan preparatların kurumaları sağlanmıştır. Kuruyan preparatlar 15 saniye süre ile aseton, aseton-xylool ve xylool serilerinden geçirilmiş, kurutulmuş ve entellan damlatılıp lamel kapatılarak KKD preparatları hazırlanmıştır.

3.3. DEĞERLENDİRME

3.3.1. Preparatların Değerlendirilmesi

Değerlendirme işlemine, mikroskop altında incelenen preparatlarda kromozom düzensizliği içeren metafaz sayısı, kromozomal düzensizlik tiplerinin ve KKD oranlarının önceden hazırlanmış formlara kaydedilmesi ile başlanmıştır. Preparatların tarama işlemi küçük büyütme (10) objektifle başlanmış, kaliteli metafazlar immersiyon objektifi ile (100X) ayrıntılı bir şekilde incelenip, hazırlanmış değerlendirme formuna gerekli kısaltma ve sembollerle kayıt edilmiştir.

3.3.2. İstatistiksel Değerlendirme

Düzensizlik içeren metafaz sayısı ve toplam yapısal düzensizlik sayısı sayımla elde edilen değerlerden oluşmaktadır. KKD/metafaz değerleri ise 1 metafaz başına düşen KKD oranını göstermektedir. Düzensizlik içeren metafaz sayısı, toplam yapısal düzensizlik sayısı ve KKD/metafaz sayılarak elde edilen değerler oldukları için bu değerler açı değerlerine dönüştürülerek faktoriyel planlama yöntemlerinden varyans analizi tekniği ile test edilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

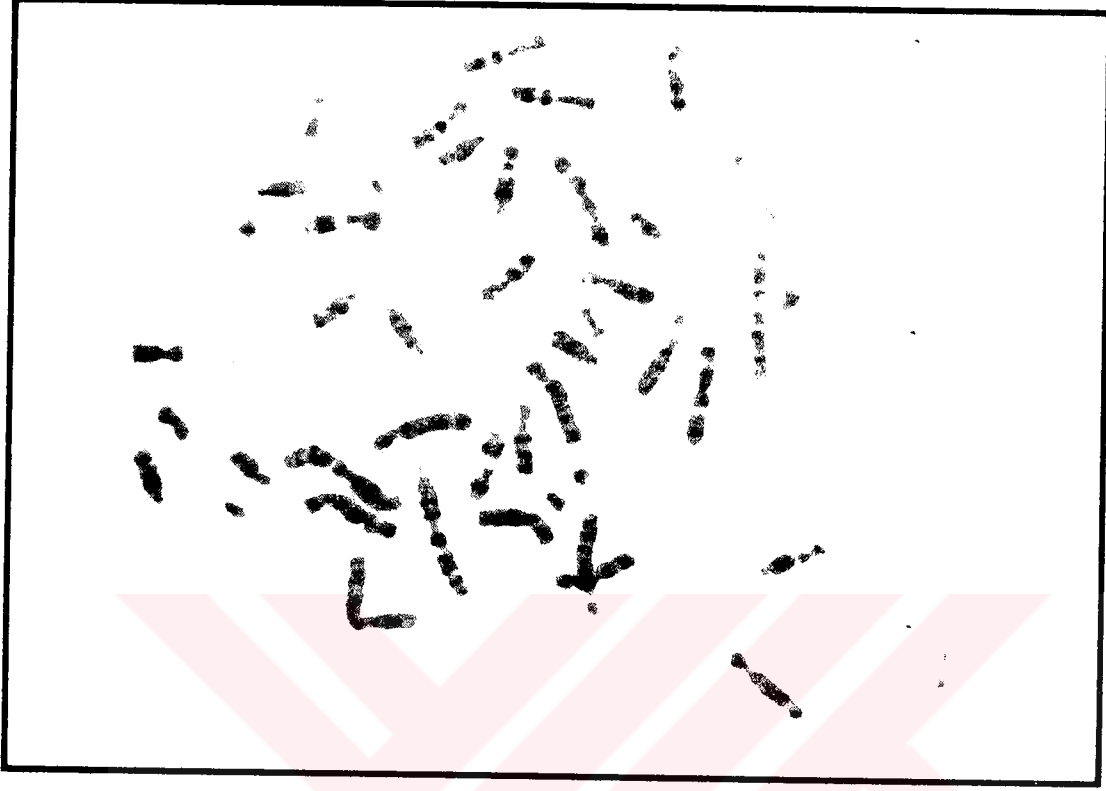
Araştırma populasyonu; Kontrol grubu: Sigara içmeyen 15 kişi ve sigara içen 15 kişi olmak üzere 30 kişiden oluşmuştur. Deney grubu: Sigara içmeyen petrol istasyonu çalışanlarından 15 kişi ve sigara içen petrol istasyonu çalışanlarından 15 kişi olmak üzere 30 kişiden oluşmuştur. Çalışılan toplam birey sayısı 60 kişidir. Her birey için bir tanesi normal kromozom analizi prosedürüne, diğeri de KKD prosedürüne göre olmak üzere iki tane lenfosit kültürü hazırlandığından toplam 60 kişi için (60 x 2) 120 tane lenfosit kültürü çalışılmıştır.

Kromozom analizi prosedürüne göre hazırlanan preparatlardan her birey için 50 adet metafaz plağı Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücreler ve Yapısal Kromozom Düzensizlik oranları açısından incelenmiştir. Toplam değerlendirilen metafaz plağı sayısı $50 \times 60 = 3000$ dir. Kromozomal düzensizlik içeren hücreler başlığı altında her hangi bir yapısal kromozom düzensizliğinden bir yada daha fazla sayıda içeren hücre ve öploidi tipi düzensizliklerden endomitoz ve endoredüplikasyon kökenli tetraploid hücreler değerlendirilmiştir. Yapısal kromozom düzensizlikleri ise; Kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık, fragment ve diğer yapısal kromozom düzensizliklerini içermektedir. Diğer yapısal düzensizlikler; ring kromozom, delesyon, disentrik kromozom gibi az rastlanan düzensizliklerden oluşmaktadır. Kardeş Kromatid Değişim oranlarını saptamak için yine her birey için 50 adet olmak üzere toplam 3000 adet metafaz plağı değerlendirilmiştir. Her birey için saptanan toplam KKD miktarı metafaz sayısı olan 50'ye bölünerek KKD oranları saptanmıştır. Kontrol ve deney grubuna ait kromozomal düzensizlik içeren hücre oranları, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri ve KKD oranlarına ait genel bulgular çizelge 4-1, 4.2, 4.3, 4.4'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

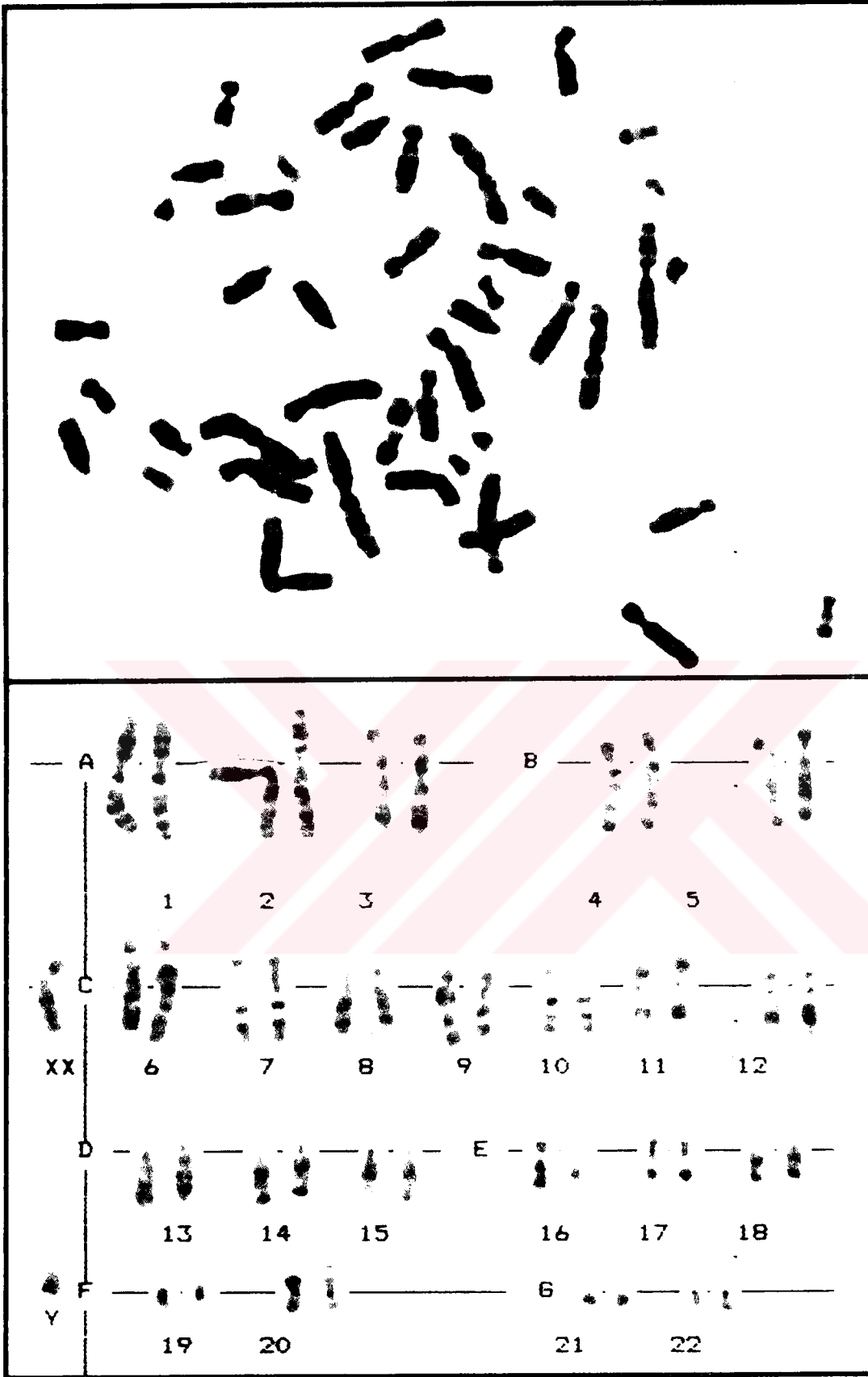
4.1.1. Kontrol Grubu Sigara İçmeyen Bireylere Ait Bulgular

Kontrol grubu sigara içmeyen bireylerin en genci 26 en yaşlısı 35 olup yaş ortalaması 30,3'tür. Her bireyden 50 adet metafaz plağı olmak üzere toplam 750 metafazda saptanan kromozom düzensizliği tipleri ve miktarları: kromatid gap 3, izokromatid gap 3, kromatid kırık 5, fragment 3, endomitoz 2 ve endoredüplikasyon 2 şeklindedir. Saptanmış olan toplam 16 düzensizliğin 14 tanesi yapısal tip, 4 tanesi ise öploidi tipi sayısal düzensizlikten oluşmaktadır. Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 2,1, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 1,8'dir (Çizelge 4.1). Söz konusu parametreleri yaşla ilintilendirdiğimizde ortalama yaş olan 30.3'ten küçük olan 10 bireyde Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 2.2, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 1.8'dir. 30.3'den büyük olan 5 bireyde ise Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 2, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 2'dir. Bu gruba ait normal metafaz ve karyotip örneği şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Kardeş Kromatid Değişim oranlarını belirlemek için her birey için 5.tane olmak üzere toplam 750 metafaz plağı değerlendirilmiştir ve toplam 3933 adet kardeş kromatid değişimine uğrayan kromozom saptanmıştır. Birey başına düşen KKD oranı 262,2, metafaz başına ise 5,24'tür (Çizelge 4-1). KKD oranı 30,3 yaşın altındaki 10 bireyde 5.4 iken – 30,3 yaşın üzerindeki 5 bireyde 4.7'dir.



Şekil 4.1. Sağlıklı Bir Erkek Bireye Ait Giemsa-Tripsin Bantlama Yapılmış Metafaz Örneği



Şekil 4.2. Sağlıklı bir erkek bireye ait Giemsa-Tripsin bantlama yöntemi ile hazırlanmış metafaz plağı ve karyotip örneği.

