

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİ OLAN  
OLGULARDA SUPEROKSİT DİSMUTAZ 2 (SOD2) VE  
SUPEROKSİT DİSMUTAZ 3 (SOD3) GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FARUK GÜNAK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet GENCER

ŞANLIURFA

2011

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİ OLAN  
OLGULARDA SUPEROKSİT DİSMUTAZ 2 (SOD2) VE  
SUPEROKSİT DİSMUTAZ 3 (SOD3) GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FARUK GÜNAK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet GENCER

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından HUBAK/1012 nolu proje ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2011

## TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım ve tez çalışmalarımda çok büyük emeği olan değerli hocam Doç. Dr. Mehmet Gencer'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Asistanlık dönemimde birlikte çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan, kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Elif Köse'ye, bilgi ve tecrübelerinden bir dönem yararlanma fırsatı bulduğum kıymetli hocam Doç. Dr. Erkan Ceylan'a, tez çalışmalarımdaki özverili katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi kıymetli hocam Doç. Dr. Fuat Dilmeç'e, eğitim süresince birlikte çalıştığım Göğüs Hastalıkları kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personellerine ayrıca tez yazım ve düzeltme aşamasında katkı sunan Yrd. Doç. Dr. Şehabettin Selek'e, Uzm. Dr. M Cihan Ekmen'e, Uzm. Dr. A. Hamdi Peltek'e ve İbrahim İnakçı'ya teşekkür ederim.

Tüm yaşamım boyunca sevgi ve özveri ile hep yanımda olan saygıdeğer anneme, babama ve kardeşlerime, tıpta uzmanlık eğitimim süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen sevgili eşime, çalışmalarım süresince ihmal ettiğim sevgili çocuklarım Ali, Furkan ve Elif Nur'uma...

# 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	4
2.1. Asbestin Genel Özellikleri	4
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Patofizyoloji	6
2.4. Asbest İle İlişkili Hastalıklar	9
2.4.1. Non-Neoplastik Hastalıklar	9
2.4.1.1. Asbestozis (İnterstisyel Akciğer Fibrozisi) (İAF)	9
2.4.1.2. Plevral Reaksiyonlar	10
2.4.1.3. Parankimal Akciğer Hastalıkları	13
2.4.2. Neoplastik Hastalıklar	14
2.4.2.1. Akciğer Kanseri	14
2.4.2.2. Ekstrapulmoner karsinomlar	14
2.4.2.3. Mezotelyoma	15
2.5. Oksidatif Stres Ve Reaktif Oksijen Türevleri	19
2.5.1. Reaktif Oksijen Türevleri	19
2.5.1.1. ROS Kaynakları:	20
2.5.1.2. Antioksidan Savunma:	22
2.6. Genetik Ve Polimorfizm	28
2.6.1. Sitokinlerin genetik özellikleri	28
2.6.2. Gen Mutasyonu	29
2.6.3. Mutasyonların Moleküler Temeli ve Belirlenmesi	29
2.6.4. Genetik Polimorfizm	30

2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	30
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>32</b>
3.1. Kan örnekleri	32
3.2. DNA İzolasyonu	32
3.3. Primerler	32
3.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	32
3.5. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Analizi	33
3.6. Elektroforez:	33
3.7. Değerlendirme:	33
<b>4. BULGULAR</b>	<b>35</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
<b>6. SONUÇ</b>	<b>43</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>44</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

<b>Tablo 1:</b> Reaktif oksijen türevleri	20
<b>Tablo 2:</b> ROS kaynakları	21
<b>Tablo 3:</b> Oksijen kaynaklı serbest radikallerin rol oynadığı patolojik durumlar	26
<b>Tablo 4:</b> Serbest radikallerin rol oynadığı akciğer hastalıkları	27
<b>Tablo 5:</b> Çalışmada kullanılan <i>SOD2</i> ve <i>SOD3</i> genlerine ait primer dizileri	32
<b>Tablo 6:</b> Asbeste bağlı plevral plak gelişen hastaların ve kontrol grubunun demografik verileri	35
<b>Tablo 7:</b> Asbeste bağlı plevral plak gelişen hastaların ve kontrol grubunun <i>SOD2</i> geni c.47T>C ve <i>SOD3</i> geni c.172G>A polimorfizm dağılımları	36
<b>Tablo 8:</b> <i>SOD2</i> ve <i>SOD3</i> genleri için polimorfik olan ve olmayan asbeste bağlı PK'lı hastalarının demografik ve klinik profilleri	36

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

- Şekil 1.** *SOD2* geni c.47T>C polimorfik noktasının *Bsa*WI restriksiyon profili. M: DNA ladder (1500-50bç), 1: kesilmemiş PCR ürünü, 2: heterozigot (CT), 3: homozigot (TT, normal),4: homozigot (CC, polimorfik). 34
- Şekil 2.** *SOD3* geni c.172G>A polimorfik noktasının *Bss*HII restriksiyon profili. M: DNA ladder (1500-50bç), 1: kesilmemiş PCR ürünü, 2: heterozigot (GA), 3: homozigot (AA, polimorfik), 4: homozigot (GG, normal). 34

## KISALTMALAR

PE	: Plevral effüzyon
RO	: Reaktif oksijen
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRI	: Magnetik Resonans İnceleme
CEA	: Karsino embriyojenik antijen
ADA	: Adenozin deaminaz
EDRF	: Endothelium-derived relaxing factor
CAT	: Katalaz
TAK	: Total antioksidan kapasite
TOS	: Total oksidatif seviye
OSİ	: Oksidatif seviye indeksi
SOD	: Süperoksit dismutaz
USG	: Ultrasonografi
CRP	: C-reaktif protein
IFN- $\gamma$	: Gamma İnterferon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
ROS	: Reaktif oksijen partikülleri
SD	: Standart deviasyon
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroz faktör alfa
CRP	: C-reaktif protein
MPM	: Maling plevral mezotelioma
PK	: Plevral plak
DPMM	: Difüz plevral maling mezotelioma
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism (Restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi)
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
ROT	: Reaktif oksijen türevleri



## ÖZET

### ÇEVRESEL ASBEST MARUZİYETİ OLAN OLGULARDA SUPEROKSİT DİSMUTAZ 2 (*SOD2*) VE SUPEROKSİT DİSMUTAZ 3 (*SOD3*) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

FARUK GÜNAK

HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GÖĞÜS HASTALIKLARI A.B.D  
ŞANLIURFA

Asbeste maruz kalan her insanda hastalık gelişmemektedir. Bunun nedeni hastalığın patogenezinde kişiye ait faktörlerin önemli rol oynama olasılığının bulunmasıdır. Bu çalışmada çevresel asbest maruziyeti olan bireylerde *SOD2* ve *SOD3* gen polimorfizmlerinin sıklığının araştırılması ve benign akciğer hastalıkları ile genetik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada tümü çevresel asbeste maruziyet sonucu gelişen benign akciğer hastalığı saptanan 48 hasta (18 kadın ve 30 erkek) ve çevresel asbest maruziyetine rağmen asbeste bağlı hastalık saptanmayan 48 sağlıklı birey (16 kadın ve 32 erkek) çalışmaya alındı. Tüm hastalardan tam kan alındı ve bunlardan DNA izole edildi. DNA, *SOD2* ve *SOD3* polimorfik noktaları yönünden polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (PCR-RFLP) tekniği ile tarandı. Hasta ve asbeste maruz kalan kişilerin demografik verileri karşılaştırıldığında yaş oranlarının ve hipertansiyon sıklığının asbeste bağlı hastalık taşıyan grupta maruziyeti olup hastalık gelişmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). PCR-RFLP sonuçlarımıza göre, *SOD2* geni c.47 CC genotipi ( $p=1.000$ ) ve *SOD3* geni c.172 AA genotip ( $p=0.779$ ) oranlarının asbeste bağlı benign akciğer hastalığı gelişen hastalar ile asbeste maruz kalan ancak hastalık gelişmeyen grup arasında istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edildi. Buna ek olarak *SOD2* geni c.47 C alleli ( $p=0.562$ ) ile *SOD3* geni c.172 polimorfizmi A alleli ( $p=1.000$ ) frekansları her iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamsız olduğu belirlendi.

Araştırdığımız *SOD2* ve *SOD3* polimorfik noktalarının çevresel asbest maruziyetine bağlı benign akciğer hastalığı gelişiminde herhangi bir risk faktörü olmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler;** Asbest, plevral plaklar, *SOD2*, *SOD3*, polimorfizm, PCR, RFLP

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE 2 (*SOD2*) AND SUPEROXIDE DISMUTASE 3 (*SOD3*) GEN POLYMORPHISMS IN PATIENTS EXPOSED TO ENVIRONMENTAL ASBEST

FARUK GUNAK

DEPARTMENT OF CHEST DISEASES, MEDICAL FACULTY, HARRAN  
UNIVERSITY  
ŞANLIURFA

Every person exposed to heavy concentrations of asbestos are not developed asbestosis, the reason for this is that the disease likely to play an important role in the pathogenesis of factors belonging to the person. This study investigated the frequency of *SOD2* and *SOD3* gene polymorphisms and disease in our society is to determine genetic relationships. All of the study of benign lung disease caused by environmental exposure to asbest related pleural plaques detected 48 patients (18 female and 30 male) and asbestos exposure of the patient, but disease not develop 48 healthy subjects (16 female and 32 male) were studied.

Whole blood was taken from all patients and DNA was isolated from them.

DNA polymerase chain reaction *SOD2* and *SOD3* polymorphic in terms of points of reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique, were screened. Patient demographic data of persons exposed to asbestos compared with asbestosis patients, asbestosis patients were found to be high and statistically significant in terms of hypertension and age ( $p < 0.05$ ). According to PCR-RFLP results, c.47 *SOD2* gene CC genotype ( $p = 1.000$ ) and *SOD3* gene, c.172 AA genotype ( $p = 0,779$ ) rates between patients and persons exposed to asbestos were found to be statistically insignificant. In addition, the *SOD2* gene, c.47 C allele ( $p = 0,562$ ) and *SOD3* gene polymorphism c.172 A allele ( $p = 1.000$ ) frequencies between the two groups were statistically insignificant.

*SOD2* and *SOD3* polymorphic points have researched environmental exposure to asbestos in the development of benign lung disease concluded that there is any risk factor.

**Key Words:** Asbest, pleural plaques, *SOD2*, *SOD3*, polymorphism, PCR, RFLP

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Asbest; kristal yapısında olan fibröz silikatlara verilen isimdir. Yapısı magnezyum hidroksi-silikattır. Yüksek oranda gerilebilir sertlikte, fleksibl, asit rezistans olması ve yüksek ısıya dayanabilme yeteneği sebebiyle endüstride tercih edilen bir maddedir. Bugün için dünyada en yaygın asbest kullanımı çimento üretimindedir (1-3). Ticari değeri olan asbest lifleri krokidolit, amozit ve krizotildir. Serpentin asbesti (Krizotil asbest), beyaz renktedir ve ticari amaçla kullanılan asbestin % 90'ını oluşturur. Kırsal alanda asbest lifleri ise esas olarak tremolit veya aktinolitir (1).

Türkiye'de endüstriyel kullanım çok fazla olmamasına rağmen çevresel asbest maruziyeti önemli bir sağlık sorunudur. "Aktoprak", "çerpek" veya "çorak" olarak adlandırılan bu toprak, ısı ve su yalıtımı amacıyla evlerin çatısında örtü, duvarlarında sıva-badana amacıyla yaygın olarak kullanılmıştır (1) . Günümüzde halen İç Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde kırsal kesimde tremolit asbest içeren toprak kullanılan evlerde yaşayan insanlar vardır. Ayrıca bazı yörelerde bebek pudrası olarak kullanılan toprağın da asbest içerdiği anlaşılmıştır. Türkiye'de temasın en yoğun olduğu bilinen kırsal alanları kapsayan iller Eskişehir, Kütahya, Bilecik, Yozgat, Sivas, Şanlıurfa ve Diyarbakır'dır (1).

Asbest maruziyetine bağlı birçok hastalık ortaya çıkmaktadır. Asbestozis, plevral plaklar, malign plevral mezotelyoma en sık görülen hastalıklardır. Plevral plakların klinik önemi, asbest maruziyetinin önemli bir markeri olmasından kaynaklanmaktadır (12).

