

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİNE BAĞLI BENİGN AKCİĞER
HASTALIKLARINDA MONONÜKLEER LÖKOSİT DNA HASARININ
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ZÜLAL ÖZBOLAT

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Gencer

ŞANLIURFA

2011

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİNE BAĞLI BENİGN AKCİĞER
HASTALIKLARINDA MONONÜKLEER LÖKOSİT DNA HASARININ
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ZÜLAL ÖZBOLAT

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet Gencer

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından HÜBAK/1154 no'lu proje ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2011

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi ve beceri edinmemde, ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam, çok değerli bölüm başkanımız Sn. Doç. Dr Mehmet Gencer'e;

Bir o kadar emeği geçen ışığı ile bizleri aydınlatan sevgili ablamız ve çok saygıdeğer hocamız Yard. Doç. Dr. Elif Köse'ye;

Tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sn. Prof. Dr. Abdurrahim Koçyiğit'e; çalışmamızın başından sonuna kadar her zaman güler yüzü ile yardımlarını esirgemeyen Abdullah Taşkına;

İhtisas sürem boyunca beraber çalıştığımız acı ve tatlı günleri paylaştığım değerli arkadaşlarım Faruk Günak ve Meltem Soyalp'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doğduğum günden bu yana sevgi ve sıcaklıklarını her zaman yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemde en büyük emeğe sahip, bana önce insan olmayı öğreten, büyük bir sabırla maddi ve manevi desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen canım anneme, babama; sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tez ve nöbet arasındaki kaygılı günlerde sıkıntılarımızı unutmamızı sağlayan ailemizin ilk göz ağrısı yeğenim Alperen'e

Her zaman benim yerime benden daha çok kaygılanan en büyük desteğim, sevgili eşime; mesleğin sıkıntılarını, benimle beraber küçük omuzları ile taşımaya çalışan kızım Zeynep ve oğlum Yiğit'e sevgilerle

Zülal Özbolat

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER	I
TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
KISALTMALAR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Asbestin Genel Özellikleri	3
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Patofizyoloji	5
2.4. Asbest İle İlişkili Plevra ve Akciğer Hastalıkları	8
2.4.1. Plevra Hastalıkları	9
2.4.1.1. Plevral plak	9
2.4.1.2. Diffüz plevral kalınlaşma (DPK)	10
2.4.1.3. Benign plevral efüzyon	12
2.4.1.4. Malign Plevral Mezotelyoma	13
2.4.2. Parankim Hastalıkları	15
2.4.2.1. Asbestozis (İnterstisyel Akciğer Fibrozisi) (İAF)	15
2.4.2.2. Rounded Atelektazi	16
2.4.2.3. Transpulmoner Bantlar	17
2.4.2.4. Akciğer Kanseri	17
2.5. DNA Hasarı	17
2.5.1. Serbest Radikaller	19
2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Üretim Yolları	21
2.5.3. Reaktif Oksijen Türleri	22
2.5.4. Reaktif Nitrojen Türleri	24
2.5.5. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri:	25
2.6. Oksidatif Stres Ve DNA Hasarı	26
2.7. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları	29
2.7.1. Antioksidan Sistemler	29
2.7.2. Antioksidan Etki Tipleri	30

2.7.3. Enzimatik Antioksidanlar	30
2.7.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	30
2.7.3.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	31
2.7.3.3. Katalaz (CAT)	31
2.7.3.4. Glutasyon Redüktaz (GR)	31
2.7.3.5. Glutasyon-S-Transferaz (GST)	32
2.7.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	32
2.7.4. Total Antioksidan Kapasite (TAOK)	32
3. MATERYAL METOD	33
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	33
3.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması	34
3.3. Örneklerin Hazırlanması	34
3.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu	35
3.5. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini	35
3.6. İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR	37
6. TARTIŞMA	39
7. SONUÇ	44
8. KAYNAKLAR	45

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri	20
Tablo 2: Hasta ve Kontrol grubuna ait demografik özellikler	38
Tablo 3: Hasta ve Kontrol grubu arasındaki DNA hasarı seviyeleri	38

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil:1. Elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların en hasarsız DNA'dan (0), en hasarlı DNA (4)'ya dek değişen DNA Floresans mikroskop görüntüleri

37

KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPK	: Diffüz plevral kalınlaşma
Fe ⁺⁺	: Ferrik demir
GR	: Glutasyon redüktaz
GP _x	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-transferaz
HO ⁻	: Hidroksil radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
MPM	: Malign plevral mezotelyoma
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
NO	: Nitroz oksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
PP	: Plevral plak
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
XOD	: Ksantin oksidaz
XDH	: Ksantin dehidrogenaz
YRBT	: Yüksek rezonanslı bilgisayarlı tomografi
8-OHdG	: 8 hidroksi deoksiguanazin

ÖZET

ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİNE BAĞLI BENİGN AKCİĞER HASTALIKLARINDA MONONÜKLEER LÖKOSİT DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI

Zülal Özbolat

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları A.B.D

Şanlıurfa

Giriş: Çevresel asbest maruziyeti ülkemizde özellikle bölgemizde önemli sağlık sorunları oluşturmaktadır. Bu sorunlardan malign mezotelyoma en önemlisi olmasına rağmen benign akciğer ve plevra hastalıkları daha sık saptanmaktadır.

Amaç: Asbest teması sonucu gelişen patolojilerde, asbestin genotoksik etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Çevresel asbest maruziyetinin neden olduğu oksidatif stres, sitotoksisite, DNA hasarı ve mutasyon karsinogenezisde önemli rol oynar. Çalışmamızda asbeste bağlı benign akciğer hastalığı gelişen hastalarda DNA hasarını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: Araştırmaya 2010 – 2011 tarihleri arasında Şanlıurfa ve çevre yerleşim alanlarında yaşayan çevresel asbest maruziyetine bağlı benign akciğer hastalığı ile kliniğimizde takip edilen 36 olgu alındı. Kontrol grubu asbest teması olmayan tamamen sağlıklı 34 kişiden oluşturuldu. Tüm hastalardan tam kan alındı. Periferal mononükleer lökosit DNA hasarı comet Assay (single cell gel electrophoresis) yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: Gruplar arasında cinsiyet, yaş ve BMI açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları arasında mononükleer lökosit DNA hasarı seviyeleri arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunamadı ($p>0.05$).

Sonuç: Asbest maruziyetine bağlı benign akciğer hastalığı gelişenlerde kontrol grubundan farklı DNA hasarı saptamadık. Ancak çalışma grubumuzun küçüklüğü maruziyetin uzun süredir bitmiş olması ve hastalık grubunun tamamen benign hastalık içermesi bu sonuç üzerinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Asbest kullanımının tamamen terk edilmesi için eğitim çalışmaları ve önleyici tedbirler yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Asbest, çevresel maruziyet, benign akciğer hastalığı, plevral plak, DNA hasarı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF DNA DAMAGE IN MONONUCLEAR LEUKOCYTE OF PATIENTS WITH BENIGN LUNG DISEASE RELATED TO ENVIRONMENTAL ASBESTOS EXPOSURE

Zülal ÖZBOLAT

Department of Chest Diseases, Medical Faculty, Harran University, Şanlıurfa

Introduction: Environmental exposure to asbestos is a major health problem in our country, especially in our region. Although malignant mesothelioma is the most important one among asbestos-related diseases, asbestos-related benign lung and pleural diseases are frequently detected.

Objective: It is known that asbestos have genotoxic effects in asbestos-induced diseases. Oxidative stress, cytotoxicity, DNA damage and mutation induced by asbestos plays an important role in carcinogenesis. In our study, we aimed to investigate the presence of DNA damage in patients with asbestos-related benign lung disease.

Materials and method: 36 cases from central and urban region of Şanlıurfa city followed up in our clinic between 2010 and 2011 with benign lung disease related to environmental asbestos exposure were included to the study. The control group was composed of 34 healthy volunteers without asbestos. A complete blood count(CBC) were obtained in all patients. We used the comet assay (single-cell gel electrophoresis) to measure DNA strand breaks in peripheral blood mononuclear leukocytes.

Results: We did not find any statistically significant difference in gender, age and BMI among groups ($p>0.05$). Between the patient and control groups mononuclear leukocyte DNA damage levels did not reach to statistical significance ($p>0.05$).

Conclusion: DNA damage was not observed in mononuclear leukocytes of patients with asbestos-induced benign lung disease. Small study group and exposure to asbestos have ceased a long time ago and also group of patients with benign disease influence the results. Educational programs and preventive measures may be beneficial for restrain asbestos use.

Key words: Asbestos, environmental exposure, benign lung disease, pleural plaques, DNA damage.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Yeryüzünde milyonlarca insan çeşitli nedenler ile asbeste maruz kalmaktadır. Lifsel yapıdaki bazı mineraller inhale edildikleri zaman akciğerde ve plevrada hastalıklara neden olmaktadırlar. Solunum sisteminde en fazla hastalığa yol açan lifsel yapıdaki mineral asbesttir (1).

İnsanlarda asbest maruziyetinin en sık manifestasyonu plevral plak (PP) ve diffüz plevral kalınlaşmayı (DPK) içeren plevral hastalıktır. Bugün malign plevral mezotelyoma (MPM) ve DPK plaklardan daha az gözlenmekte olsa da gelecekte bu iki durumun daha sık görülmesi muhtemeldir (2).

Bugüne kadar yapılan birçok çalışma her türlü asbestin pulmoner epitelyum hücrelerine ve mezotel hücrelerine doğrudan ve dolaylı olarak genotoksik olduğunu göstermiştir.

Asbest lifleri bronşial sistem epitelini doğrudan etkileyerek malign transformasyona neden olabilirler. Lifler bronşial sistemin herhangi bir alanından interstisyum ve/veya plevra gibi diğer hedef dokulara geçebilir. Bu geçiş 3-5 µm boyundaki liflerin penetrasyonu veya 15µm'ye varan liflerin fagositlerle taşınması ile olmaktadır. Bu aşamada lif boyutlarının olduğu kadar lif stabilitesi de önemli olup, lifin kimyasal yapısı ise bu noktadan sonra başlayacak olan malign transformasyon aksiyonu için belirleyicidir (3,4,5,6).

Asbestin özellikle de krozidolit ve amozit gibi demir içeren çeşitleri, serbest radikal oluşturması ve lif yüzeyi elektrik şarjının olması özelliği nedeni ile daha fazla risk taşırlar. Demir içeren bu mineraller, yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri oluştururlar. Bunlar akut toksisite, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarına yol açar. Hücresel seviyede değişik komponentleri etkileyerek malign transformasyona neden olmalarında özellikle geometrilerinde etkisi olduğu bilinmektedir (3,7,8). Demir içermeyen hidrate magnezyum silikatlardan olan krizotil ise daha az risk taşır. Asbestin neden olduğu genetik değişiklikler ve kanser arasındaki nedensel bir ilişkinin varlığı birçok deneysel ve epidemiyolojik veri ile desteklenmektedir.

Ülkemizde asbest ile temas hem mesleki hem de çevresel maruziyet olarak görülmektedir. Ülkemizde yaklaşık olarak 113 asbest depositi bulunmaktadır. Bunların içeriği %65 krizotil, %39 tremolit ve %1 krozidolittir (9). Şanlıurfa ili ve içinde bulunduğu Güneydoğu Anadolu bölgesinde 15-20 yıl öncesine kadar günlük hayatta asbest yoğun olarak kullanılmaktaydı.

Bölgemizde asbestin günlük hayatta kullanımı terk edilmiştir. Fakat asbestli toprak kullanılmış binaların veya asbestli toprağın bulunduğu yerleşim alanlarında yaşamaya devam eden insanlar vardır. Bizim çalışmamızda amacımız; çevresel asbest maruziyetine bağlı benign akciğer hastalığı olan bireylerde periferik kan mononükleer lökositlerinde DNA hasarının gelişip gelişmediğini araştırmaktır. Asbest maruziyeti sonrasında DNA hasarının geliştiğinin tesbit edilmesi halinde sonraki yıllarda sebep olacağı potansiyel sağlık problemlerin ortaya çıkarılması için tıbbi risk tahminlerinin ve analizlerinin yapılması, tehlikelerin azaltılması yönünde ıslah metotlarının desteklenmesine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Asbestin Genel Özellikleri

Asbest; silisik asitle magnezyum, kalsiyum, sodyum ve demirin birleşmesi ile oluşan bir grup fibröz minerale verilen genel isimdir (10). Asbest ateşe, neme, aside ve korozyona dirençli olması yanında güçlü, dayanıklı, esnek ve ucuz olması nedeniyle bir dönem “mucize mineral” olarak adlandırılmıştır (11). Fakat 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra karsinojen etkisinin olduğu ortaya çıkınca, ismi adeta “öldürücü toz” olmuştur (12).

Endüstride “amyant” olarak da bilinen asbest; dünyada yalıtım, ısıtma boruları, su borusu kaplamaları, seramik musluk tutturucuları, zemin, duvar ve tavanlarda yangın emniyeti için, kanalizasyon boruları, otomobil ve motosiklet fren balataları gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir (13).

Çok büyük bir gerilme direncine sahip olduklarından ısı ve ses yalıtımını sağlarlar. Asbest, kimyasal içeriği ve mineralojik özelliklerine göre amfibol ve serpentin olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Amfibol ailesi krokidolit (mavi asbest), amozit (kahverengi asbest), tremolit, antofilit ve aktinolitten oluşmaktadır. Krizotil (beyaz asbest) ise serpentin grubunun tek üyesi olup, ticari olarak kullanılan asbestin % 90-95’inden fazlasını oluşturmaktadır.

Amfibol lifleri rölatif olarak küçük kesitsel çaplarıyla iğneye benzerliklerinden dolayı kolayca akciğerin periferine geçme eğilimindedirler. Bu nedenle krizotile kıyasla amfibollerin daha patojenik oldukları düşünülmektedir. Asbest ile temasın kesin kanıtları akciğer dokusunda (cerrahi veya post-mortem), bronkoalveoler lavajda ve balgamda lif sayısı ve asbest cisimciklerinin varlığıdır (14,15).

Asbest liflerinin başlıca kullanıldığı yerler şunlardır

Krizotil: Kısa lifler; asbestli çimento boruları, döşeme kiremitleri, fren balatası. Uzun lifler; tekstil endüstrisi.

Krokidolit: Batarya kılıfları, aside dirençli dolgu malzemeleri, asbestli çimento levhaları, basınç boruları.

Amozit: Kısa lifler; asbestli çimentoda. Uzun lifler; ısı izolasyonu

Antofilit: Asbestli çimento yapımında (1,16,17).

2.2. Epidemiyoloji

Yirminci yüzyılın ilk üç çeyreğinde asbestin kullanımının çok yaygınlaşması ile yüksek oranda kişi asbeste maruz kalmış, toksisitesi anlaşılınca da kullanımında çok ciddi düşüş olmuştur (6 milyon metrik ton'dan 2,5 milyon metrik ton'un altına düştü) (18). Asbestin Avrupa'da da insanlar için karsinojen olduğu uzun yıllardan bu yana bilinmektedir (19).

Türkiye'de asbestle ilişkili endemik pulmoner hastalıkların prevalansı oldukça yüksektir (20). Ülkemizde endüstriyel kullanımı çok fazla olmamasına rağmen çevresel asbest maruziyeti önemli bir sağlık sorunudur. Çevresel asbest maruziyeti olan kırsal alanda sorumlu asbest lifleri tremolit veya aktinolit'tir. Güneydoğu Anadolu, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde kırsal yerleşim alanlarında tremolit asbest içeren, halk tarafından "aktoprak", "çerpek" veya "çorak" olarak adlandırılan bu toprak evlerde ısı ve su yalıtımı amacıyla çatı malzemesi ve sıva olarak kullanılmıştır. Ayrıca bazı yörelerde bebek pudrası olarak kullanılan toprağın içeriğinde de asbest olduğu anlaşılmıştır (1).

Türkiye'de en yoğun maruziyetin olduğu bilinen kırsal alanların bulunduğu iller; Eskişehir, Kütahya, Bilecik, Yozgat, Sivas ve Diyarbakır'dır. Günümüze kadar Türkiye ile birlikte Yunanistan, Bulgaristan, Kıbrıs, Korsika/Fransa, Çekoslovakya, Avusturya, Rusya, Yeni Kaledonya, Güney Afrika, Afganistan ve Sicilya/İtalya 'da da çevresel asbest maruziyetinin olduğu bilinmektedir (1).

Dünyada kullanılan asbestin % 90'ı krizotil (beyaz asbest) olup en az zararlı asbest türü olarak kabul edilmektedir. Mesleki maruziyet kaynakları endüstride ve ticari ürünlerde asbestin kullanıldığı işlerdir. Bu işlerin başında inşaat ve otomotiv sanayinde, çimento borularında, kiremit, kalıp, döküm, panel, fren balata yapımına katılmakta, gemi yapımı, tamiri, izolasyon gibi kullanım alanları mevcuttur (21).

Her ne kadar maruziyet bu işlerin yapımı sırasında olsaydı da bunların tamir ve yıkımı sırasında da yoğun maruziyet söz konusudur. Asbest içeren bir işte çalışmayıp, kontaminasyon yoluyla indirekt maruziyetler de olabilmektedir (22). Rutin yapılan otopsielerde asbestli işte çalışmayan, indirekt maruziyeti olan genel popülasyondaki kişilerin akciğerlerinde de yoğun asbest cisimcikleri sık görülmektedir. Örneğin, New York şehrinde yaşayan kişilerden farklı nedenlerle ölüp, otopsi yapılanların %60'ında bu bulguya rastlanmıştır (23). Yaşadıkları ortamda asbest maden yatakları, fabrikaları bulunan insanlarda havadaki yoğun asbest tozuna bağlı plevral plak ve mezotelyoma insidansında belirgin artış

olduğu gösterilmiştir (24). Bu tip anormallikler aynı zamanda bu işlerde çalışanların elbiseleri ile temas eden kişilerde de görülebilmektedir.

İş yeri serilerine göre çevresel temaslı hastalardaki epidemiyolojik özelliklerin farklı olması, değişik lif ve tiplerle temas, doz-cevap ilişkisi özelliklerindeki farklılıklar, temas eden popülasyonun yaşam tarzına ait özellikler ve belkide kişisel bazı özelliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (25). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda ise iş yeri ortamlarında havadaki lif miktarının kırsal kesimdeki lif miktarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (26,27,28). Çevresel temasta toplam maruziyet ve akciğerdeki lif miktarı, 20 yaşında işe başlamış 30 yıl çalışan birine göre kırsal alanda doğup 50 yıl yaşayan birinde neredeyse eşit, belki de daha fazla miktardadır (1). Çevresel asbest maruziyetinde plevral plak prevalansı, % 0.53-8 arasında değişirken, mesleki maruziyette % 3-58 arasında değişir (29).