Çizelge 4.1. Kontrol Grubu Sigara İçmeyen Bireylerde Kromozomal Düzensizlik ve Kardeş Kromatid Değişim Oranlarına Ait Genel Bulgular

Protokol Numarası	Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizlik Sayısı	Öploidi tipi Sayısal Düzensizlikler	Toplam KKD Miktarı	KKD/Metafaz	Yaş
1										201	4.02	26
2	1	1		2				3		344	6.88	30
3										198	3.96	25
4	2								2	253	5.06	27
5	2					2		2		255	5.10	30
6	1			1				1		296	5.92	30
7	1		1					1		243	4.86	30
8	2								2	301	6.02	30
9	1	1						1		297	5.94	28
10	1		1					1		391	7.82	28
11	1			1				1		303	6.06	35
12	1	1						1		252	5.04	35
13	1			1				1		240	4.80	32
14	1		1					1		154	3.08	35
15	1					1		1		205	4.10	34
ΣX	16	3	3	5		3		14	4	3933		455
X%	2.1	0.4	0.4	0.6	-	0.4	-	1.8	0.5	262.2	5.24	30.3

4.1.2.Kontrol Grubu Sigara İçen Bireylere Ait Bulgular

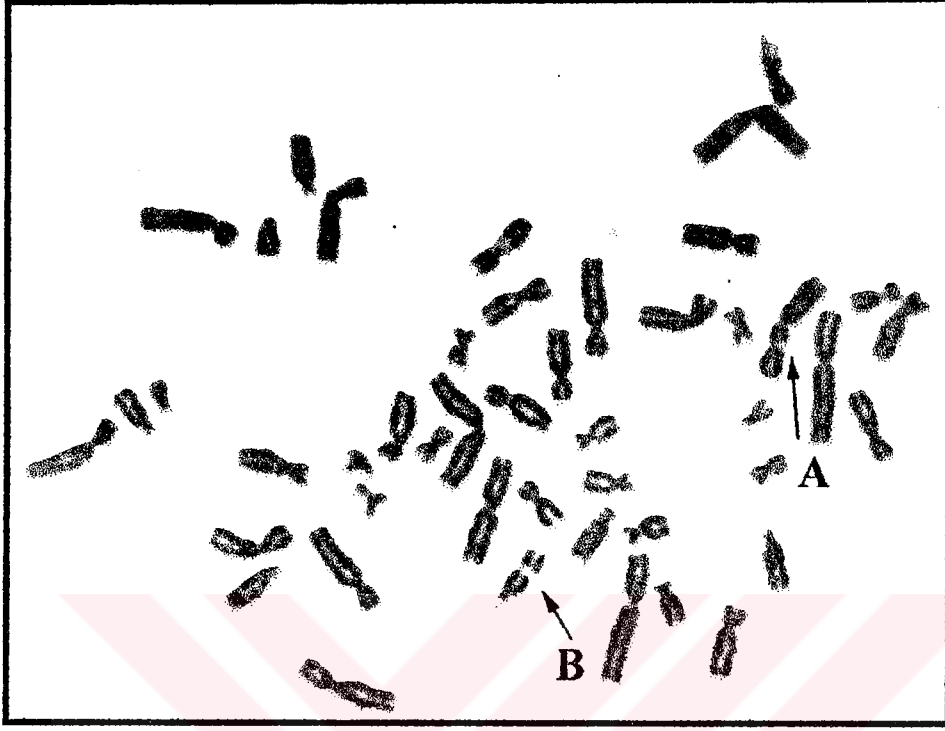
Kontrol grubu sigara içen bireylerin en genci 26 en yaşlısı 38 olup yaş ortalaması 32,1'dir. Her bireyden 50 adet metafaz plağı olmak üzere toplam 750 metafazda saptanan kromozom düzensizliği tipleri ve miktarları: kromatid gap 10, izokromatid gap 7 (Şekil 4.3), kromatid kırık 7, izokromatid kırık 2 (Şekil 4.4), fragment 2, diğer yapısal düzensizlikler içinde değerlendirilen disentrik kromozom 1, endoredüplikasyon 6 (Şekil 4.5) ve endomitoz 1 (Şekil 4.6) şeklindedir. Saptanmış olan toplam 35 düzensizliğin 28 tanesi yapısal tip, 7 tanesi ise öploidi tipi sayısal düzensizlikten oluşmaktadır. Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 4,6, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 3,8'dir Bu değerleri kontrol grubundaki sigara içmeyen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Sigara kullanımına bağlı olarak Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranlarının % 2,1'den - % 4,6'ya, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranının % 1,8'den - % 3,8'e ve öploidi tipi düzensizlik miktarının ise % 0,5'ten - % 0,9'a yükseldiği görülmektedir (Çizelge 4-2). Söz konusu parametreleri yaşla ilintilendirdiğimizde ortalama yaş olan 32,1'den küçük olan 8 bireyin ortalama sigara kullanma süresi 12 yıl olup, Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 5 Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 4.2'dir. 32,1'den büyük olan 7 bireyin ortalama sigara kullanma süresi 10 yıl olup, Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 4.2 iken, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 3.4'dür. Burada kromozomal düzensizlik oluşumunun yaşdan daha çok sigara kullanım süresine bağlı olduğu görülmektedir.

Kardeş Kromatid Değişim oranlarını belirlemek için her birey için 50 adet olmak üzere toplam 750 metafaz plağı değerlendirilmiştir ve toplam 4273 adet kardeş kromatid değişimine uğrayan kromozom saptanmıştır. Birey başına düşen KKD oranı 284,8, metafaz başına ise 5,69'tür (Çizelge 4-2). Bu değerleri kontrol grubu sigara içmeyen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Sigara kullanımına bağlı olarak toplam KKD miktarının 3933'ten - 4273'e, birey başına KKD miktarının 262,2'den - 284,8'e ve metafaz başına KKD oranının ise 5,24'ten - 5, 69'a yükseldiği görülmektedir. Ortalama yaş olan 32,1 den küçük olan 8 bireyin ortalama

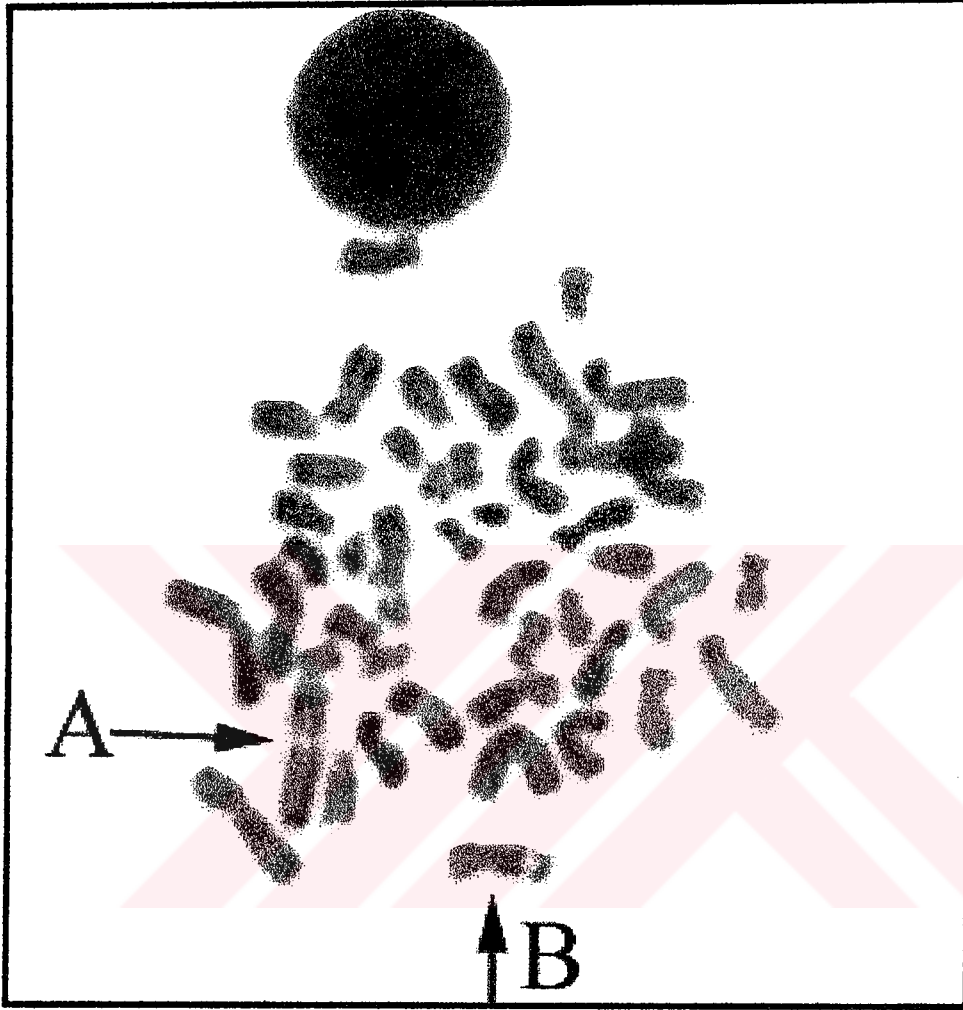
sigara içme süresi 12 yıl olup KKD oranı 5.56'dır. 32,1 yaştan büyük 7 bireyin sigara kullanma süresi 10 yıl olup KKD oranı 5.84'tür.

Çizelge 4.2. Kontrol Grubu Sigara İçen Bireylerde Kromozom Düzensizliği ve Kardeş Kromatid Değişim Oranlarına Ait Genel Bulgular

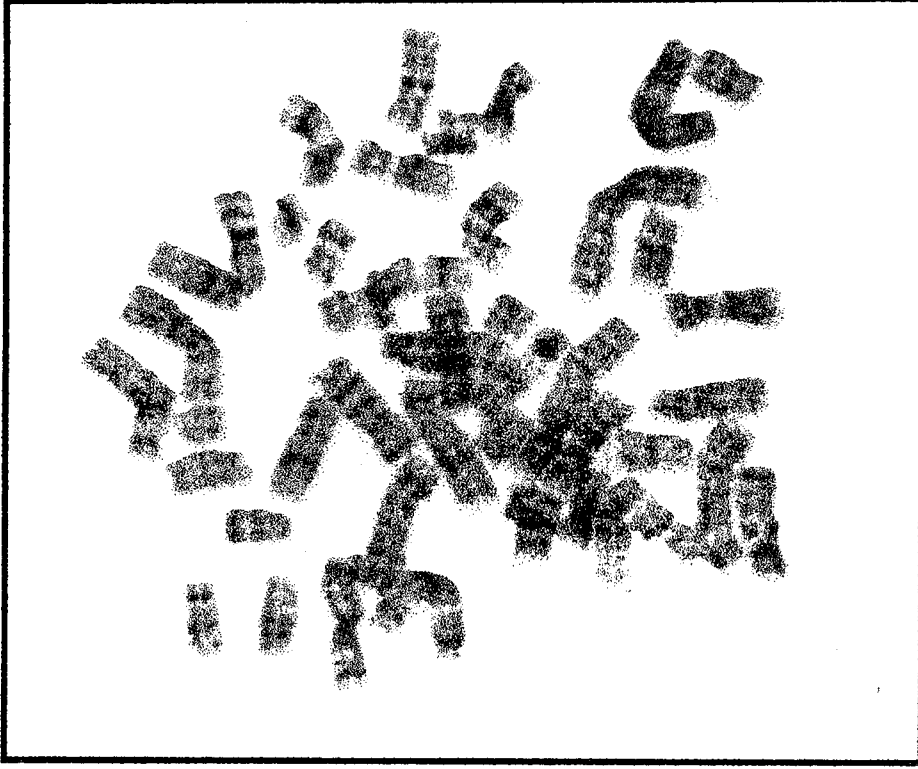
Protokol Numarası	Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kıvrık	İzokromatid Kıvrık	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizlik Sayısı	Öploidi Tipi Sayısal Düzensizlikler	Toplam KKD Miktarı	KKD/Metafaz	Yaş
16	3			1		1		2	1	248	4.96	26
17	6	2		1			1	4	2	206	4.12	31
18	2	1	1					2		353	7.06	28
19	2	1		1	1			3		254	5.08	28
20	3			1	1	1		3		247	4.94	33
21	2		1	1				2		299	5.98	30
22	2	1						1	1	254	5.05	32
23	2		1	1				2		304	6.08	33
24	1			1				1		201	4.02	35
25	2	1	1					2		304	6.08	32
26	2	1						1	1	346	6.92	38
27	3	1	1					2	1	395	7.90	36
28	2		1					1	1	348	6.96	35
29	2	1	1					2		206	4.12	33
30	1	1						1		308	6.16	32
ΣX	35	10	7	7	2	2	1	29	7	4273	85.35	482
X%	4.6	1.4	1.2	1.2	0.2	0.5	0.2	3.8	0.9	284.8	5.69	32.1



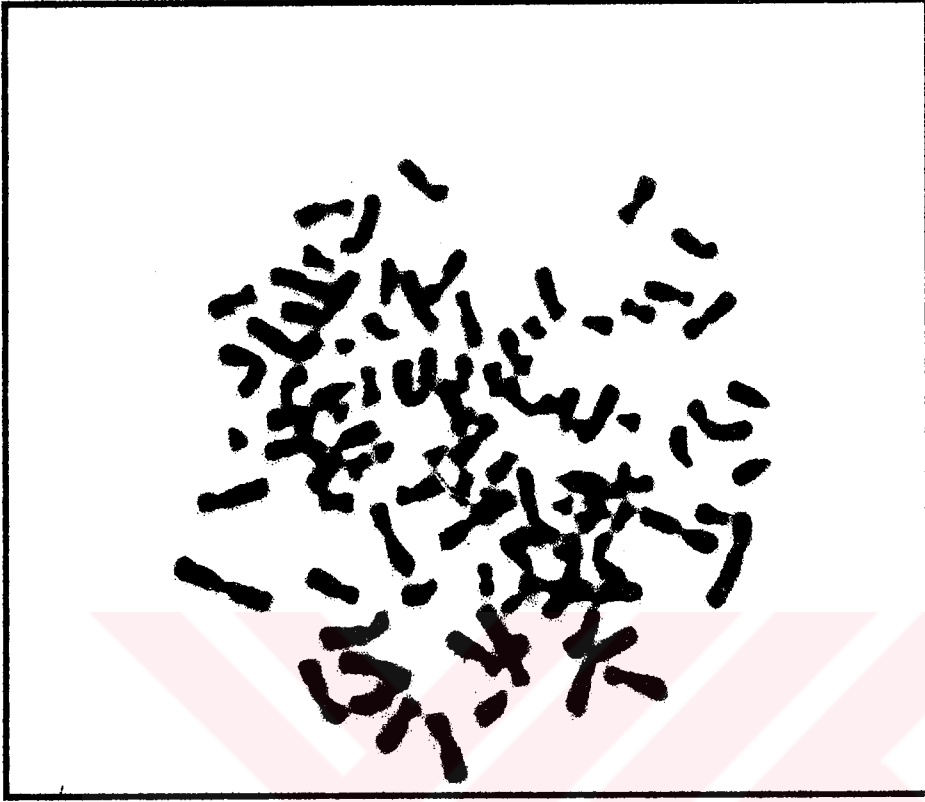
Şekil. 4.3 A. Aq Kromatid Kırık B. Dq İzokromatid Gap