Çevresel kimyasal maddelere maruz kalma, hücrelerde radikal oluşumu ve reaksiyonlarını arttırarak oksidatif strese yol açmaktadır (110,111). Asbeste bağlı hastalıkların patogenezinde serbest radikallerin, özellikle de reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin önemli rollerinin olduğu gösterilmiştir (54). Asbest lifleri hem direk olarak hem de inflamatuvar hücrelerin hasar bölgesinde toplanmasını sağlayarak indirek olarak reaktif oksijen radikallerinin (RO) oluşumuna yol açarlar (54). Reaktif oksijen radikalleri, epitelyal hücre adezyonunu ve sigara içiminin de etkisiyle tozun ve dolayısıyla liflerin dokular tarafından tutulumunu arttırırlar (54). Bunlar aynı zamanda tamir mekanizmalarını bozarak epitelyal hücre apoptozisini ilerletirler. Çok az miktarda asbest lifi bile plevral plak oluşumu için yeterlidir. Ancak plakların prevalansı, kümülatif maruziyet dozu (maruz kalınan yıl sayısı ve

inhale edilen asbest dozu) ile doğru orantılıdır. Tüm lifler sebep olabilirse de en sık aktinolit maruziyeti ile daha sık oluşur (1).

RO türevlerinin vücutta meydana getirdiği hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya RO türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar doğal (endojen) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar veya enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Enzim kaynaklı antioksidanlara örnek olarak mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz (*SOD*), katalaz, glutatyon peroksidaz (*GSH-Px*), glutatyon transferaz, hidroksi peroksidaz sayılabilir.

Hücre içinde mitokondride yerleşmiş olan ve hücreleri süperoksitin zararlı etkilerinden koruyup antioksidan aktivite gösteren Mangan süperoksit dismutaz (*MnSOD*),  $O_2^-$  serbest radikalinin,  $H_2O_2$  ve  $O_2$  'e dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. İnsanda süperoksit dismutazın üç izomer tipi bulunmaktadır. *Cu-Zn SOD* sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. *MnSOD* mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik *Cu-Zn SOD*'dir. Demir içeren *FeSOD* ve manganез içeren *MnSOD* esas olarak prokaryot hücrelerin özelliğidir. *SOD*'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin ( $O^-$ ) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. *SOD*, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. *SOD* aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku  $pO_2$  artışıyla artar. *SOD*'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. *Cu-Zn SOD*'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (109).

Tek yumurta ikizleri hariç, tüm insanlar DNA'larının içerdiği genetik bilgilerinde küçük farklılıklar taşırlar ve bu farklılıklar herkesi "eşsiz" yapar. Bu farklılıklara varyasyon deriz. Eğer bu varyasyonlar Akdeniz anemisi, ya da fenilketonüri hastalıklarında olduğu gibi doğrudan bir hastalığa yol açıyorsa buna "mutasyon" denir. Mutasyonlar, toplumun %1'inden daha nadir görülen genetik değişikliklerdir. Eğer bir varyasyon toplumun %1'inden daha çoğunda görülüyorsa ve bireyler arasında bir fiziksel farklılık, hastalıklara yatkınlık veya direnç açısından bir farklılık oluşturuyorsa buna polimorfizm denir. Polimorfizmler, genetik

kodda meydana gelen küçük değişikliklerdir ve doğrudan hastalığa yol açmazlar. Örneğin, bir nükleotid bir diğeri ile yer değiştirebilir. Polimorfizmler vücutta değişik süreçlere neden olabilirler, tıpkı bir kelimedede bir harfin değiştmesi ile o kelimenin anlamının tamamen değişmesi gibi. Bu nedenle, genlerdeki varyasyonlar vücuttaki besin öğelerini kullanma ve toksinleri atma yeteneğini etkiler. Polimorfizm yukarıdaki örnekte olduğu gibi sadece bir nükleotidi etkilerse buna "tek nükleotid polimorfizmi" (SNP) denir. SNP'lerin insan sağlığına etkisi günümüz genetik araştırmalarının en can alıcı konularından biridir.

Asbeste bağlı hastalıklar, çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan ve bireysel farklılıklardan dolayı heterojen görünüm sergileyen kompleks bir hastalık grubudur. Genetiksel etki henüz aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, hastalık gelişiminde farklı yollarda olduğu düşünölen genlerdeki polimorfizmler çalışılarak genetik temeli araştırılmaktadır. Asbest konsantrasyonuna maruz kalan her insanda hastalık gelişmemesi hastalığın patogenezinde kişiye ait faktörlerin de önemli rol oynama olasılığını düşündürmektedir. Asbest maruziyetinin organizmada oksidatif stresi artırdığı bilinmesine karşılık bu oksidanları yok edecek antioksidan sistemlerde doğuştan bir eksiklik olması ihtimaller arasındadır. Antioksidan maddelerin önemli birimlerinden olan *SOD2* ve *SOD* 'ün polimorfizmler taşıması antioksidan sistemde sorunlara yol açabilir.

Bu çalışmada çevresel asbeste maruz kalanlarda *SOD2* ve *SOD3* gen polimorfizmlerinin sıklılığının araştırılması ve asbeste bağlı benign akciğer hastalığı gelişenlerde genetik yatkınlılığın incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun sonucunda hem literatüre katkı sağlamak hem de genetik yatkınlılık saptanması durumunda risk grubundaki kitlenin eğitilmesi ve bilgilendirilmesi yönelik çalışmalara öncölük etmek amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Asbestin Genel Özellikleri

Lifsel yapıdaki bazı mineraller soludukları zaman akciğerde ve plevrada hastalıklara neden olmaktadır. Solunum sisteminde en fazla hastalığa yol açan lifsel yapıdaki mineral asbesttir (1).

Asbest kristal yapısında olan fibröz bir silikattır. Yüksek oranda gerilebilir sertlikte, fleksibl, asit rezistans olması ve yüksek ısıya dayanabilme yeteneği sebebiyle ticari alanda tercih edilen bir maddedir. Bugün için dünyada en yaygın asbest kullanımı, çimento sanayiidir. (1-3).

Asbest lifleri 2 ana grupta toplanır (2,3).

Serpentin asbesti (Krizotil asbest); Beyaz renkte, elyaf şeklinde karmaşık olarak bulunur. Ticari amaçla kullanılan asbestin % 90'ını oluşturur. Magnezyum hidroksi-silikattır.

Amfibol grubu: 5 gruba ayrılır.

- a) Krokidolit (mavi asbest)
- b) Aktinolit
- c) Antofilit
- d) Tremolit
- e) Amozit (kahverengi asbest)

Asbest liflerinin başlıca kullanıldığı yerler şunlardır (1,2,3):

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.

## 2.2. Epidemiyoloji

Dünyada kullanılan asbestin % 90'ı krizotil olup en az zararlı asbest türü olarak kabul edilmektedir (4).Gelişmiş Batı ülkelerinde 1930'lu yıllardan sonra asbestin değişik sanayi kollarında kullanılmasıyla birlikte asbeste maruz kalınmasına bağlı hastalıkların sıklığında büyük bir artış olmuştur. 1960'lı yılların başında asbestin neden olduğu hastalıkların iyice anlaşılmasından sonra asbest üretim ve kullanımında kısıtlamalara gidilmiştir (1,2).

Mesleksel ortamlardan kaynak alan asbest teması ile ilgili sağlık sorunlarında temel rolü bu lif tipleri oynar. Kırsal alanda asbest lifleri ise esas olarak tremolit veya aktinolit (1). Ülkemizde genellikle tremolit asbest lifi içeren toprağın evlerin sıva ve badanasında kullanılması ile çevresel tipte asbest maruziyeti oluşmaktadır (5-7) . Yapılan çalışmalarda Güneydoğu Anadolu bölgesinde çevresel asbest maruziyeti olduğu ve buna bağlı birçok hastalığın oluştuğu bildirilmiştir (5,7-9).

Türkiye'de endüstriyel kullanımı çok fazla olmamasına rağmen çevresel asbest maruziyeti önemli bir sağlık sorunudur. İç Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde kırsal kesimde tremolit asbest içeren toprak, evlerde çatı malzemesi ve sıva olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazı yörelerde bebek pudrası olarak kullanılan toprağın da asbest içerdiği anlaşılmıştır. "Aktoprak", "çerpek" veya "çorak" olarak adlandırılan bu toprak, ısı ve su yalıtımı amacıyla evlerin çatısında örtü, duvarlarında sıva-badana amacıyla yaygın olarak kullanılmıştır (1). Türkiye'de temasın en yoğun olduğu bilinen kırsal alanları kapsayan iller Eskişehir, Kütahya, Bilecik, Yozgat, Sivas, Şanlıurfa ve Diyarbakır'dır (1). Şimdiye kadar Türkiye ile birlikte Yunanistan, Bulgaristan, Kıbrıs, Korsika/Fransa, Çekoslovakya, Avusturya, Rusya, Yeni Kaledonya, Güney Afrika, Afganistan ve Sicilya/İtalya 'da çevresel asbeste maruz kalındığı bildirilmektedir (1).

Yapılan çalışmalar çevresel asbeste maruz kalmanın beklenenden fazla olduğunu, hatta bazı kişilerde asbest işçileri düzeyinde bir maruz kalma bulunduğunu göstermektedir. Örneğin mesleki temasta, asbest ile temas işe başlama ile başlamakta, işçi günde 8 saat, haftada 5 gün, yılda 46-48 hafta temas etmektedir. Halbuki köy ortamında doğumla başlayan temas, değişen toz konsantrasyonlarında olsa da günün 24 saati ve köydeki bir yaşam boyu aralıksız devam etmektedir. Kırsal alanda sorumlu asbest lifi tremolit veya aktinolit. Toplam temas ve akciğerdeki lif miktarı, kırsal alanda doğup 50 yıl yaşayan birinde, 20 yaşında işe başlamış 30 yıl çalışan birine göre neredeyse eşit, belki de daha fazla miktardadır (1).

Asbeste maruz kalmaya bağlı parankimal ve plevral hastalıkların epidemiyolojik özellikleri farklılık gösterir. Asbest liflerinin akciğer parankiminde neden olduğu fibrozis (asbestozis) genellikle uzun süre ve yüksek konsantrasyonda maruz kalma sonucunda ortaya çıkar. Düşük konsantrasyonda ve aralıklı maruz kalma ise plevra hastalıklarının daha sık görülmesine neden olur. Bizim de içinde olduğumuz Güneydoğu hattında çevresel asbest maruziyeti düşük konsantrasyonda ve uzun süreli olduğundan plevral plaklara sık rastlamamıza rağmen asbestozis daha az sıklıkta saptanmaktadır. Plevral plak, plevral fibrozis ve mezotelyoma gibi plevra hastalıklarında akciğerdeki lif sayısı asbestozise göre daha düşüktür (1). Plevral plak prevalansı, çevresel asbest maruziyetinde % 0.53-8 arasında değişirken, mesleki maruziyette % 3-58 arasında değişir (10). Yine difüz plevral kalınlaşma prevalansı bilinmemektedir ancak plevral plakları olan veya asbestozisli kişilerde post-mortem incelemelerde sık rastlanan bir bulgudur (10).

### **2.3. Patofizyoloji**

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. Bu nedenle amfibol liflerin biyolojik ortamlar için daha riskli olduğu öne sürülmüştür. Ancak genel olarak tüm asbest liflerinin karsinojenik olduğu ve risk getirdiği kabul edilir. Karsinojeniteyi sağlayan, kimyasal yapıdan çok fiziksel yapı olarak düşünülmektedir. Boy: en oranı 3:1'den fazla olan liflerin karsinojenik olduğu gösterilmiştir. Liflerin boy: en oranı arttıkça karsinojenitesi artar, yani ince-uzun lifler daha güçlü karsinojendir (1).