Asbest maruziyetine bağlı parankimal ve plevral hastalıkların epidemiyolojik özellikleri farklılık gösterir. Plevral plak, plevral fibrozis ve mezotelyoma gibi plevra hastalıklarında akciğerdeki lif sayısı asbestozise göre daha düşüktür. Genellikle uzun süre ve yüksek konsantrasyonda asbeste maruz kalma sonucunda akciğer parankiminde fibrozis ile karakterize asbestozis görülürken, düşük konsantrasyonda ve aralıklı maruz kalma ise plevra hastalıklarının daha sık görülmesine neden olur. Güneydoğu hattında çevresel asbest maruziyeti düşük konsantrasyonda ve uzun süreli olduğundan plevral plaklara sık rastlamamıza rağmen asbestozis olguları daha az sıklıkta saptanmaktadır. (1). Diffüz plevral kalınlaşma prevalansı bilinmemekle beraber plevral plakları olan veya asbestozisli kişilerde yapılan post-mortem incelemelerde sık rastlanan bir bulgudur (29).

Klinik değerlendirmede, çevresel veya sekonder mesleksel maruziyeti sorgulanırken kişinin sadece o an ki maruziyeti değil, çok eskilerde ve kısa süreli maruziyetleri de sorgulanmalıdır. Hasta tarafından bile hatırlanmayan bu tip maruziyetlerin ortaya çıkan hastalıkta etkili olabileceği gerçeği unutulmamalıdır.

2.3. Patofizyoloji

Asbeste bağlı plevra ve akciğer hastalıklarının patogenezi oldukça karmaşıktır ve henüz tam olarak anlaşılmış değildir (30). Dünya üzerinde milyonlarca insan asbeste maruz kalmaktadır. İnsanlarda asbest teması sonrası en sık PP ve DPK'yı içeren plevral hastalıklar görülür. Günümüzde MPM ve DPK, plevral plaklardan daha az gözlenmekte olup, gelecekte bu iki durumun daha sık görülmesi muhtemeldir (2).

Asbestin tüm formları akciğerlerin progresif bir fibrotik hastalığı olan asbestozise aynı zamanda tüm asbest formları malign mezotelyomaya ve bunun dışında akciğer, larinks, over ve gastrointestinal sistem kanserlerine de neden olabilirler (31).

Maruz kalınan asbest lifinin dozu, boyutu, kimyasal içeriği fibrojenite ve karsinojeniteyi etkiler, uzun, ince ve daha dayanıklı olan lifler daha önemlidirler (32). Amfibol grubunda yer alan tremolit, aktinolit, amozit, krokidolit ve antofilit lifleri, serpentin grubunda yer alan krizotil tip asbest liflerine göre daha uzun, daha sert ve biyolojik yıkıma daha dayanıklıdır (33). Serpentin lifleri, büyük lifler olup, büyük hava yollarından daha ileri gidemezler. Amfibol liflerinin yapısı daha ince olduğundan akciğer lenfatikleri içinde dolaşarak interstisyel boşluklar ve subplevral alanlara ulaşarak buralarda takılı kalırlar. Hatta asbest lifleri bu subplevral alandan lenfatik yolla peritona kadar da taşınabilir. Bu özelliklerinden dolayı amfibol liflerin biyolojik ortamlar için daha riskli olduğu bildirilmiştir. Liflerin uzunluğu arttıkça ve eni azaldıkça karsinojenitesi artar, yani ince ve uzun lifler daha güçlü karsinojendir (33). Günümüzde tüm asbest liflerinin karsinojenik olduğu ve risk getirdiği kabul edilir.

Klinik çalışmalar amfibol grubu asbest liflerinin serpentin grubuna göre daha toksik olduğunu göstermesine rağmen yapılan hayvan deneyleri ve in vitro toksikolojik çalışmalar amfibol ve serpentin grubu asbest liflerinin hemen hemen aynı toksik özellikte olduğunu göstermiştir. Fakat amfibol grubu liflerin fiziksel özelliklerinin ve biyolojik dokularda daha uzun süre değişmeden kalabilmesinin toksisite artışına neden olduğu kabul edilmektedir (17).

İnhalasyonla alınan liflerle ortaya çıkan zararın şiddeti ve tipine etki eden faktörler arasında, temas edenlerin pulmoner klirensleri, immünolojik durumları, sigara başta olmak üzere diğer zararlı ajanlara maruziyeti de önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle asbestozisin patogenezi, üzerinde en çok durulan temel konudur. Liflerin yıkımı ile asbestozis arasındaki ilişkiyle ilgili bazı çelişkili bilgiler vardır (30). Amfibol liflerinin yüksek konsantrasyonda bulunması ile açık bir ilişki var iken, krizotil'in durumu daha belirsizdir (34).

Asbest patogenezinde maruziyet sonrası ortaya çıkan serbest radikallerin, özellikle de reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türevlerinin önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (35). Asbest lifleri direkt temasla ve/veya inflamatuvar hücrelerin hasar bölgesinde toplanmasını sağlayarak indirekt olarak reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına neden olurlar (35). Reaktif oksijen türevleri, sigara içiminin de etkisiyle tozun ve dolayısıyla liflerin epitelyal hücre

adezyonunu ve dokular tarafından tutulumunu da arttırmırlar. Bunlar aynı zamanda epitelyal hücrede onarımı engelleyerek hasarlı hücreyi apoptozise ilerletirler (35).

Yoğun, asbeste maruz kalan herkeste asbestozis gelişmemesinin nedeni hastalığın patogeneğinde kişiye ait faktörlerin de önemli etkisi olduğu hipotezi ile açıklanabilir. Etkileyen faktörlerin başında trakeobronşiyal ve alveoler klirens, akciğerin yapısal durumu ve kişinin immün durumu gelmektedir (36,37). Asbest maruziyeti olan kişilerde geç tip cilt hipersensitivitesi de dahil olmak üzere hücresele immünitede bir bozukluk olduğu gösterilmiştir. Üzerinde en çok çalışılan konu kişinin immün durumudur (38). Asbest teması ve asbeste bağı plevral plakları ve interstisyel hastalığı olanlarda yapılmış bir çalışmada kan ve bronkoalveoler lavajda (BAL) T- helper-hücre ve alt grupları lehine değişiklik olup olmadığı çalışılmış. Ortalama 47 yaş ve 23 yıl asbest maruziyeti olan 27 tanesi sigara içmeyen, 122 asbeste maruz kalan kişi alınmış. Bu gruptan %48 inde plevral kalınlaşma tesbit edilmiş. BAL'da asbeste maruz kalan sigara içmeyen kişilerde, normal kişilere oranla daha yüksek CD3 ölçülmüş ve BAL da CD4/CD8 oranındaki artış plevral kalınlaşma ile ilişkili bulunmuştur. Bunun yanında BAL'da T lenfosit helper-supressor oranında bir değişiklik, doğal öldürücü hücre aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir (39,40). Yapılan bir çalışmada radyolojik olarak asbestozisi olan asbest işçilerinin %25-30'unun kanında antinükleer antikolar ve romatoid faktör saptanmıştır. Fakat hastalığın patogeneğinde B-hücre hiperreaktivitesinin rolü olduğunu gösteren çok az kanıt vardır (36). Antikorlarda anormallik olduğunun saptanmasına rağmen bunun asbestoz gelişimindeki rolü henüz bilinmemektedir.

İnhalasyonla alınan asbest liflerinin çoğu mukosilyer klirensle akciğerlerden uzaklaştırılsa da bir kısmı direkt epitele penetrasyonla ya da epitel hasarından sonra intraluminal eksudanın organizasyonu ile interstisyuma makrofajların içine girmektedir (41). Bugün için kesin olarak kanıtlanmamış olsa da asbest liflerinin paryetal plevraya ulaşmasının iki yolla olabileceği kabul edilmektedir Asbest lifleri inhale edildikten sonra aerodinamik yapıları nedeniyle bronşiyal alanda kolaylıkla ilerleyerek akciğerin periferik bölgelerine ulaşılabilir, oradan da distal endotelyumdan interstisyel alana girerek, visseral plevraya ulaşabilirler. Komşuluk yoluyla visseral plevradan da paryetal plevraya erişebilir. İkinci yol olarak ise lenfatik dolaşıma katılan liflerin retrograd yolla paryetal plevraya ulaşabileceğidir (42). Plevral boşlukta bulunan asbest lifleri, lenfatik klirensle paralel olarak hareket ederler ve paryetal plevradaki stomaların ağzında kümeler halinde birikirler (43). Asbestin inhalasyondan sonra bronşiyal sistemdeki lifsel olarak ayrışması bu seyri kolaylaştırır (33).

Hava yolları bifürkasyonunda ve interstisyumda toplanan aktive makrofajlar, inflamasyon ve fibrozisi başlatan birçok sitokin, kemokin ve büyüme faktörü salarlar (36). Bunlardan en önemlileri; TNF- α , TGF-fi, IL-1, IL-8 ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörüdür. Bunlardan özellikle TNF- α çok önemlidir. Yapılan deneysel çalışmada farelerde TNF- α reseptörleri bloke edildiğinde akciğer hasarının olmadığı izlenmiştir (36).

Asbest lifleri nedeniyle ortaya çıkan oksijen ve nitrojen radikalleri DNA hasarı ve bağları kırarak hem mutojenik hemde fibrinojenik aktiviteyi başlatabilirler (44). Ayrıca lifler temas ettikleri hücrelerdeki genetik elemanlara yaptıkları fiziksel travma ile özellikle mitoz sırasında kromozom anomalilerine de neden olabilirler (45). Yine liflerin fiziksel teması ile oluşan hücre hasarı ve bunun tamiri için artan hücresel aktivite, lokal inflamasyonla skarlaşmaya veya karsinogeneze neden olabilir (46,47). Asbest lifleri, ekstraselüler sinyal düzenleyici kinase- 1 ve 2 proteinleri, mitojen ile aktive olmuş protein kinase'ı ve mezotel hücre düzeyinde protoonkogenler FOS/JUN sunusunu arttırırlar (48,49). Bütün bu değişiklikler, hücrenin normal döngüsü dışında ortamda artan büyüme faktörlerini aktifleştirebilir. Hücresel proliferasyon sırasında hücrelerde genetik kararsızlık ve yapısal değişikliğe yol açan asbest, malign dönüşüme neden olabilir.

2.4. Asbest İle İlişkili Plevra ve Akciğer Hastalıkları

2.4.1. Plevra hastalıkları

- 1- Plevral plak,
- 2- Diffüz pleural kalınlaşma (DPK),
- 3- Benign pleural efüzyon,
- 4-Mezotelyoma,

2.4.2. Parankim hastalıkları

- 1- Asbestozis (parankim fibrozisi),
- 2-Akciğer kanseri,
- 3-Yuvarlak atelettazi,
- 4-Transpulmoner Bantlar

Bu hastalıklardan pleural plak ve mezotelyoma paryetal pleura, DPK ve yuvarlak atelettazi viseral pleura kaynaklıdır. Benign pleural efüzyonu olan hastalarda bazen zaman içerisinde viseral pleura ve paryetal pleura kalınlaşarak birbirine yapışır. Yapışan pleura yaprakları arasındaki sıvının kaybolması ile DPK oluşabilir. Ayrıca son zamanlarda dikkat

çeken bir diğer plevra patoloji ise asbeste maruz kalan kişilerde apikal plevral kalınlaşmanın gelişmesidir (50,51). Ancak apikal plevral kalınlaşmanın asbest maruziyetine bağlı olduğunu kabul etmeden önce mutlaka, en sık görülen nedeni olan tüberküloz ekarte edilmelidir. Apikal plevral kalınlaşmaya üst lob fibrozisi de eşlik etmektedir. Asbeste bağlı plevral hastalıkların %90'ından fazlasını plevral plaklar ve diffüz plevral kalınlaşma oluşturur. Bu hastalıklar aynı zamanda asbest ile temasın radyolojik kanıtlarıdır (52). Asbestin bütün tipleri, asbeste bağlı plevral hastalık yapma potansiyeline sahiptir (12). Asbest temasının güvenli bir seviyesinin olmadığı ise bugün bilinen bir bilimsel gerçektir (53). Ayrıca, mezotelyoma gelişimi açısından güvenli bir alt eşik seviyesinin olmadığı da bilinmektedir (15,54,55).

2.4.1.1. Plevral Plaklar

Plevral plaklar, paryetal plevrada oluşan lokal fibrozis alanlarıdır. Bilateral dağılmış kalsifiye plakların varlığı asbest teması için neredeyse patognomonik olarak kabul edilmektedir (56-59). Plevral plaklar yaklaşık olarak 15-20 yıl gibi latent bir periyod sonrası yavaş olarak gelişmektedir (52). Maruziyet süresi, derecesi, sıklığı ile plağın evresi arasında herhangi bir korelasyon yoktur (60). Plevral plak görülme insidansı doz ile artıyor olsa da, plakların oluşumu ile doz arasında lineer bir korelasyon yoktur (61). Literatürlerde plevral plakların genellikle temas dozundan ziyade ilk temastan bu yana geçen temas süresi ile ilişkili oldukları kabul edilmektedir. On yıldan önce görülmezken, 20 yıldan sonra ve çoğu da 30 yıllık temas süresinden sonra görülmektedirler (57,62,63).

Plaklar sıklıkla, farklı zamanlarda küçük maruziyetler sonucu oluştuklarından bazı plevral plakların etiyojisinde asbest maruziyeti olduğunu belirlemek zordur. Metintaş ve arkadaşlarının çalışmasında mesleki asbest maruziyeti olan ve kohorta benzer şekilde çevresel asbest teması olan köylülerde de yüksek oranlarda plevral plaklar ve plevral fibrozis saptamışlardır. Farklı asbest tiplerinin maruziyeti ile değişen sıklıkta plevral lezyon ortaya çıktığını bulmuşlardır. Çevresel temas için popülasyonun temasının doğumla birlikte başlamadığını, ilk plevral değişikliklerin yaklaşık 30 yıl sonra oluştuğunu ve plevral plak insidansının yaşla beraber arttığını bildirmişlerdir (64).

Plakların radyolojik tanımı sinüsü kapatmayan, pariyetal plevra yerleşimli, düzgün kenarlı, ancak sınırlı, kesikli olabilen ve interkostal aralık ve kostalara paralel uzanan, kalsifikasyon gösterebilen lezyonlar olarak tanımlanır (64). Her ne kadar plevral plak olarak adlandırılrsa da gerçekte konumları subplevraldır (61).

Histolojik olarak kollajenöz konnektif dokudan oluşmaktadırlar. Lenfatik akımla pariyetal plevraya ulaşan asbest lifleri submezotelial makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Bunun sonucunda ise lokal immünolojik reaksiyonlarla kollajen formasyonu ve fibrozis gelişir (61). Solunum fonksiyon testlerinde restriksiyon, izole pleural plaklardan çok, diffüz pleural kalınlaşma ile yakın ilişkilidir (52,65). Restriktif bozukluğun pleural kalınlaşmaya mı, yoksa subradyografik asbestozise mi bağlı olduğu kesinlik kazanmamıştır (51,52).

Plaklar sıklıkla bilateraldir, fakat karakteristik görünümüne sahip unilateral plaklar da asbest maruziyetini kuvvetle akla getirmelidir. Sıklıkla göğsün posterior ve lateral bölümünde, 5. ile 8. kotlar arasında izlenseler de çoğu zaman apeksler ve kostofrenik sinüsler de dahil olur (52). Kalınlıkları 1 cm'ye kadar ulaşabilir. Diafragmanın sıklıkla santraline yerleşen plaklar lokal evantrasyonu taklit edebilir (61). Diafragmatik plaklar en iyi lateral veya oblik grafilerde saptanır. PA akciğer grafilerinin plak tayin etmede duyarlılığı %50 civarındadır (63).

Son yıllarda bilgisayar yardımlı, radyografi ve BT/YRBT'ye dayalı klasifikasyon programları geliştirilmiştir. 1980, 1989 ILO pnömokonyoz radyografilerinin internasyonal sınıflamasına göre asbeste bağlı pleural hastalıklar derecelendirilmektedir. Buna göre; pleural değişikliklerde tutulan taraf (sağ/sol), diyafragma tutulumu, kalsifikasyon varlığı, pleural değişikliklerin tipi (plak/ DPK), kalınlığı ve yaygınlığına göre parankimden ayrı bir skala sistemi ile değerlendirilir (66).

Hillerdal, pleural plakları olan 1596 erkek hastada, bronşial karsinom ve malign mezotelyoma gelişme riskini araştırmıştır. Bu çalışmada yaş ve sigara ile ilgili düzeltmeler yapıldıktan sonra, asbestozisi olmayan sadece plakları olan olgularda malignite gelişme riskini 1.4 kez daha yüksek bulmuştur. Bunun yanında beklenen malign mezotelyoma sadece 0.8 iken, 9 olguda mezotelyoma saptamıştır. Latent periyod bronş kanserleri için 44.1 yıl, mezotelyoma için ise 48.1 yıl olarak bulunmuştur. Sonuçta pleural plakların belirgin asbest maruziyetini yansıttığını ve bu kişilerde mezotelyoma ve bronş karsinomu riskinin arttığını vurgulamıştır (67).

2.4.1.2. Diffüz Plevral Kalınlaşma (DPK)

Plevral kalınlaşmanın ciddi bir formudur. Sıklıkla göğüs ağrısı, dispne ve restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu ile birliktelik gösterir (68). DPK pleural plaklar gibi uzun bir

latent periyod sonrası ortaya çıkarlar. Ancak oluşumu için plevral plaklara oranla daha fazla miktarda asbest teması gerektirir (69).

Mc Loud ve arkadaşarı diffüz plevral kalınlaşmayı, kostofrenik sinüs kapalılığı olan veya olmayan, kesintisiz olarak en az göğüs duvarının 1/4'ini kapatan plevral dansite olarak tanımlamışlardır. Bu tanımları kullanarak yaklaşık 1400 asbest işçisini kapsayan serilerinde, DPK'nın (%13.5) hemen hemen plevral plaklar kadar (%16.5) sık görüldüğünü saptamışlardır (70).

Günümüzde DPK'nın patogenezi ile ilgili bilgiler yetersizdir. Asbestozisle birlikte görülmesi, parankimal fibrozisin plevraya direkt yayıldığını düşündürmektedir. İnterstisyel fibrozisle olan yakın ilişkisi, DPK gelişimi için yüksek konsantrasyonda asbest liflerine maruziyet gerektiğini akla getirir. Bu görüşe alternatif olarak, asbeste bağlı hemorajik plevral effüzyona karşı gelişen lokal visseral enflamasyon ve visseral plevrada diffüz yaygın fibrozis gelişmesidir (52). Ampiyem veya hemotoraksın komplikasyonlarından olan fibrotoraks gelişimi gibi düşünülebilir. DPK primer olarak visseral plevrayı tutarsa da, aslında hem visseral hem de parietal plevra birlikte katılır. Visseral plevra ile parietal plevranın füzyonu ve adezyonu ile sonuçlanır yani, plevral aralığı oblitere eder (52). DPK ile daha önce geçirilen benign asbest plörezisinin yakın ilişkili olduğu düşünülmektedir (52,69).