Şekil. 4.4. A.Bq İzokromatid Gap, Cq İzokromatid Kırık



Şekil 4.5. Giemsa-tripsin Bantlama Yapılmış Bir Endoredüplikasyon Kökenli Tetraploid Hücre



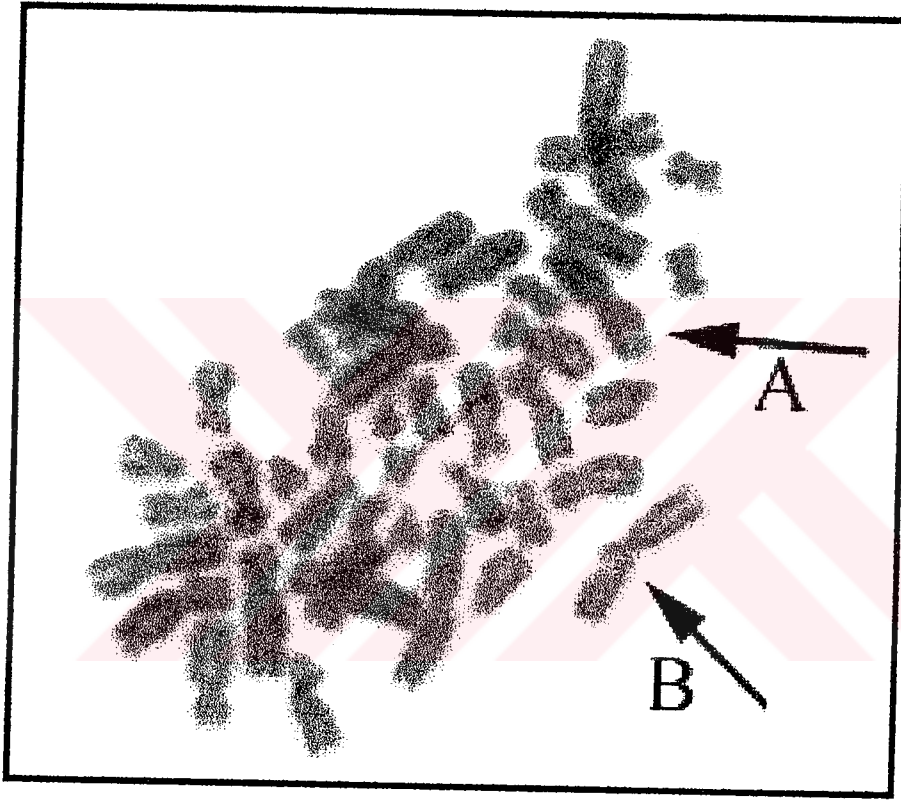
Şekil 4.6. Endomitoz Kökenli Tetraploid Hücre ($4n=92$)

4.1.3. Deney Grubu Sigara İçmeyen Bireylere Ait Bulgular

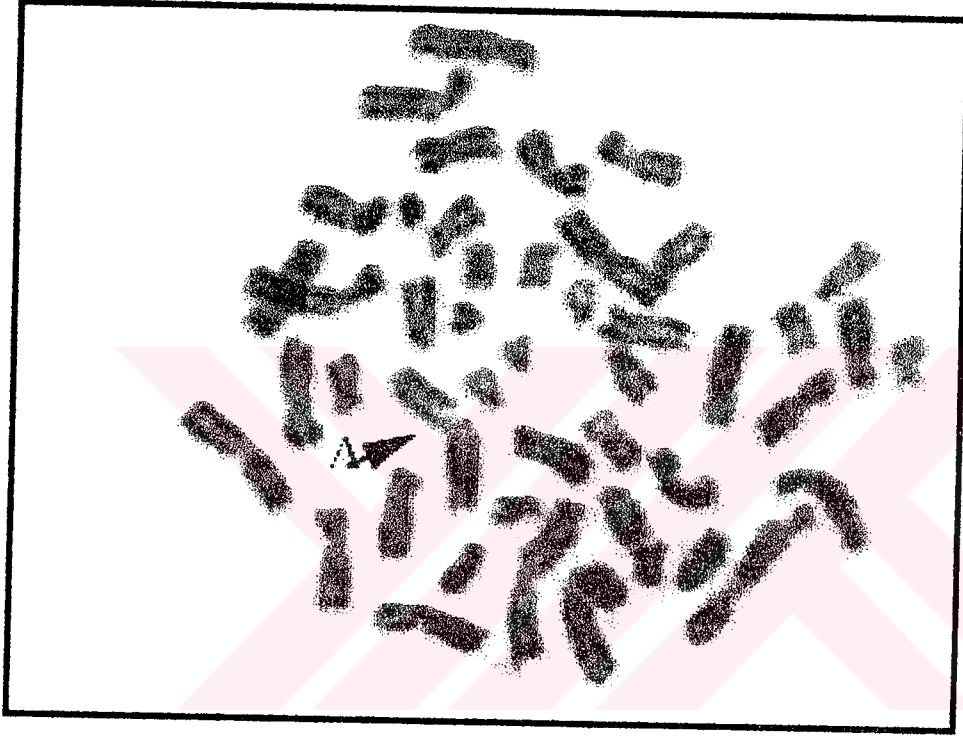
Deney grubu sigara içmeyen bireylerin en genci 27 en yaşlısı 38 olup yaş ortalaması 32,8'dir. Her bireyden 50 adet metafaz olmak üzere toplam 750 metafaz plağında saptanan kromozom düzensizliği tipleri ve miktarları: kromatid gap 6 (Şekil 4.7), izokromatid gap 4, kromatid kırık 7 (Şekil 4.8), izokromatid kırık 4, fragment 6, diğer yapısal düzensizlikler 3 (Şekil 4.9 disentrik kromozom), endomitoz 1 ve endoredüplikasyon 2 şeklindedir. Saptanmış olan toplam 33 düzensizliğin 30 tanesi yapısal tip, 3 tanesi ise öploidi tipi sayısal düzensizlikten oluşmaktadır. Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 4,4, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 4'tür (Çizelge 4-3).

Bu değerler kontrol grubundaki sigara içmeyen bireylere ait bulgularla kıyaslandığında: Buharlaştan petrol ürünlerinden bünyeye karışan kimyasal maddelerin etkisiyle Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranlarının % 2,1'den - % 4,4'e, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranının % 1,8'den - % 4'e yükseldiğ görülmektedir. Öploidi tipi düzensizlik miktarının ise % 0,5 iken - deney grubunda % 0,4 bulunmuştur.

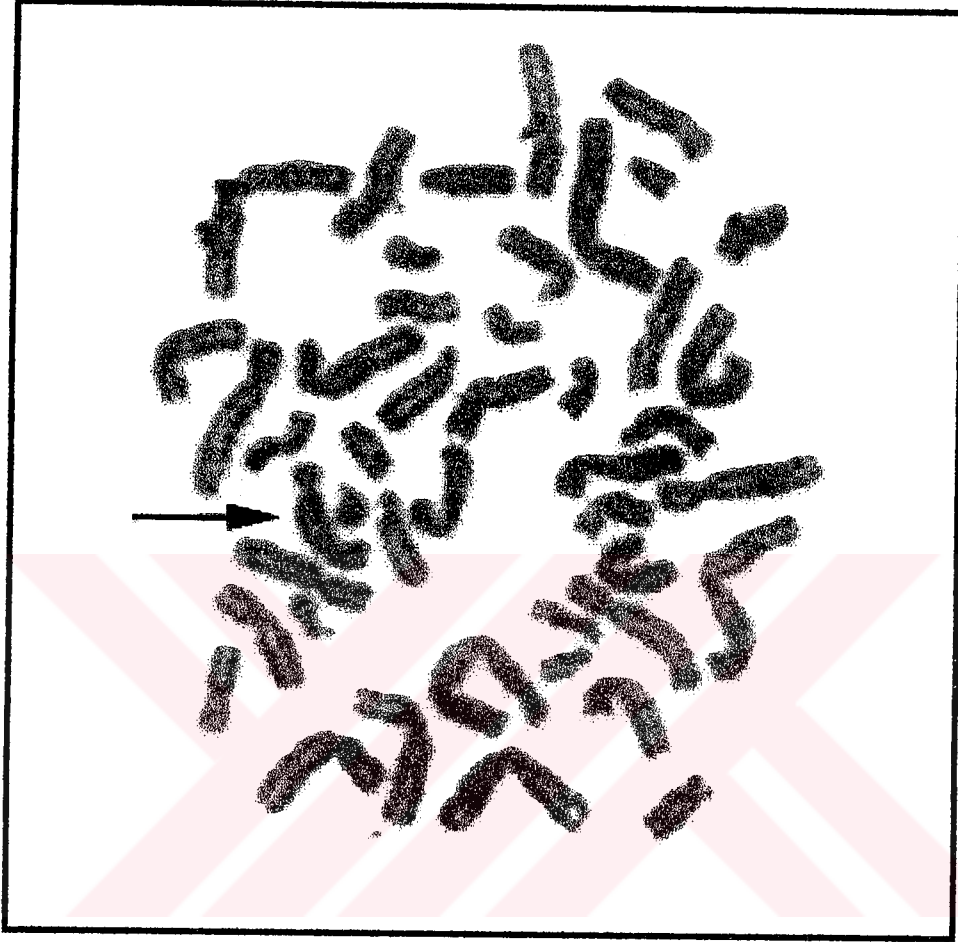
Söz konusu parametreleri yaşla ilintilendirdiğimizde ortalama yaş olan 32,8'den küçük olan 8 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 7 yıl olup, Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 4,7, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı %4,5'tir. 32,8'den büyük olan 7 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 9 yıl olup Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 4 iken Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı %3,4 tür.



Şekil 4.7. A:Aq Kromatid Gap B: Aq Kromatid Kırık



Şekil. 4.8. A. Aq Kromatid Kırık



Şekil. 4.9. Disentrik Kromozom

Çizelge 4. 3. Deney Grubu Sigara İçmeyen Bireylerde Kromozom Düzensizliği ve Kardeş Kromatid Değişim Oranlarına ait Genel Bulgular

Protokol Numarası	Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizlik Sayısı	Öploidi Tipi Syasal Düzensizlikler	Toplam KKD Miktarı	KKD/Metafaz	Yaş
31	5			3			1	4	1	354	7.08	32
32	2				1	1		2		302	6.04	28
33	3	1		1			1	3		206	4.12	31
34	2	1	1					2		298	5.96	35
35	3			1		1		2	1	199	3.98	35
36	3		1				1	2	1	352	7.04	33
37	2				1	1		2		248	4.96	35
38	2	1		1				2		250	5.00	28
39	1	1						1		304	6.08	38
40	2		1			1		2		307	6.14	28
41	2	1		1				2		228	4.56	27
42	1				1			1		251	5.02	39
43	3	1			1	1		3		396	7.92	29
44										254	5.08	32
45	2		1			1		2		358	7.16	33
$\sum X$	33	6	4	7	4	6	3	30	3	4307	86.14	493
X%	4.4	0.8	0.5	0.9	0.5	0.8	0.4	4.0	0.4	287.1	5.74	32.8

Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını belirlemek amacıyla her birey için 50 adet olmak üzere toplam 750 metafaz plağı değerlendirilmiştir ve toplam 4307 adet kardeş kromatid değişimine uğrayan kromozom saptanmıştır (Şekil 4.10). Birey başına düşen KKD oranı 287,1, metafaz başına ise 5,74'tür (çizelge 4-3). Bu değerleri kontrol grubu sigara içmeyen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Sigara ve buharlaşmış petrol ürünlerinden bünyeye karışanların etkisiyle toplam KKD miktarının 3933'ten - 4307'e, birey başına KKD miktarının 262,2'den - 287,1'e ve metafaz başına KKD oranının ise 5,24'ten - 5,74'e yükseldiği görülmektedir. 32,8 yaşından küçük olan 8 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 7 yıl olup, KKD oranı 5.10 iken 32,8'den büyük olan 7 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 9 yıl olup KKD oranı 5.74' tür..