Asbestin toksik özelliklerini belirleyen faktörler şekil, boyut, kimyasal özellikler ve yüzey yapısıdır. Uzun ve ince liflerin toksisitesi daha fazladır. Stanton ve arkadaşları boyu 8 mikrondan uzun, çapı 0.25 mikrondan küçük liflerin kimyasal özelliklerine bakılmaksızın toksik ve karsinojenik olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir. Klinik çalışmalar amfibol grubu asbest liflerinin serpantin grubuna göre daha toksik olduğunu göstermesine rağmen hayvan deneyleri ve in vitro toksikolojik çalışmalar serpantin ve amfibol grubu asbest liflerinin hemen hemen aynı toksik özellikte olduğunu ortaya çıkarmışsa da amfibol grubu liflerin fiziksel özelliklerinin ve biyolojik dokularda uzun süre değişmeden kalabilmesinin toksisite artışında önemli olduğu kabul edilmektedir (3).



Solunum yolu ile distal hava yolları ve alveollere gelen asbest liflerinin plevraya nasıl ulaştığı konusunda değişik görüşler vardır. Hayvan çalışmaları inhale edilen asbest liflerinin inhalasyondan 7 gün sonra plevral sıvıda saptandığını göstermiştir. Liflerin peribronkovasküler interstisyel boşluklardan plevraya ilerlediği öne sürülmektedir. Bu alanlarda direncin az olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar asbest liflerinin plevrada en fazla lenfatiklerin pariyetal plevraya açıldığı antrakotik bölgelerde (black spots) bulunduğunu göstermektedir. Antrakotik bölgelere komşu bölgelerde ise neredeyse hiç lif bulunamamıştır (1).

Asbeste maruz kalındığı dokularda “ferruginous body” lerin (asbest cisimcikleri) saptanması ile gösterilir. Asbest cisimcikleri asbest liflerinin dokularda in vivo olarak protein ve demir ile kaplanması sonucunda oluşur. Demir içeriğinden dolayı Prusya mavisi ile boyanabilirler. Cisimcikler ışık mikroskopunda davul tokmağı şeklinde görülür; renkleri koyu kahverengidir. Cisimciklerin ortasında asbest lifi vardır ve bu da genellikle amfibol türüdür. Asbeste maruz kalma sonucunda dokularda asbest cisimciğine dönüşmemiş lifler de bulunur (uncovered fibers=çıplak lifler veya diğer adı ile serbest asbest cisimcikleri). Kabaca asbest cisimciği sayısının asbeste maruz kalma yoğunluğunu gösterdiği kabul edilmektedir. Dokular incelendiğinde; 0.5 asbest cisimciği/1 cm<sup>2</sup> akciğer dokusu bulunması belirgin asbeste maruz kalındığının göstergesidir. Bazı araştırmacılar dokuda saptanan 1 asbest cisimciğinin aynı dokuda 1000-7000 çıplak lif bulunduğunun bir göstergesi olduğunu ileri sürmektedir (1). Doku elde edilmesi (biyopsi), zor ve hastaların her zaman kabul etmediği bir yöntem olduğu için asbeste maruz kalmanın derecelendirilmesi bronkoalveoler lavaj (BAL) incelemesi ile de yapılabilir. Normal insanlarda BAL ‘da “0-1 asbest cisimciği/ml” arasında asbest cisimciği vardır. Asbeste maruz kalan işçilerde bu değer “100 asbest cisimciği/ml” ye kadar yükselmektedir (1). Asbeste bağlı plevro-pulmoner hastalıkların patogenezi oldukça karmaşıktır ve henüz tam anlaşılmış değildir (49). Lif dozu, boyutu, kimyasal içeriği fibrojenite ve karsinojeniteyi etkiler, uzun, ince ve daha dayanıklı olan lifler daha önemlidirler (50). Maruz kalan kişilerin pulmoner kürenleri, immünolojik durumları, sigara başta olmak üzere diğer zararlı ajanlara maruziyet, inhalasyonla alınan liflerle ortaya çıkan zararın şiddeti ve tipine etki eden faktörlerdir. Asbestosis patogenezi bu konuda üzerinde en çok çalışılan ve burada temel alınacak konudur. Liflerin yıkımı ve asbestosis arasındaki ilişki ile ilgili bazı çelişkili bilgiler vardır (49).

Amfibol liflerinin yüksek konsantrasyonu ile açık bir ilişki var iken, krisotol'in durumu daha az açıktır (147). Krisotil lifleri akciğerlerde ancak aylarla ifade edilebilecek kısa sürede kalabilir iken, amfibolde bu dekatlar alabilmektedir. Bu nedenle, Krisotil maruziyeti olduğu bilinen kişilerin akciğerlerinde bu kişiler işten ayrılmış olsalar bile, amfibol lifleri daha fazla saptanabilmektedir.

Ancak, insan ve hayvan çalışmalarının sonuçları, sigaranın etkisi göz önüne alınsa bile (sigara lif birikimini" arttırmaktadır), krisotil liflerinin hastalığa yol açtığı hipotezini desteklemektedir (51). İnhalasyonla alınan asbest liflerinin çoğu mukosilyer klirensle akciğerlerden atılsa bile, bazıları interstisyuma makrofajların içine girer, bu ya direkt epitele penetrasyon ya da epitel hasarından sonra intraluminal eksudanın organizasyonu ile olabilmektedir (53). Hava yolları bifürkasyonunda ve interstisyumda birikmiş olan aktive makrofajlar, inflamasyon ve fibrosisi başlatan birçok sitokin, kemokin ve büyüme faktörü salarlar (52). Bunların başlıcaları TNF-a, TGF- $\beta$ , IL-1, IL-8 ve trombositden kaynaklanan büyüme faktörüdür. Bunlardan özellikle ilki çok önemlidir. Yapılan deneysel çalışmada farelerde TNF-a reseptörleri bloke edildiğinde akciğer hasarının olmadığı görülmüştür (54). Asbestozis patogenezinde serbest radikallerin, özellikle de reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (54). Asbest lifleri direkt ve inflamatuvar hücrelerinin hasar bölgesinde toplanmasını sağlayarak indirek olarak reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu sağlarlar (54). Reaktif oksijen radikalleri, epitelyal hücre adezyonunu ve sigara içiminin de etkisiyle tozun ve dolayısıyla liflerin dokular tarafından tutulumunu da arttırmaları (54). Bunlar aynı zamanda tamiri bozarak epitelyal hücre apoptozisini ilerletirler.

Yoğun olarak çevresel asbeste maruz kalan her kişide asbestozis gelişmemektedir, bunun nedeni hastalığın patogenezinde kişiye ait faktörlerin önemli rol alma olasılığının bulunmasıdır. Bu hipotezi etkileyen faktörler alveoler ve trakeobronşiyal klirens, akciğerin yapısal durumu ve kişinin immün durumudur (55,56). Kişinin immün durumu, üzerinde en çok çalışılan konudur. Radyolojik olarak asbestozisi olan asbest işçilerinin %25-30'unda dolaşımda romatoid faktör ve antinükleer antikorlar saptanmıştır ancak; hastalığın patogenezinde B-hücre hiperreaktivitesinin rolü olduğuna dair az kanıt vardır (55) Asbest maruziyeti olan kişilerde geç tip cilt hipersensitivitesi de dahil olmak üzere hücre immünitede bir bozukluk olduğu gösterilmiştir (57). BAL'da T lenfosit helper-supressor oranında bir değişiklik, doğal öldürücü hücre aktivitesinde azalma olduğu gösterilmiştir (58).

Antikorlarda anormallik olduğu saptanmasına rağmen bunun asbestosis'in gelişimindeki rolü bilinmemektedir.

## **2.4. Asbest İle İlişkili Hastalıklar**

### **2.4.1. Non-Neoplastik Hastalıklar**

#### **2.4.1.1. Asbestozis (İnterstisyel Akciğer Fibrozisi) (İAF)**

Asbestozis terimi, asbest maruziyetine bağlı olarak gelişen İAF'ini tanımlamak için kullanılmaktadır. Asbestozis esas olarak doza bağımlı olarak gelişir. Ayrıca asbest liflerinin çapı ve uzunluğunun da çok büyük önemi vardır. Silikoziste olduğu gibi, immünolojik faktörlerin asbest maruziyetine kişisel cevabı belirlemede önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (11). Asbestozis gelişimi için latent süre, maruziyet süresi ve dozuna bağlı olarak değişir. Tipik vakalarda klinik olarak belirgin asbestozis için, oldukça yüksek dozda maruziyet ve 20 yıldan fazla latent period gereklidir (12). Epidemiyolojik çalışmalar asbestozis gelişimi için yüksek dozlarda lif gerektiğini göstermiştir (13).

Klinik olarak asbestozis, kuru öksürük, dispne, taşıpne ve parmakların çomaklaşması ile karakterizedir. Akciğer oskültasyonunda bazalarda ince raller (crackles) duyulur. Ağır derecede etkilenmiş hastalarda asbestozis, yüksek mortalite ile seyreden bir hastalıktır (11). Sigara içiminin asbestozis riskini artırdığı epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir (14). Bu çalışmalar, bozulmuş lif klirensinin lif ile indüklenen fibrozisteki önemini vurgulamaktadır. Selikoff ve Hammond asbestozis ve sigara kombinasyonunun ölümcül olduğunu, bunlarda mortalite oranının sigara içmeyip asbeste maruz kalanlara göre 3 kat daha fazla artmış olduğunu göstermişlerdir (15). Ortalama yaşam tanıdan itibaren 15-20 yıldır (12).

İAF, radyografik olarak HRCT'de en iyi saptanır. Bu hastalarda % 10 oranında hastalık mevcut olduğu halde akciğer radyografileri normal olabilir. Asbestoziste radyografik olarak özellikle alt zonlarda küçük, irregüler opasiteler saptanır. Bu görünümler kistik, retiküler veya ince lineer olabilir. Asbestozisteki radyolojik bulgular, skleroderma veya romatoid artritte görülen idyopatik pulmoner fibrozis veya kollajen doku hastalıklarında görülen bulgulardan ayırt edilemez. Plevral plakların görülmesi durumunda interstisyel hastalığın asbestozis olma ihtimali artar. YRBT, asbestozis için daha sensitif bir metoddur. Aberle ve ark . tarafından bildirilen asbestozisin YRBT bulguları şunlardır: İnterstisyel kalınlaşma: Kalınlaşmış septal

çizgiler. Buzlu cam manzarası:1-15 mm çapında kalın duvarlı multipl kistik lezyonlar. Genellikle subplevral ve posterior alt loplarda daha sık görülür. Parenkimal bantlar: 2-5 cm. uzunluğunda parankim içinde uzanan lineer çizgiler. Subplevral bantlar: Plevraya paralel ve 1 cm'den daha az yakınlıkta çizgiler (1,16).

Asbestozisin patognomonik klinik, fizyolojik veya radyolojik özelliği yoktur. Ancak Helsinki bildirgesinde asbestozis tanısı için: diffüz interstisyel fibrozis ve 1 cm<sup>2</sup> akciğer dokusunda en az 2 asbest cisimciğinin görülmesinin gerekli olduğu bildirilmiştir (17). Pratikte hastalığın klinik tanısı asbest maruziyeti belirlenen olguda saptanan radyolojik bulgulara dayanır. Spesifik bir tedavisi yoktur (18).

#### **2.4.1.2. Plevral Reaksiyonlar**

##### **a) Plevral plaklar**

Pariyetal plevraya sınırlandırılmış fibrotik lezyon olarak tanımlanabilir. Asbeste maruz kalındığının en sık görülen işaretidir. Bunlar primer olarak göğüs duvarında pariyetal plevranın hemen altında oluşan düzensiz fokal fibrozis alanlarıdır. Subplevral yerleşimlidirler. Plakların sık görüldüğü yerler lenfatik drenajın pariyetal plevraya açıldığı ve subplevral lenfatik dokunun (milky spots) bulunduğu yerler olup sıklıkla pariyetal plevranın lateral ve posterior interkostal kesiminde, diyafram kubbesinde görülürler (1). Daha az sıklıkla mediastinal plevra ve perikard'ta saptanabilir. Apikal bölge ve kostofrenik açı en az görüldüğü yerlerdir.

Asbest maruziyeti plevral plakların en sık nedenidir. Plevral plakların klinik önemi, asbest maruziyetinin önemli bir markeri olmasından kaynaklanmaktadır (12) . Radyolojik olarak tespit edilebilen plevral plak insidansı genel popülasyonda % 0.1-1.3 arasında değişmektedir. Çok az miktarda asbest lifi bile plevral plak oluşumu için yeterlidir. Ancak plakların prevalansı, kümülatif maruziyet dozu (maruz kalınan yıl sayısı ve inhale edilen asbest dozu) ile doğru orantılıdır. Tüm lifler sebep olabilirse de en sık antofilit maruziyeti ile daha sık oluşur (1).