FVC düzeyindeki azalma ile DPK'nın yaygınlığı arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (68). Broderick 1211 olgulu bir seri de; plevral plak, kostofrenik sinüs kapalılığı, DPK, plevral fibrozisin kalınlığı/uzunluğu ile FVC düşüklüğü arasında korelasyon olduğu izlenmiştir (71).

Genellikle tek taraflı ve kostofrenik açıya doğru uzanır (52). DPK; hemen hemen her olguda kostofrenik sinüs kapalılığı ile birlikte ve olguların %50'sinden fazlasında daha önce benign asbest plörezisi tanısı konmuştur (61). DPK'da yaygın olamamakla birlikte kalsifikasyon görülebilirken, interlober fissür tutulumu ise kuraldır (72).

DPK sıklıkla progresyon gösterir ve bazen nodüller bir görünüm sergileyerek malign mezotelyomadan ayırımı güçleşir (61). Asbeste bağlı DPK çok nadiren mediastinal plevrayı da kapsar (72, 73). Bu özellik malign plevral kalınlaşmadan ayırmada önemli bir kriterdir. Yapılan bir çalışmada 19 olguda; mediastinal plevral kalınlaşma, fibrotorakslı 8 hastanın 1'inde varken, mezotelyomalı 11 olgunun ise 8'inde var olduğu gözlenmiştir (71). Genellikle

kabul edilen ortak görüş, plevral plakların ve DPK'nın malignite riski taşımadığı yönünde olsa da DPK'nın malignite potansiyeli ile ilgili yeterli veri yoktur (74).

Toraks BT'nin DPK için normal grafiden daha sensitif ve spesifik olduğu gösterilmiştir. Özellikle de ekstraplevral yağ dokusunu plevral kalınlaşmadan ayırt etmede üstün olduğu gösterilmiştir (75,76).

BT'de DPK tanısı şu kriterlere göre konulur (77);

- 1- Kalınlığı 3 mm' den fazla olan kesintisiz devam eden
- 2- Kraniokaudal uzunluğu 8 cm' den fazla
- 3- Bir hemitoraksın çevresi boyunca uzunluğu 5 cm' den fazla olan

Gevenois, asbest işçilerini içeren BT çalışmasında; yuvarlak atelektazinin diffüz plevral kalınlaşma ile birlikte olmasının, plevral plaktan ayırmda yardımcı olacağını vurgulamıştır (78).

2.4.1.3. Benign Plevral Efüzyon

Asbeste bağlı gelişen hastalıklar içerisinde en kısa latent periyoda sahiptir. Genellikle asbest temasından sonraki ilk 10 yıl içinde ortaya çıksa da bazen bu süre 50 yılı bulabilir (1). Temasın başlamasında sonra ilk 20 yıl içinde en sık görülen radyografik bulgudur (3). Doza bağımlı olarak ortaya çıkar, maruziyet derecesi ne kadar fazla ise plevral sıvı gelişme ihtimali de o kadar fazladır (79).

Benign plevral efüzyonun patogenezinde, kesin olmamakla beraber, asbest lifleriyle mezotelyal ve inflamatuvar hücreler arasında belirgin bir ilişki olduğu gösterilmiştir. İnsan mezotelyal hücreleri ile yapılan invitro bir çalışmada; asbest liflerine maruziyetle, nötrofil kemotaktik sitokin ve IL-8 salınımının olduğu gözlenmiştir (80).

Klinik olarak çoğu asemptomatik olup genellikle asbest işçilerinin yıllık rutin radyografik muayenelerinde tespit edilir. Hastalarda plöritik tipte göğüs ağrısı, lökosit sayısında artma, hafif bir ateşle beraber hastalık hafif seyredir. Bazı hastalarda nefes darlığı eşlik edebilir. Benign asbest plörezisi düşünülen hastada mutlaka MPM, metastatik tümörler, tüberküloz veya diğer infeksiyöz durumlar ekarte edilmelidir (16,29,81).

Asbest maruziyeti sonucu ortaya çıkan benign plevral efüzyonlarda sıvı genellikle az miktarda ve tek taraflıdır. Plevral efüzyonun birçok nedeni olduğu için asbeste bağlı benign

plevral efüzyon tanısını koymak oldukça güçtür. Sık görülen infeksiyon, tromboemboli ve tümör gibi plevral efüzyon nedenlerinin ekarte edilmesi gerekmektedir (1). Tanı için torasentez yapmak zorunludur. Efüzyon eksüda karakterinde olup, hemorajik vasıflı ve glukoz düzeyi normaldir. Sitolojik değerlendirilmesinde yaklaşık % 50 kadarında mezoteliyal hücreler görünür. Olguların yaklaşık % 25 kadarında sıvı eozinofiliktir (82).

Sıvının varlığı 6 ay veya daha uzun bir süre devam etse de, sıklıkla kendiliğinden rezorbe olur. Benign asbest plevral efüzyonlarından sonra malign mezotelyoma gelişmez. Fakat plevral kalınlaşma ve diffüz plevral fibrozis gelişimi için risk faktörüdür. Akut benign plevral efüzyonun tanısı diğer nedenlerin ekarte edilmesi ile olur. Plevral biyopsi diğer plevral hastalıklardan özellikle de mezotelyomadan ayırmak için yapılır. Hastanın izleminde tanısal gereklilik olarak, en az 3 yıl boyunca tümör gelişip gelişmediğinin gözlenmesi önemlidir (82).

2.4.1.4. Malign Plevral Mezotelyoma

Malign plevral mezotelyoma (MPM) asbest maruziyeti sonrası gelişen ve mortalitesi çok yüksek olan bir hastalıktır (83). Her yıl yaklaşık olarak 15000-20000 arası kişinin ölümüne neden olmaktadır (84). Asbestle olan temasın dozu arttıkça ve ilk temasdan sonra geçen süre uzadıkça hastalık riski artar (85). Bu nedenle daha önceki yıllarda olan yoğun asbest kullanımına bağlı olarak önümüzdeki yıllarda hastalığın artarak 2020 yılında en yüksek düzeye ulaşacağı tahmin edilmektedir (86).

Metintaş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ortalama yıllık mezotelyoma insidans hızının, çevresel beyaz asbest teması olan köylülerde benzer temas oranlarına rağmen, dünyadaki bilinen insidans hızlarıyla karşılaştırdıklarında erkeklerde 88.3 kat, kadınlarda ise 799 kat gibi oldukça yüksek oranlar bildirmişlerdir (27).

MM plevra, periton, perikard ve tunica vaginalisi döşeyen mezotel hücrelerinin primer malign tümörüdür, asbestin solunum yolu ile vücudumuza alınmasından dolayı en sık (%90) plevrada gelişir (87,88). Olguların %50-90'da asbest ile temas öyküsü vardır (89,25). Farklı çalışmalarda Şenyiğit olgularının %57'sinde, Örki %53.8'inde çevresel asbest maruziyeti olduğunu bildirmiştir (87,13). MM gelişmesinde ülkemizde asbest dışında Kapodokya bölgesindeki bazı köylerde yaygın olarak bulunan erionit, Simian Virus 40 ve radyasyon maruziyeti de etkilidir (89,14).

Genellikle 50-70 yaşları arasında tanı konur. Malign mezotelyoma yüksek oranda erkekleri (oran, 3-4/1) etkiler (82). Plevra mezotelyoması genellikle tek taraflıdır (%95-97) sağ hemitoraksda daha sık görülür (87). Plevra sıvısına bağlı olarak göğüs ağrısı ve nefes darlığı en belirgin şikayetlerdir (84,91,92). Mezotelyomalı hastaların en sık semptomu göğüs ağrısıdır. Nefes darlığı da neredeyse göğüs ağrısı kadar sık gözlenir (82). Nefes darlığı, göğüs ağrısı olmadan da olguların üçte birinde bildirilmiştir (93). Daha az sıklıkta görülen semptomlar öksürük, kilo kaybı ve ateştir. Plevral efüzyon geliştiğinde genellikle masif olmakla birlikte her zaman eksüdatiftir. Hemorajik olabilir ve hiyalüronik asit seviyesi yüksek olarak ölçülebilir (82).

Tanıda başlangıçta uygulanan işlem genellikle torasentezdir (92). Genel olarak plevra sıvısının sitolojik incelemesinin tanı koymadaki duyarlılığının %10'nun altında olduğu kabul edilmektedir. MPM 'da perkutan plevra biyopsisinin tanısal duyarlılığı %7-71 arasında bildirilmekle birlikte genelde %40'ın altındadır (94). Kesin tanı için sitolojik inceleme ve histolojik doğrulama gereklidir. Kapalı plevral biyopsiyle alınan dokuda tanı zorluğu yaşandığından açık biyopsi tercih edilmelidir. Torakoskopi bir diğer seçenektir. Biyopsiden sonra lokal radyoterapi uygulanması biyopsi iğnesinin lokalizasyonunda gelişebilecek tümör yayılımını azaltır (82).

MPM, histolojik morfolojisine göre epitelial, sarkomatoid ve bifazik olmak üzere üç alt gruba ayrılır. MM prognozu çok kötü olup bu üç tipte ortalama sağ kalım sırayla 18, 8 ve 11 aydır (95-97). Geniş olgu serilerinde yaşam süresi 6-17 ay arasındadır (94). Literatürde 4 yıllık sağ kalım %24.4 olarak bildirilmiştir (98). Hastalığın prognozuna hastanın yaşı, performans skoru, tümörün hücre tipi ve cinsiyeti gibi çeşitli faktörlerin de etkisi vardır (99).

MPM, lokal invaziv olarak ilerler. Plevral duvar boyunca yayılır, akciğerler ve komşu yapıları invaze eder. Uzak metastazları daha az gözlenir. Tümörün diyafragma, kalp, karaciğer, dalak, adrenaller, gastrointestinal traktus, kemik, pankreas ve böbrek gibi organlara yayılması çeşitli semptomlara yol açar. Trombositosis siktir ve tromboembolik olaylar görülebilir. Uygunsuz antidiüretik hormon sendromu, çomak parmak veya hipoglisemi nadir görülür (82).

Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tedavi uygulamalarında olan yeni gelişmelere rağmen bu tedavilerin hastaların yaşam süresine olumlu katkıda bulunduğu dair hâlâ genel bir kabul bildirilmemiştir. Bugüne kadar uygulanan kemoterapi protokollerinde objektif cevap

oranı %20 civarında olup, tüm kemoterapi alan grupta ortanca yaşam süresi destek tedavisi alan gruplarla benzerlik gösterir. Ancak kemoterapiye cevap veren %20'lik olgu grubunda yaşam süresi ortalama 20-24 aya kadar uzamaktadır. Kemoterapinin intraplevral kullanılmasının veya yüksek doz verilmesinin tedaviye ek katkı sağlamadığı da bilinmektedir (100,101). Tüm olguların %20'den azı 2 yıldan fazla yaşamaktadır. Plörektomi veya pnömonektominin radyasyon tedavisiyle kombinasyonu sağkalım oranlarını arttırmada yetersiz kalmıştır. Doxorubicin (Adriamycin) ile kemoterapi sağkalımı uzatmaksızın değişken yanıtlara neden olmuştur (82).

MPM mortalitesi çok yüksek bir hastalıktır. Geçmişteki kontrolsüz yoğun asbest kullanımı nedeni ile önümüzdeki 30 yılda sıklığının artması beklenmektedir. Plevra sıvısı olan ve çevresel olarak asbest maruziyetinin yaygın olduğu bölgelerden gelen olgularda düşünülmeli, subtip ayrımı için İHK boyama kullanılmalıdır.

2.4.2. Parankim Hastalıkları

2.4.2.1. Asbestozis (İnterstisyel Akciğer Fibrozisi) (İAF)

Asbestozis, asbest maruziyetine bağlı olarak gelişen interstisyel akciğer fibrozisini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Asbestozis gelişimi, maruziyet süresi, latent süre ve doza bağlı olarak değişir. Klinik olarak belirgin asbestozis için, oldukça yüksek dozda maruziyet ve 20 yıldan daha fazla latent periyod gereklidir (102). Bunun yanında asbest liflerinin çapı ve uzunluğunun da çok büyük önemi vardır. İmmünolojik faktörlerinde asbest maruziyetine kişisel cevabı belirlemede önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (61).

Epidemiyolojik çalışmalar asbestozis gelişimi için yüksek dozlarda lif inhale edilmesi gerektiğini göstermiştir (30). Sigara içiminin de asbestozis riskini artırdığı yine epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir (103). Selikoff ve Hammond asbestozis ve sigara birlikteliğinin ölümcül olduğunu, bu olgularda mortalite oranının sigara içmeyen ve asbeste maruz kalanlara göre 3 kat daha fazla artmış olduğunu göstermişlerdir (104). Bu çalışmalar, bozulmuş lif klirensinin lif ile indüklenen fibrozisteki önemini vurgulamaktadır (102).

Klinik olarak asbestozis dispne, kuru öksürük, taşipne ve çomak parmak ile karakterizedir. Akciğer oskültasyon bulgusu bazalarda ince rallerin duyulmasıdır. Ağır derecede etkilenmiş hastalarda asbestozis, mortalitesi yüksek olan bir hastalıktır (61).

Tanıda kullanılacak en iyi görüntüleme yöntemi YRBT'dir. Asbestoziste radyografik olarak özellikle alt zonları tutan kistik, retiküler veya ince lineer yapıda küçük, irregüler opasiteler saptanır. Asbestozisin radyolojik bulguları, skleroderma, romatoid artrit gibi kollajen doku hastalıklarındaki ve idyopatik pulmoner fibroziste görülen bulgulardan ayırt edilemez. Plevral plakların eşlik etmesi halinde interstisyel hastalığın asbestozis olma ihtimali artar. Aberle ve arkadaşları tarafından bildirilen asbestozisin YRBT bulguları şunlardır: İnterstisyel kalınlaşma, buzlu cam manzarası, parenkimal bantlar, subplevral bantlar ve 1-15 mm çapında kalın duvarlı multipl kistik lezyonlardır. Genellikle subplevral ve posterior alt loblarda daha sık görülür (1,105).

Asbestozisin patognomonik klinik, fizyolojik veya radyolojik özellikleri yoktur. Fakat Helsinki bildirgesinde asbestozisin tanısında, diffüz interstisyel fibrozis ve 1 cm² akciğer dokusunda en az 2 asbest cisimciğinin görülmesinin gerekli olduğu bildirilmiştir (106). Pratikte hastalığın tanısı; anamnezinde asbest maruziyeti olan olgularda saptanan radyolojik bulgulara dayanır. Spesifik bir tedavisi yoktur (18). Ortalama yaşam süresi tanıdan itibaren 15-20 yıldır (102).

2.4.2.2. Rounded Atektazi (Blesovsky sendromu, Folded lung)

Asbeste bağlı gelişen plevra patolojilerinin nadir görülen bir komplikasyonudur. Patogenezi çok iyi bilinmemektedir. Asbest maruziyeti sonrası paryetal ve viseral plevralar kalınlaşarak her iki plevra yaprağı birbirine yapışır. Kaynaşan plevral yaprakları hemen komşuluğundaki akciğer dokusunu immobilize eder. İmmobil akciğer dokusu atelektaziye uğrayarak kendi etrafında torsiyone olur. Bunun sonucunda bölgede yalancı bir kitle lezyonunun oluştuğu kabul edilmektedir (107).

Çoğu zaman asemptomatik seyretmesine karşın bazen nefes darlığı ve kuru öksürük gibi semptomlar görülebilir. Nadiren obstrüktif pnömoni ve lokal pulmoner arter trombozisi oluşabilir. Direkt akciğer grafisinde 2-7 cm çapında plevra ile ilişkili periferik kitle görünümündedir. En sık alt lobların posterior kısmında görülür (108). Radyografik olarak periferik plevral yüzeyde 2.5-7 cm genişliğinde bitişik yuvarlak ve/veya oval kitle görünümüne Comet tail bulgusu (kitleye doğru uzanan damar ve bronş yapısı) denir. Plevradaki kalınlaşmanın genellikle kitle komşuluğunda en fazla olduğu saptanmıştır. Etkilenen lobta volüm kaybı olur (29).

Ayırıcı tanıda asbest teması dışında tüberküloz, histoplazmozis, dressler sendromu ve hemotoraksın da aynı lezyonu oluşturabildiği bilinmelidir (29).

Rounded atelektaziye sıvı eşlik etmesi, göğüs duvarı tutulumu ile birlikte olan veya olmayan plevral kitle ve rounded atelektaziye komşu olmayan plevrada kalınlaşma saptanması halinde mezotelyoma düşünülmelidir. Çünkü rounded atelektaziye eşlik eden mezotelyoma vakaları bildirilmiştir (29).

2.4.2.3. Transpulmoner Bantlar

Plevra kaynaklı, akciğer içerisine horizontal olarak uzanan lineer dansitelerdir. Standart akciğer grafisinde görülmesi oldukça zordur. Rounded atelektazinin ilk manifestasyonu olabilir. Literatürde sık rapor edilmedikleri için insidansları tam olarak bilinmemektedir. Diffüz plevral kalınlaşmanın çok yoğun olduğu olgularda daha fazla görüldüğü bilinmektedir (61).

2.4.2.4. Akciğer Kanseri

Asbest-ilişkili akciğer kanserleri sigara içimine bağlı gelişen kanserler ve normal kişilerde gelişen kanserlerden tip, natür ve lokalizasyon açısından ayırt edilemezler. Tüm histolojik tipler gözlenmekle birlikte, adenokanser gelişim sıklığı artmıştır. Asbest ilişkili akciğer kanseri asbestozis olmaksızın da gelişebilmektedir (82).

Asbest liflerinin karsinojenitesi liflerin uzunluğuna bağlıdır. 10 mikrometreden (μm) uzun olanlar oldukça karsinojeniktir (109,110). Çok kısa lifli olanlar ($< 2-3 \mu\text{m}$) deneysel olarak tümör oluşturmamıştır ve belki de karsinojenik değildir (109). Karsinojenite aynı zamanda liflerin çapıyla da ilişkilidir. 0.25 μm den daha dar olan lifler oldukça karsinojeniktir. Bazı otörler asbestozisin radyolojik kanıtları olmasa bile asbestin akciğer kanserine neden olduğunu düşünmektedir (111,112).

Bazı otörler ise akciğer kanserinin sadece asbestozisin radyolojik kanıtlarının varlığında geliştiğini öne sürmektedirler (113,114). Asbest-ilişkili akciğer kanserine tedavi yaklaşımı diğer durumlarda gelişen akciğer kanserine benzerdir (82).