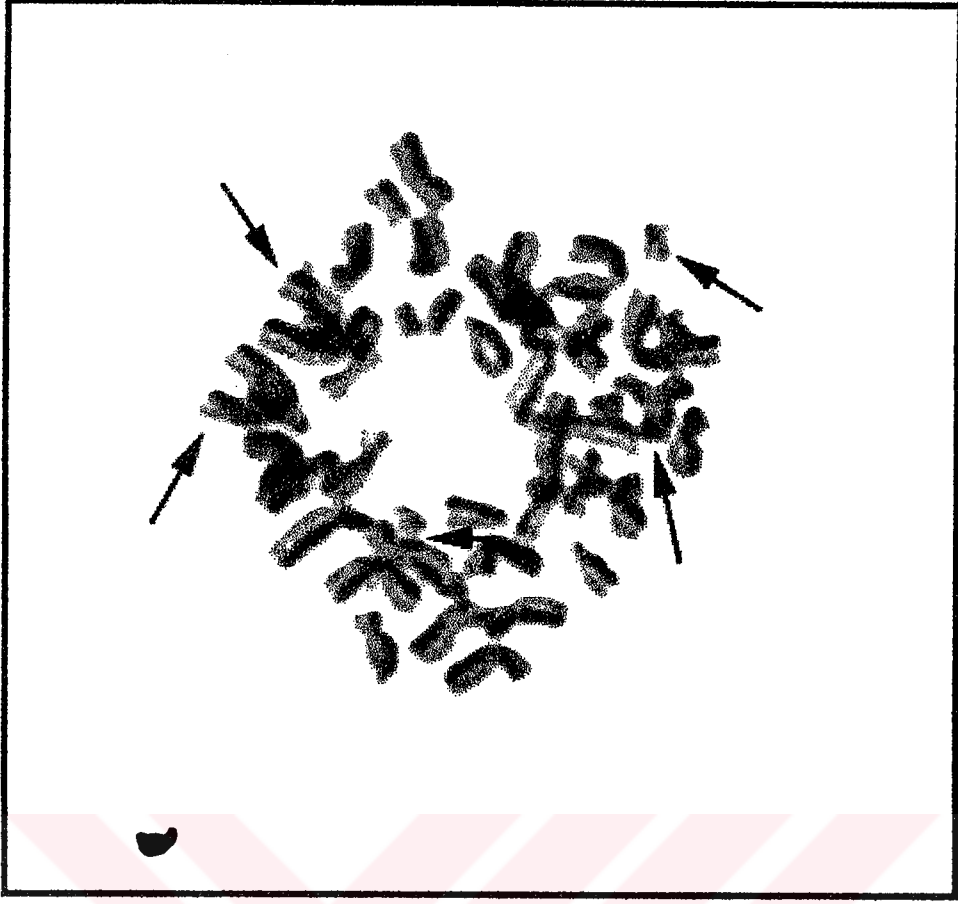
4.1.4. Deney Grubu Sigara İçen Bireylere Ait Bulgular

Deney grubu sigara içen bireylerin en genci 28 en yaşlısı 35 olup yaş ortalaması 31,8'dir. Her bireyden 50 adet metafaz olmak üzere toplam 750 metafaz plağında saptanan kromozom düzensizlik tipleri ve miktarları: kromatid gap 11, izokromatid gap 4, kromatid kırık 11 (Şekil 4.11), izokromatid kırık 3, fragment 6, diğer yapısal düzensizlikler 3, endomitoz 1 ve endoredüplikasyon 3 şeklindedir. Saptanmış olan toplam 41 düzensizliğin 37 tanesi yapısal tip, 4 tanesi ise öploid tipi sayısal düzensizlikten oluşmaktadır. Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı % 5,4, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 5'tir (çizelge 4-4). Bu değerleri kontrol grubundaki sigara içen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Sigara kullanımına ek olarak buharlaşan petrol ürünlerinden bünyeye karışanların etkisiyle Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranlarının % 4,6'dan - % 5,4'e, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranının % 3,8'den - % 5'e yükseldiği görülmektedir. Öploid tipi düzensizlik miktarının ise % 0,9 iken - deney grubunda % 0,5 bulunmuştur. Söz konusu parametreleri yaşla ilintilendirdiğimizde 31,8 yaşından küçük olan 6 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 7, sigara kullanma süresi 10 yıl iken Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranı %5.3, Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 4.6'dır. 31,8'den büyük olan 9 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 10 yıl, sigara kullanma süresi 10 yıl olup

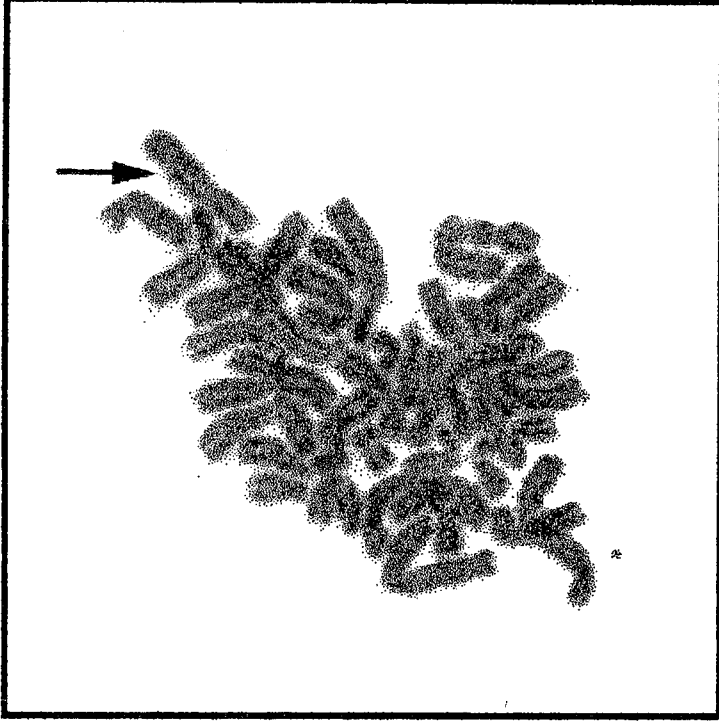
kromozomal düzensizlik içeren hücre oranı % 5.5 ve Yapısal Kromozom Düzensizliği oranı % 5.3'tür

Çizelge 4. 4. Deney Grubu Sigara İçen Bireylerde Kromozom Düzensizliği ve Kardeş Kromatid Değişim Oranlarına ait Genel Bulgular

Protokol Numarası	Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizlik Sayısı	Öploidi Tipi Sayısal Düzensizlikler	Toplam KKD Miktarı	KKD/Metafaz	Yaş
46	2	1		1				2		266	5.32	32
47	2					1	1	2		404	8.08	29
48	3	2	1	1				4		309	6.18	35
49	3	1	1	1				3		262	5.24	30
50	2	1	1					2		356	7.12	35
51	3	1		1			1	3		298	5.96	33
52	2	1		1				2		363	7.26	28
53	5	1			1	1		3	2	328	6.56	29
54	2			1		1		2		447	8.94	30
55	2			1		1		2		216	4.32	30
56	3	1		2				3		256	5.12	33
57	3	1				1		2	1	215	4.30	33
58	3		1	1			1	3		319	6.38	35
59	4			1	1	1		3	1	337	6.74	32
60	2	1			1			2		419	8.38	33
$\sum X$	41	11	4	11	3	6	3	38	4	4795	95.9	477
X%	5.4	1.4	0.5	1.4	0.4	0.8	0.4	5.0	0.5	319.6	6.39	31.8

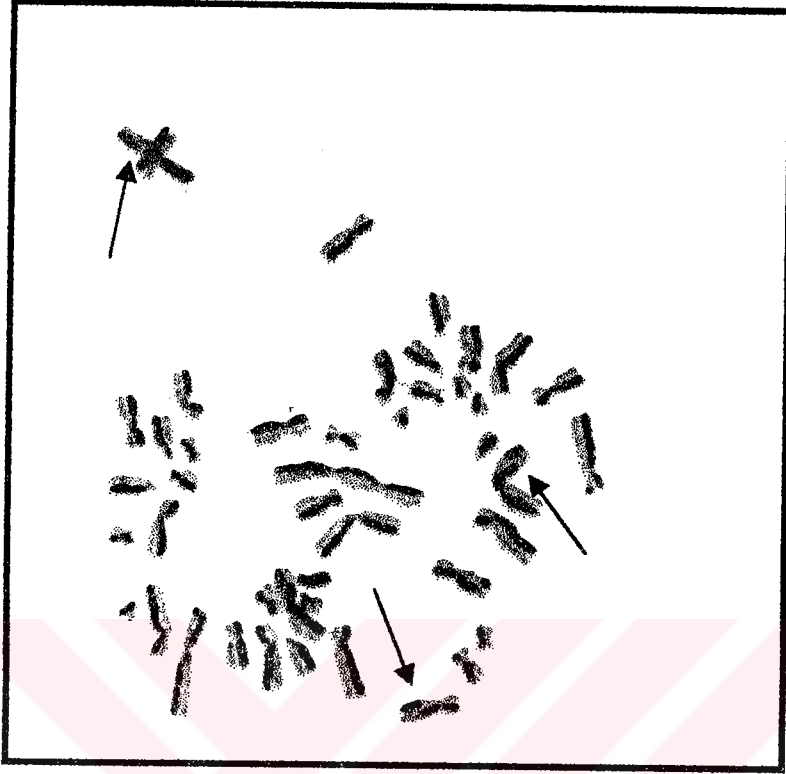


Şekil. 4.10. Kardeş Kromatid Değişimlerinin Olduğu Noktalar



Şekil: 4.11. Bq Kromatid kırık

Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını belirlemek için her birey için 50 tane olmak üzere toplam 750 metafaz plağı değerlendirilmiştir ve toplam 4795 adet kardeş kromatid değişimi saptanmıştır (Şekil 4.12). Birey başına düşen KKD oranı 319,6, metafaz başına ise 6,39'dur (Çizelge 4.1.4). 31,8 yaşından küçük olan 6 bireyin benzin istasyonunda çalışma süresi 9 yıl olup KKD oranı 6.63'tür. 31,8 yaşından büyük olan 9 bireyin benzin istasyonunda ortalama çalışma süresi 10 yıl, sigara içme süresi 10 yıl ve KKD oranı 6.26'dır. Bu değerleri kontrol grubu sigara içen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Sigara kullanımı ve buharlaşmış petrol ürünlerinden bünyeye karışanlarının etkisiyle toplam KKD miktarının 4273'ten - 4795'e, birey başına KKD miktarının 284,8'den - 319,6'ya ve metafaz başına KKD oranının ise 5,69'dan - 6,39'a yükseldiği görülmektedir.



Şekil 4.12 Kardeş Kromatid Değişimlerinin Oluştığı Noktalar

4.1.5. İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

Çalışmada göz önüne alınan “Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı”, “Toplam Yapısal Düzensizlik Sayısı” ve “Kardeş Kromatid Değişim Oranları’na ait bulgular sayımla elde edilen değerlerden oluşmaktadır. İstatistiksel değerlendirme yapabilmek için bu değerler önce yüzde oranlara dönüştürülmüş ve bu değerlere karşılık gelen açı değerleri (arc-sin transformasyon) alınarak varyans analizi yöntemlerinden faktoriyel düzen kullanılmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları çizelge 4.5’te ayrıntılı olarak verilmiştir . Çizelge 4.5’te verilen değerler açı değerlerini göstermektedir.