Plevral plakların oluş mekanizması ile ilgili çok değişik görüşler öne sürülmüştür. Geçmişte asbest liflerinin pariyetal plevrada mekanik irritasyonla inflamasyon yaptığı savunulurken, günümüzde kısa asbest liflerinin pariyetal plevraya lenfatik kanallardan pasajlar

aracılığı ile geçtiği, uzun liflerin ise (amfibol) akciğer parankiminde biriktiği savunulmaktadır. Alternatif açıklamalar ise hematojen yol veya visseral plevradan direk migrasyon yoludur.

Genellikle hastalarda belirti ve bulguya neden olmazlar. Sıklıkla başka nedenle veya kontrol amacıyla çekilen akciğer grafilerinde saptanırlar. Sadece plevraya lokalize olduklarından solunum fonksiyonlarına olan etkilerinin çok az olduğu söylenebilir.

Plakların akciğer filminde görünüşleri son derece karakteristiktir. Ancak plevral plakların görünür hale gelmesi için 3-57 yıl, ortalama 33 yıllık latent bir periyoda gerekir. Bu plaklarda kalsifikasyonun görülmesi için en az 20 yıllık bir latent periyoda ihtiyaç vardır (12). Lezyonlar akciğer filminde genellikle multipl ve bilateral bazen de soliter, çoğu zaman diafragma kubbesinin üzerinde, göğüs duvarının posterolateralinde ve 5-8. kotlar arasında ve kotların seyri boyunca, yüksek dansiteli ve belli bir segmente sınırlı olmayan lezyonlar olarak görülürler. Çoğu zaman apeksler ve kostofrenik sinüslerde saptanmaz (19). Plaklar diafragmanın sıklıkla santraline yerleşip lokal evantrasyonu taklit edebilir (20). Bazen geniş olan veya diffüz plevral kalınlaşma ile birlikte olan plaklarda ayırıcı tanı için biyopsi gerekebilir. Yaş ilerledikçe plak sayısında ve kalsifikasyonunda artış olur (21). BT'de plakların yaygınlığı daha kapsamlı görüntülenir .

Plevral plaklar malign bir transformasyon göstermezler ancak 4 cm'den büyük plakların malign mezotelyoma gelişme riskini artırdığı öne sürülmektedir.

Tanısında standart radyografideki görünüm yeterlidir. Ancak çok geniş olan veya difüz plevral kalınlaşma ile birlikte olan plevral plaklarda ayırıcı tanı için biyopsi gerekebilir (21).

#### b) Difüz Plevral Kalınlaşma (Difüz Plevral Fibrozis) (DPK)

Çoğu zaman kostofrenik sinüs kapalılığı ile birlikte olan ve kesintisiz olarak en az göğüs duvarının 1/4'üne kadar uzanan plevral dansiteye verilen isimdir (22). Genellikle 4. interkostal mesafeden başlar. BT'de plevranın kraniokaudal en az 8-10 cm, lateral en az 5 cm genişliğinde ve 3 mm'yi geçen diffüz kalınlaşması olarak tanımlanır (23,24). Yine plevral plakların aksine kostofrenik açığı, apeks ve interlober fissürler de tutulabilir. Plevral plak paryetal plevrayı etkilerken DPK, hem visseral hem de paryetal plevranın hastalığıdır. DPK visseral plevra ve komşuluğundaki interstisyumun yoğun fibrozisi sonucu oluşur. Sonuçta paryetal plevrada olaya katılır ve visseral plevraya yapışır.

Hastalığın prevalansı bilinmemektedir. Ancak hastalığın oluşumu maruziyet yoğunluğu ile doğru orantılıdır (23). McCloud ve ark. asbest'e maruz kalan 1373 olguyu inceledikleri çalışmalarında plevral plak ve DPK'nın eşit sıklıkta oluştuğunu bildirmişlerdir (25).

DPK, en sık plevranın alt ve dorsal kısımlarını etkiler. Bazı hastalarda kostofrenik açı da olaya katıldığından kostofrenik açıda küntleşme saptanabilir. Nadiren kalınlaşma üstte apikal bölgeye kadar uzanır (1). PP'lar ise nadiren dörtten fazla interkostal aralık mesafesini geçerler. DPK düzensiz şekilli olup nadiren kalsifiye olur. İnterlobar fissür tutulumu DPK için kuraldır. BT'nin DPK için normal grafiden daha sensitif ve spesifik olduğu gösterilmiştir. Özellikle de ekstraplevral yağ dokusunu plevral kalınlaşmadan ayırt etmede üstün olduğu gösterilmiştir (26,27). DPK saptanan hastalarda solunum fonksiyon testleri incelendiğinde akciğer volümlerinde azalma saptanmıştır (1).

DPK'nın gelişmesi için yaklaşık 15 yıllık bir latent periyoda ihtiyaç vardır (28).

#### c) Benign Asbest Plörezisi (BAP)

Asbeste bağlı hastalıklar içinde en kısa latent periyoda sahip olanıdır. Genellikle asbest temasından sonraki ilk 10 yıl içinde oluşursa da bazen bu latent süre 50 yılı bulabilir (1). Epler ve ark. asbeste maruz kalmış bir popülasyonda plevral efüzyon insidansını % 3.1, ağır bir şekilde maruz kalmış bir popülasyonda % 7 ve indirekt maruziyetin olduğu bir grupta % 0.2 olarak hesaplamışlardır (30).

Plevral efüzyonun birçok nedeni olduğu için asbeste bağlı benign plevral efüzyon tanısı çok güçtür. Sık görülen infeksiyon, tümör ve tromboemboli gibi plevral efüzyon nedenlerinin ekarte edilmesi gerekir. Asbeste maruz kalma sonucu ortaya çıkan benign plevral efüzyon genellikle az miktarda ve tek taraflıdır (1).

Klinik olarak hastaların çoğu asemptomatiktir ve genellikle asbest işçilerinin yıllık rutin radyografik muayenelerinde tespit edilir. Hastalarda plöritik göğüs ağrısı, artmış lökosit sayısı, hafif bir ateşle beraber hastalık hafif seyreder. Bazı hastalarda nefes darlığı olabilir. BAP düşünülen hastada mutlaka MPM, metastatik tümörler, tüberküloz veya diğer infeksiyöz durumlar ekarte edilmelidir (2,10,31).

Hastalığın patogenezi çok iyi bilinmemektedir. Asbest liflerinin makrofajlar ve lenfatikler aracılığı ile plevraya ulaşması ile hem mekanik irritasyon oluşturması hem de kemotaktik aktivitenin stimülasyonu sonucu özellikle ortama salınan IL-8 aracılığı ile

polimorfonükleer hücrelerin uyarılması sonucu eksudatif vasıfta plevral effüzyonun olduğu kabul edilmektedir.

Sıvı eksudatif karakterde ve seröz veya serohemorajik vasıfta olması sebebiyle mezotelyoma ile karışabilir (23). Plevral sıvıda lökosit sayısı 20.000/mm<sup>3</sup> kadar yüksek olabilir. Polimorfonükleer lökositler veya mononükleer hücreler hakimdir. Sıvıda eozinofili saptanabilir (19). BAP'ta sıvı genellikle az veya orta miktarda ve unilateral, % 10 olguda ise bilateraldir. Fazla miktarda efüzyonun mezotelyomaya bağlı olma ihtimali daha yüksektir. Bir kaç hafta ile 1 yıl içinde spontan kaybolur. Önce tek taraflı olup, aylar - yıllar sonra aynı veya karşı tarafta efüzyon şeklinde karşımıza çıkar (2,10,31).

BAP tanısı asbest maruziyeti hikâyesi varlığında diğer tanılar ekarte edildikten sonra konur. BAP genellikle kendiliğinden sınırlı kalır ve bir sekel bırakmadan iyileşebilir. Fakat bazen de kostodiafragmatik sinüsde rezidüel kapalılık veya hafif - ciddi diffüz plevral kalınlaşma ile sonuçlanabilir veya yuvarlak atelektazi gelişebilir. Yıllar önce BAP'si olan birçok hastada daha sonra malign mezotelyoma geliştiği gözlenmiştir. Bir çalışmada BAP'si olan 17 olgunun takibinde 6'sında DPK ve 2'sinde ise malignite geliştiği saptanmıştır (22). Benign asbest plörezisinden sonra DPK gelişebileceği unutulmamalıdır (23).

#### **2.4.1.3. Parankimal Akciğer Hastalıkları**

##### **a) Rounded Atelektazi (Blesovsky sendromu, Folded lung)**

Asbeste bağlı plevral hastalıklarının nadir görülen bir komplikasyonudur. Nasıl olduğu çok iyi bilinmiyorsa da asbest maruziyeti sonrası paryetal ve visseral plevranın kalınlaşması, sonra bu iki plevral yaprağın birbirine yapışması ve kaynaşan plevral yaprakların hemen bitişiklerindeki akciğer dokusunu immobilize etmeleri, immobil akciğerin atelektaziye uğrayıp kendi etrafında torsiyona uğraması sonucu bu bölgede yalancı bir kitle lezyonunun olduğu kabul edilmektedir (32). Asbest teması dışında tüberküloz, histoplazmozis, Dressler sendromu ve hemotoraks da aynı lezyonu oluşturabilir (19). 2-7 cm çapında plevra ile ilişkili periferik kitle görünümündedir. En sık alt loplara posterior kısmında görülür. Çoğu zaman asemptomatik olmasına karşın bazen nefes darlığı ve kuru öksürük oluşabilir. Ancak nadiren obstrüktif pnömoni ve lokal pulmoner arter trombozisi oluşabilir (23). Radyografik olarak akciğer bazalinde subplevral yuvarlak bir kitle olarak

görülür (19). Periferik plevrall yüzeye 2.5-7 cm genişliğinde bitişik yuvarlak ve veya oval kitle. Comet tail bulgusu (kitleye doğru uzanan damar ve bronş yapısı). Kitlenin komşuluğundaki plevrada kalınlaşma (bu plevra genellikle en fazla kitle komşuluğunda daha fazla kalınlaşmış saptanır). Etkilenen lobta volüm kaybı olur.

Rounded atelektaziye eşlik eden bazı mezotelyoma vakaları bildirilmiştir. Rounded atelektaziye sıvı eşlik etmesi, göğüs duvarı tutulumu ile birlikte olan veya olmayan plevrall kitle ve rounded atelektaziye komşu olmayan plevrada kalınlaşma saptanması durumunda mezotelyoma düşünölmelidir (19).

#### b) Transpulmoner Bantlar

Horizontal olarak akciğer içine uzanan plevrall kaynaklı lineer dansitelerdir. Rounded atelektazinin ilk manifestasyonu olabilir. Literatürde sık rapor edilmedikleri için insidansları tam olarak bilinmemektedir. Çok yoğun diffüz plevrall kalınlaşması olan vakalarda daha fazla görüldüğü bilinmektedir (11). Standart akciğer filminde görülmesi zordur.

### **2.4.2. Neoplastik Hastalıklar**

#### **2.4.2.1. Akciğer Kanseri**

Asbeste maruz kalanlarda en sık görölen ve ölüme neden olan tümör bronkojenik karsinomdur (11,31). Asbest maruziyetinde akciğer karsinomu gelişmesi için uzun bir latent periyoda ihtiyaç vardır ve bu süre 15-30 yıldır. Yazıcıoğlu ve ark. yaptıkları çalışmalarda bronşial kanserin asbestle temasın tespit edildiği bölgelerde, mevcut temasın tespit edilmediği bölgelere göre 1.5 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (8). Selikoff yaptığı araştırmada asbest işçilerinde bronkojenik karsinom gelişiminde sigara içiminin çok önemli rol oynadığını, sinerjistik etki gösterdiğini saptamıştır (33) .

Asbest maruziyetine bağlı oluşan akciğer karsinomunun histolojik olarak diğer karsinomlardan ayırımı mümkün değildir (11, 31).