2.5. DNA HASARI

DNA yapısının korunması, genetik bilginin nesilden nesile sağlıklı olarak aktarılabilmesi için son derece önemlidir. DNA'nın fonksiyonu bazlar üzerindeki polar

gruplara bağlıdır. DNA' nın çift sarmal yapısını, bu gruplar arasında spesifik olarak oluşan hidrojen bağları oluşturur. DNA bazlarının polar gruplarında oluşan kimyasal değişiklikler, replikasyon sırasında yanlış eşleşmeye ve mutasyona neden olurlar. Deoksiriboz fosfat iskeletinde meydana gelen kopmalar replikasyonu bloke etmekte kalmaz, aşırı miktarda oluştuklarında ise hücre ölümüne yol açarlar (115).

Gün içerisinde her bir insan hücre DNA'sında yaklaşık olarak 10^4 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olan hasar meydana gelmektedir (115). DNA üzerinde oluşan bu hasarları onaran spesifik onarım sistemleri vardır. Meydana gelen hasar DNA onarım kapasitesini aşan düzeyde veya DNA onarım sistemleri kalıtsal veya edinsel olarak defektif ise DNA hasarı kısa bir sürede deoksiribonükleotid trifosfat havuzunun miktar ve bileşiminde değişikliklere, replikasyonun durmasına, transkripsiyon ve protein sentezinin inhibisyonuna, proteolitik aktivitenin indüksiyonuna; uzun vadede ise mutasyona ve kromozom anomalilerine sebep olur (116). DNA hasarı düşük seviyede ise DNA onarım mekanizmaları tarafından verimli bir şekilde onarılır. Ağır hasarlar apoptotik mekanizmaları uyararak hücre ölümüne sebep olur. Orta dereceli hasarlar çoğunlukla mutasyonla sonuçlanırlar (117).

DNA hasarı normal DNA metabolizması sırasında kendiliğinden veya çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle oluşmaktadır. DNA'nın normal metabolizması sırasında oluşan DNA hasarının en önemli nedeni bazların kimyasal yapısında kendiliğinden meydana gelen değişimlerdir. Pürin ve pirimidin bazlarının keto-enol tautomerizmi ya da deaminasyonu, bazların eşleşme spesifitesini değişime uğratarak yanlış eşleşmeye neden olur. Ayrıca bazların termal dayanıklılığına bağlı olarak hidrolitik baz kaybı ve bunun sonucunda da apürinik / apirimidinik bölgeler meydana gelir. Bu olay hem replikasyonu etkiler hem de bu bölgelerde kolaylıkla zincir kırıkları oluşur (115).

Çevremizde bulunan birçok kimyasal ve fiziksel ajanlar DNA hasarına yol açarlar. Kimyasal ajanların başında alkilleyici maddeler, nitröz asid, platinyum türevleri gibi çapraz bağlayıcılar ve sitokrom P450 sistemi ile metabolize edilen ksenobiyotikler (aromatik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, aflatoksinler ve fenitoin, warfarin, rifampin gibi ilaçlar) gelmektedir. Bu kimyasallar bazları alkilleyerek, oksitleyerek, bazlar arasında çapraz bağlanmalar oluşturarak veya zincir kırıklarına neden olarak DNA hasarı oluştururlar. Fiziksel ajanların başında olan iyonizan radyasyonun doğrudan etkisi ile DNA zincir kırıkları oluşurken; radyasyonla açığa çıkan enerjiyle uyarılan moleküllerin (hidroksil radikalleri) DNA ile etkileşimi hem DNA zincir kırıklarına hem de oksidatif baz modifikasyonlarına

neden olmaktadır. Bir diğerk fiziksel faktör olan UV ışınları DNA üzerinde çapraz bağlanmalara, pirimidin dimerleri oluşumuna ve zincir kırıklarına yol açmaktadır (118).

Oksidatif DNA hasarı, metabolizmanın normal işleyişi sırasında oluşan radikal oksijen türevleri tarafından endojen olarak oluşturulabildiği gibi çeşitli kimyasallar ve radyasyon gibi eksojen faktörler tarafından da meydana getirilmektedir. Yaşam için gerekli olan oksijen, organizmada ki işleyiş sırasında hücrenel bileşenlerin hasarına neden olan reaktif ürünlerin oluşmasına yol açar. Radikal oksijen ve nitrojen türevleri dış yörüngelerinde bulunan çiftlenmemiş elektronlar nedeniyle son derece reaktif moleküllerdir bu nedenle DNA ile kolayca etkileşerek oksidatif baz modifikasyonu ve DNA zincir kırıkları oluşturabilirler. DNA üzerinde yaklaşık 23 farklı tipte oksidatif baz hasarı olmakla birlikte en sık görülen baz modifikasyonu 8-hidroksi -2-deoksiguanozindir (8-OHdG). 8-OHdG güçlü bir mutajen olup, DNA replikasyonu sırasında sitozin yerine adeninle eşleşerek G→T mutasyonuna neden olur (119,120). DNA üzerindeki 8-OHdG bileşikleri, DNA onarımında görev alan 8-OHdG glikozilazlar tarafından kesilerek uzaklaştırılır. Onarımın yetersiz olduğu durumlarda hasar kalıcı hale gelir. Mutasyona uğramış protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde bu baz değişimi sık olarak görülmektedir (121).

Bir diğerk radikal hasarı ise tek ve çift sarmal DNA zincir kırıklarıdır. En reaktif ROS olan hidroksil radikalının (OH[•]) DNA ile etkileşimi sonucu oluşmaktadır (122,123).

2.5.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküllerdir (124,125).

Stabil olmayan bu moleküller hem organik hem de inorganik yapıda olabilirler. Serbest radikaller elektron konfigürasyonlarını pozitif yüke dengelemeleri gerektiğinden çok aktiftirler (126,127). Tablo da sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri belirtilmiştir (128). Aerobik hücrelerde yer alan serbest radikal biyokimyasının en önemli reaktanları oksijen ve onun radikal türevleridir (129). Oksijen tam olarak indirgenmediği reaksiyonlarda son ürün olarak suya dönüşür ve redüksiyonun ara basamaklarında reaktif metabolitler verir. Örneğın, yapısına bir elektron alarak indirgenmesi, nikotin amid difosfat hidrojene (NADPH) bağlı olarak dehidrogenazdan elektron sızmasına ve süperoksit radikali oluşumuna yol açar (127,130,131).

Serbest radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmek zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı mutlak gereklidir (132).

Tablo 1: Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri (128).

Hidrojen	$H \cdot$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	$O_2 \cdot$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	$OH \cdot$	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	$O_2 -$	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	$HO_2 \cdot$	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	$ROO-$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Alkoksil	$RO \cdot$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L- arjinin amino asitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit	NO	NO 'in oksijen de reaksiyonundan üretilir
Triklorometil	CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal

2.5.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Üretim Yolları

Serbest oksijen radikalleri organizmada iki yoldan üretilirler:

Endojen reaksiyonlar sonucu: Metabolizmanın normal işleyişi sırasında, hücrenin sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum, hücre membranı gibi bölümlerinde serbest oksijen radikalleri üretilmektedir (126,127,129,133,134).

Enzimatik reaksiyonlar: Bu reaksiyonlar oksidaz adı verilen enzimler tarafından katalizlenir. NADPH oksidaz, NADH oksidaz, , amin oksidaz, aldehit oksidaz, ksantin oksidaz dihidrooratat dehidrogenaz gibi enzimler direkt olarak serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açarlar (127). Üzerinde en çok çalışılan enzim ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte olup bu şekilde dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat ksantin dehidrogenaz enzimi sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H₂O₂ ve O₂ oluşturmaktadır (135).

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri: Mitokondride gerçekleşen elektron transportu sırasında serbest oksijen radikalleri oluşabilir. Radikal oluşumunda en etkili bölge Ubikinon-sitokrom b bölgesidir. Ayrıca NADH dehidrogenaz reaksiyonunun da katkısı vardır (126,136). Prostaglandin sentezi sırasında, peroksidaz fonksiyonu ile O₂⁻ radikali ortaya çıkar (126,133,136).

Mikrozomal hidroksilasyon sistemi: Mikrozoamlarda kompleks bir elektron transport sistemi tarafından çeşitli alifatik ve aromatik bileşiklerin hidroksilasyonu sağlanır. Mikrozomal hidroksilasyon sisteminin normal işleyişi sırasında NADPH'a dayalı serbest radikal oluşumu gerçekleşmektedir. Mikrozomal sitokrom P450 ve sitokrom b5 redüktaz, radikal oluşumunda etkili enzimlerdir. NADH ve NADPH ise indirgeyici ekivalanlar olarak görev yaparlar (136).

Sitokrom p450 ve b5 doymamış yağ asitlerini ve ksenobiyotikleri oksitleyebilir ve dioksijeni indirgeyebilir (137,138).

Otooksidasyon reaksiyonları: Glutasyon, sistein, ferrodoksin, adrenalin, FADH₂ (Redükte Flavin Mononükleotid) , oksihemoglobin, tetrahidrofolat gibi moleküller oksijen

varlığında elektronlarını birer birer oksijene aktarırlar. Bu sırada $O_2^{\bullet-}$ radikali meydana gelir (128,139).

Fagositoz: Aktive olan fagositlerde üretilen serbest oksijen radikalleri patojenlerle savaşta önemli rol oynar. Kan monositleri, doku makrofajları gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler özel bir uyararla veya immunojenik olarak uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosit edilen patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanı sıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahiptirler. Membranın perokside olması, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositoz kaynaklı oksidan ajanlar; immunosupresif, ototoksik ve mutojenik etki oluşturabilirler (140).

Eksojen faktörlerin etkisiyle: Serbest radikaller, stres, virüsler, enfeksiyon ve çevremizde bulunan eksojen faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, bazı ilaçlar (sisplatin, bleomisin, nitrofurantoin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar), kanserojen maddeler, demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa gibi metaller, asbest lifleri, mineral tozlar ve pestisitler en önemli eksojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (141).

2.5.3. Reaktif Oksijen Türleri

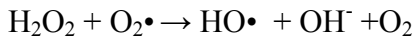
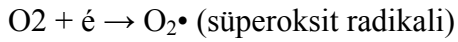
Vücudumuzda oldukça az miktarda bulunurlar. Fakat çok aktif yapıda oldukları için yaşam sürelerinin çok kısa olmasına rağmen oldukça zararlı bileşiklerdir. Proteinler, lipidler, karbonhidratlar, nükleikasitler vb. tüm hücre bileşenleri ile reaksiyona girerek bu yapılarda fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açarlar. Bu değişiklikler, protein sarmalında kesilme, köprüleşme (protein- protein bağlantısı, protein- lipid bağlantısı, disülfid bağlantısı,) oksidasyon, kromozom kırılmaları, mutasyonlar, malign değişiklikler, hatta hücre ölümüne sebep olmaktadır (131,142).

En önemli reaktif oksijen türleri şunlardır (131).;

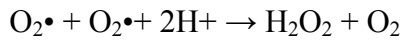
1. $O_2^{\bullet-}$ (Süperoksit) Radikali

2. H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)
3. HO•(Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen (O₂↑↓)

Süperoksit Radikali (O₂•): Hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilmektedirler. Süperoksit oluşumu; ortamdaki oksijen konsantrasyonuna ve elektron taşıyıcısının redoks durumuna bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikali kendi başına önemli bir hücre hasarına yol açamazken, oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (143). Bu reaksiyonlardan en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂'in demir varlığında etkileşmesi ile oldukça reaktif olan HO• radikalleri meydana gelmektedir.



Reaksiyonun sonunda ortaya çıkan OH• radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (144). Süperoksit radikalleri, hücre içinde bulunan demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbestleşen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikallerinin yarı ömürleri çok kısa olup dismutasyon reaksiyonu ile H₂O₂ ve oksijene dönüşürler. Spontan olarak meydana gelen bu dismutasyon reaksiyonu Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir.



Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksidlerin enzimatik veya enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı oksitleyici bir tür olarak bilinir. Özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye giren hidrojen peroksit, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Demirin bu formu çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (145,146,132).

Hidroksil Radikali (HO•): Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılan çok reaktif bir ajandır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir (145,132, 147, 148). Dokular γ radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından

absorbe edilir ve oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağ oluşur. H_2O_2 'nin UV ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir (132).

En reaktif radikal olarak bilinen Hidroksil radikali her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimin bazları ile etkileşebilir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, bir tür serbest radikal zincir reaksiyonu olan "*lipid peroksidasyonu*" dur (145,132).

Singlet Oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$): Reaktivitesi çok yüksek olan uyarılmış oksijen türüdür. Bu radikal doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve bir hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (131). Özellikle bileşiklerin karbon-karbon çift bağları ile tepkimeye girerler. Bu bileşiklerin başında DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bazı kimyasal bileşikler, bilirubin, karotenler, histidin ve metionin singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (145, 132, 149, 150).

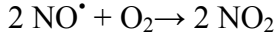
2.5.4. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-)

NO^{\bullet} , oksijensiz ortamda oldukça stabil olan lipofilik özellikte bir moleküldür (151). Bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünü olup düşük konsantrasyonlarda ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilir. (152,153,154). Düşük dozlarda toksik olmaması ile diğer radikallerden ayrılır. Fizyolojik çok önemli işlevleri gerçekleştirir (151).

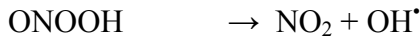
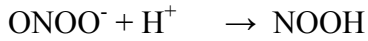
NO^{\bullet} , bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana geldiğinden radikal tanımına uymaktadır (155). Damar endotel hücrelerinde L-arjininden Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenirler ve yarı ömrü 10–20 saniyedir.

Düz kasa kolayca geçen NO^{\bullet} , Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanarak cGMP sentezini uyararak damar gevşemesine neden olur. Fe-S kümelerine afinitesi olan bu grupları içeren akonitaz enzimine bağlanarak hücre içi demir trafiğini kontrol eder. Akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür.

Sentezlenen NO•, tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarında değişikliğe neden olur. Moleküler oksijen ile bağ oluşturarak metabolize olan NO•; nitrojen dioksidi (NO₂) oluşturur:



Serbest oksijen radikalleriyle de reaksiyona giren NO•, güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturur. Peroksinitritin de ileri dekompozisyonla biyolojik olarak yıkıcı bir molekül olan OH• radikalinin oluşumuna yol açtığı bilinmektedir.



Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik aminoasitleri nitrolayarak toksik nitrotürevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır. Sonuç olarak NO•, öncelikle endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve DM gibi sistemik hastalıklarda önemli rol oynar.

2.5.5. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Hücrede fizyolojik olaylar sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri antioksidanlar tarafından zararsız getirilirler. Oksijen radikallerinin oluşumu, antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşarsa, radikaller hücrenin çeşitli bileşenleri ve hücre dışı makromoleküller ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar (126, 134, 156). Vücudumuzda etkilenen başlıca kimyasal maddeler proteinler (kollajen, enzimler) nörotransmitterler, nükleik asitler (DNA ve RNA) ve hücre membranının başlıca bileşeni olan yağ asitleridir (157,158,159).

Serbest radikallerin zararları şöyle sıralanabilir:

1. DNA hasarı,
2. Nükleotid yapısındaki koenzimlerin yıkımı,
3. Tiyollere bağımlı olan enzimlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma, hücre ortamının tiyol /disülfit oranının değişmesi,
4. Protein ve lipitlerle kovalen bağ oluşturarak yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturma,
5. Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
6. Enzim aktivitelerinde değişiklikler,
7. Proteinlerin yapısının bozulması ve protein turn overinin artması,

8. Lipit metabolizmasında değişiklikler, lipit peroksidasyonu ve zar yapısının bozulması,
9. Seroid ve yaşı pigmenti denilen maddelerde birikim olması,
10. Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
11. Uzun ömürlü proteinler olan kollajen ve elastindeki oksido-redüksiyon olaylarının bozulması kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşmasıdır (160).

2.6. Oksidatif Stres Ve DNA Hasarı

Doku ve hücrenin yapısının korunması ve fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirmeleri oksidan ve antioksidan sistem arasındaki mevcut dengenin korunması ile olur. Bu dengenin bozulması organizmada oksidatif strese; bunun sonucu oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri ise vücudumuzun temel yapısal molekülleri olan lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasarlanmasına neden olur (161,162).

Stabil bir molekül olan DNA da hücrenin diğer bileşenleri olan lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal-oksidatif hasara uğrayabilmektedir. Vücudumuzun her hücresinde DNA'nın günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (163). DNA hasarı ve onarımı arasında varolan denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır. Yapılan çalışmalarda yeni doğan sıçanlarda dahi oksidatif baz modifikasyonunun (8OHdG) olduğu gösterilmiştir (164).

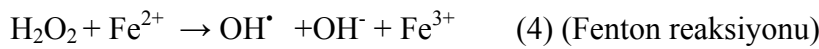
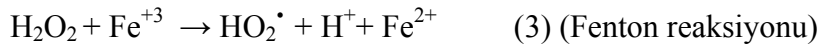
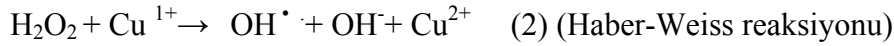
RNS ve ROS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı spontan olarak meydana gelmektedir (165). Serbest oksijen radikallerinin artması, antioksidan enzim düzeylerinde azalma ve/veya DNA onarım mekanizmalarında defekt olması, oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır (166, 167).

Oksidatif hasar DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, baz modifikasyonları, abazik alanlar, şeker hasarı oluşturabilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanmaya neden olabilir (166,167). Bunlardan bazıları fizyolojik koşullarda da oluşabilmektedir. Pürin kaybı ile apürinik alanların oluşması insan genomunda gün içinde 10^4 meydana geliyor olması buna örnektir.

Oksidatif modifikasyona uğrayan DNA antijenik karakter kazanmakta ve anti DNA antikorları oluşmaktadır (168).

DNA'da oksidatif hasarın oluşumu iki farklı hipotez ile açıklanmıştır (169). OH• radikalleri "Fenton Kimyası" hipotezine göre DNA'ya saldırarak hasar oluştururlar.

Reaktivitesi çok yüksek olan OH• radikalinin hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme ihtimali oldukça düşüktür. OH• radikalinin DNA üzerine etkili olabilmesi için DNA'nın kendisinde veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H₂O₂'in Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturmasıdır.



DNA'nın yapısında çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları olduğundan, çeşitli kationları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe^{2+/3+} ve Cu^{1+/2+} iyonları DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan bakırlı ve demirli proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilirler (170).