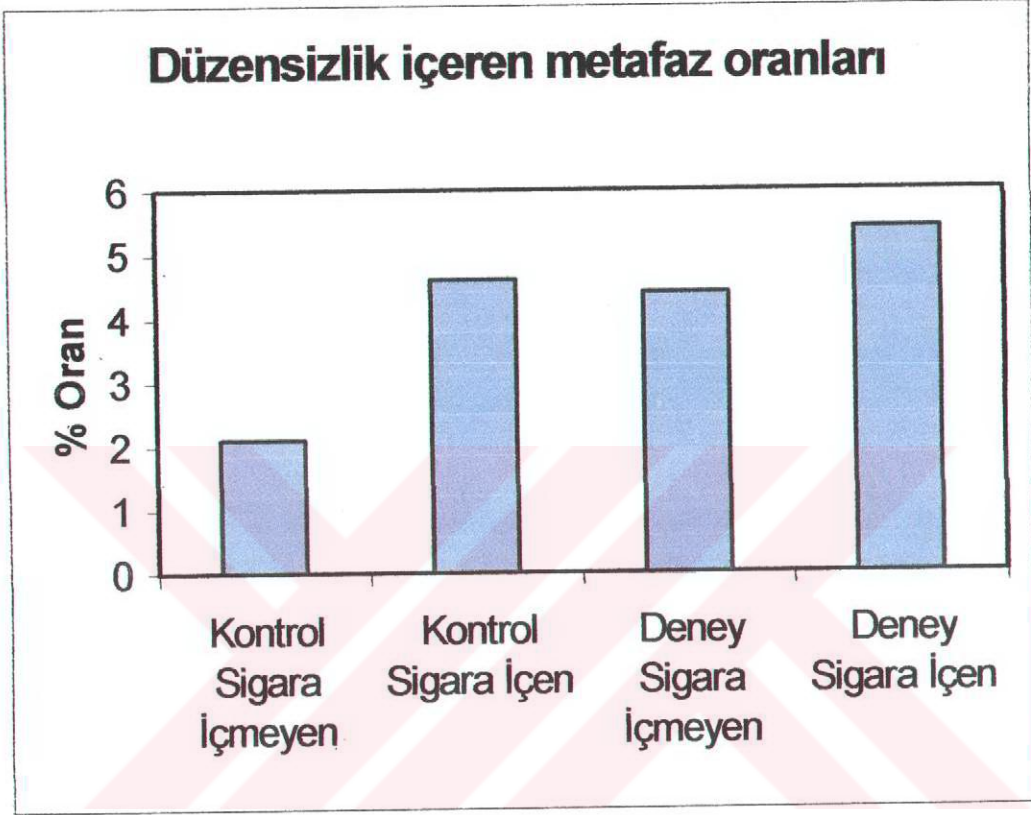


Çizelge 4. 5. Kontrol ve Deneş Grularına ait Bulguların İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

	Kontrol Grubu		Deneş Grubu		İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları			
	Sigara İçmeyenler (I)	Sigara İçenler (II)	Sigara İçmeyen İşçiler (III)	Sigara İçen İşçiler (IV)	I-II	I-III	II-IV	III-IV
Düzensizlik İçeren Hücre Oranı (%)	2,1±0.43	4,6±1.17	4,4±1.00	5,4±0.88	**	**	**	**
Toplam Yapısal Düzensizlik (%)	1,8±0.64	3,8±0.88	4±0.77	5±0.63	**	**	**	**
KKD /Metafaz/	5.09±1.19	5.69±1.19	5.77±1.16	6.42±1.38	*	*	*	*
					** p<0. 01 * p<0.05			

Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısının kontrol grubu sigara içmeyen bireylerde % 2,1 olmasına karşın - kontrol grubu sigara içen bireylerde % 4,6'ya deneş grubu sigara içmeyenlerde % 4,4'e ve deneş grubu sigara içenlerde % 5,4'e yükselmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda kontrol grubu sigara içmeyen bireylere göre; kontrol grubu sigara içenlerde, deneş grubu sigara içmeyen bireyler ve sigara içen bireylerdeki oranların daha yüksek olduğu saptanmıştır (p<0.01). Kontrol grubu sigara içen bireyler ile deneş grubu sigara içen bireyler

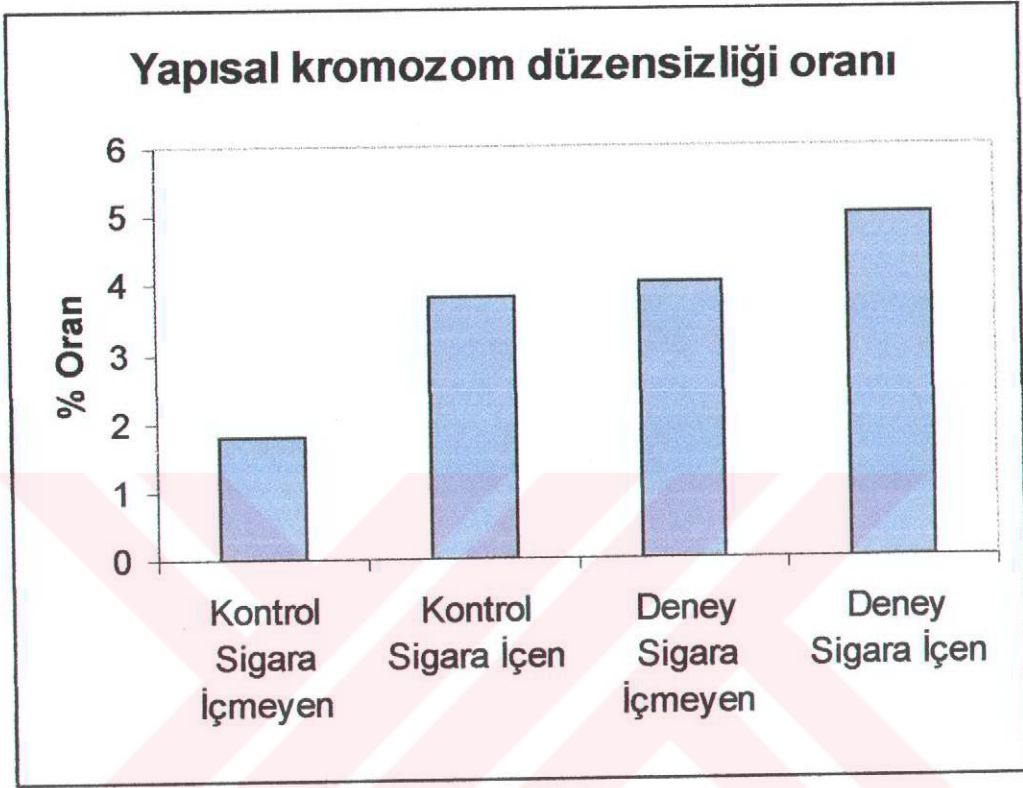
arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Deney grubu sigara içen bireylerdeki oranlar ise kontrol gruplarının ikisinden ve deney grubu sigara içmeyen bireylere ait oranlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).



Şekil 4.13. Düzensizlik İçeren Metafaz Sayısı Oranları

Toplam Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranı; kontrol grubu sigara içmeyen bireylerde % 1,8 olmasına karşın, kontrol grubu sigara içen bireylerde % 3,8'e deney grubu sigara içmeyenlerde % 4'e ve deney grubu sigara içenlerde % 5'e yükselmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda kontrol grubu sigara içmeyen bireylere göre; kontrol grubu sigara içenlerde, deney grubu sigara içmeyen bireyler ve sigara içen bireylerdeki oranların daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Kontrol grubu sigara içen bireyler ile deney grubu sigara içen bireyler arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Deney grubu

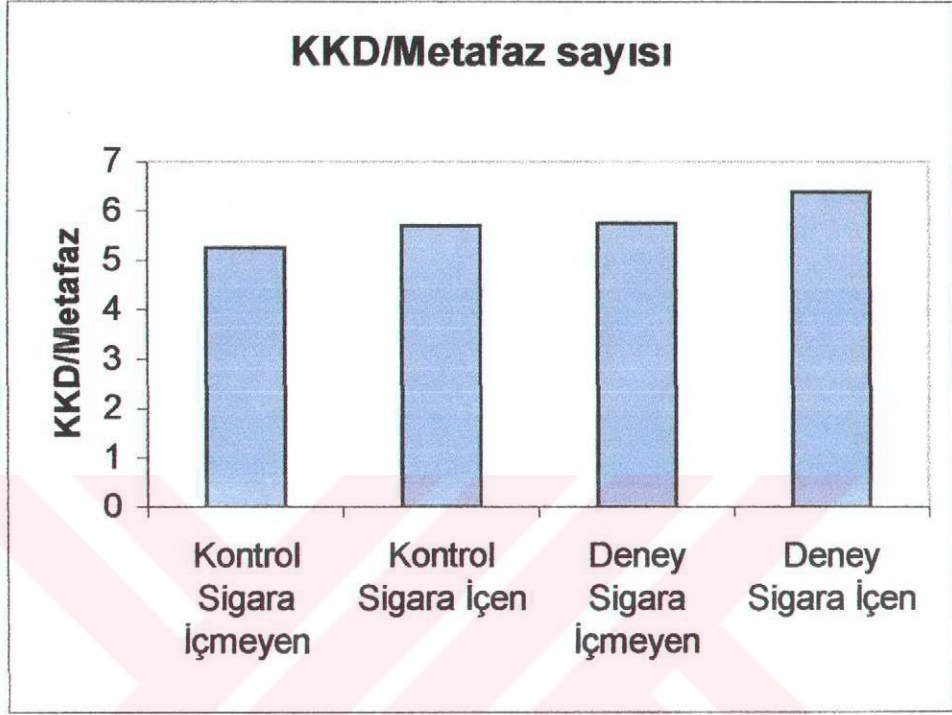
sigara içen bireylerdeki oranlar ise kontrol gruplarının ikisinden ve deney grubu sigara içmeyen bireylerdeki oranlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).



Şekil 4.14. Yapısal Kromozom Düzensizlik Sayısı Oranları

Kardeş Kromatid Değişim Oranları; kontrol grubu sigara içmeyen bireylerde % 5,24 olmasına karşın, kontrol grubu sigara içen bireylerde % 5,69, deney grubu sigara içmeyenlerde % 5,74 ve deney grubu sigara içenlerde % 6,39'a yükselmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda kontrol grubu sigara içmeyen bireylere göre; kontrol grubu sigara içenlerde, deney grubu sigara içmeyen bireyler ve deney grubu sigara içen bireylerdeki oranların daha yüksek olduğu saptanmıştır($p<0.01$). Kontrol grubu sigara içen bireyler ile deney grubu sigara içen bireyler arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Deney

grubu sigara içen bireylerdeki oranlar ise kontrol gruplarının ikisinden ve deney grubu sigara içen bireylerin ikisinden de daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).



Şekil 4.15. KKD/Metafaz Sayısı

4.2. TARTIŞMA

Gerçekleştirilen bu çalışma ile sigara kullanımı (kontrol II) ve petrol ürünlerinden solunum yoluyla etkilenmenin (deney I) “Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre Oranları”, “Yapısal Kromozom Düzensizliği Oranları” ve “ Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını” artırdığı ortaya konmuştur. Sigara kullanımı ve petrol ürünlerinden etkilenmenin birlikte olması durumunda söz konusu parametrelerin etkilenmesi daha yüksek oranlarda olmaktadır. Sigara kullanımının ve benzenin hem stabil hem de stabil olmayan kromozomal düzensizliklere neden olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Bu çalışmada da petrolün etkisi göz önüne alınmıştır. Petrolde belirli oranlarda bulunan benzenin istasyon çalışanlarında kromozomal düzensizliklere, kromozom düzensizliği içeren metafaz oranlarına ve kardeş kromatid değişim oranlarında artışa neden olabileceği açıktır. Benzenle beraber metabolitlerinin de hemen hemen aynı oranda etkiledikleri birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir.

Çalışmada sigara içmeyen kontrol grubunda kromozomal düzensizlik içeren hücre oranı % 2.1, yapısal kromozom düzensizlik oranı %1.8 ve kardeş kromatid değişimi oranı ise 5.24/metafaz olarak bulunmuştur. Sigara içen kontrol grubunda kromozomal düzensizlik içeren hücre oranı % 4.6 yapısal kromozom düzensizlik oranı % 3.8 ve kardeş kromatid değişimi oranı ise 5.69/metafaz olarak bulunmuştur. Bu bulgular ışığında sigara kullanımına bağlı olarak kromozomal düzensizlik içeren hücre oranı % 2.1’den % 4.1’e yapısal kromozom düzensizlik oranı %1.8den % 3.8’e ve kardeş kromatid değişimi oranı ise 5.24/metafaz’dan 5.69/metafaz’a yükselmiştir.

Sigara içmeyen petrol istasyonu çalışanlarında kromozomal düzensizlik içeren hücre oranı % 4.4, yapısal kromozom düzensizlik oranı % 4 olarak bulunmuştur. Bu bulguları kontrol grubundaki sigara içmeyen bireylere ait bulgularla kıyasladığımızda: Buharlaştan petrol ürünlerinden bünyeye karışan kimyasal maddelerin etkisiyle Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranlarının % 2,1’den - % 4,4’e, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranının % 1,8’den - % 4’e

yükseldiği görülmektedir. Öploidi tipi düzensizlik miktarının ise % 0,5 iken - deney grubunda % 0,4 bulunmuştur ve kardeş kromatid değişimi oranı ise 5.74/metafaz olarak bulunmuş ve bu değerleri kontrol grubu sigara içmeyen grupla karşılaştırdığımızda oran 5.24'ten 5.74'e yükselmiştir.

Sigara içen petrol istasyonu çalışanlarında kromozom düzensizliği içeren hücre oranı % 5.4, yapısal kromozom düzensizlik oranı % 5 ve kardeş kromatid değişim oranı ise 6.39/metafaz olarak bulunmuştur. Bu değerleri kontrol grubu sigara içen bireylerle karşılaştırıldığında; Sigara kullanımına ek olarak buharlaşan petrol ürünlerinden bünyeye karışan kimyasal maddelerin etkisiyle Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre oranlarının % 4,6'dan - % 5,4'e, Yapısal Kromozom Düzensizlikleri oranının % 3,8'den - % 5'e yükseldiği görülmektedir. Öploidi tipi düzensizlik miktarının ise % 0,9 iken - deney grubunda % 0,5 bulunmuştur. Kardeş kromatid değişim oranı ise 5.69/metafaz'dan 6.39/metafaz'a yükselmiştir.

Bu çalışma ile paralellik gösteren bulgular;

Yardley ve arkadaşlarının [48] 1990'da yapmış oldukları çalışmada benzenden etkilenmiş grupta kromozomal düzensizlik oranını kontrol grubunda % 1.88 iken deney grubunda ise % 2.45 olarak bulmuşlardır.