#### **2.4.2.2. Ekstrapulmoner karsinomlar**

##### a) Gastrointestinal sistem karsinomları (2,33)



Asbest lifleri gastrointestinal sisteme ulaşabilirler. Fekal asbest sayısının asbest işçilerinde belirgin arttığı gösterilmiştir. Suların içindeki veya asbestli borulardan kaynaklanan asbest liflerinin gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri de araştırıldığı bir çalışmada Selikoff ve ark, 632 asbest işçisinden 29 tanesinde GİS kanseri saptamıştır (33).

Ancak bu çalışmaların tersine, asbest maruziyeti olanlarda GİS tümörlerinin önemli oranda gelişmediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur.

b) Diğer organ karsinomları (2,31).

Bazı vakalarda asbestle ilişkisi tespit edilen karsinomlar şunlardır: Laringeal kanser, sarkomatöz tümörler, over maligniteleri, orofaringeal tümörler ve meme karsinomları.

### **2.4.2.3. Mezotelyoma**

Mezotelyoma, plevra, periton ve perikardı döşeyen mezotel hücre örtüsünün primer tümörüdür. Plevranın primer tümörleri, ortaya çıkış, klinik seyir, histopatolojik ve prognostik özelliklere göre “MEZOTELYOMA” genel başlığı altında iki ana gruba ayrılarak sınıflandırılır. (34-36)

a) Diffüz malign mezotelyoma (DMM)

b) Fibröz mezotelyoma

Fibröz mezotelyoma, tüm mezotelyoma olgularının yaklaşık % 10’undan, DMM ise olguların büyük kısmından sorumludur.

C1) Difüz Malign Mezotelyoma (DMM)

DMM, etyolojisinde en önemli neden olan asbest veya erionit tip mineral lif temasının esas olarak inhalasyon şeklinde olması nedeniyle en sık plevra, daha az oranda periton ve perikard mezotelyumundan gelişir. Ender olarak yayınlanmış tunika vajinalis veya over epitelyumu kökenli DMM olguları rapor edilmiştir.

Bugün için DMM etyolojisinde bilinen en önemli neden, her ikisi de mineral lif olan, asbest veya erionit ile temastır. DMM tanısı almış olguların, serilere göre değişmekle birlikte, % 70-90’ında asbest teması olduğu bildirilmektedir.

Bazı DMM olgu serilerinde, çok iyi değerlendirme ve analizlere rağmen, mineral lif teması olmayan olgu oranının % 30'a ulaşması, ayrıca çocukluk çağında da mezotelyoma saptanması, DMM etyolojisinde başka nedenlerin de etkin olabileceğini göstermektedir. Bu konuda yapılan değerlendirmelerde ulaşılan en ciddi bilgi, Simian virus-40 (SV-40) ile DMM ilişkisidir. Bazı insan mezotelyoma hücrelerinde SV-40 benzeri genetik diziler gösterilmiştir.

DMM, normal populasyon için oldukça ender olarak beklenen bir tümördür; görülme sıklığı, bir yıl için, milyonda 1 ila 2.2 arasında bildirilmektedir.

DMM'nin, tüm dünya için belirlenen ortalama yıllık mezotelyoma insidans hızı erkekler için 1.3/ 100.000 kişi-yıl, kadınlar için 0.2/ 100.000 kişi-yıl olarak bildirilmiştir. Erkeklerde yüksek olması mesleki ilişki nedeniyledir.

Ülkemiz için insidansı bilmiyoruz. Ancak Dünya Sağlık Örgütü tarafından kabul gören KİDEM'in (İzmir Kanser İzlem ve Denetim Merkezi) belirlemelerine göre Ege Bölgemizde ortalama yıllık mezotelyoma insidans hızı erkekler için 0.7/ 100.000, kadınlar için 0.3/ 100.000 kişi-yıldır.

DMM, mesleksi temas, ilk temastan genellikle 30-40 yıl sonra ortaya çıkar; yani latent periyod mesleksi temaslı serilerde 30-40 yıl civarındadır. Temas işe girme ile başladığından, DMM'nin genel olarak saptandığı yaş, işyeri serilerinde 60 yıl (50-70 yaş aralığı) civarında olur. Çevresel temasla latent periyod hastalığın saptandığı yaş olmaktadır; bu süre, ülkemiz serilerinde 50-55 yaş civarındadır. Endüstrileşmiş ülkelere gelen DMM olgu serilerinde erkek/ kadın oranının 10/1-3/1 arasında olduğu bildirilmektedir. Buna karşın, kırsal alanda erkek/kadın oranı 1 civarındadır.

DMM'nin patogenezi halen tam olarak anlaşılamamıştır. Asbest lifleri ile mezotel hücreleri arasındaki temas sonrası, hücre proliferasyonu ile düzeltilmeye çalışılan bir hasar ortaya çıkar. Mezotelyal örtü bu hasara karşı *p53* ekspresyonu artışı, *GADD45* ve diğer DNA hasarına duyarlı genlerin aktivasyonu ile korunma ve tamir cevabı verir. Ancak hasar atakları tekrarlar ve sıklaşırsa, proliferasyon eşliğinde hücre onkogenleri aktive olabilir, tümör baskılayıcı genler olumsuz etkilenebilir, *p53* sunusu azalır, normal zamanda olmaması gereken çeşitli büyüme faktörleri aktif hale gelebilir. Oluşan bütün bu değişiklikler hücre proliferasyonu boyunca hücrelerde genetik kararsızlık (instability) ve değişikliğe yol açarak malign dönüşümü sağlayabilir.

Tümör, pariyetal ve viseral plevrada başlayabilirse de erken evrelerde en fazla sıklıkla pariyetal plevra tutulur.

DMM kendi arasında 3 ayrı gruba ayrılır:

#### 1) Epitelyal

Epitelyal tümörler kendi arasında; epitelyumiyoid, tubulopapiller, miksoid, solid ve vakuoler tip olmak üzere beş gruba ayrılır.

#### 2) Sarkomatöz

Sarkomatöz tümörler; Dezmozplastik ve yüksek dereceli tip olmak üzere iki gruba ayrılır.

#### 3) Miks tip

Serilerde olguların büyük çoğunluğunu (yaklaşık % 50) epitelyal tip oluştururken, ikinci sırayı ise miks tip alır. Sarkomatöz tipin görülme oranı ise % 10-20 arasındadır.

Klinik değerlendirmede en sık saptanan yakınmalar nefes darlığı, çoğu olguda plöretik olmayan göğüs ağrısı ve öksürüktür. Hastalarda semptom başlangıcından ilk başvuruya kadar geçen süre birkaç haftadan 8 aya kadar değişmekle birlikte, genellikle 2-3 aydır.

Fizik muayenede; tümörün kendine özgü davranış biçimine bağlı olarak hareketsiz ya da hareketleri kısıtlanmış bir hemitoraks ve bu tarafta plevral sıvı ve plevral kalınlaşma muayene bulguları (vibrasyon kaybı, matite, seslerin alınamaması) hemen her olguda saptanan temel fizik muayene özelliğidir.

Tümörün yerleşimi olguların % 95-97'sinde tek taraflı, çoğu olguda (% 65) sağ taraftadır. Öte yandan, tümörün tüm plevral yüzeyler boyunca çepeçevre yayılımı, torasik, diafragmatik ve mediastinal plevrayı tutması sonucu "tek taraflı çökük hemitoraks" saptanır. Hemitoraksta genişleme ise çok miktarda sıvısı olan ve plevral kitlenin büyük ya da yaygın olmadığı olgularda saptanan, nadir (% 3-10 arasında değişen) bir özelliktir (31-36).

Hastalığın tanısında ilk başvuru yöntemler çoğunlukla standart akciğer radyografileri ve toraks bilgisayarlı tomografisidir.

#### 1. Standart akciğer radyografisi bulguları

Mezotelyomada standart akciğer radyografisi bulguları nonspesifiktir. Akciğer radyografisinde en sık saptanan bulgular plevral effüzyon, diffüz irregüler plevral kalınlaşma (PK) ve plevral kitleler ile kosta destrüksiyonlarıdır.

Toraks BT mezotelyoma kuşkulu her olguda rutin kullanılan bir radyolojik yöntemdir. Standart akciğer radyografisine göre üstünlükleri üç boyutta görüntü verebilmesi nedeniyle lezyonların yayılımını ve dağılımını gösterebilmesi, sıvıdan ayrı olarak plevranın değerlendirilmesine olanak tanınması, evrelemeye fırsat vermesi ve doku örneği temini için uygun yerin saptanmasıdır (38,39). Toraks BT’de mezotelyomayı düşündüren çok farklı görünümeler mevcuttur.

Plevral effüzyon, mezotelyomada sık saptanan bir bulgu olmasına karşın bu hastalığa spesifik bir bulgu değildir (40). Olguların çoğunda sıvı mevcut olup serbest veya ankiste haldedir (39-43). Bazı mezotelyoma olgularında belirgin plevral kalınlaşma veya kitle olmaksızın sadece plevral effüzyon saptanabilir. Şenyiğit ve ark. % 3 olguda plevral effüzyon’u mezotelyomanın tek radyolojik bulgusu olarak bildirmişlerdir. Bundan dolayı asbest teması olup plevral efüzyon saptanan olgularda mezotelyomanın ön tanı olarak düşünülmesi gerektiği bildirilmiştir.

Mezotelyomada mediastinal plevral tutulum saptandığında bu kitlelerin hiler ve mediastinal nodal lezyonları kuşatmasından dolayı bu bölgedeki lenfadenopatileri ayırt etmek güç olabilir (44). Yine BT’de mediastinal plevral tutulum durumunda perikardiyal tutulumu belirlemek te güçtür (45).

Plevral plaklar, asbest temasının bir bulgusu olarak kabul edilmesine karşın, tek taraflı plevral effüzyon ile birlikte olduğunda mezotelyoma düşünölmelidir. Şenyiğit ve ark. mezotelyomalı olguların % 21’inde plevral plak bildirmişlerdir. Ancak mezotelyomada saptanan plevral plakların çoğu nonkalsifiktir. Özellikle irregüler plevral plaklarda da malign dejenerasyon saptanabilir.

Mezotelyomada akciğeri çevreleyen PK’nın akciğer içine yayılımı da BT’de saptanan bir bulgudur. Bunun dışında intraparenkimal lezyonlar da mezotelyomada saptanabilir ki bunlar da düzgün sınırlı yuvarlak lezyonlardır (37). DMM için özgün kabul edilebilecek bir laboratuvar tetkiki yoktur.

Tümör belirteçleri DMM’de çalışılmaktadır. En çok çalışılan ve yeri genelleşen “carcinoembryonic antijen” dir (CEA). DMM’nin adenokanser metastazından ayırıcı tanısı için hem serum, hem plevral sıvıda orta derecede duyarlılık ve özgüllük oranları taşır, negatif doğrulama (DMM’yi reddetme/adenokanseri tanıma) yoluyla iş görür. DMM’ de tanı histopatolojik incelemeye dayanır.

## **2.5.Oksidatif Stres Ve Reaktif Oksijen Türevleri**

### **2.5.1. Reaktif Oksijen Türevleri**

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik veya moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen türevleri (Reactive oxygen species: ROS)" de denmektedir (59).

ROS Sınıflandırılması:

Organizmada pek çok türde ROS oluşabilir. Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikali oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (60). Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehid (MDA).

Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle "Reaktif oksijen türevleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (61). Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer ROS grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan "singlet oksijen" bulunmaktadır. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron

taşıır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asidleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (59).

**Tablo 1** : Reaktif oksijen türevleri

1 - Radikaller: Süperoksit radikal ( O <sub>2</sub> -)
Hidroksil radikal ( OH -)
Alkoksil radikal ( LO -)
Peroksil radikal ( LOO -)
2- Radikal olmayanlar: Hidrojen peroksit ( H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Lipid hidROSeroksit ( LOOH )
Hipoklorikasit(HOC1)
3 - Singlet oksijen

### **2.5.1.1. ROS Kaynakları:**

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROS'lar oluşur. (63). İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve ROS düzeyi artar. ROS'lerinin düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır.

İnfeksiyöz olaylarda başta Staphylococcus aureus gibi patojenler ayrıca lökotrienler, prostaglandinler gibi mediyatör maddeler nötrofil, eosinofil ve makrofajları aktive ederler, membrana bağlı NADPH oksidaz enzimi yoluyla ROS salgılanmasına yol açarlar (64,65).