DNA'nın redoks aktif transisyon metal iyonları ile bağ oluşturması onu H₂O₂'in hedef molekülü haline getirmektedir (168). H₂O₂'in DNA'ya bağlı metal iyonları ile reaksiyona girmesiyle oluşan OH• radikalleri, OH• radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmazlar. Üstelik OH• radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir (171). Yapılan çalışmalarda doku kültür ortamında Fe³⁺ ve Cu²⁺ konsantrasyonunun artırılması ile oksidatif DNA baz hasarının arttığı görülmüş. Aynı kültür ortamında H₂O₂'e maruz bırakılan hücrelerde bakır ve/veya demir şelatorlerinin (deferoksamin) kullanılması ile de DNA'daki oksidatif hasarı önlediği gösterilmiştir (172).

DNA ile birlikte bulunan Cu²⁺ iyonlarının bazı fenollerle reaksiyona girmesi ile reaktif oksijen molekülleri oluşur. Bu moleküller baz modifikasyonları, dal kırıkları ve DNA baz-fenol katılma ürünleri gibi çeşitli DNA lezyonlarına neden olurlar (173). DNA'da G-C'den zengin bölgelerde Cu²⁺ yüksek oranda bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz "Guanin" dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı "8OHdG"dir. 8OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir biyomarkırı olarak kabul edilmektedir (166,167,174).

Reaktif oksijen türlerinin her biri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (175). OH• radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin

oluşmasına yol açmaktadır (176). Örneğin, pürin ve pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirmektedir. Singlet oksijen ise çok daha seçici olup DNA'da dal kırığından çok guanine spesifik bağlanarak guanin türevli ürünler olan 8-hidroksiguanin ve FAPyGuanin (FPG) oluşturmaktadır (177).

Oksidatif strese bağlı DNA hasarını açıklayan ikinci hipotez, Nükleaz aktivasyonu hipotezidir. Bu hipoteze göre ise oksidatif stres, sitozolik Ca^{2+} yoğunluğunda büyük bir artışa neden olur. Yüksek oranda bulunan Ca^{2+} , nükleustaki Ca^{2+} bağımlı endonükleazları aktive eder ve DNA'nın fragmentasyonuna neden olur. Nükleaz aktivasyonu DNA bazlarında herhangi bir kimyasal değişikliğe neden olmamaktadır. DNA hasarının engellenmesinde Ca^{2+} şelatörlerinin kullanımının etkili olacağını gösteren araştırmalar bulunmaktadır (169).

İn vivo her iki hipotezin de geçerli olduğu kabul edilmektedir. Maruz kalınan oksidatif stres etkenine ve hücre tipine göre mekanizmalardan herhangi biri ön plana çıkmaktadır. Reaksiyon hızını, mekanizmasını ve baz modifikasyonunun türünü ortamdaki transisyon metal iyonlarının varlığı etkilemektedir (168).

Oksidatif hasar ile DNA'da oluşan ilk lezyon dal kırıklarıdır. Dal kırıkları DNA onarımı sırasında nükleaz aktivitesi ile de oluşabileceğinden her zaman oksidatif DNA hasar göstergesi değildir (167). Tek dal kırıklarında, diğer daldaki bilgi doğru olarak okunarak "hasarlı dal onarıcı enzimlerle" onarılabildiğinden çift dal kırıkları daha önemlidir (167,169).

Oksidatif DNA hasarı düşük düzeylerde minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilir. Ancak DNA onarımında görevli enzimlerin ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Hücreler bölünmelerini onarım tamamlanıncaya kadar durdurarak kendilerini korumaktadırlar(168). DNA'daki oksidatif hasar düzeyi yaşam ile bağdaşmayan düzeylere ulaştığında ise hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşmektedir. DNA'da oluşan dal kırıklarından sonra DNA onarım mekanizmasının önemli bir komponenti olan NAD^+ poli ADP-riboz polimeraz enzimi (PARP) aktive olur. DNA hasarı belirli bir düzeyi aştığında ise aşırı NAD^+ ATP tüketimi sonucunda hücre ölümü görülmektedir. Hücrenin " NAD^+ -bağımlı programlı ölümü" olarak adlandırılan bu olayın, yüksek hasarlı DNA'ya sahip hücrelerde, malign potansiyeli olan somatik mutantların oluşumunu engellemeye yönelik "intihar yanıt" olduğu öne sürülmüştür (178).

2.7. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

2.7.1. Antioksidan Sistemler

Vücudumuzda reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutan ve oluşturabilecekleri hasarları engelleyen için birçok savunma mekanizması bulunmaktadır (179,180). Bu mekanizma içerisinde serbest radikalleri metabolize eden, yeni serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere “*antioksidan*” maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini toplayarak ya da peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler.

Antioksidanlar görev aldıkları aşamalara göre primer, sekonder ve tersiyer olarak sınıflandırılmaktadır. Serbest radikallerin oluşum aşamasını önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, seruloplazmin, ferritin, demir, hemopeksin, haptoglobulin bu grupta sayılabilirler. Bunlardan bazıları metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (181).

Serbest radikalleri zincir kırıcı reaksiyonlar ile uzaklaştıran antioksidanlara ise sekonder antioksidanlar denir. Bilirubin, C vitamini, E vitamini, β -karoten, albumin ve ürik asit gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Hücre zarında bulunan α - tokoferol lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidandır. Ürik asit ise ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltır. Suda eriyebilen askorbik asit E vitamininin etkisini arttırmakta ve antioksidan sistem içerisinde radikal toplayıcı olarak rol almaktadır (181).

Tersiyer antioksidanlar, biyomoleküllerdeki serbest radikallerin yol açtığı hasarın onarımında görev alırlar. Bu grupta DNA’yı onaran enzimler de yer almaktadırlar (181,182,183).

Antioksidan sistemde yer alan antioksidanlar kaynaklarına göre de endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (184).

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılırlar. Enzim olan antioksidanlar arasında, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemi sayılabilir. Enzim olmayanlar ise askorbik

asit, ürik asit, seruloplazmin, α -tokoferol, bilirubin, albumin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (132, 179, 185, 186).

Eksojen antioksidan olarak da folik asit, allopurinol, B2, B5, B12, C vitamini, E vitamini, flavinoidler, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (132, 179, 187).

2.7.2. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar serbest radikallere karşı dört değişik şekilde etki ederler.

1- Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle kimyasal reaksiyona girerek, onlara bir hidrojen aktarırlar. Bunun sonucunda serbest oksijen radikallerinin aktivitelerini azaltır ya da inaktif biçime dönüştürürler. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler. Bilirubin de bu tarz antioksidan etkisi vardır (132, 149).

2- Toplayıcı etki (Scavenging etki): Antioksidanların serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Enzim olan antioksidanlar, bilirubin, trakeobronşial mukus bu tip bir etki göstermektedirler (132, 188).

3- Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyen etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, seruloplazmin, hemoglobin ve antioksidan özellikteki mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (132, 189, 190).

4- Onarıcı etki (Repair etki): Hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu gruba örnek olarak verilebilir. Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir (132,182, 183,191).

2.7.3. Enzimatik Antioksidanlar

2.7.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Serbest oksijen radikallerini substrat olarak kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma”olarak tanımlanmaktadır. Süperoksit, zincirleme meydana gelen radikal reaksiyonların güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücre içerisindeki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Respiratuvar distres sendromu, akciğer enfeksiyonları, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, ve motor nöron hastalıkları gibi

serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir(132, 148, 179, 192). Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. Oksijen kullanımı fazla olan dokularda SOD aktivitesi yüksek iken ekstrasellüler alanda aktivitesi çok düşüktür (132).

2.7.3.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırır. Kapasitesi sınırlı olması nedeni ile düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. (132, 148, 192).

Glutasyon hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenir. Glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar. Reaksiyonlarda kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (132).

Eritrositlerde GPx oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Glutasyon peroksidaz fagositik hücreler için de önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında oluşan serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin miktarının artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde yapılan bir çalışmada DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (184, 193).

2.7.3.3. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi hücre içerisinde peroksisomlarda bulunmaktadır. Yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Karaciğer, böbrek, kan, kemik iliği ve müköz membranlarda yüksek miktarda bulunmaktadır. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırıştırır. Katalaz antioksidan özelliğini, hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyarak göstermektedir (179,192).

2.7.3.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Oksidasyona uğramış olan diğer bir antioksidan olan Glutasyon peroksidazı tekrar kullanmak için redükte glutatyonla dönüştüren enzimdir (132).

2.7.3.5. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı glutatyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler. Hücre içerisine giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonundan sorumludurlar. Antioksidan aktivitelerinin yanında bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (132).

2.7.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimi olan süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (132).

2.7.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen kaynaklı serbest radikaller ve bunların neden olduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücutta oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmemizde kanın önemi büyüktür. Çünkü dolaşım sistemi antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir.

Total antioksidan kapasitenin büyük bir kısmını plazmadaki antioksidan moleküller oluşturmaktadır. Plazmada serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, bilirubin, E vitamini, C vitamini yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (190).

İnsan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85’inden fazlasını albumin, ürik asit, askorbik asit oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda albumin, ürik asit ve askorbik asit seviyelerinin bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine göre daha fazla olmasıdır (194).

Antioksidanlar sürekli bir etkileşim içerisinde bulunurlar. Genellikle sinerjik olan bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir.

Bu sistem içerisinde herhangi bir antioksidandaki azalma diğeriindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Bundan dolayı total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (194).

3. MATERYAL VE METOD

3.1.Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında kullanılan cihazlardan yararlanılmıştır.

1. Elektroforez düzeneği
2. Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
3. Flöresan mikroskop (Nikon, Japon)
4. Hassas Terazi(Sartorius,Germany)
5. Işık mikroskobu (Nikon, Japon)
6. Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
7. Su banyosu (Nüve, BM 402 model, Türkiye)
8. Hotplate
9. İvert Mikroskop
10. Benmari
11. Buzdolabı
12. Otomatik Pipetler
13. Distile su cihazı
14. Deiyonize su cihazı
15. Manyetik Karıştırıcı
16. Balon joje
17. Beher kaplar

Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Normal erime noktalı (NMP, 65 °C) agaroz jel(Sigma, Germany)
2. Düşük erime noktasına sahip (NMP, 37 °C) agaroz jel (Sigma,Germany)
3. Sodyum-EDTA (Carlo Erba)
4. Sodyum klorür (Merck, Germany)

5. Trizma base (Sigma, Germany)
6. Triton X-100 (Sigma, Germany)
7. Sodyum hidroksid (Merck, Germany)
8. Disodyum hidrojen fosfat (Merck, Germany)
9. Sodyum dihidrojen fosfat (Merck, Germany)
10. Etidyum bromit (Sigma, Germany)
11. Ferroz amonyum sülfat (Merck, Germany)
12. Hidrojen peroksit (Merck, Germany)
13. Histopaque-1077 (Sigma, Germany)
14. DMSO (Merk, Germany)
15. Trizma HCl (Sigma, Germany)

3.2. Hasta Ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Hasta Grubu: Çalışma grubumuz, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniğinde çevresel asbeste bağlı benign akciğer ve plevra hastalığı tanısı ile takip edilen olgulardan seçildi. Alkol ve sigara kullanmayan, asbest maruziyeti dışında herhangi bir kanser risk faktörü taşımayan, 20 yılın üzerinde asbest maruziyeti olan 17 erkek ve 19 kadın toplam 36 birey hasta grubuna dahil edildi. Göğüs hastalığı dışında ek şikayetleri yoktu. Fizik muayeneleri normal, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tesbit edilmedi. Hasta grubunun yaş ortalaması 57.28 ± 8.9 .

Kontrol Grubu: Çalışmada kontrol grubu olarak asbest maruziyeti olmayan anamnezinde herhangi bir şikayeti olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, herhangi bir kanser risk faktörü taşımayan 18 sağlıklı erkek ve 16 sağlıklı kadın toplam 34 kişi randomize olarak seçildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması 55.14 ± 9.4 .

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri antekubital venden alındı. Alınan kanlar heparinli tüplere aktararak buzluk ortamında en geç altı saat içinde işleme tabi tutulmak üzere laboratuvarımıza ulaştırıldı. Tüplerden alınan 1 ml'lik kan mononükleer lökositlerin seperasyonu için kullanıldı.

3.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque–1077 (Sigma, USA) üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C’de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C’de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10^6 mononükleer lökosit / μ l olacak şekilde dilüe edildi.

3.5. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini

Yöntemin Prensipleri: Comet assay yöntemi alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agarozta yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA’lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa; fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (195–199).

Yönteminin Uygulanışı

Slaytların Hazırlanması

%1,0 ‘lik NMP agaroz jel hazırlanarak 80 μ l jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4°C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lamalar nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfatbuffered saline) ile 10^3 te 10^4 hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 μ l alınarak 80 μ l %0,5’lik low melting point (LMP) agaroz jel (37 °C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slaytların hazırlanması tamamlandı (195–199).

Lizis aşaması

Agaroz jel kuruduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM

EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM trizma base ve %1oranında triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı (195–199).

Elektroforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda 20–30 dakika inkübasyona bırakıldı. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit (pH <13) (195–199).

Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5–25 °C'de 30 dakika yürütüldü (195–199).

Nötralizasyon

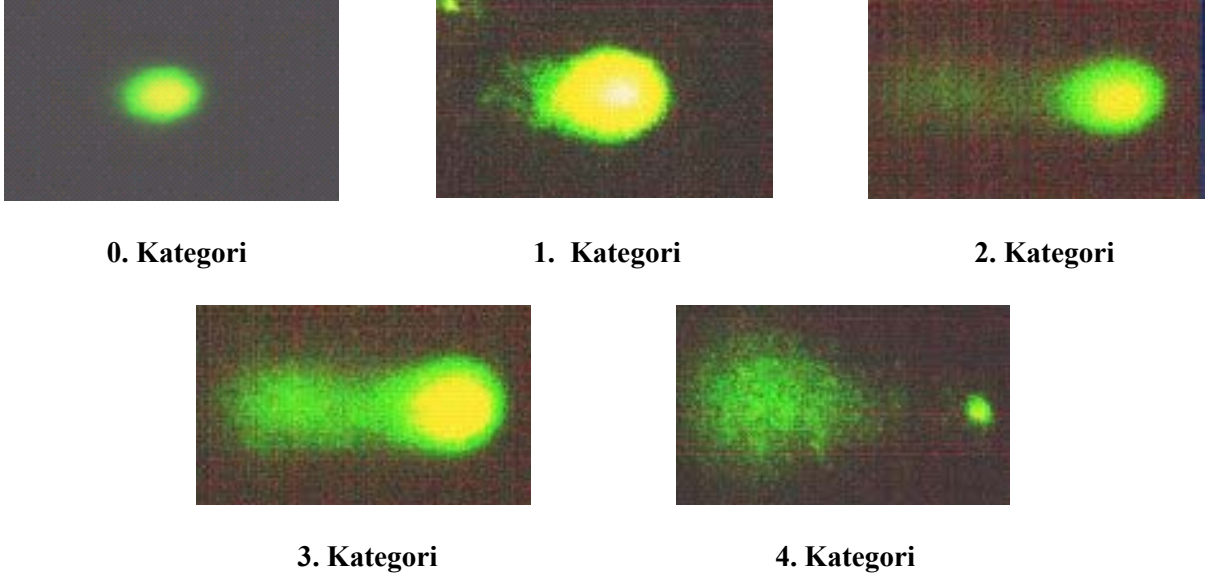
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (195–199).

Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µl/ml) kullanıldı. Her bir slayt için 80 µl boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB:580 nm. Olympus, CKX-41, Japan)

Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak incelendi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoride değerlendirildi. Şekilde de görüldüğü gibi hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 4 olmak üzere değerlendirildi. Toplam hasar için 50 hücre DNA'sı değerlendirildi. Skor iki ile çarpılarak toplam 100 hücrenin hasar skoru (Arbitrary Unit) değerlendirildi.



Şekil:1 Elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların en hasarsız DNA'dan (0), en hasarlı DNA (4)'ya dek değişen DNA floresans mikroskop görüntüleri.

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (195–199).

İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki istatistiksel ilişki ticari bir program olan SPSS 11.5 paket programı ile yapıldı. Kolmogorov-Smirnov Z testi ile hasta ve kontrol gruplarının dağılımlarına bakıldı. Normal dağılım sağlanamadığı için gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için nonparametrik bir test olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma 2010 - 2011 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran 36 çevresel asbeste bağlı benign akciğer hastalığı grubu olgusu ve 34 kontrol grubu olgusu olmak üzere toplam 70 olgu üzerinde yapılmıştır.

Çevresel asbeste bağlı benign akciğer hastalığı gelişen hasta grubunun (Grup 1) yaş ortalaması 57.28 ± 8.9 , sağlıklı kontrol grubunun (Grup 2) yaş ortalaması 55.14 ± 9.4 idi.

Hasta grubun maruziyet süresi 39.4 ± 11.4 yıl olup yaklaşık 15-20 yıl önce asbest temasları sona ermişti. Kontrol grubunun asbest ile teması hiç olmamıştı.

Her iki grupta da kronik hastalık, sürekli kullanılan ilaç, alkol ve sigara alışkanlığı öyküsü yoktu. Gruplar arasında demografik özellikleri değerlendirildiğinde Tablo 2’de de görüldüğü gibi cinsiyet, yaş ve BMI açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Tablo 2: Hasta ve Kontrol grubuna ait demografik özellikler

	Grup 1 (n=36) Ortalama \pm S.D.	Grup 2 (n=34) Ortalama \pm S.D.	<i>p</i>
Yaş (yıl)	57.28 \pm 8.9	55.14 \pm 9.4	0.057
Cinsiyet(E/K)	17/19	18/16	0.973
BMI (kg/m²)	25.7 \pm 2.9	26.2 \pm 3.3	0.533
Maruziyet süresi	39.4 \pm 11.4	-	0.009

Tablo 3’de kontrol ve hasta gruplarının mononükleer lökosit DNA hasarı gösterilmektedir. Tablo 3’de görüldüğü gibi hasta ve kontrol grupları arasında mononükleer lökosit DNA hasarı seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 3: Hasta ve Kontrol grubu arasındaki DNA hasarı seviyeleri

	Grup 1 (n=36) Median \pm IQR	Grup 2 (n=34) Median \pm IQR	<i>p</i>
DNA, Arbtrary Units	4.0 \pm 4.0	4.0 \pm 2.0	0.503

IQR: Interquartile Range

5. TARTIŞMA

Asbestin hücreler üzerinde oluşturduğu etkilerle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (200-208). Asbestin organizmada olarak oksidatif dengeyi bozduğu, DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir. Biz ise çalışmamızda asbeste bağlı benign akciğer hastalığı olan olgularda periferik kanda DNA hasarı saptamadık.