Ciranni ve arkadaşlarının [28] fare germ hücrelerinde benzenin önemli metaboliti olan *hidroquinonun* ile yapmış oldukları çalışmada yapısal kromozom tipi düzensizliklerde artış olduğu aynı şekilde insan lenfositlerinde de kromozomal değişimlere ve mikronukleus oluşumuna neden olduğunu saptamışlardır.

Lakhanisky ve arkadaşları [50] çeşitli aromatik hidrokarbonlardan etkilenmiş bireylerde yaptıkları çalışmada belirledikleri bulgularda KKD oranları açısından kontrol grubu ile deney grubu arasında ve sigara içenler ve içmeyenler arasındaki farkın anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Sasiadek ve arkadaşları [51] mesleki olarak 10-26 yıl benzene maruz kalmış 33 çalışmada yaptıkları çalışmada; gap ve kırık tipi kromozomal düzensizliklerin

görüldüğü ve toplam 147 metafazda % 4 oranında yapısal kromozom düzensizliği belirlemişlerdir ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında elde edilen farkın anlamlı olduğu bulunmuştur.

Pitarque ve arkadaşlarının [65] petrol istasyonu çalışanlarında sigara içen ve içmeyenler arasında kromozomal düzensizlik bakımından bulunan farkın anlamlı olduğunu bulmuşlardır.

Clare ve arkadaşlarının [66] 1984'te akut olarak benzene maruz kalmış bireylerde yaptıkları başka bir çalışmada kromozomal düzensizlik olarak nitelendirilen kromatid ve izokromatid kırık kaydedilmiştir. Bu çalışmada bulunan oran ise kontrol grubunda % 1.75 deney grubunda ise % 2.75 olarak bulunmuştur.

Tompa ve arkadaşlarının [4] 1994'te yaptıkları başka bir çalışmada elde etmiş oldukları benzene maruz kalmış ağır sanayi çalışanlarında kromozomal düzensizlik oranı kontrol grubunda ise % 1.83, deney grubunda % 2.83 olarak bulunmuştur. Kontrol ve deney grupları arasında farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir.

Turkel ve Egeli [67] 1994'te uzun süre benzenin etkisinde kalan ayakkabı imalathanesi işçileri üzerinde yaptıkları çalışmada; kromozomal düzensizlik oranlarının benzenden etkilenen grupta daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ancak benzenden etkilenme süresi ile kromozomal düzensizlik oranları arasında bir ilişki olmadığını saptamışlardır. Sigara kullanılmasının ise kromozomal düzensizliklere etkisinin olmadığı saptamışlardır.

Zhang ve arkadaşlarının [13] 1999'da benzenle birlikte toluenden etkilenmiş bireylerde yapmış oldukları çalışmada hematoksisiteye neden olmayan benzen dozunun kromozomal değişikliklere neden olduğunu saptamışlardır. Deney grubunda 7 nolu kromozomda değişikliklere neden olduğunu bulmuşlardır.

Léonard ve arkadaşlarının [71] 1984'te nükleer enerji ve petrol alanlarında çalışan kişilerde yaptıkları çalışmada; petrol alanlarında çalışanlarda kromozom düzensizliği içeren hücre oranı % 1.62 yapısal kromozom düzensizliği oranı % 1.42 olarak bulunmuştur.

Kasuba ve arkadaşları [20] 2000'de sigara içen ve içmeyen ayakkabı tamircilerinde yaptıkları çalışmada; toplam düzensizlik oranını kontrol grubunda % 3 deney grubunda ise bu oranı % 3.4 olarak bulmuşlardır. KKD oranları açısından da deney grubunda bu oranının da kontrol grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Bolognasi ve arkadaşları [54] 1997'de trafik polisleri üzerinde yaptıkları araştırmada, egzoz gazındaki maddelerin KKD oranlarına etkilerini inceledikleri çalışmada; Deney grubunda KKD oranını 7.36/metafaz kontrol grubunda ise 7.47/metafaz olarak bulunmuştur. Polisiklik aromatik hidrokarbonlardan olan benzen metaboliti benzoapiren ihtiva eden atmosferik havaya maruz kalan trafik polislerinde analiz edilen KKD oranı ile kontrol grubu olarak belirlenen grupla karşılaştırılması sonucunda elde edilen farkın anlamlı olmadığı rapor edilmiştir. Sigara içen ve içmeyen trafik polisi grupları karşılaştırıldığında; sigara içen gruptaki KKD değerlerinin sigara içmeyen gruptakilerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır($p<0.05$).

Al-Sabti ve arkadaşları [59] sigara içen ve içmeyen kömür ocağı çalışanlarında yaptıkları çalışmada deney grubunda KKD oranını 5.83 kontrol grubunda ise bu oranı 2.43 olarak saptamışlardır. Sigara içen ve içmeyenler arasında KKD oranları açısından farkın anlamlı olduğu bulunmuştur.

Hedner ve arkadaşlarının [62] yaptıkları başka bir çalışmada herhangi bir maddeye maruz kalmamış sigara içen ve içmeyen gruplar arasında KKD oranları arasında bir fark bulmamışlardır. Ancak sigara içen ve herhangi bir genotoksik ajana maruz kalmış bireylerde bu oranı 8.90 sigara içmeyen ve bir genotoksik ajana maruz

kalmayan bireylerde ise bu oranı 8.15 olarak bulunmuştur. Bu iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğunu saptamışlardır.

Hoerauf ve arkadaşlarının [40] anestezi gazlarından etkilenmiş sigara içenlerde KKD oranlarının daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Souza ve Puig [53] yapmış oldukları çalışmada % 2.6 benzen içeren tiner çalışanlarında sigaranın KKD oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir. Kontrol grubunda bu oranı 4.36 deney grubunda ise bu oranı 4.58 olarak bulunmuştur. Tiner çalışanlarındaki KKD artışına neden olan sigaranın benzenle beraber daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Yardley ve arkadaşlarının [24] petrol rafinerisi çalışanlarında yaptıkları çalışmada deney grubunda KKD oranını 9.44 kontrol grubunda ise bu oranı 8.95 olarak bulmuşlardır. Günde 20 adet ve daha fazla sigara içen bireylerle içmeyenler arasında kardeş kromatid değişim oranları bakımından farkın olmadığını bildirmişlerdir.

Lakhanisky ve arkadaşlarının [50] 1993'te çevresel kirleticilere maruz kalmış sigara içen bireylerde yapmış oldukları çalışmada KKD oranını kontrol grubunda ise 8.68/metafaz deney grubunda 12.20/metafaz olarak belirlemişlerdir ve aradaki farkın anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Erexson ve arkadaşlarının [19] 1985'te benzenden etkilenmiş işçiler üzerinde yapmış oldukları çalışmada KKD oranını kontrol grubunda 8.68/metafaz, deney grubunda ise 9.45/metafaz olarak bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar fenole maruz kalmış olan çalışanlarında yaptıkları çalışmada KKD oranını deney grubunda 10.52/metafaz kontrol grubunda ise 8.68/metafaz olarak bulmuşlardır.

Pitarque ve arkadaşları [65] petrol çalışanlarında KKD oranlarını kontrol grubunda 7.38/metafaz deney grubunda ise bu oranı 7.99/metafaz olarak belirlemişlerdir.

Clare ve arkadaşları [66] 1984'te petrol çalışanlarında yapmış oldukları çalışmada KKD oranını deney grubunda 6.53/metafaz kontrol grubunda ise 2.70/metafaz olarak bulmuşlardır.

Bender ve arkadaşlarının [58] 1988'te sigara içen bireylerde yapmış oldukları çalışmada KKD oranını 9.00/metafaz sigara içmeyen bireylerde ise bu oranı 8.10/metafaz olarak bulmuşlardır.

Tompa ve arkadaşları [4] 1994'ta benzene maruz kalmış çalışanlarda yapmış oldukları çalışmada kontrol grubunda KKD oranını 5.76/metafaz deney grubunda ise bu oranı 6.77/metafaz olarak bulmuşlardır. Farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir.

Carere ve arkadaşlarının [70] 1995'te petrol etkisinde kalmış bireylerde yapmış oldukları çalışmada KKD oranını kontrol grubunda 4.48/metafaz deney grubunda ise bu oranı 4.73/metafaz olarak bulmuşlardır. Farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir.

Se-Hoon Lee [72] ve arkadaşlarının tekstil fabrikasında ve asbest tozuna maruz kalmış sigara içen ve içmeyen kişilerde yaptıkları çalışmada kimyasallara maruz kalmamış kontrol grubu sigara içmeyen bireylerde KKD oranını 8.16 sigara içen bireylerde ise KKD oranını 8.34 olarak bulmuşlardır. Maruz kalan grupta sigara içmeyen bireylerde KKD oranını 8.90 sigara içen bireylerde ise 9.38 olarak bulmuşlardır. Kimyasallara maruz kalmış grupla kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir. Sigara içen bireylerle sigara içmeyen bireyler arasında KKD oranları açısından anlamlı bir fark bulunmuştur.

Sigara kullanımının kromozomal düzensizlik içeren hücre oranları ve yapısal kromozom düzensizliği oranlarını artırdığı şeklindeki sonuçlar kromozomal düzensizlik tiplerinin oranları açısından küçük oran farklılıkları olmakla beraber Tompa[4], Zhang[13], Yardley-Jones[48], Sasiadek [51], Pitarque [65], Clare [66], Leonard'ın [71] yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile birbirini desteklemektedir. Oranlar arasındaki farkın yaş, çalışmanın yapıldığı mevsim, günde içilen sigara

sayısı ve laboratuvar koşullarından kaynaklandığı kanısındayız. Turkel'in [67] yapmış olduğu çalışmanın bulguları ile bizim bulgularımız arasında bir fark söz konusudur, ancak bu fark yaş grubunun ve Turkel'in çalışmasında cinsiyet farkı gözlemlenmediğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada sigara kullanımının kromozomlarda Kardeş Kromatid Değişimine neden olduğu şeklindeki elde edilen sonuçlar Hoerauf [40], Lakhansky [50], Souza [53], Bolognasi [54], Bender [58], Al-Sabti [59], Hedner [62], ve Lee Se'nin [72] yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile birbirini desteklemektedir. Oranlar arasında görülen farklılıkların yaş, çalışmanın yapıldığı mevsim ve sigaraya ek olarak herhangi bir kimyasaldan etkilenme gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

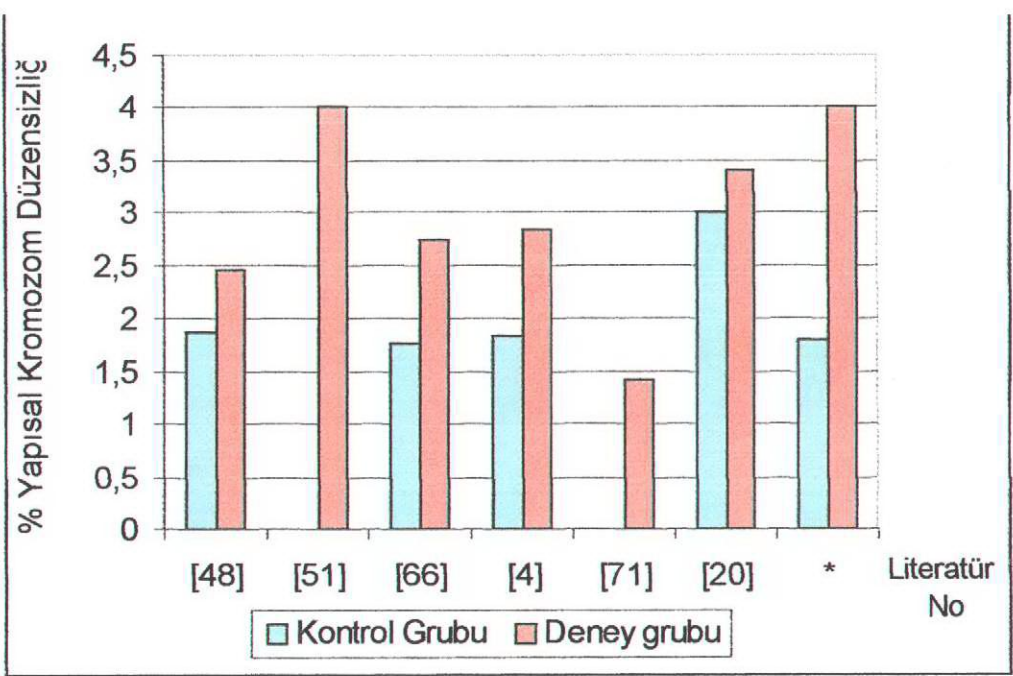
Petrol ve yan ürünlerinden solunum sistemi aracılığıyla etkilenme ile kromozomal düzensizlik içeren hücre oranları ve yapısal kromozom düzensizliği oluşumunu artırdığı şeklindeki bulgu kromozomal düzensizlik tiplerinin oranları açısından küçük oran farklılıkları olmakla beraber Tompa [4], Zhang[13], Yardley-Jones [48], Sasiadek [51], Pitarque [65], Clare [66], Turkel [67] ve Leonard'ın [71] yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile birbirini desteklemektedir. Oranlar arasındaki farkın yaş, çalışmaya dahil edilen birey sayısı, benzenden etkilenme süresi, etkilenme tipi ve laboratuvar koşulları, çalışmanın yapıldığı mevsimsel zamanın farklı olması gibi etmenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Petrol ve yan ürünlerinden solunum sistemi aracılığıyla etkilenenlerde kromozomlarda Kardeş Kromatid Değişim oranlarının daha yüksek olduğu şeklindeki bulgumuz; Tompa [4], Erexson [19], Kasuba [20], Yardley-Jones [48], Souza [53], Bolognasi [54], Pitarque[65], Clare [66], Carere[70] ve Lee Se'nin [72] yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile birbirini desteklemektedir. Oranlar arasında bazı farklılıklar görülmektedir ancak bu farklılıkların yaş, çalışmaya dahil edilen birey sayısı, benzenden etkilenme süresi, etkilenme tipi ve laboratuvar koşulları, çalışmanın yapıldığı mevsimsel zamanın farklı olması gibi etmenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