**Tablo 2:** ROS kaynakları

I - Normal biyolojik işlemler:
1 - Oksijenli solunum
2 – Katabolik ve anabolik işlemler
II - Oksidatif stres yapıcı durumlar
1 - İskemi - hemoraji - travma – radyoaktivite intoksikasyon
2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
a-) İnhale
b-) Alışkanlık yapan maddeler
c-) ilaçlar
3 - Oksidan enzimler
a-) Ksantin oksidaz
b-) İndolamin dioksigenaz
c-) Triptofan dioksigenaz
d-) Galaktozoksidaz
e-) Siklooksigenaz
f-) Lipooksigenaz
g-) Monoamino oksidaz
4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
5 – Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)
6 – Uzun süreli metabolik hastalıklar
7 – Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışımı, sigara
III - Yaşlanma süreci

Nötrofiller tarafından kullanılan antibakteriyel savunma mekanizması myeloperoksidaz enzimidir. Süperoksit radikalinin dismutasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla reaksiyona girerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan hipoklorik asidi oluşturur. İnfeksiyöz ajanlarla savaş için gerekli olan ROS'lar kan hücreleri tarafından aşırı salgılanacak olurlarsa bu kez yarar yerine zararlı olmaya başlarlar (66-67).

### 2.5.1.2. Antioksidan Savunma:

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. İnsanda bellibaşlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve mangan; GPx'de ise Selenyum iyonu bulunduğu için bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobulin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, β karoten ve α-1 antitripsin sorumludur (62).

İn vivo - hücre içi ortamda antioksidan savunma:

Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksit radikallerini direkt olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizleyen enzimdir. ( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ). Ökaryotlarda SOD enziminin 3 izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar taşıdıkları prostetik grup (metallere) ve lokalizasyonlarına göre adlandırılır. *Cu-ZnSOD*'un hücre içi (*SOD1*), ve hücre dışı (*SOD3* veya *EC-SOD*) olmak üzere iki formu bulunmaktadır. SOD'un üçüncü formu ise mangan içeren *MnSOD* (*SOD2*)'dur. Mitokondri *MnSOD* enzimi nükleer DNA (nDNA) tarafından kodlanmakta ve mitokondriye taşınmaktadır (171).

*SOD1* 21. kromozom (21q22), *SOD2* 6. kromozom (6q25), *SOD3* ise 4. kromozomda (4p21) bulunmaktadır. *SOD2*, 5 ekzon ve 4 intron içermektedir. *SOD3* geni ekzon düzeyinde *SOD1* arasında % 40-60 arasında bir benzerlik bulunmakta fakat *SOD2* ile benzerlik bulunmamaktadır. SOD'un üç izoformunun transkripsiyonel düzenlenmesi hücre içi ve hücre dışı koşullara bağlı olarak kontrol edilmektedir. Bunların dışında ökaryotlarda bulunmayıp prokaryotlarda bulunan *Fe-SOD* mevcuttur (171).

Mangan Süperoksit Dismutaz

*MnSOD* (*SOD2*) 88 kDa ağırlığında homotetramer yapıda ve mitokondride yer alan bir enzimdir. Aktif metal kompleksi dört proteinle bağlantılıdır (171,172). *MnSOD* oksidatif fosforilasyon yan ürünü olarak oluşan süperoksit radikalini etkisiz hale getiren mitokondrideki ilk savunma enzimidir (171,172,173). Bu enzimde meydana gelebilecek



mutasyonlar birçok hastalığın patogeneğinde rol oynar. Dokuzuncu pozisyondaki Ala/Val dönüşmesi *MnSOD*'un yapısında değişikliğe neden olur ve bu durum enzimin mitokondriye girişini ve dolayısıyla fonksiyonunu etkileyebilmektedir (174-176). Bu değişikliğin parkinson ile nörodejeneratif hastalıkların yanında yaşlanmada da önemli olduğu düşünülmektedir (166). MnSOD enziminin daha az çalışması sonucu, dolaylı olarak *ROT*'un artması ile membranlarda LPO zincir reaksiyonları başlar ve membran fonksiyonlarını bozacak şekilde ilerleyebilir. Membranlarda lokalize olan birçok yapısal ve fonksiyonel protein bu olaylar zincirinden etkilenir. Özellikle taşıma ve pompa görevi yapan proteinler, *LPO*'ya bağlı değişikliklerden etkilenerek üçüncül yapılarında değişime uğrarlar. Ayrıca üçüncül yapıları değişen membran enzimlerinin aktivitesi de bu değişikliklerden etkilenir. Bütün bu değişiklikler, membran fonksiyonlarının büyük ölçüde bozulması anlamını taşır. Bu şekilde olayların meydana geldiği beyin bölgelerine göre hastalarda bilişsel, fonksiyonel, motor ve psikosomatik bozukluklar ortaya çıkabileceği ileri sürülmektedir (171). Dimitry A Chistyakov ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada tip 1 DM nöropatili hastalarda *MnSOD* ve *EC-SOD* genlerinde polimorfizimi araştırmışlar. Serbest oksijen *MnSOD* geninin c.47 CC genotipinin frenkası diyabetik nöropatik olmayan diyabetiklere nazaran, nöropati gelişen diyabetlilere göre daha düşük saptanmış. Bunun zıttı olarak T aleli ve TT genotipi kontrol grubuna göre diyabetik nöropatik hastalarda yüksek saptanmış. *MnSOD* geninde de CC genotipi Rus popülasyonunda diyabetik nöropati gelişimi ile ilgili olduğu saptanmıştır (167).

Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise GPx ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Normal koşullarda hücrede oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir. CAT'ın hidrojen peroksit oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul edilmektedir.

SOD, GPx ve CAT enzimlerinden ayrı olarak E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır.

İn vivo - hücre dışı ortamda antioksidan savunma:

Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan minör olarak enzimler,

major olarak E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin,  $\beta$  karoten,  $\text{urik asit}$ , glukoz, sistein, trakeobronşial mukus ve  $\alpha$ -1 antitripsin sorumludur (62).

Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL-kolesterol) peroksidasyonu aterosklerozun progresyonuna neden olduğu için peroksidasyonu engelleyen E vitamini hücre dışı ortamda önemli bir role sahiptir. E ve C vitamininin düşük plasma konsantrasyonları ile birlikte olan artmış myokardial infarktüs sıklığı bunu kanıtlamaktadır (68,69). Bununla birlikte C vitamini hidrojen peroksit varlığında demir veya bakır iyonlarıyla birlikte reaksiyona girerek oksidan özellik de gösterebilir. Normalde süperoksit radikali ve hidrojen peroksit hücre dışı ortamda endotel hücreleri, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından oluşturulurlar. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit özellikle serbest demir ve bakır iyonu varlığında hidroksil grubu gibi daha tehlikeli radikallere dönüşebilir. O halde organizmanın hücre dışı ortamda antioksidan savunma aracı demir ve bakır iyonlarının bağlı duruma getirilmesi olmalıdır. Buna transferrin örnek olarak verilebilir. Demir transport proteini olan transferin sağlıklı insanlarda % 20 – 30 oranında demir ile yüklüdür. Böylece plasmadaki serbest iyonik demirin etkinliği sifıra dek düşer. Transferrine bağlı demir lipid peroksidasyon işlemini yapamaz. Demir depo hastalıklarında ise düşük moleküler ağırlıklı demir iyonu kompleksleri, lipid peroksidasyonu ve hidroksil radikali işlemlerini uyararak multiorgan hasarına yol açarlar.

Hemoglobin ve miyoglobin gibi hem içeren proteinler de hidrojen peroksit varlığında lipid peroksidasyonunu iki mekanizma ile uyarabilirler (70).

1- Proteinler ve hidrojen peroksit reaksiyonu ile *OXO* - hem radikali oluşur (özellikle tirozin peroksi radikali). Bu ise lipid peroksidasyonunu uyarır.

2- Aşırı hidrojen peroksit, miyoglobin ve hemoglobine etki ederek serbest demir iyonlarının açığa çıkmasına neden olur. Serbest demir iyonları ise lipid peroksidasyonunu uyarır.

Crush sendromu gibi kas hasarlarından sonra vücut sıvılarında miyoglobin ve hemoglobin artar. Hemoglobinin haptoglobine bağlanması veya hem molekülünün hemopeksine bağlanması lipid peroksidasyonunu azaltır.

Stocker ve arkadaşları 1990 yılında yaptıkları bir çalışmada oksidatif strese maruz kalan hücrelerden açığa çıkan hem - oksijenaz enziminin oksidan özellikteki hem molekülünü

ortamdan uzaklaştırmakla kalmayıp, bilirubin gibi antioksidanları da arttırdığını savunmuşlardır (71).

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (72-74). Sürekli oksijene maruz kalan solunum yolları ve akciğerlerde bu ihtimal çok daha fazla ortaya çıkmaktadır.

Artmış Reaktif oksijen türevlerinin Zararları:

-Hücre organelleri ve membranındaki lipid ve protein yapısını bozarlar,

-Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler,

-DNA'yı tahrip ederler,

-Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar,

-Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler,

-Hücrenin potasyum kaybını arttırırlar,

-Trombosit agregasyonunu arttırırlar,

-Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar,

-Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar.

Yukarıda anlatılan ROS'nin hücresel düzeydeki etkileri sonucunda yapılan çok sayıda çalışmada sistemi ve solunum sistemi dışı birçok benign ve malign hastalığın etyopatogenezinde oksidan mekanizmalar suçlanmıştır (Tablo 3 ).

**Tablo 3:** Oksijen kaynaklı serbest radikallerin rol oynadığı patolojik durumlar

Multiorgan tutulumu	Kalp ve Kardiovasküler sistem
İltihabi ve immün hasarlar	Alkol kardiyomyopatisi
Glomerulonefritler	Selenyum eksikliği
Vaskülitler ( Hepatit B Virüsü, ilaçlar)	Atheroskleroz
Otoimmün hastalıklar	Adriyamisin kardiyotoksitesisi
İskemi-reperfüzyon sendromları	Böbrekler
İlaç ve toksin reaksiyonları	Otoimmün nefrotik sendromlar
Demir yüklenmesi	Ağır metal nefrotoksitesisi
Beslenme bozuklukları	Gastrointestinal sistem
Alkol	Endotoksinlere bağlı karaciğer hasarı
Radyasyon hasarı	Halojenli hidrokarbonlara bağlı karaciğer hasarı
Yaşlanma	Pankreatitler
Kanser	Antiinflatuarlara bağlı hasarlar
Amiloidozis	Demir zehirlenmesi
Primer tek organ tutulumu	Nekrotizan enterokolit
Eritrositler	Mide mukozası ülserleri
Fenilhidrazin	Göz
Primakin	Katarakt oluşumu
Kurşun zehirlenmesi	Oküler hemoraji
Sıtma	Dejeneratif retina hasarı
Orak hücre anemisi	Retinopatiler
Fankoni anemisi	Deri
Favizm	Güneş ışınları
Akciğerler	Termal hasarlar
Hiperbarik oksijen	Porfiriler
Erişkin respiratuar distres sendromu	Kontakt dermatitler
Amfizem	
Kimyasal ajanlar (Sigara, hava kirliliği)	
Bleomisin toksitesisi	

Yaşlılık ile oksidan sistem arasında da yakın bir ilişki olduğu artık günümüzde kabul görmüştür. Düşük düzeydeki bazı kalıcı hasarların birikerek hücreyi ve dokuları yıpratıp dejeneratif bir sürece yani yaşlanmaya yol açtığı düşünülebilir: Yaşlanmaya bu bakış açısı ile yaklaşanlar vardır. Bu görüşe destek olan kanıtlar arasında en önemli antioksidan sistemlerden olan superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin yaşlanma ile azalması; lipid peroksidasyonuna eşlik eden lipofuscin pigmentinin, bütün memeli türlerinin dokularında, ilerleyen yaşla birikmesi sayılabilir. Ancak diyet eklemesi olarak antioksidan alınmasının (E vitamini, C vitamini,  $\beta$ -karoten, Ginko biloba ekstreleri gibi) yaşlanma belirtilerini geciktirdiği veya ömrü uzattığı kanıtlanmış değildir.