Asbest; sitokinler ve aktive makrofajlar tarafından yönetilen kronik inflamatuvar ve fibrotik bir reaksiyona neden olur (200). Düşük yoğunlukta inhale edilen lifler, bronkoalveolar lavajda geçici inflamasyona ve lif yüklü alveolar makrofajların fokal agregasyonuna yol açar. Akciğerde oluşan reversibl inflamatuvar lezyonlara rağmen, normal akciğer yapısı korunur. Yüksek miktarda olan maruziyette ise bronkoalveolar lavajda nötrofillerin daha büyük oranlarda birikimi sonucu daha yoğun ve uzamış bir inflamasyon meydana gelir. Asbest özellikle maruziyetin ilk 10 dakikası içinde inflamatuvar hücrelerde lipid peroksidasyonuna sebep olur (201). İlâveten bronşiyal epitel hücrelerinin, tip 2 alveolar hücrelerin ve interstisyel fibroblastların proliferasyonuna neden olur. İlerleyen süreçte artmış kollejen biyosentezinin bir indikatörü olan akciğer hidroksiprolininde önemli bir artış ve pulmoner fibrozisin histopatolojik değişimleri meydana gelmektedir (202,203).

Solunum sistemi içerisinde asbest ile etkileşime en duyarlı olan hücre mezotel hücrelidir. Bir rat modelinde, krokidolitin intratrakeal uygulanması ile makrofaj, lenfosit, eozinofil ve mast hücrelerinden oluşan bir lökosit aktivasyonunun ortaya çıktığı ve bunun da mezotelyal hücrelerde hasarla sonuçlandığı izlenmiştir (204). Yapılan başka bir çalışmada mangan içeren süperoksit dismutaz kararlı durum mRNA düzeyleri oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmiş. Asbeste maruz kalan insan plevra mezotelyal hücrelerinde immüoreaktif bir protein olan MnSOD 'da hafif artışlar izlenmiş. Bu sonuçlar asbest ve diğer oksidanlara maruz kaldıktan sonra plevra mezotel hücrelerinde bazı antioksidan enzimlerin indüklenbilir olduğunu göstermişlerdir. (205).

Türkiye'de asbestle ilişkili endemik pulmoner hastalıkların prevalansı oldukça yüksektir (20). Bu hastalıkların oluşumunda oksidan-antioksidan mekanizmalar yanında asbestin genotoksisite yapıcı etkisi üzerinde durulmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucunda toplanan veriler, her türlü asbestin pulmoner epitelyum hücrelerine ve mezotel hücrelerine doğrudan genotoksik olduğu yönünde ikna edici kanıt niteliğindedir (206,211,213,214). Asbest kaynaklı genotoksisite, DNA hasarı ve apoptozisin karmaşık hücrel sinyal yolları ve DNA onarım mekanizması üzerinden gerçekleşmektedir.

Uzun lifler ROS'un kalıcı üretimine sebep olur ve muhtemelen kısa liflerden daha etkili bir şekilde hücre bölünmesi ve büyümesini etkilerler. Demirden zengin lifler süperoksit (O_2^-) ve hidroksil radikali (OH^-) üreten oksidan türlerin üretimine sebep olan çapraz reaksiyonları katalize edebilir (207). Asbest maruziyeti ile ilgili hastalıkların patogeneğinde en önemli reaktif metabolitler O_2^- , H_2O_2 , OH^- ve NO^- 'tir (203,208).

ROS ve RNS türleri DNA'nın dal kırılmasına, hücre sinyali yolları içerisinde alan fosfatazları içeren hücre proteinlerinin modifikasyonuna, lipid peroksidasyonu ve TNF- α gibi sitokinlerin serbest bırakılmasına sebep oldukları için değişik hücrelerden radikal oluşumunun artışı ile pulmoner fibrozis ve inflamasyonun oluşumundaki hücre olaylarında çeşitli rollerine sahip olabilecekleri bildirilmiştir (209, 210).

DNA iplik hasarı asbest dâhil olmak üzere oksidan strese maruz kalan hücrelerde meydana gelen en erken anormalliklerden biridir (211, 212). DNA iplik hasarı ilk olarak asbeste maruz bırakılan rat embriyo hücrelerinde transkripsiyon hatası ile birlikte saptanmıştır (213). Levresse ve arkadaşları asbestin DNA iplik hasarı yapıcı etkisini fare plevral mezotel hücrelerinde (RPMC) tek hücre jel tayini (comet) ile göstermişlerdir (214). Kamp ve arkadaşları alveolar epitelyum hücrelerini (rat ATII ve A549) alkali maruziyetine bırakarak ve etidim bromür tekniğini kullanarak asbeste bağlı DNA iplik hasarının varlığını saptamışlardır (211). Literatürde yer alan asbestle ilgili DNA çalışmaları BAL, alveol epitelyum gibi asbestin direkt temas ettiği lokal etkiyi gösteren materyaller üzerinde yapılmıştır (211,213,214). Bizim çalışmamızda ise sistemik etkilenmeyi gösteren periferik kan kullanılmıştır. Bu da Asbestin hücre üzerine etkilerinin; kimyasal özelliklerinden çok fiziksel etkilerine bağlı olarak lokal etki oluşturduğunu göstermektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda ise akciğer epitelyum hücrelerindeki DNA iplik hasarı yukarıda belirtilenlerin aksine krizotilde krikodilitten daha fazla bulunmuştur. Yine invitro çalışmalarda krizotil liflerinin DNA zincir kırığı hasarına daha fazla yol açtığı gösterilmiştir (215,216). Turver ve Brown çalışmalarında asbest maruziyetinin DNA sentezinde C3H10T1/2 hücre sisteminin nokta mutasyonlarına neden olduğunu göstermiştir (217). Bu çalışmalar asbestin her türlü ilgili hedef hücrede DNA iplik hasarına neden olduğu hipotezini desteklemektedir. Bu durum asbest liflerinin hedef hücredeki yaptığı patojeniteyi ve apoptozisi açıklar gibi görünmektedir. Asbestin DNA hasarlanmasındaki etkisi, dozuna ve maruziyet süresine bağlıdır. Krizotile göre amfibolde daha belirgin ve yine bu hasarın primer izole epitel hücrelerinde malignite hücrelerine benzer şekilde olduğu gözlenmiştir (217).

Asbest maruziyeti ile ilişkili olarak gelişen asbest plakları her ne kadar solunan asbest miktarıyla orantılı olsa da çok az miktardaki maruziyetler bile asbest plağı oluşturabilir. Çalışma grubu hastalarımızda asbest maruziyeti miktar ve süresi incelendiğinde, bizim hastalarımızın da büyük kısmı plevral plaklı hastalar olduğundan maruziyet miktarı ve süresi az olabilir. Bu durum çalışmamızdaki hastalarımızda DNA hasarı saptanmayışında etkili faktörlerden birisi olabilir. Bununla ilgili olarak geniş serilerde maruziyet miktarlarının ve sürelerinin saptanarak DNA hasarının araştırılmasının daha geçerli bilgi vereceğini söyleyebiliriz.

Asbestin yaptığı DNA hasar mekanizmasında ROS etkin şekilde rol almaktadır (218,219). Asbestin temel yapısında veya yüzeyinde bulunan Fe, OH⁻ Fenton katalizi Haber Weis reaksiyonunu katalize eder. Krikodilit ve amozit gibi amfibol fiberleri daha yüksek demir içerir (%27-33). Krizotil asbesti ise daha düşük düzeyde yüzeyel demir içeriğine sahiptir (%6) (218). Akciğerdeki alveolar makrofajlar asbestteki yüzeyel demirle etkileşerek redoks reaksiyonu ile mobilize olur (220). İndirgenmiş haldeki reaktif demir içeren asbest, demir depolanması için apoferritin sentezine neden olur (220,221). Demir birçok hücreyel olayda rol alırken fazla birikimi hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açarak DNA hasarına neden olur. Oksidatif DNA hasarına neden olan demir miktarı konusunda net bilgi yoktur. Çalışmada serum ferritin konsantrasyonu ile idrar 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ilişkisi incelenmiş. 8-OHdG sistemik oksidatif hasar ve onarımı gösteren biyomarkırdır. 21-67 yaş arası 528 hasta çalışmaya alınmış. Ferritin düzeyi erkeklerde kadınlardan fazla, kadınlarda arasında da 50 yaş üzeri olanlarda daha fazla bulunmuş. Tüm katılımcıların serum ferritin seviyesi ile 8-OHdG konsantrasyonu arasında pozitif ilişki gösterilmiş. Sağlıklı kişilerde sistemik oksidatif DNA hasar göstergesi olarak vücut demir depoları kullanılabilir sonucuna varmışlardır (222). Bizim çalışmamızdaki hastaların tümü tremolit asbesti ile temas etmişlerdi. DNA hasarının saptanmaması tremolit üzerindeki demir miktarının farklılığından kaynaklanabilir. Asbest liflerinin üzerinde bulunan yüzey demiri ile DNA zincir kırığı oluşması arasında doğrudan bir ilişki vardır (219,220,221).

Son yıllarda mezotelyoma ve diğer hastalıklar ile apoptozis arasındaki ilişki üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Apoptozis (programlı hücre ölümü) DNA hasarı olan hücrelerin ortadan kaldırılmasında önemli bir mekanizma olup bu durum inflamatuvar yanıtın dışındadır (223,224). Akciğer dokusunda yüksek düzeyde bulunan asbest lifleri fibrotik yanıtı ve apoptozisi indükler. Biriken kanıtlar alveollar epitelyum apoptozisi ile akciğer hastalıkları arasında doğrudan ilişkinin varlığını göstermektedir (225). Örneğin alveolar epitelyum

hücrelerdeki DNA iplik hasarı ve apoptozis; oksidanlar, hiperoksi ve radyasyon gibi zararlı uyaranların tetiklenmesiyle ortaya çıkar (211,226,227). Ayrıca İdiyopatik pulmoner fibroziste de alveolar epitelyum hücresinde DNA iplik hasarı ve apoptozis tesbit edilmiştir (228). Bu veriler akciğer epitel hücrelerindeki apoptozisin akciğer hasarı ve onarımındaki patofizyolojik yanıtın anormalliğinden kaynaklandığını düşündürmektedir (206).

Son yıllarda yapılan kapsamlı çalışmalar asbeste bağlı DNA hasarını ve apoptozisin altında yatan moleküler mekanizmayı anlamamız için önemli fikir sağlamıştır (2,5,7). Ayrıca değişmiş DNA onarımı da apoptozis sürecinde önemli rol oynar. Tüm mekanizmalar birlikte ve birbirleriyle etkileşim halinde apoptozisi indüklerler. Reaktif azot türevleri de asbeste bağlı DNA hasarına ve hasarlanmış DNA'nın apoptozisine katkıda bulunurlar (219, 229).

Epidemiyolojik çalışmalar sigara dumanının asbest kaynaklı akciğer kanseri gelişmesinde risk artırıcı bir faktör olduğu yönündedir. Sigara ve asbest arasındaki sinerjistik ilişki tam olarak aydınlatılmamakla birlikte invitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar DNA hasarını arttırdığı yönündedir (218). Kültürdeki akciğer epitel hücrelerinde yapılan çalışmalarda sigara dumanının DNA iplik hasarının şekillenmesinde artışa neden olduğunu göstermiştir (230,231). Sonuç olarak sigara ve asbest arasında olan bu etkileşim hava yolunda ki epitelyum hücrelerinde DNA zincir kırığı hasarının sebebi olduğuna yönelik düşünceleri kuvvetlendirmektedir (206). Bizim çalışmamızdaki hastalar sigara içmeyen hastalardı. Çalışma grubumuzdaki hastalarda DNA hasarının literatürden farklı olarak saptanmaması sigara içme oranlarındaki farktan kaynaklanabilir.

Hava kirliliği, içerdiği ozon, aldehid, metaller ve nitrojen oksitler nedeni ile DNA'da oksidatif hasara yol açar. Hava kirliliğine maruz kalmanın süresi ile oksidatif DNA hasarı arasında doğrusal bir oran vardır (232,233). Nagashima ve Ichinose adlı araştırmacılar, fare soluk borusuna dizel atıkları verilmesinin, uygulanan doza bağlı olarak 8-OHdG'nin önemli oranda artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Akciğer DNA'sında 8-OHdG birikiminin mutasyonların gelişiminde kritik bir faktör olduğunu, bunda akciğer kanseri oluşturduğunu ileri sürmüşlerdir (234,235). Bölgemiz sanayi bölgesi olmadığından ve mevsim şartları nedeniyle katı yakıtlar az kullanıldığından hava kirliliği yönünden avantajlı konumdadır. Bu durum asbestin DNA hasarı oluşturuca etkisi üzerinde azaltıcı bir faktör olabilir.

Asbestin genotoksik etkisi ile ilgili olarak, asbeste mesleksel ve çevresel olarak maruz kalmış kişiler üzerinde yapılmış bazı sitogenetik çalışmalar da vardır. Asbeste mesleksel olarak maruz kalmış işçilerin ve çevresel olarak maruz kalmış kişilerin kültüre edilmiş

lenfositlerinde kardeş kromatid değişiminin (KKD: Sister chromatid exchange) arttığı gösterilmiştir (236-239). Atalay ve arkadaşları malign mezotelyomalı hastaların plevral efüzyon hücrelerinde KKD frekansının kontrollerden anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır (240). Genotoksisite testi olarak mikronukleus (MN) testinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise, krizotil asbeste çevresel olarak maruz kalmış kişilerde kalsifiye plevral plaklar görülmesine rağmen, bu kişilerin kültüre edilmiş lenfositlerindeki MN değerlerinin kontrollerden farklı olmadığı gösterilmiştir (241).

Hücreler DNA hasarının onarımı için birçok mekanizmaya sahiptir. DNA onarımındaki hatalar da genetik kararsızlığa neden olurlar. Kanserlerin çoğunluğu tamir edilmemiş DNA hasarından kaynaklanmaktadır. Genetik değişiklikler ve kanser arasındaki nedensel bir ilişkinin varlığı birçok deneysel çalışma ve epidemiyolojik veri ile desteklenmektedir. Tümör baskılayıcı genlerin mutasyonla inaktivasyonu ve onkogenlerin aktivasyonu, birçok kanser türünün gelişimiyle bağlantılıdır. Mutajenite ve karsinojenite arasındaki ilişki, karakteristik mutasyonlara neden olan kimyasal maddelere maruz kalma sonucu gelişen kanserlerle, hem de DNA onarım hataları sonucu artan kanser riski ile anlaşılabilir. Mutajenite kanser gelişiminin başlangıç ve gelişme evresinde rol oynar (242). Örneğin, Dianzani ve ark. tarafından, yüksek oranda asbeste maruz kalınan ortamda yapılan bir çalışmada, DNA onarımındaki 7 genetik polimorfizm ve malign mezotelyoma (MM) gelişimi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada, DNA onarım genlerindeki genetik polimorfizm ile asbest bağlantılı MM arasındaki ilişkinin varlığı ilk olarak bildirilmiştir (243). DNA onarım mekanizmaları üzerinde temas edilen maddenin dışında birçok çevresel ve konakçıdan kaynaklanan faktörler olabileceği gibi maruziyetten sonra geçen süre de önemli bir faktördür. Maruziyetten uzun süre geçtikten sonra hasar görmüş DNA ların onarılması beklenen bir durumdur. Bizim çalışmamızdaki hastaların maruziyetleri 15-20 yıl önce sonlanmıştı. Bu kadar uzun sürede önemli bir hastalık gelişmeyen çalışma grubumuzda DNA hasarının onarılması beklenir. Çalışmamızda DNA hasarının saptanmayışı maruziyetin aktif olarak devam etmiyor olmasından kaynaklanabilir.

6. SONUÇ

Farklı hastalıklardaki DNA hasarının ve seviyesinin belirlenmesi, hastalıkların etiyolojilerinin moleküler düzeyde aydınlatılmasına katkıda bulunabilir. Elde edilen sonuçlar ile bu hastalıklarda görülen semptomlar ve komplikasyonlar arasındaki ilişkiler ortaya konulabilir. Asbest gibi toksik maddeler hücresel DNA'da tek veya çift iplik hasarı gibi çeşitli lezyonlara yol açarlar (5). Çoğu durumda bu lezyonlar tamir edilerek fizyolojik DNA yapısı yeniden oluşturulur. Bazı durumlarda, anormal DNA onarımı, yapısal hücre değişiklikleri, gen mutasyonları, kromozom anomalileri ile sonuçlanabilir. Bu çalışmayı çevresel asbest maruziyetine bağlı benign akciğer hastalığı olan kişilerde DNA hasar varlığını araştırmak amacıyla yaptık. Çalışmamızın sonucunda; asbest maruziyetine bağlı benign plevra hastalığı gelişmiş olgularda periferik kanda DNA hasarı tesbit edilmedi. Ancak olgularımızın birbirine yakın bölgelerde yaşıyor olması, olguların geldiği bölgelerde yaklaşık 15- 20 yıldır asbest kullanılmamasının, asbestin daha çok akciğer dokusunda lokal hasar oluşturmasına karşılık bizim çalışmamızda periferik kan kullanmış olmamızın çalışmanın sonucuna etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca asbeste bağlı akciğer hastalıklarının diğer formları da dahil olmak üzere tüm asbestle ilişkili hastalıkların genetik altyapı ile ilişkisini anlamak için daha başka çalışmalara da ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. öplü L. Asbeste bağlı plevra hastalıkları. In: avdar Tuğrul, Ekim Numan (Eds). Plevra Hastalıkları. Turgut yayıncılık ve tic. Toraks Kitapları. Sayı 4. Ekim 2003:224-229.
2. Clements M, Berry G, Shi J, et al: Projected mesothelioma incidence in men in New South Wales. *Occup Environ Med* 2007; 64:747-52.
3. Brown RC, Hoskins JA, Johnson NF. Mechanism in fibre carcinogenesis plenum press. Published İn cooperation with NATO Scientific Affairs Division, NI London, 1992.
4. Churg A, Wiggs IK,; Fiber size and number in asbestos induced mesothelima. *Human Pathol.* 1984; 115: 437-442.
5. Pott F, Zeim U, Reiffer FJ, Huth F. et al: Carcinogenicity studies on fibres, metal compounds and some others duts in rats. *Exp. Pathol.* 1987; 32:129-152.
6. Stanton MF, Layard M, Tegarıs A, Miller E, et al: Carcinogenicity of fibrous glass. *J Nath Cancer Inst.* 1977; 58: 587-603,
7. Ghio AJ, Kennedy TP, Schapera RM, Crumblish AL, et al: Hypothesis: is lung disease after silicate inhalation caused by oxidant generation? *Lancet.* 1990; 336: 967-969.
8. Mossman BT, Bignon J, Corn M, Seaton A, et al: Asbestos: scientific developments and implication for public policy. *Science*, 247:294-301, 1990.
9. Müller KM, Fischer M. Malignant pleural mesotheliomas: An environmental health risk in Southeast Turkey. *Respiration.* 2000; 67: 608-609.
10. Begin R, Dufresne A, Plante f, et al: Asbestos related disorders. *Can Respir j* 1994;1:167.
11. Kim HR. Overview of asbestos issues in Korea. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 363-7.
12. Barış YI. Asbestos and erionite related chest diseases. Ankara, Turkey. Semih Ofset Mat. Lmd Co, 1987; 62-109.
13. şenyiğit A, Dalgıç A, Kavak O. Asbestin sağlığa etkileri. *Dicle Tıp Dergisi.* 2004;4:48-52.
14. Lotti M, Bergamo L, and Murer B. Occupational toxicology of asbestos-related malignancies *Clinical Toxicology.* 2010;48:485–496.
15. Ramazzini C. Asbestos Is Still With Us: Repeat Call for a Universal Ban. *American Journal of Industrial Medicine.* 2010; n/a.doi: 10.1002/ajim. 20892.
16. Wagner GR. The fallout from asbestos. *Lancet.* 2007;369:973-974.
17. Lynn T. Tanoue. Asbestos-related lung disease. AP Fishman. *Manual of Pulmonary Diseases and Disorders.* Mc Graw-Hill Book Comp. New York. Third Edition 2002; 217-229.
18. Wagner GR: Asbestosis and silicosis. *Lancet.* 1997; 349:1311-1315,
19. Carel R, Olsson AC, Zaridze D, et al: Occupational exposure to asbestos and man-made vitreous fibres and risk of lung cancer: a multicentre case-control study in Europe. *Occup. Environ. Med.* 2007;64: 502–508.