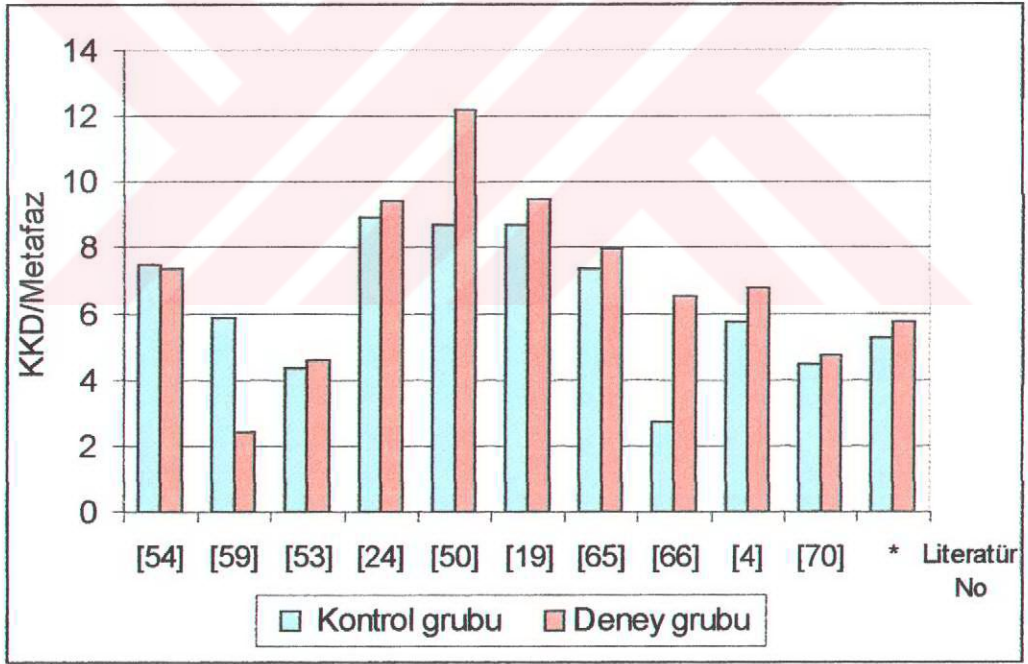
Bu bulguların ışığında çalışmanın sonuçları ile literatür çalışmalarının sonuçlarını karşılaştıracak olursak, Kromozomal düzensizlik oranları bakımından Tompa [4], Kasuba [20], Ciranni [28], Yardley-jones [48], Sasiadek [51], Pitarque [65], Clare[66] ve Turkel'in [67] yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile bu çalışmanın bulguları birbirini desteklemektedir. Ancak elde edilen değerlerdeki farklılıkların çalışmanın yapıldığı ortam, laboratuvar koşullarından, incelenen hücre sayısından, benzenden etkilenme süresi, etkilenme şekli gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kardeş kromatid değişim oranları bakımından Tompa [4], Erexson[19], Yardley-Jones[48], Hoerauf [40], Lakhanisky [50], Souza [53], Bolognasi [54], Bender [58], Hedner [62], Pitarque [65], Clare[66], Carere'nin [70] yapmış oldukları çalışmaların bulgularındaki KKD oranları ile bu çalışmanın KKD oranları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ancak çalışmalardaki kontrol ve deney grubu arsında anlamlı farkın olması ve deney grubunda elde edilen yüksek KKD oranları bu çalışmada da benzer şekilde gözlenmektedir. Oranlardaki farklılıklar incelenen metafaz sayısı, laboratuvar koşulları, benzene maruz kalma süresi, maruz kalma tipi, çalışmaya dahil edilen populasyonun sayısı ve kişinin genetik yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Şekil 4.16 ve şekil 4.17'de verilmiş olan grafiklerde incelenen literatürlerle karşılaştırma yapılmıştır. İlgili literatürlerde sigaranın etkisi tam olarak göz önüne alınmadığından yapılan karşılaştırmada bu çalışmanın bulguları ile kıyaslaması da sigara göz önüne alınmadan yapılmıştır. Tablo 4.6'da çeşitli kimyasallara ek olarak sigaranın da etkisi ile oluşan kromozomal düzensizlik içeren metafaz sayısı, yapısal kromozom düzensizliği ve KKD/metafaz sayısı sonuçları verilen literatür bulguları da yazılmıştır. Bu çalışmanın bulguları da bu tabloya yerleştirilmiştir.



Şekil 4.16. Çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen ve benzene maruz kalmaya bağlı olarak gözlenen yapısal kromozom düzensizliği oranları (*: Bu çalışma)



Şekil 4.17. Çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen ve benzene maruz kalmaya bağlı olarak gözlenen KKD/Metafaz sonuçları (*: Bu çalışma).

Tablo 4.6. Çeşitli etkenlerle yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular (+: ölçülen değerlerde anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir).

Etken Madde	Kromozom Düzensizlik içeren metafaz sayısı	Yapısal Kromozom Düzensizliği	KKD/ Metafaz	Referans No
Benzen		% 2.45		[48]
Benzen		+		[28]
PAH			+	[50]
Benzen		% 4		[51]
Benzen		+		[65]
Benzen		% 2.75		[66]
Benzen		% 2.83		[4]
Benzen		+		[67]
Benzen		+		[13]
Benzen	% 1.62	% 1.42		[71]
Sigara+Benzen		% 3.4	+	[20]
Benzen			7.36	[54]
Sigara+Kömür			5.83	[59]
Sigara			8.90	[62]
Sigara+Anestezik			+	[40]
Benzen			4.58	[53]
Tiner			+	[53]
Benzen			9.44	[24]
Sigara+Çevresel			12.20	[50]
Benzen			9.45	[19]
Fenol			10.52	[19]
Benzen			7.99	[65]
Benzen			6.53	[66]
Sigara			9.00	[58]
Benzen			6.77	[4]
Benzen			4.73	[70]
Sigara			8.34	[72]
Asbestoz			9.38	[72]
Sigara	% 4.6	% 3.8	5.69	"
Benzen	% 4.4	% 4	5.74	"
Benzen+Sigara	% 5.4	% 5	6.39	"

* :Bu çalışma

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Petrol ürünlerinden etkilenme ile “Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre Oranları”, “Yapısal Kromozom Düzensizliği Oranları” ve “ Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını” artırmaktadır. Böylece petrol ürünlerinden etkilenenlerin klastojenik risk altında olduğu görülmektedir. Riskin azaltılabilmesi için gerekli sağlık önlemlerinin alınması gerekmektedir. Örneğin; çalışma saatlerinin sekiz saatlik vardiyalı şekilde ayarlanması, koruyucu kıyafetlerin giyilmesi gibi ..
- Sigara kullanımı ve petrol ürünlerinden etkilenmenin birlikte gerçekleşmesi “Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre Oranları”, “Yapısal Kromozom Düzensizliği Oranları” ve “ Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını” daha yüksek oranlarda artırmaktadır. Klastojenik ve genotoksik etkili bu iki ajanın birlikte olması riski artırmaktadır.
- Sigara kullanımı ve Petrol ürünlerinden etkilenmenin ayrı ayrı etkilenilmesi durumunda “Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre Oranları”, “Yapısal Kromozom Düzensizliği Oranları” ve “ Kardeş Kromatid Değişim Oranları” açısından benzer şekilde etkilenilmektedir. Bu durumda mesleki yaşantıları gereği sigara kullanan petrol istasyonu çalışanlarının sigarayı bırakmaları halinde karşılaşılabilecekleri klastojenik ve genotoksik risk sigara içmeyenlerin düzeyine inecektir.
- Sigara kullanımı “Kromozomal Düzensizlik İçeren Hücre Oranları”, “Yapısal Kromozom Düzensizliği Oranları” ve “ Kardeş Kromatid Değişim Oranlarını” artırmaktadır. Bu durum sigaranın klastojenik etkisini birkez daha kanıtlamaktadır.

- Anöploidik ve öploidik kromozom düzensizlik sayısı istatistiksel olarak değerlendirilecek kadar fazla olmadığından değerlendirmeye alınmamış ve literatür bulguları ile karşılaştırılmamıştır. Benzenin mikrotübül oluşumunu engellediği belirtilmişse de deney ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerin uygulanan kolşisin miktarından kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Bu çalışmaya destek olması açısından daha sonraki çalışmalarda petrol istasyonu çalışanlarının kan örneklerinde benzen kalıntılarının aranması çalışmaya ışık tutacaktır.
- Aynı şekilde kromozomlarda meydana gelen kırık ve gap bölgelerinin tanımlanmasının da çalışmayı destekleyeceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Griffiths, A. J. F., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewentin, R. C., Gelbart, W. M. “An Introduction to Genetic Analysis” W. H. Freeman and Company, New York, 840 s., (1993).
- [2] Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, TÜBİTAK, s: 32-37, Mart 1997 sayısı İstanbul, (1997).
- [3] Mader, S. S. “Biology” McGraw-Hill, USA, 908 s., (1997).
- [4] Tompa, A., Major, J., Jakab, M. G. “Monitoring of benzen-exposed workers for genotoxic effects of benzene: improved-working-condition-related decrease in the frequencies of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes” *Mutation Research*, 304: 159-165, (1994).
- [5] Fessenden, R. J., Fessenden J. S. “Organik Kimya”, Çeviri Tahsin Uyar Güneş Kitabevi, 1226s: 82-84. (1990)
- [6] Ward, E., Hornung, R., Morris, J., Rinsky, R., Wild, D., Halperin, W., Guthrie, W. “Risk of low red or white blood cell count related to estimated benzene exposure in a rubberworker cohort”, *American Journal of Industrial Medicine*, 29: 247-257, (1996).
- [7] Infante, P., Schwartz, E., Cahill, R. “Benzene in Petrol: a continuing hazard”, *The Lancet*, 336: 814-815, (1990).
- [8] Aksoy, M. “Malignancies due to occupational exposure to benzene”, *American Journal of Industrial Medicine*, 7: 395-402, (1985).
- [9] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M. ”Biyokimya”, Nobel Yayın Dağıtım LTD. ŞTİ., Ankara, 639s., (2000).
- [10] Easmond, D. A., Rupa, D. S., Hasegawa, L. S. “Detection of hyperploidy and chromosome breakage in interphase human lymphocytes following exposure to the benzene metabolite hidroquinone using multicolor fluorescence in situ hybridisation with DNA probes”, *Mutation Research*, 322: 9-20, (1994).
- [11] Yager, J. W., Easmond, D. A., Robertson, M. L., Paradisin, W. M., Smith, M. T. “Characterization of micronuclei induced in human lymphocytes by benzene metabolites”, *Cancer Research*, 50: 393-399, (1990)
- [12] Surralles, J., Autio, K., Nylund, L. Jarventaus, H. Norppa, H. Veidebaum, T., Sorsa, M., Peltonen, K. “Molecular cytogenetic analysis of buccal cells and

- lymphocytes from benzene –exposed workers”, *Carcinogenesis*, **18** (4): 817-823, (1997).
- [13] Zhang, L., Rothman, N., Wang, Y., Hayes, R. B., Yin, S., Holland, N. T., Dösemeci, M., Wang, Y. Z., Collachana, P., Lu, W., Xi, L., Li, G. L., Smith, M. T. “Benzene increases aneuploidy in the lymphocytes of exposed workers: A comparison of data obtained by fluorescence in situ hybridization in interphase and metaphase cells”, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **34** : (2000).
- [14] Kalf, G. F. ”Recent advanced in the metabolism and toxicity of benzene”, *Critical Review Toxicology*, **18**(2): 141-159, (1987).
- [15] Devillers, J. Boule, P., Vasseur, P. Prevot, P., Steiman, R., Murandi, F. S., Guyod, J. L. B., Menzda, M. Gironi, C. Dive, D., Chabon, P. “Environmental health risks of hidroquinone”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **19**: 327-354, (1990).
- [16] Vural, N. “Toxicology”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 260 s., (1984).
- [17] Lutz, W. K. “In vivo covalent Binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis”, *Mutation Research*, **65**: 289-356, (1979).
- [18] Stillman, W. S., Garcia, M. V., Gruntmeir, J. J., Irons R. D. “The benzene metabolite, hidroquinone, induces dose-dependent hypoploidy in a human cell line”, *Leukemia*, **11**: 1540-1545, (1997).
- [19] Erexson, G.L., Wilmer, J. L., Kligerman, A. D. “Sister chromatid exchange induction in human lymphocytes exposed to benzene and its metabolites in vitro”, *Cancer Research*, **45**: 2471-2477, (1985).
- [20] Kasuba, V., Rozkaj, R., Sentija, K. “ Cytogenetic changes in subjects occupationally exposed to benzene”, *Chemosphere*, **40**: 307-310, (2000).
- [21] Synder, R., Witz, G., Goldstein, B. D. “ The toxicology of benzene”, *Environmental Health Perspective*, **100**: 293-306, (1993).
- [22] Hagmor, L., Brogger, A. Hansteen, I. L., Heim, S., Högstedt, B. Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelmann, F., Nordenson, I., Reuterwall, C., Salomaa, S., Skerfving, S., Sorsa, M. ”Cancer risk in humans predicted by increased levels of