Serbest radikallerin ve oksidan/antioksidan dengesizliğinin KOAH, kanser bronkopulmoner displazi, pnömokonyozis, akut sıkıntılı solunum sendromu, idiopatik pulmoner fibrozis ve bronş astımı, plörezi gibi birçok akciğer hastalığının patogeneğinde rol aldıkları ileri sürülmektedir (75,76). Serbest radikallerin rol oynadığı akciğer hastalıkları Tablo 4 te görülmektedir.

**Tablo 4:** Serbest radikallerin rol oynadığı akciğer hastalıkları

Toksik Ekzojen Ajanların Kullanımı	İnflamatuvar Hastalıklar
İyonize radyasyon	Nötrofil fagositosis
Kemoterapötik ajanlar	Konnektif doku hastalıkları
Nitrofurantoin, bleomisin	İnterstisyel pnömoni
Karbon tetraklorid	İmmün yetmezlikler
Paraquat	Aspirasyon pnömonisi
Kimyasal karsinojenler	Mycobacterium pnömonia pnömonisi
Oksijen toksisitesi	Hava Kirliliği
ARDS	Asbestos, Silika
İskemi Reperfüzyon Sendromları	Sigara
Akciğer transplantasyonu	KOAH
Pulmoner emboli	
Kardiyopulmoner bypas	

Oksidanlar lehine bir oksidan/antioksidan dengesizliği, havayolu epitel hücreslerinde direkt hasara yol açabilir. Ayrıca bu tip bir hasar anti proteazların oksidatif inaktivasyonu yoluyla dolaylı olarak da proteolitik etkide bir artış sonucu gelişebilecek akciğer bağ dokusu hasarıyla sonuçlanabilir (75-77).

Serbest radikaller direkt olarak DNA hasarı yaparak çeşitli mutasyonlara neden olduğu (*p53* tümör süpresör geninde olduğu gibi) ve bununda akciğer kanseri etiopatogenezinde rol aldığı çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (78,79).

## **2.6. Genetik Ve Polimorfizm**

İnsanlardaki kalıtsal genetik kusurlar (mutasyonlar), kimyasalları aktive eden ve detoksifiye eden enzimlerin yapısını ve ifade edilme düzeyini (karsinojen metabolizmasını) etkileyen kişisel genetik farklılıklar, DNA hasarının onarım kapasitesini etkileyen polimorfik/genetik değişiklikler, kanser riskini arttırabilen başlıca genetik faktörlerdir.

Polimorfizmlere mutasyonlardan daha sık rastlanır. Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkta bulunan genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipi, tek nükleotit polimorfizmidir (SNP). Genomda binlerce aday polimorfik genin bulunması ve genomunda bu farklılıkları taşıyan kişilerin kanser gelişimine olan duyarlılıklarını etkileyebilecek olması pek çok araştırmacıyı bu çalışma alanına sürüklemektedir.

### **2.6.1. Sitokinlerin genetik özellikleri**

Th1 (proenflamatuvar) ve Th2 (anti-enflamatuvar) hücreler tarafından üretilen sitokinler pek çok infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların patolojisine etki etmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki alellik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkar. Son yıllarda giderek artan sayıda infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıklarda dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar ile sitokinler arası ilişkiyi kapsayan çalışmalar bildirilmiştir. İnsan hastalıklarında rasyonel sitokin gen polimorfizm çalışmaları ana başlıklar halinde özetlenmektedir.

Muhtemel belirteçlerin klinik olarak hastalığın ortaya çıkışı ve şiddetine etkisinin tanımlanması. Muhtemel belirteçlerin, tedaviye yanıt ve yanıtızsızlıktaki etkileri. Hastalıkların tedavisi için hedeflerin belirlenmesi. Hastalıkların önlenmesi için yeni stratejilerin belirlenmesi (aşılar vb).

Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri bireysel farklılık göstermekte; bu farklılık gen düzenleyici bölgelerdeki allelik polimorfizmlerle açıklanmaktadır. Sitokin gen polimorfizmleri ile insanlarda hastalık gelişimini içeren çalışmalar iki başlıkta ele alınabilir (108).

### **2.6.2. Gen Mutasyonu**

DNA nükleolid diziliminde veya dizinimdeki değişiklikler mutasyon olarak tarif edilir ve mutasyonlar başlıca üç kategoriye ayrılır: 1- Kromozom sayısını etkileyen mutasyonlar, 2- Kromozomun yapısını etkileyen mutasyonlar ve 3- Genleri etkileyen. DNA sekanslarındaki gen mutasyonları tek nükleik asit değişimlerinden binlerce baz çiftini etkileyecek değişimlere kadar uzanır. DNA sekanslarındaki bu değişimler yüksek çözünürlüklü genetik analizlerle görülemeyecek kadar küçüktür ve özel teknikler gerektirir. Genlerdeki nükleotid değişimleri gen ekspresyonunun tamamen kaybına, varyant protein ekspresyonuna veya tamamen normal fenotipik değişikliklere neden olabilir, DNA'daki baz çiftlerinin yer değiştirmesi (substitusyonu) başlıca iki mekanizma ile oluşabilir: 1- DNA'nın normal replikasyonu sırasında oluşan hatalar 2- DNA hasarının tamirinin yapılamamasından oluşan hatalar. Bazı mutasyonlar spontan olarak bazıları ise fiziksel veya kimyasal mutajenler aracılığı ile oluşur.

### **2.6.3. Mutasyonların Moleküler Temeli ve Belirlenmesi**

Bir genin özgün bir kromozom bölgesinde (lokus) veya DNA dizisinin birkaç alternatif formundan her birine "alel" denir. İnsanlar her otozomal lokusunda biri anneden, diğeri babadan gelen iki alel bulundurur. Farklı genom lokuslarındaki allellerde çok çeşitli mutasyonlar bulunmaktadır. Bu mutasyonlar toplumda normalin varyasyonundan kalıtsal hastalıklara kadar uzanmaktadır. Günümüzdeki rutin moleküler teknikler ile birçok genetik hastalıktaki mutasyonlar kolaylıkla belirlenebilmektedir. Toplumdaki farklı mutasyonların

tanımlanması ile ailelerin genetik hastalıklar açısından taranması ve geniş popülasyonların risklerinin belirlenmesi mümkün olabilmektedir.

#### **2.6.4. Genetik Polimorfizm**

Bir lokusta birden fazla allelin bulunması şeklindeki DNA nükleotid değişimlerine polimorfizm adı verilir. Allellerin genel popülasyondaki kromozomların %1'inden fazlasında bulunması " genetik polimorfizmi" oluşturur. Alelik sıklığı %1'den küçük ise buna "nadir varyantlar" denir. Genlerin düzenleyici bölgelerinde bulunan polimorfik alleller genlerin transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek fenotipik değişikliklere neden olabilir.

#### **2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

PCR, herhangi bir DNA fragmanının iki oligonükleotid primer arasındaki kısmının çoğaltılması için ezimatik bir metottur. Primerlerin bir tanesi bir zincire komplementer iken, diğeri diğeri zincire komplementerdir ve her ikisi de bir DNA bölgesinin çoğaltılmasında kullanılır.

DNA ısı ile denatüre edilir ve primer hibridizasyonun ardından DNA polimeraz ile hızlı bir şekilde çoğaltılır.

Tek yumurta ikizleri hariç, tüm insanlar DNA'larının içerdiği genetik bilgilerinde küçük farklılıklar taşırlar ve bu farklılıklar herkesi "eşsiz" yapar. Bu farklılıklara varyasyon deriz. Eğer bu varyasyonlar Akdeniz anemisi, ya da fenilketonüri hastalıklarında olduğu gibi doğrudan bir hastalığa yol açıyorsa buna "mutasyon" denir. Mutasyonlar, toplumun %1'inden daha nadir görülen genetik değişikliklerdir. Eğer bir varyasyon toplumun %1'inden daha çoğunda görülüyorsa ve bireyler arasında bir fiziksel farklılık, hastalıklara yatkınlık veya direnç açısından bir farklılık yaratıyorsa buna "polimorfizm" denir. Polimorfizmler doğrudan hastalıklara yol açmazlar.

SNP'lerin yanı sıra, delesyon/insersiyon adı verilen polimorfizmler de bulunmaktadır. Bu polimorfizmlerde genin bir kısmı veya tamamının kaybı söz konusudur. Bu durumda genin kaybına "delesyon", eklenmesine versiyonuna ise "insersiyon" adı verilmektedir.



Polimorfizmlerin varlığı, insan türünün doğal bir özelliğidir. Bugün artık ülkemizde de analiz edilebilen bazı varyasyonlar da, kişinin beslenme alışkanlıklarıyla ve yaşam biçimiyle etkileşerek sağlığını etkileyen ancak kendi başlarına bir hastalığa neden olmayan varyasyonlardır. Aslında bazıları belirli süreçlerde ortalama bir işlevden daha iyisini sağlayabilirler.

Polimorfizmler, genetik kodda meydana gelen küçük değişikliklerdir ve toplumun en az % 1'inde görülürler. Polimorfizmlerin varlığı, insan türünün doğal bir özelliğidir. İnsanların genetik yapılarının binde 999'u aynıdır. Bizi birbirimizden ayıran ve benzersiz kılan özelliklerimiz binde birlik genetik farklılığımızdan dolayıdır. İşte bu farklılıklar polimorfizmlerden kaynaklanır.

Beslenme alışkanlıklarımızla ve yaşam biçimimizle etkileşerek sağlığımızı etkileyen ancak kendi başlarına bir hastalığa neden olmayan varyasyonlardır.

Polimorfizmler bir insan ömrü içerisinde oluşmazlar. Kişinin genetik yapısı doğduğunda nasılsa öldüğünde de öyledir. Polimorfizmler binlerce yıl içerisinde oluşmuş ve atalarımızdan miras kalan genetik özelliklerimizdir.

Çoğu zaman gen varyasyonlarının vücudumuz veya sağlığımız üzerine herhangi bir etkisi yoktur, hatta bazı durumlarda bu varyasyonlar yararlı bile olabilir. Bazen bir varyasyon genin biraz değişmiş bir mesajı hücreye göndermesine neden olabilir. Yanlış mesajın alınması, hücrenin tam anlamıyla çalışmayan bir ürün - örneğin bir enzim- üretmesine neden olabilir. Bu değişik ürün, örneğin enzim vücut için uygun olandan daha yavaş veya daha hızlı çalışabilir. Sağlıksız beslenme alışkanlıkları veya yaşam tarzı ile birlikte, böyle bir gen varyasyonu kişiyi sağlık sorunlarının gelişmesine daha yatkın yapabilir. Var olan genetik varyasyonları hesaba katarak yapılan önerilerle sağlığınızı koruyabilir ve geliştirebilirsiniz.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Kan örnekleri:

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğinde asbeste bağlı plevral plak saptanmış bireylerden ve aynı yaş grubunda asbeste maruz kalan ancak hastalık gelişmeyen bireylerden 2'şer ml EDTA'lı tam kan alındı ve kanlar DNA izolasyonuna kadar -20°C'de stoklandı.

#### 3.2. DNA İzolasyonu:

DNA, EDTA'lı kanlarda tuzla çöktürme (salting out) tekniğine göre izole edildi. Konsantrasyon ayarlaması yapıldıktan sonra PCR'da kullanılana kadar -20°C'de korundu. PCR'da her hasta için 30 ng DNA kullanıldı.

#### 3.3. Primerler:

NM\_000636.2 *SOD2* (Manganese Superoxide dismutase) geni 1. eksonu üzerinde c.47T>C (rs4880, *Bsa*WI) ve NM\_003102.2 *SOD3* (Extracellular Superoxide dismutase) geni 2. eksonu üzerinde c.172G>A (rs2536512, *Bss*HII) polimorfik noktalarının genotip ve allel bölgelerini belirlemek üzere 4 adet primer kullanıldı (Tablo 5).

**Tablo 5:** Çalışmada kullanılan *SOD2* ve *SOD3* genlerine ait primer dizileri

SNP'ler	Primer dizileri	PCR ürünü (bp)
<i>SOD2</i> geni c.47T>C	5'-GCTGTGCTTTCTCGTCTTCAG-3' 5'-TGGTACTTCTCCTCGGTGACG-3'	207
<i>SOD3</i> geni c.172G>A	5'-GACATGTACGCCAAGGTCAC-3' 5'-AACTGGTGACGTGGATG-3'	245

#### 3.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu):

*SOD2* ve *SOD3* genleri üzerinde seçilen c.47T>C ve c.172G>A polimorfizmlerinin durumlarını belirlemek üzere DNA, seçilen primerler varlığında PCR metodu ile amplifikasyondan sonra RFLP metodu ile analiz edildi.