20. Emri S, Demir A, Doğan M, et al: Lung diseases due to environmental exposures to erionite and asbestos in Turkey. *Toxicol Lett.* 2002; 127:251–257.
21. Work-related lung disease surveillance report 1999. National Institute for Occupational Safety and Health, Atlanta, GA, 2000.
22. Rogan WJ, Ragan NB, Dinse GE: X-ray evidence of increased asbestos exposure in the US population from NHANES I and NHANES II, 1973-1978. National Health Examination Survey. *Cancer Causes Control.* 2000 May;11(5):441-449.
23. Roberts GH: Asbestos bodies in lungs at necropsy. *J Clin Pathol.* 1967 Jul;20(4):570-573,1967.
24. Rey F, Boutin C, Viallat JR, Steinbauer J, Alessandroni P, Jutisz P, Di Giambattista D, Billon-Galland MA, Hereng P, Dumortier P, et al: Environmental asbestotic pleural plaques in northeast Corsica: correlations with airborne and pleural mineralogic analysis. *Environ Health Perspect.* 1994 Oct;102 Suppl 5: 251-252.
25. Metintaş M, Özdemir N, Hillerdal G, Uçgun I, Metintaş S, Baykul C, Metintaş M, Özdemir N, Hillerdal G, Üçgün I, Metintaş S, Baykul C, Elbek O, Mutlu S, Kolsuz M. Environmental asbestos exposure and malignant pleural mesothelioma. *Respir Med.* 1999 May;93(5): 349-55.
26. Hillerdal G. Mesothelioma: Cases associated with non-occupational and low dose exposures. *Occup Environ Med.* 1999 Aug;56(8): 505-13.
27. Metintaş S, Metintaş M, Uçgun I, Öner U. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to asbestos: follow-up of a Turkish cohort living in a rural area. *Chest* 2002 Dec;122(6):2224-9.
28. Dumortier P, Çöplü L, De Maertelaer V, Emri S, Baris I, De Vuyst P. Assessment of environmental asbestos exposure in Turkey by bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Dec;158(6):1815-24.
29. Peacock C, Copley SJ, Hansell DM. et al: Asbestos related benign pleural disease. *Clinical Radiology.* 2000; 55: 422-532 (23).
30. Mossman BT. Churg A: Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis *AM J Respir Crit Care Med.* 1998; 157: 1666-1680.
31. Straif K, Benbrahim-Tallaa L, Baan R. et al: WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. A review of human carcinogens—part C: Metals, arsenic, dusts, and fibres. *Lancet Oncol.* 2009;10(5): 453–454.
32. Donaldson K, Brown RC, Brown GM,: Respirable industrial fibres: Mechanism of pathogenicity. *Thorax* 1993; 48: 390.
33. Aisner J. Current approach to malignant mesothelioma of the pleura. *Chest* 1995; 107:332S-344S.
34. Petruzelli S, Hietanen E, Bartsch H. Pulmonary lipid in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; 98: 930-935.

35. Kamp DW, Weitman SA: The molecular basis of asbestos induced lung injury. *Thorax* 1999; 54: 638-652.
36. Fasske E: Pathogenesis of pulmonary fibrosis induced by chrysotile asbestos. Longitudinal light and electron microscopic studies on the rat model. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1986; 408: 329-346.
37. Bergin CJ, Müller NL, Vedal S, Chan-Yeung M,: CT in silicosis: Correlation with plam films and pulmonary function tests. *AR Am J Roentgenol.* 1986; 146: 477-483.
38. Albin M, Engholm G, Fröström K,; Chest x ray films from construction workers. International Labour Office (ILO 1980) classification compated with routine readings. *Br I Ind Med* 1992; 49(12): 862-868.
39. Sprince NL, Oliver LC, McLoud TC, et al: Asbestos exposure and asbestos-related pleural and parenchymal disease. Associations with immune imbalance. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Apr;143:822-828.
40. De Shazo RD, Morgan J. Bozelka B, ChapmanY: Natural killer cell activity in asbestos workers. Interactive effects of smoking and asbestos exposure. *Chest* 94: 482- (53).
41. Adamson IY, Bowden DH: Crocidolite induced pulmonary fibrosis in mice cytokinetik and biochemical studies. *AM J Pathol* 1986; 122:261. 485,1988.
42. Walker C, Everitt J, Barrett JC. Possible cellular and molecular. mechanisms for asbestos carcinogenicity. *Am J Ind Med.* 1992;21(2):253-73.
43. Boutin C, Dumortier P, Rey F, Viallat JR, De Vuyst P. Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura. Thoracoscopic and mineralogic study. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Jan;153(1):444-960.
44. Bielefeldt-Ohmann H, Jarnick AG, Fitzpatrick DR. Molecular pathobiology and immunology of malignant mesothelioma. *J pathol* 1996;178:369-78.
45. Metintaş M, Özdemir N, Solak M, Artan S, Özdemir M, Başaran N, Ekici M, Erginel S.Chromosome analysis in pleural effusions. Efficiency of this method in the differential diagnosis of pleural effusions. *Respiration.* 1994;61(6):330-5.
46. Sebastien P, Janson X, Gaudichet A, Hirsch A, Bignon J.Asbestos retention in human respiratory tissues: comparative measurements in lung parenchyma and in parietal pleura. *IARC Sci Publ.* 1980; (30): 237-46.
47. Boutin C, Rey F, Gouvernet J, Viallat JR, Astoul P, Ledoray V.Thoracoscopy in pleural malignant mesothelioma: a prospective study of 188 consecutive patients. Part 2: Prognosis and staging. *Cancer.* 1993 Jul 15;72(2): 394-404.
48. Zanella CL, Posada J, Tritton TR, Mossman BT. Asbestos causes stimulation of the extracellular signal-regulated kinase 1 mitogen-activated protein kinase cascade after phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. *Cancer Res.* 1996 Dec 1;56(23):5334-8.

49. Manning CB, Cummins AB, Jung MW, Berlinger I, Timblin CR, Palmer C, Taatjes DJ, Hemenway D, Vacek P, Mossman BT A mutant epidermal growth factor receptor targeted to lung epithelium inhibits asbestos-induced proliferation and proto-oncogene expression. *Cancer Res.* 2002 Aug 1;62(15): 4169-75.
50. Hillerdal G. Pleural and parenchymal fibrosis mainly affecting the upper lung lobes in persons exposed to asbestos. *Respir Med.* 1990; 84: 129-134.
51. Topçu F, Bayram H, fiimflek M, ve ark. Highresolutioncomputed tomography in cases with environmental exposure to asbestos in Turkey. *Respiration.* 2000; 67: 139-145.
52. Schwartz DA. New developments in asbestos induced pleural disease. *Chest.* 1991;99: 191-198.
53. Welch LS. Asbestos exposure causes mesothelioma, but not this asbestos exposure: An amicus brief to the Michigan Supreme Court. *Int J Occup Environ Health.* 2007;13: 318–327.
54. Hillerdal G. Mesothelioma: Cases associated with nonoccupational and low dose exposures. *Occup Environ Med.*1999; 56(8): 505–513.
55. Bartrip PWJ. History of asbestos related disease. *Postgrad. Med. J.* 2004; 80: 72–76.
56. Baris I, Simonato L, Artvinli M, et al: Epidemiological and environmental evidence of the health effects of exposure to erionite fibres: a four-year study in the Cappadocian region of Turkey. *Int J Cancer.* 1987; 39: 10–7.
57. Hillerdal G. Asbestos-related pleural disease including diffuse malignant mesothelioma. *Eur Respir Monogr.* 2002; 22: 189–203.
58. Greillier L, Astoul P. Mesothelioma and asbestos-related pleural diseases. *Respiration.* 2008; 76: 1–15.
59. Manda-Stachouli C, Dalavanga Y, Daskalopoulos G et al. Decreasing prevalence of pleural calcifications among metsovites with nonoccupational asbestos exposure. *Chest.* 2004; 126:617–621.
60. Orłowski E, Paireon JC, Emeille J, ve ark. Pleural plaques, asbestos exposure, and asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Ind Med*1994;26: 349-358.
61. Miller WT Jr, Geftter WB, Miller WT Sr. Asbestos related chest diseases: Plain radiographic findings. *seminars in roentgenology* 1992; 27:102-120.
62. Hillerdal G, Henderson DW. Asbestos, asbestosis, pleural plaquesand lung cancer. *Scand J Work Environ Health* 1997; 23: 93–103.
63. Nishimura SL, Broaddus VC. Asbestos-induced pleural disease. *Clin Chest Med* 1998;19: 311–329.
64. Metintaş M, Metintaş S, Hillerdal G et al: Nonmalignant pleural lesions due to environmental exposure to asbestos: a field-based, cross-sectional study. *Eur Respir J* 2005; 26: 875–880.
65. Bourbeau J, Ernst P, Chrome J, ve ark. The relationship between respiratory impairment and asbestos related pleural abnormality in an active work force. *Am Rev Resp Dis* 1990;142: 837-842.

66. Kraus T, Raithel HJ, Lehnert G. Computer-assisted classification system. *Int Arch Occup Environ Health* 1997; 69: 482-486.
67. Hillerdal G. Pleural plaques and risk for bronchial carcinoma and mesothelioma. *Chest* 1994;105: 144-150.
68. Copley SJ, Wells AU, Rubens MB, ve ark. Functional consequences of pleural disease evaluated with chest radiography and CT. *Radiology* 2001;220: 237-243.
69. Letourneux M. Risk assessment of benign asbestosis (dose-effect relationship, co-factors). *Rev Mal Respir* 1999;16: 1270-1277.
70. McLoud TC, Wood BO, Carrington CB, ve ark. Diffuse pleural thickening in an asbestos-exposed population: Prevalence and causes. *Am J Roentgenol* 1985;144: 9-18.
71. Broderick A, Fuortes LJ, Merchant JA, ve ark. Pleural determinants of restrictive lung function and respiratory symptoms in an asbestos-exposed population. *Chest* 1992;101:684-691.
72. Leung AN, Müller NL, Miller RR. CT in differential diagnosis of diffuse pleural disease. *Am J Roentgenol* 1990;154: 487-490.
73. Müller NL. Imaging of the pleura. *Radiology* 1993;186: 297-300.
74. Lordi GM, Reichman LB. Pulmonary complications of asbestos exposure. *Am Fam Physician* 1993; 48: 1471-1477.
75. Al Jarad N, Poulakis N, Pearson MC, Rubens MB, Rudd RM. Assessment of asbestos-induced pleural disease by computed tomography-correlation with chest radiograph and lung function. *Respir Med* 1991; 85: 203-208.
76. Friedman AC, Fiel SB, Fisher MS, Radecki PD, Lev-Tolaff AS, Caroline DF. Asbestos-related pleural disease and asbestosis: a comparison of CT and chest radiography. *Am J Roentgenol* 1988; 150: 269-275.
77. Lynch DA, Gansu G, Aberle DR. Conventional and high resolution computed tomography in the diagnosis of asbestos -related diseases. *Radiographics* 1989;9: 523-526.
78. Gevenois PA, De Maertelaer V, Madani A, ve ark. Asbestosis, pleural plaques and diffuse pleural thickening: three distinct benign responses to asbestos exposure. *Eur Respir J* 1998;11: 1021-1022.
79. Winterbauer RH. Nonmalignant pleural effusions. In: Fishman AP, eds. *Fishman's pulmonary diseases and disorders*. 3rd eds. New York, McGraw-Hill 1998;1;89;1411-1429.
80. Griffith DE, Miller EJ, Gray LD, ve ark. Interleukin-1-mediated release of interleukin-8 by asbestos stimulated human pleural mesothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10: 245-250.
81. Kamp DW. Asbestos-induced lung diseases: an update. *Transl Res*. 2009 Apr; 153(4): 143-152.
82. Rom WN. Asbestos-Related Lung Disease. In: *Fishman's pulmonary diseases and disorders*. fourth edition. Edts: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Senior RM, and Pack AI. McGraw Hill Medical, 2008; Volume One, Part V, Chapter 55: 943-959.

83. Montanaro F, Rosato R, Gangemi M, et al: Survival of pleural malignant mesothelioma in Italy: A population-based study. *Int J Cancer* 2009;124: 201-7.
84. Zervos MD, Bizakis C, Pass HI. Malignant mesothelioma 2008. *Curr Opin Pulm Med* 2008; 14: 303-9.
85. Metintaş M, Hillerdal G, Metintaş S. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to erionite: follow-up of a Turkish emigrant cohort. *Eur Respir J.* 1999; 13: 523-26.
86. Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi.* 2004; 5: 110-5.
87. Örki A, Keleş M, Ürek Ş, ve ark. Malign plevral mezotelyomada kombine (multimodalite) tedavi. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 2003;17: 19-28.
88. Metintaş M. Primer plevra maligniteleri. *Solunum* 2002;4: 149-64.
89. Dikensoy O. Mesothelioma due to environmental exposure to erionite in Turkey. *Curr Opin Pulm Med* 2008; 14: 322-5.
90. Şenyiğit A, Coşkunsel M, Topçu F, ve ark. Malign plevral mezotelyoma: 136 olgunun klinik radyolojik ve histolojik değerlendirilmesi. *Tub Toraks* 2000;48: 26-34 (Özet).
91. Moore AJ, Parker R, Wiggins J. Malignant mesothelioma. *Orphanet J Rare Dis* 2008;19:3:34.
92. Selçuk ZT, Cöplü L, Emri S, et al: Malignant pleural mesothelioma due to environmental mineral fiber exposure in Turkey. Analysis of 135 cases. *Chest* 1992;102: 790-6.
93. Yates DH, Corrin B, Stidolph PN, et al: Malignant mesothelioma in south east England: clinicopathological experience of 272 cases. *Thorax* 1997;52:507-12.
94. Metintaş M. Mezotelyoma. In: Göksel T, Özlü T. *Akciğer ve Plevra Maligniteleri ve Tedavisi.* Ankara: Poyraz, 2008: 78-112.
95. Bridda A, Padoan I, Mencarelli R et al: Peritoneal mesothelioma: a review. *Med Gen Med* 2007; 9: 32.
96. Becklake MR, Bagatin E, Neder JA. Asbestos-related diseases of the lungs and pleura: uses, trends and management over the last century. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007;11: 356–369. 58.96.
97. Robinson BW, Musk AW, Lake RA. Malignant mesothelioma. *Lancet.* 2005;366:397–408.
98. Stathopoulos J, Antoniou D, Stathopoulos GP, et al: M. mesothelioma: treatment and survival of a patient population and review of the literature. *Anticancer Res* 2005;25: 3671-6 (Özet).
99. Kent M, Rice D, Flores R. Diagnosis, staging, and surgical treatment of malignant pleural mesothelioma. *Curr Treat Options Oncol* 2008;9: 158-70.
100. Kindler HL. Malignant pleural mesothelioma. *Curr Treat Options Oncol.* 2000;1: 313-26.
101. Serman DH, Kaiser LR, Albelda SM. Advances in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Chest* 1999;116: 504-520.
102. Attanoos RL, Gibbs AR. Asbestos-related deaths. *Current Diagnostic Pathology.* 2002;8: 373-383.
103. Churg A. The uptake of mineral particles by pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154: 1124-1140.

104. Selikoff IJ, Hammond EC. Asbestos and Smoking. *JAMA*. 1979; 242: 458-459.
105. Aberle DR, Gamsu G, Ray CS, Feuerstein IM. Asbestos related pleural and parenchymal fibrosis: Detection with high-resolution CT. *Radiology* 1988;166: 729-734.
106. Asbestos, asbestosis and cancer: The Helsinki criteria for diagnosis and attribution. *Scand J Work environ Health* 1997; 23: 311-316.
107. Rom WN. Asbestos-related lung disease. In: Fishman AP, eds. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3rd eds. New York: McGraw-Hill. 1998; 876-891.
108. Chapman SJ, Cookson WO, Musk AW, Lee YC. Benign asbestos pleural diseases. *Curr Opin Pulm Med*. 2003 Jul; 9(4): 266-271.
109. Dogan M. Environmental pulmonary health problems related to mineral dusts: Examples from central Anatolia, Turkey. *Environmental Geology*. 2002; 41: 571-578.
110. Berman DW, Crump KS, Chatfield EJ, Davis Jm, Jones AD. The sizes, shapes, and mineralogy of asbestos structures that induce lung tumors or mesothelioma in AF/HAN rats following inhalation. *Risk Anal*. 1995;15: 181-95.
111. Egilman D, Reinert A. Lung cancer and asbestos exposure: asbestosis is not necessary. *Am J Ind Med*. 1996; 30: 398-406.
112. Reid A, De Klerk N, Ambrosini GL, et al: The effect of asbestosis on lung cancer risk beyond the dose related effect of asbestos alone. *Occup Environ Med*. 2005; 62: 885-889.
113. Hughes JM, Weill H. Asbestosis as a precursor of asbestos related lung cancer: results of a prospective mortality study. *Br J Ind Med* 1991; 48: 229-233.
114. Jones RN, Hughes JM, Weill H. Asbestos exposure, asbestosis, and asbestos-attributable lung cancer. *Thorax*. 1996; 51(Suppl 2): S9-S15.
115. Lindahl T. Repair of intrinsic DNA lesions. *Mutat Res*. 1990; 238(3): 305-1.
116. Johnson RT, Collins AR, Squires S, Mulliner AM, Elliot GC, Downes CS, et al: DNA Repair under stress. *J Cell Sci* 1987;6(Suppl): 263-88.
117. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxidative stress: Adaptation, damage, repair and death. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, eds. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rded. Oxford: Oxford University Press; 1996. p. 247-53.
118. Dinçer Y, Akçay T. (DNA damage). *Türk Biyokimya Dergisi*. 2000; 25(2): 73-9.
119. Yokuş B, Çakır DÜ. Biomarker of invivo oxidative DNA damage; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2002; 22(5): 535-43.
120. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J* 2003;17(10): 1195-214.
121. Hussain SP, Harris CC. Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res*. 1998; 58(18):4023-37.
122. Cadet J, Douki T, Ravanat JL. Oxidatively generated damage to the guanine moiety of DNA: mechanistic aspects and formation in cells. *Acc Chem Res* 2008;41(8):1075-83.