- chromosomal aberrations in lymphocytes: nordic study group on the health risk of chromosome damage”, *Cancer Research*, 54: 2919-2922, (1994).
- [23] Zhang, L., Rothman, N., Wang, Y., Hayes, R. B., Li, G., Dösemeci, M., Yin, S., Kolachana, P., Holland, N. T., Smith, M. T. “Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene”, *Carcinogenesis*, 19(11): 1955-1961, (1998).
- [24] Yardley, A. J., Anderson, D., Jenkinson, P. C., Lovell, D. P., Blowers, S. D., Davies, M. J. “ Genotoxic effects in peripheral blood and urine of workers exposed to low level benzene”, *British Journal of Industrial Medicine*, 45: 694-700, (1988).
- [25] Zhang, L., Rothman, N., Wang, Y., Hayes, R. B., Bechtold, W., Venkatesh, P., Yin, S., Wang, Y., Dösemeci, M., Li, G., Lu, W., Smith, M. T. “Interphase cytogenetics of workers exposed to benzene”, *Environmental Health Perspective*, 104(6): 1325-1329, (1996).
- [26] Moszczynski, P., Rutowski, J., Stovinski, S. “ the effects of cigarettes smoking on the blood counts of T and NK cells in subjects with occupational exposure to organic solvents”, *Centr. Eur. J. publ. Hlth.*, 4(3): 164-168, (1996).
- [27] Levine, E., G., Bloomfield, C. D. “Leukemias and myelodysplastic syndromes secondary to drug, radiation, and environmental exposure”, *Seminars in Oncology*, 19(1): 47-84, (1992).
- [28] Ciranni, A. and Adler, I. D. “ Clastogenic effects of hydroquinone: Induction of chromosomal aberrations in mouse germ cells”, *Mutation Research*, 263: 223-229, (1991).
- [29] Dean, B.J. “Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluen, xylenes and phenols”, *Mutation Research*, 134: 153-181, (1985).
- [30] Susten, A. S., Dames, B. L., Burg, J. R., Neimeler, R. W. “ Percutaneous penetration of benzene in hairless mice: An estimate of dermal absorption during tire building operations”, *Am. J. Ind. Med.*, 7: 323-335, (1985).
- [31] Sorsa, M., Ojajarvi, A., Salomao, S. “Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: preliminary experiences from a prospective cancer study in a cytogenetic cohort”, *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 10: 203-209, (1990).

- [32] Rooney, D. E., Czepulkowski, B. H. "Human Cytogenetic", Oxford_University Press, New York, 269 s., (1992).
- [33] Perry, P., Evans, H. J. "Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange", Nature, 258: 121-125, (1975).
- [34] Perry, P., Wolf, S. "New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids", Nature, 251(13): 156-158, (1974).
- [35] Barch, M. J., Knutsen, T., Spurbeck, J. L. "The AGT Cytogenetics Laboratory Manual", Lippincott-Raven, Philadelphia, 666 s., (1997).
- [36] Albertini, R. J., Anderson, D., Douglas, G. R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A. T., Norppa, H., Shuker, D. E. G., Tice, R., Waters, M. D., Aitio, A. "IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogenesis in humans", Mutation Research, 463: 111-172, (2000).
- [37] Klug, W., Cummings, M. R. "Concepts of Genetics", Macmillan Publishing Company, New York, 724 s., (1991).
- [38] Gutiérrez, S., Carbonell, E., Galofre, P., Creus, A., Marcos, R. "Low sensitivity of sister chromatid exchange assay to detect the genotoxic effects of radioiodine therapy", Mutagenesis, 14(2): 221-226, (1999).
- [39] Rencüzoğuları, E. ve Topaktaş, M. "Kültüre edilmiş insan lenfositlerinde Marshal ve etken maddesi Carbosulfan'ın KKD, MI ve RI üzerindeki etkileri", Tr. J. of Biology, 20: 1-12, (1996).
- [40] Hoerauf, K. H., Schrögenderfer, K. F., Wiesner, G., Gruber, M., Spacek, A., Kress, H. G., Rüdiger, H. W. "Sister chromatid exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro", British Journal of Anaesthesia, 82(2): 268-270, (1999).
- [41] Başaran, N. "Tıbbi Genetik", Bilim Teknik Yayınevi, Eskişehir, 448 s., (1996).
- [42] Kayaalp O. "Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji", Ulucan Matbaası, Ankara, 1736 s. (1998).
- [43] Zhu, Q. C., Lam, H. T., Jiang, C. Q., Wei, X. B., Lou, X., Liu, W. W., Lao, X. Q., Chen, H. Y. "Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay", Mutation Research, 444: 1-6, (1999).

- [44] Bovenzi, M., Stanta, G., Antiga, G., Peruzzo, P., Cavallieri, F. "Occupational exposed and lung cancer risk in a coastal area of Northeastern Italy", *Int Arch Occup Environ health*, **63**: 35-41, (1993).
- [45] Mange, E. J., Mange, A. P. "Basic Human Genetics", Sinauer Associates, Massachusetts, 558 s., (1993).
- [46] Smith, M. T., Zhang, L., Wang, Y., Hayes R. B., Li, G., Wiemels, J., Dosemeci, M., Holland, N. T., Xi, L., Kolachana, P., Yin, S., Rothman, N. "Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene", *Cancer Research*, **58**: 2176-2181, (1998).
- [47] Sbrana, I., Sibio, D. A., Lomi, A., Scarcelli, V. "C-Mitosis and numerical chromosome aberration analyses in human lymphocytes: 10 known or suspected spindle poisons", *Mutation Research*, **287**: 57-70, (1993).
- [48] Yardley-Jones, A., Anderson, D., Lowell, D. P., Jenkinson, P., C. "Analysis of chromosomal aberrations in workers exposed to low level benzene", *British Journal of Industrial Medicine*, **47**: 48-51, (1990).
- [49] Robertson, M. L., Eastmond, D. A., Smith, M. T. "Two benzene metabolites, catechol and hydroquinone, produce a synergistic induction of micronuclei and toxicity in cultured human lymphocytes", *Mutation Research*, **249**: 201-209, (1991).
- [50] Lakhanisky, T., Bazzoni, D., Jadot, P., Joris, I., Laurent, C., Ottogali, M., Pays, A., Planard, C., Ros, Y., Vleminckx, C. "Cytogenetic monitoring of a village population potentially exposed to a level of environmental pollutants. Phase 1: KKD analysis", *Mutation Research*, **319**: 317-323, (1993).
- [51] Sasiadek, M., Jagielski, J., Smolik, R. "Localization of breakpoint in the karyotype of workers professionally exposed to benzene. *Mutation Research* **224(2)**: 235-240 (1989).
- [52] Tumanin, R., Ballrin, C., Nardini, B., Mastrangelo, G., Sarto, F. "Influence of smoking habit on the frequency micronuclei in human lymphocytes by the cytogenesis block method", *Mutagenesis*, **6(2)**: 123-126, (1991).
- [53] Souza, V., Puig, M. "Cytogenetic study of a group of workers exposed to thinner", *Mutation Research*, **189**: 257-362, (1987).

- [54] Bolognasi, C., Merlo, F., Rabbani, R., Valerio, F., Abbondandolo, A. "Cytogenetic biomonitoring in traffic police workers: Micronucleus test in peripheral blood lymphocytes", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **30**: 396-402, (1997).
- [55] Easmond D. A. "Induction of micronuclei and aneuploidy by the quinone-forming agents benzene and *o*-phenylphenol", *Toxicology Letters*, **67**: 105-118, (1993).
- [56] Natarajan, A. T. "An overview of the results of testing of known or suspected aneugens using mammalian cells in vitro", *Mutation Research*, **287**: 113-118, (1993).
- [57] Rupa, D. S., Rita, P., Reddy, P. P., Reddi O. S. "Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers", *Human Toxicology*, **7**: 333-336, (1988).
- [58] Bender, M. A. Leonard, R. C., White Jr, O., Costantino, J. P., Redmond, K.C. "Chromosomal aberration and sister chromatid exchange in lymphocytes from coke oven workers", *Mutation Research*, **206**: 11-16, (1988).
- [59] Al-Sabti, K., Lloyd, D. C., Edwards, A. A., Stegnar, P. "a survey of lymphocyte chromosomal damage in Slovenian workers exposed to occupational clastogen", *Mutation Research*, **280**: 215-223, (1992).
- [60] Brandomi, W. F., McGavrani, L., Bistlines, R. W., Bloom, A. D. "Sister chromatid exchanges and chromosome aberration frequencies in plutonium workers", *Radiat. Biol.*, **58(1)**: 195-207, (1990).
- [61] Shim, J. S., Lee, H. K., Kim, Y., Roh, J. K., Anderson, D. "Sister chromatid exchange in 52 Korean women living in vicinity of an industrial complex", *Mutation Research*, **224**: 511-515, (1989).
- [62] Hedner, K., Högstedt, B., Kolnig, A. M., Vendel, E. M., Strömbeck, B., Mitelman, F. "Sister chromatid exchange and structural chromosome aberrations in relation to smoking in 91 individuals", *Hereditas*, **98**: 77-81, (1983).
- [63] Meng, Z., Zhang, L. "Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in lymphocytes of workers exposed to sulphur dioxide", *Mutation Research*, **241**: 15-20, (1990)
- [64] Parry, J. M., Sors, A. "The detection and assesment of the aneugenic potential of enviromental chemicals: European Community Aneuploidy Project", **287**: 3-15, (1993).

- [65] Pitarque, M., Carbonell, E., Lapena, N., Marsa, M., Valbuena, A., Creus, A., Marcus, R. "SCE analysis in peripheral blood lymphocytes of a group of filling station attendants" *Mutation Research*, **390**: 153-159, (1997).
- [66] Clare, M. G., Yardley, A. J., Maclean, A. C., Dean, B. J. "Chromosome analysis from peripheral blood lymphocytes of workers after an acute exposure to benzene", *British Journal of Industrial Medicine*, **41**: 249-253, (1984).
- [67] Turkel, B., Egeli, U. "Analysis of chromosomal aberrations in shoe workers exposed long term to benzene", *Occupational Environmental Medicine*, **51(1)**: 50-53, (1994).
- [68] Karacic, V., Skender, L., Bosner-Cucancic, B., Bogadi-Sare, A. "Possible genotoxicity in low level benzene exposure", *Am. J. Ind. Med.*, **27(3)**: 379-388, (1995).
- [69] Pendzich, J., Motykiewicz, G., Michalska, J., Wang, Y. L., Kosyowska, A., Chorazy, M. "Sister chromatid exchange and high frequency cell in men environmentally and occupationally exposed to ambient air pollutant: an intergroup comparison with respect to seasonal changes and smoking habit", *Mutation Research*, **381**: 163-170, (1997).
- [70] Carere, A., Antoccia, A., Crebelli, R., Degrassi, F., Fiore, M., Iavarone, I., Isacchi, G., Iagorio, S., Leopardi, P., Marcon, F. et al. "Genetic effects petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station attendants", *Mutation Research*, **332(1-2)**: 17-26, (1995).
- [71] Leonard, A., Deknudt, Gh., Leonard, E. D., Decat, G. "Chromosome aberrations in employees from fossil-fueled and nuclear-power plants", *Mutation Research*, **138**: 205-212, (1984).
- [72] Lee, Se-Hoon., Shin, M., Lee, Kyung-Jae., Lee, Se-Young., Lee, Jong-Tae., Lee, Yong-Hwan. "Frequency of sister chromatid exchange in chrysotile-exposed workers", *Toxicology Letters*, **108**: 315-319, (1999).

ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Afyon'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Diyarbakır'da tamamladım.1984 yılında Diyarbakır Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdim. 1988 yılında bu bölümden mezun oldum. 1989 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimime başladım.Aynı yıl aynı Anabilim Dalı'nda Araştırma görevlisi sınavımı kazanarak göreve başladım. 1995 yılında "*Kronik olarak Düşük Dozda Radyasyona Maruz Kalmış Sigara Tiryakilerinde Bleomycin'in Kromozomal Düzensizliklere Etkisi*" konulu Yüksek Lisans tezimi verdim. 1995 yılında Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. 1996 yılında Doktora öğrenimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.