123. Dizdaroglu M, Kirkali G, Jaruga P. Formamidopyrimidines in DNA: mechanisms of formation, repair, and biological effects. *Free Radic Biol Med.* 2008; 45(12):1610-21.
124. Aslan R, Şekeroğlu M.R. And Bayiroğlu F. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *Sağlık. Bil. Derg.* 1995; 2: 137-42.
125. Floyd R.A. Basic free radical chemistry, *Free Radicals Dn Aging.* Edited By B.P.Yu. Boca Raton, FI: Crc P. 1993; 39-55.
126. Seven A. Candan G: Serbest radikaller ve lipid peroksidasyon. *Klinik gelişim.* 1995; 8: 3906-11.
127. Onat T, Emerk K: Radikal kavramı ve oksijen radikalleri. *Temel Biyokimya Saray Medikal Yayıncılık İzmir.* 1996; 520-8.
128. Dündar Y, Aslan R. Hücre moleküler statüsünün araştırılması ve fizyolojik önem açısından radikaller- antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilim Dergisi.* 1999; insizyon 2 (2) :134-42.
129. Cheeseman K. H .Slater T.F: An Introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin.* 1993; 49(3): 481-93.
130. Florence, T.M. Free radicals, antioxidants and cancer prevention. *Prot. Nutr. Soc. Aust. Annu. Conf.* 1990; 15: 88-93.
131. Schoenberg M.H and Beger H.G:Chem. Biol. Interactions. 1990; 76: 141-61.
132. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları.* 1995, Konya
133. Erenal G. Erbaş D. Arıcıoğlu A. Free radicals and antioksidant systems. *Materia Medica Polana Fasc.* 1993; 1(85):37-43.
134. Jesberger J. A, Richardson J.S: Oxygen free radicals and brain dysfunction, *Intern, J.Neurosci* 1991; 57: 1-17.
135. Arıcıoğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 1994; 2(3): 139–242.
136. Moslen M.T: Reactive oxygen species in normal physiology cell injury and phagocytosis: Edit by Armstrong D. *Free Radicals in Diagnostic Medicine.* New York.1994.
137. Sun Y,: Free radicals antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 1990; 8:583-99.
138. Packer L. Glazer A.N: Oxygen radicals in biological system. *Methods Enzymol* 1990;186: 1021.
139. Saltman P:Seminars İn Hematology2 1989; 6:249-256.
140. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Freeradical in moleculer biology. J. Aging and disease.* 1984; 65(24): 53–66.
141. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. *J. Cancer Res.*1994; 54(6): 12–15.
142. Sinclair A.J, Barnett A, Lunec H.: *Br. J.Hosp. Med.* 1990; 43: 334-44.
143. Brent JA, Rumack HH. Role of free radicals in toxic hepatic injury I. *Free Radical Chemistry. J. Clinical Toxicology.* 1993; 49(4): 481– 93.

- 144.** Dizdaroglu M. Mechansms of oxidative DNA damage; lesion and their measurement. Kluwer Academic/Plenum Publihers. 1999; 302: 67–87.
- 145.** Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp dergisi. 2002; 33: 110-118.
- 146.** Jensen SJK, Oxidative stress and free radicals. Journal of Molecular Structure (Theochem). 2003. 666: 387-392.
- 147.** Averyanov AA, Lapikova VP, and Pasechnik TD. Active oxygen: A possible role for rice resistance to blast. Cahiers Options Mediterraneennes. 2001. 15: 3.
- 148.** Yiğit A, Yurdakök M. Yeni doğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 1997. 39: 749-765.
- 149.** Hegyi T, Goldie E, and Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. J. Perinatol. 1994. 14: 296-300.
- 150.** Asad SF, Singh A, Ahmad A, et al: Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and it's metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. Chem Biol Interact. 2001; 137: 59-74.
- 151.** Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, patophysiology and pharmacology. J. Pharmacol Review 1991; 43 (29): 109-37.
- 152.** Lancaster J. Nitric oxide, principles and actions. Copyright by Academic Press. Inc. California/USA. 1990.
- 153.** Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. J. Biochem. 1994; 298 (12):249–58.
- 154.** Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. J. Biol. Chem.1993; 268(7):123–5.
- 155.** Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxynitrite formation and action. J. Hypertension 1996; 28(21): 488-93.
- 156.** Hatemi H, Tasan E.; Serbest radikaller ve diabet endokrinolojide yönelişler. 2,2,33-5,1993.
- 157.** Dean R.T, Hunt J.V, Grant A.S et al: Free radical damage to proteins. The influence of the relative localization of radical generation. Antioxidants and target poteins. Free Radic Biol. Med. 1991; 11: 161-8.
- 158.** Halliwell B. Gutteridge J.M: Oxygen free radicals and iron in relation to Biology and Medicine: some problems and concepts. Arch. Biochem. Biophys 1986; 246:501-14.
- 159.** Davies K.J.A: Intracellular proteolytic systems may function as secondary antioxidant defenses, An Hypothesis Free Radic. Biol. Med.1986; 2: 155-73.
- 160.** Bounnes - Taourel D, Guerin MC, Torreilles J. Is Malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation. Biochem. Pharmacol. 1992; 44(5):985-8.
- 161.** Paz-Elizur T, Kruspsky M, Blumenstein S, Elinger D, Schechtman E, Livneh Z. DNA repair activity for oxidative damage and risk of lung cancer. J Natl Cancer Inst. 2003; 95(17): 1312-9.

- 162.** Caporaso N. The molecular epidemiology of oxidative damage to DNA and cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95(17): 1263-5.
- 163.** Collins AR, Ai-guo M, Duthie SJ. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. *Mutat Res.* 1995; 336: 69-77.
- 164.** Randerath K, Zhou GD, Monk SA, Randerath E. Enhanced levels in neonatal rat liver of 7, 8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydeoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion. *Carcinogenesis.* 1997. 18: 1419-1421.
- 165.** Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J. Free Radical Res.* 1992; 16: 75-87.
- 166.** Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J.* 2003.; 17: 1195-1214.
- 167.** Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bio Essays,* 2004; 26: 533-542.
- 168.** Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine.* 3rd ed. Oxford University Press. Inc, London 1999.
- 169.** Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters.* 1991; 281:9-19.
- 170.** Gençgönül H, Cin S, Akar N, Deda G. Iron and zinc levels in breath-holding spells. *Journal of Ankara Medical School.* 2002; 24(3):99-104.
- 171.** Milligan JR, Ward JF. Yield of single-strand breaks due to attack on DNA by scavenger derived radicals. *Radiat Res* 1994; 137:295-9.
- 172.** Zastawny TH, Altman SA, Randers-Eichhom L, Madurawe R, Lumpkin JA, Dizdaroglu M, Rao G. DNA base modifications and membrane damage in cultured mammalian cells treated with iron ions. *Free Rad Biol Med.* 1995; 18: 1013-22.
- 173.** Li Y, Trush MA. Reactive O₂-dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Res.* 1994; 54: 1895S.
- 174.** Halliwell B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat Res,* 1999. 443: 37-52.
- 175.** Dizdaroglu M. DNA and free radicals. Ellis Horwood, Chichester. 1993; 19-39.61.
- 176.** Horwood E, Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester. 1993; 41-65.
- 177.** Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J-L. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res.* 2003; 531:5- 23.
- 178.** Winyard PG, Perrett D, Blake DR, Harris G, Chipman JK. Measurement of DNA oxidation products. *Anal Proceedings.* 1990; 27: 224-227.
- 179.** Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences.* 2002; 27: 483-486.

- 180.** Yesilkaya A, Altinayak R, and Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol.* 2000; 35: 17-20.
- 181.** Halliwell B, and Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *ArchBiochem Biophys*, 1990; 280: 1-8.
- 182.** Balajee AS, Bohr VA. Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene*, 2000.
- 183.** Sancar A. DNA excision repair. *Annu Rev Biochem*, 1996; 65: 43-81.
- 184.** Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *Annals. Int. Med.* 1987; 107: 526-45.
- 185.** Gupta P, Narang M, Banerjee BD, et al: Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to under nourished mothers: a case control study. *BMC Pediatr*, 2004; 4: 14.
- 186.** Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, et al: Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189: 181-8.
- 187.** Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005; 74: 10-3.
- 188.** Minetti M, Mallozzi C, Di Stasi AM, et al: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998. 352: 165-74.
- 189.** Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987; 235:1043-6.
- 190.** Stocker R, Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004; 6: 841-9.
- 191.** De Boer J, Hoeijmakers J. Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis*, 2000; 21: 453-460.
- 192.** Raha S and Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS*, 2000; 25: 502-507.
- 193.** McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry.* 1993; 26: 351-357.
- 194.** Romay C, Pascual C and Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz JMed Biol Res.* 1996; 29: 175-83.
- 195.** Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JB, Brant LJ, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. *J. Mutat Res.* 1990; 237(8):123–30.
- 196.** Östling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123 (11):291–8.
- 197.** Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Mass spectrometric assays for the tandem lesion 8,5-cyclo-2-deoxyguanosine in mammalian DNA. *J. Biochemistry.* 2002; 41(1): 73–88.

- 198.** Kocyigit A, Keles H, Selek S, Guzel S, Celik H, Erel O. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis. *J. Mutation Research.* 2005; 124 (5): 47–59.
- 199.** Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome *J. Mutation Research.* 2005; 135(4) 22–35.
- 200.** Rom WN, Travis WD, Brody AR. Cellular and molecular basis of the asbestos related diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143:408.
- 201.** Kinnula VL. Oxidant and antioxidant mechanisms of lung disease caused by asbestos fibres. *Eur Respir J.* 1999 Sep;14(3):706-16. Review.
- 202.** Vaslet CA, Messier NJ, Kane AB. Accelerated progression of asbestos-induced mesotheliomas in heterozygous p53^{+/-} mice. *Toxicol Sci.* 2002 Aug; 68(2): 331-8.
- 203.** Otero Areán C, Barceló F, Fenoglio I, Fubini B, Llabrés i Xamena FX, Tomatis M. Free radical activity of natural and heat treated amphibole asbestos. *J Inorg Biochem.* 2001 Jan 15;83(2-3):211-6.
- 204.** Li XY, Lamb D, Donaldson K, ve ark. Mesothelial cell injury caused by pleural leukocytes from rats treated with intra tracheal instillation of crocidolite asbestos or corynebacterium parvum. *Environ Res* 1994; 64: 181-190.
- 205.** Janssen YM, Marsh JP, Absher MP, ve ark. Oxidant stress responses in human pleural mesothelial cells exposed to asbestos. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149: 795-802.
- 206.** Upadhyay D. Kamp DW. Asbestos-induced pulmonary toxicity: Role of DNA damage and apoptosis. *Experimental Biology and Medicine.* 2003; 228: 650-659.
- 207.** Robledo R, Mossman B. Cellular and molecular mechanisms of asbestos-induced fibrosis. *J Cell Physiol.* 1999 Aug;180(2):158-66. Review.
- 208.** Park SH, Aust AE. Regulation of nitric oxide synthase induction by iron and glutathione in asbestos-treated human lung epithelial cells. *Arch Biochem Biophys.* 1998 Dec;1;360(1):47-52.
- 209.** Choe N, Tanaka S, Xia W, Hemenway DR, Roggli VL, Kagan E. Pleural macrophage recruitment and activation in asbestos-induced pleural injury. *Environ Health Perspect.* 1997 Sep;105 Suppl 5: 1257-60.
- 210.** Gossart S, Cambon C, Orfila C, Séguélas MH, Lepert JC, Rami J, Carré P, Pipy B. Reactive oxygen intermediates as regulators of TNF-alpha production in rat lung inflammation induced by silica. *J Immunol.* 1996 Feb; 15;156(4):1540-8.
- 211.** Kamp DW, Israbian VA, Preusen S, Zhang CX, Weitzman SA. Asbestos causes DNA strand breaks in cultured pulmonary epithelial cells: role of iron-catalyzed free radicals. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1995; 268: 471–480.
- 212.** Schraufstatter I, Hyslop PA, Jackson JH, Cochrane CG. Oxidant induced DNA damage of target cells. *J Clin Invest.* 1988; 82: 1040–1050.

- 213.** Libbus BL, Illenye SA, Craighead JE. Induction of DNA strand breaks in cultured rat embryo cells by crocidolite asbestos as assessed by nick translation. *Cancer Res.* 1989; 49: 5713–5718.
- 214.** Levresse V, Renier A, Levy F, Broaddus VC, Jaurand M. DNA breakage in asbestos-treated normal and transformed (TSV40) rat pleural mesothelial cells. *Mutagenesis.* 2000; 15: 239–244.
- 215.** Wang Q, Fan J, Wang H, Liu S. DNA damage and activation of c-ras in human embryo lung cells exposed to chrysotile and cigarette smoking solution. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000; 19(1–2):13–19.
- 216.** Ghio AJ, Kennedy TP, Stonehuerner JG, Crumbliss AL, Hoidal JR. DNA strand breaks following in vitro exposure to asbestos increase with surface-complexed. *Arch Biochem Biophys* 1994; 311: 13–18.
- 217.** Turver CJ, Brown RC. The role of catalytic iron in asbestos induced lipid peroxidation and DNA-strand breakage in C3H10T1/2 cells. *Br J Cancer.* 1987; 56: 133–136.
- 218.** Kamp DW, Graceffa P, Pryor WA, Weitzman SA. The role of free radicals in asbestos-induced diseases. *Free Radical Biol Med.* 1992; 12: 293–315.
- 219.** Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999; 222: 246–252.
- 220.** Ghio AJ, Stonehuerner J, Steele MP, Crumbliss AL. Phagocyte-generated superoxide reduces Fe^{3+} to displace it from the surface of asbestos. *Arch Biochem Biophys.* 1994; 315: 219–225.
- 221.** Hardy JA, Aust AE. The effect of iron binding on the ability of crocidolite asbestos to catalyze DNA single-strand breaks. *Carcinogenesis.* 1995; 16: 319–325.
- 222.** Hori A, Mizoue T, Kasai H, et al: Body iron store as a predictor of oxidative DNA damage in healthy men and women. *Cancer Sci* 2009.
- 223.** Coultas L, Strasser A. The molecular control of DNA damage-induced cell death. *Apoptosis.* 2000; 5: 491–507.
- 224.** Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem Soc Transact.* 2001; 29: 684–688.
- 225.** Uhal BD. Cell cycle kinetics in the alveolar epithelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1997; 272: 1031–1045.
- 226.** Barazzone C, Horowitz S, Donati YR, Rodriguez I, Piguet PF. Oxygen toxicity in mouse lung: pathways to cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998. 19(4): 573–581.
- 227.** Takeoka M, Ward WF, Pollack H, Kamp DW, Panos RJ. Keratinocyte growth factor facilitates repair of radiation-induced DNA damage in alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1997; 272: 1174–1180,
- 228.** Kuwano K, Kunitake R, Kawasaki M, Nomoto Y, Hagimoto N, Nakanishi Y, Hara N. P21Waf1/Cip1/Sdi1 and p53 expression in association with DNA strand breaks in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154:477–483.

- 229.** Choe N, Tanaka S, Kagan E. Asbestos fibers and interleukin-1 upregulate the formation of reactive nitrogen species in rat pleural mesothelial cell. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998;19: 226–236.
- 230.** Kamp DW, Greenberger MJ, Sbalchierro JS, Preusen SE, Weitzman SA. Cigarette smoke augments asbestos-induced alveolar epithelial cell injury: role of free radicals. *Free Radical Biol Med* 1998; 25:728–739.
- 231.** Jung M, Davis WP, Taatjes DJ, Churg A, Mossman BT. Asbestos and cigarette smoke cause increased DNA strand breaks and necrosis in bronchiolar epithelial cells in vivo. *Free Radical Biol Med* 2000; 28: 1295–1299.
- 232.** Calderon GL, Wen-wang L, Zhang YJ, Rodriquez AA. et.al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a major mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium of children exposed to urban pollution. *Environ Health Perspect* 1999; 107(6): 469-74.
- 233.** Lunec J. ESCODD: European Standards committee on oxidative DNA damage. *Free Radic Res* 1998; 29: 601-8.
- 234.** Piperakis SM, Visvardis EE, Tassiou AM. Comet assay for nuclear DNA damage. *Methods In Enzymology* 1999; 300: 184-91.29. Lagorio.
- 235.** Nagashima M, Kasai H, Yokota J. Formation of an oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in mouse lung DNA after intratracheal installation of diesel exhaust particles and effects of high dietary fat and beta-carotene on this process. *Carcinogenesis* 1995;16: 1441-5.
- 236.** Lee SH, Shin M, Lee KJ, Lee SY, Lee JT, Lee YH. Frequency of sister chromatid Exchange in chrysotile-exposed workers. *Toxicol Lett* 1999; 108: 315-319.
- 237.** Fatma N, Jain AK, Rahman Q. Frequency of sister chromatid exchange and chromosomal aberrations in asbestos cement workers. *Br J Ind Med* 1991; 48: 103-105.
- 238.** Rom WN, Livingston GK, Casey KR, et al. Sister chromatid exchange frequency in asbestos workers. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 45-48.
- 239.** 28. Dönmez H, Ozkul Y, Uçak R. Sister chromatid Exchange frequency in inhabitants exposed to asbestos in Turkey. *Mutat Res.* 1996; 361:129-132.
- 240.** 29. Atalay F, Baltaci V, Alpas I, Savas I, Atikcan S, Balci S. Sister chromatid exchange rate from pleural fluid cells in patients with malignant mesothelioma. *Mutat Res.* 2000; 465: 159-163.
- 241.** Dönmez-Altuntaş H, Baran M, Oymak FS, et al: Investigation of micronucleus frequencies in lymphocytes of inhabitants environmentally exposed to chrysotile asbestos. *Int J Environ Health Res.* 2007; 17: 45-51.
- 242.** Lehman I. R., Eukaryotic DNA repair minireview series. *J. Biol. Chem.* 272: 23463.

- 243.** Dianzani I, Gibello L, Biava A, Giordano M, Bertolotti M, Betti M, Ferrante D, Guarrera S, Betta GP, Mirabelli D, Matullo G, Magnani C,. Polymorphisms in DNA repair genes as risk factors for asbestos-related malignant mesothelioma in a general population study, *Mutat Res.* 2006; Mar 27.