Her iki polimorfik bölge için DNA ayrı ayrı; 1xPCR tamponu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 µM primerler (polimorfik yere göre seçilen forward, diğeri reverse primer), 200 µM dNTP'lar, 30 ng genomik DNA, 0.5 U Taq DNA polimeraz içeren 10µl'lik reaksiyon karışımında amplifiye edildi. c.47T>C polimorfik yeri için PCR programı; 3 dakika süre ve 94°C'de ilk denaturasyonun ardından 35 siklus 94°C'de 30 sn, 59°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn boyunca ve final tamamlama için 72°C'de 5 dakika boyunca uygulandı. c.172G>A polimorfik alanları için uygulanacak PCR programları bir önceki polimorfik yerin PCR programı ile aynı, ancak annealing sıcaklığı 57°C olarak tatbik edildi.

### **3.5. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Analizi:**

c.47T>C ve c.172G>A polimorfik noktaları için elde edilen 10µl'lik PCR ürünleri 30µl restriksiyon endonükleaz karışımı içinde ilgili restriksiyon endonükleazlar tarafından kesime tabii tutuldu. c.47T>C PCR ürünü *BsawI* ve c.172G>A PCR ürünü *BssHII* enzimleriyle işlem gördü.

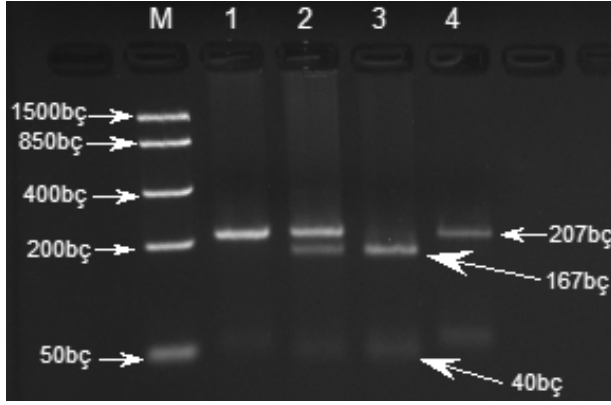
### **3.6. Elektroforez:**

Kesilen PCR ürünleri; 10mM Lithium Borat tamponunda hazırlanan ve içinde 0.5 µg/ml EtBr (Etidyum Bromid) bulunan %2'lik agaroz jelinde DNA Marker'i (1500-50bç) varlığında yürütüldü.

### **3.7. Değerlendirme:**

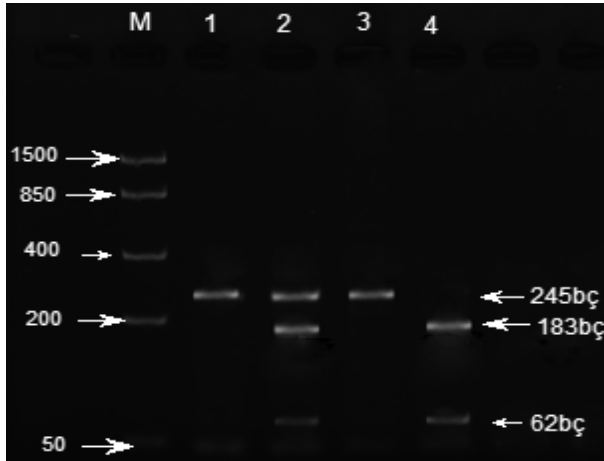
Elektroforez sonrası, tüm jellerde bulunan DNA bandları, DNA markerleri varlığında Jel dökümantasyon ve analiz sistemi ile analiz edilerek ve fotoğrafları çekildi.

Buna göre PCR-RFLP analizinin yapıldığı c.47T>C polimorfik alanı için DNA band büyüklükleri TT genotipi için 167 ve 40 bp; TC genotipi için 207, 167 ve 40bp, ve CC genotipi için 207 bp büyüklükler dikkate alındı.



**Şekil 1.** *SOD2* geni c.47T>C polimorfik noktasının *Bsa*WI restriksiyon profili. M: DNA ladder (1500-50bç), 1: kesilmemiş PCR ürünü, 2: heterozigot (CT), 3: homozigot (TT, normal), 4: homozigot (CC, polimorfik).

RFLP analizi sonucu c.172G>A polimorfik alanın genotiplenmesinde; GG genotipi 183 ve 62bp; GA genotipi 245, 183 ve 62bp, AA genotipi 245bp olarak değerlendirildi.



**Şekil 2.** *SOD3* geni c.172G>A polimorfik noktasının *Bss*HIII restriksiyon profili. M: DNA ladder (1500-50bç), 1: kesilmemiş PCR ürünü, 2: heterozigot (GA), 3: homozigot (AA, polimorfik), 4: homozigot (GG, normal).

Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen genotip ve alel oranları Hardy-Weinberg Prensibi ve SPSS istatistik programı kullanılarak Fisher's Exact Testi ile değerlendirildi. Demografik verilerden yaş ortalamaları Student's t-testi ve diğer veriler ise Ki-Kare ( $X^2$ -testi) testi ile karşılaştırıldı. P değeri 0.05'ten düşük olanlar anlamlı olarak değerlendirildi.

#### 4. BULGULAR

Kırksekiz asbest hastası ve 48 asbeste maruziyeti olan kişinin DNA'larında *SOD2* ve *SOD3* gen polimorfizmleri *PCR-RFLP* tekniği ile tarandı. Hasta ve asbeste maruz kişilerden elde edilen genotip ve alel oranlarının Hardy-Weinberg yasasına uyduğu belirlendi ( $p>0.05$ ).

Hasta ve asbeste maruz kalan kişilerin demografik verileri karşılaştırıldığında yaş ortalamasının, ve hipertansiyon sıklığının asbestli hastalarda maruziyete rağmen hastalık gelişmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Ancak cinsiyet, meslek, diyabet ve sigara içme alışkanlığı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. ( $p >0.05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6:** Asbeste bağlı plevral plak gelişen hastaların ve kontrol grubunun demografik verileri.

	Asbestli hastalar (n=48)	Kontrol (n=48)	P değeri
<b>Cinsiyet (K/E)</b>	18/30	16/32	0.670
<b>Yaş (yıl)</b>	58.8 ± 11.5	52.4 ± 10.3	0.005
<b>Meslek</b>			0.283
Çiftçi	21	28	
Ev Hanımı	26	18	
Memur	1	2	
<b>Maruziyet süresi</b>	38 ± 14	37 ± 10	0.720
<b>Diyabet</b>	7	5	0.537
<b>Sigara</b>	9	9	1.000
<b>Hipertansiyon</b>	16	7	0.031

Değerler, ortalama ± standart sapma, E: erkek, K: kadın.

Hastalık gelişen ve sadece maruziyeti olan grupta *PCR-RFLP* sonucuna göre, genotip ve alel frekansları Fisher's exact testi ile karşılaştırıldı. *SOD2* geni c.47 CC genotipi ( $p=1.000$ ) ve *SOD3* geni c.172 AA genotip ( $p=0.779$ ) oranlarının hasta ve asbeste maruz olan kişiler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bunun yanında *SOD2* geni c.47 polimorfizmi C aleli ( $p=0.562$ ) ile *SOD3* geni c.172 polimorfizmi A aleli ( $p=1.000$ ) frekansları her iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5).

**Tablo 7:** Asbeste bağılı plevral plak gelişen hastaların ve kontrol grubunun *SOD2* geni c.47T>C ve *SOD3* geni c.172G>A polimorfizm dağılımları.

SNP Genotip/Allele	Asbest hastaları (n=48)	Sağlıklı kontrol (n=48)	X <sup>2</sup>	OR (95% CI)	p-değeri
<b>Mn-SOD geni c.47T&gt;C</b>					
<b>Genotipler</b>					
TT	10(%29.8)	14 (%29.2)	0.881	Referans	Referans
TC	30(%62.5)	26 (%54.2)	0.686	1.410 (0.624-3.185)	0.408
CC	8 (%16.7)	8 (%16.7)	0.000	1.000 (0.342-2.926)	1.000
<b>Alleller</b>					
T	50 (%52.1)	54 (%56.3)	0.336	Referans	
C	46 (%47.9)	42 (%43.8)	0.336	1.183 (0.670-2.088)	0.562
<b>Ec-SOD geni c.172G&gt;A</b>					
<b>Genotipler</b>					
GG	12 (%25.0)	13 (%27.1)	0.054	Referans	Referans
GA	29 (%60.4)	27 (%56.3)	0.171	0.897 (0.527-2.675)	0.679
AA	7 (%14.6)	8 (%16.7)	0.079	0.854 (0.283-2.575)	0.779
<b>Alleller</b>					
G	53 (%55.2)	53 (%55.2)	0.000	Referans	Referans
A	43 (%44.8)	43 (%44.8)	0.000	1.000 (0.566-1.766)	1.000

Kısaltmalar: X<sup>2</sup>= Ki-Kare, OR = Odds ratio, CI = güven aralığı, SNP = Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi).

Asbeste bağılı plevral plak gelişen hastalarının polimorfik olan ve olmayanları arasında demografik ve klinik verilerin anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla Student's t-testi ve X<sup>2</sup> testleri uygulandığında; sadece diyabet ve sigaranın *SOD3* geni c.172G>A polimorfizmi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi (Tablo 8).

**Tablo 8:** *SOD2* ve *SOD3* genleri için polimorfik olan ve olmayan asbeste bağılı PK' lı hastalarının demografik ve klinik profilleri

	<i>SOD2</i> geni c.47T>C			<i>SOD3</i> geni c.172G>A		
	TT	CC	p-değeri	GG	AA	p-değeri
Genotip	TT	CC	p-değeri	GG	AA	p-değeri
Bireyler (n)	10	8		12	7	
Cinsiyet (K/E)	3/7	3/5	0.737	5/7	4/3	0.515
Yaş (yıl)	59.7±12.9	61.1±10.4	0.804	57.0±7.5	57.9±10.8	0.840
Meslek	3çiftçi	4	0.512	6	4	0.731
	6ev hanımı	4		1	0	
	1memur	0		5	3	
Maruziyet süresi						
Diyabet	2	2	0.800	1	3	0.075
Sigara	1	2	0.396	0	4	0.003
Hipertansiyon	3	3	0.737	3	3	0.419

Değerler, ortalama ± standart sapma, TT (*Bsa*WI) ve GG (*Bss*HII) genotipleri: yabani tip (polimorfik değil), CC (*Bsa*WI) ve AA (*Bss*HII) genotipleri: polimorfik.

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde hastalıkların patofizyolojilerinin araştırılması ve hücrelerdeki moleküler değişimlerin incelenmesi oldukça önemli sonuçların ortaya çıkmasına öncülük etmektedir. Toplumlar arasındaki epidemiyolojik farklılıkların nedeninin incelenmesi genetik özelliklerimizin ve bireysel hastalık yaklaşımının araştırılmasının bu farklılığı göstermede önemli olabileceğini ortaya koymaktadır. Çevre, beslenme, günlük alışkanlıklarımızın yanı sıra genetik yapımız, hastalıklara yakalanma, uygulanabilecek tedavi seçenekleri ve tedaviye cevabın belirlenmesinde yol gösterici olabilir (164).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar esnasında, bazı ırklarda bazı hastalıkların görülme insidansının yüksek olması, beslenme ve yaşam şekli ile ilgili olduğu ama daha fazla faktöründe olması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, populasyonların gen havuzlarında görülen tek nokta mutasyonlarının, ırklar arasında, hastalıklara daha yatkın olma nedeni olup olamayacağı tartışılmaktadır. Bundan önceki çalışmalarda birçok bilim adamı, örneğin antioksidan sistemin vazgeçilmez bir parçası olan *SOD* enzimideki tek nükleotidlik değişimlerin, meme kanseri, prostat kanseri, şizofreni ve birçok otoimmün hastalık için önemli bir neden olabileceğini göstermişlerdir (146,147). Ancak sadece tek nokta mutasyonunun kuşaklar arasında aktarımı değil aynı zamanda oluşan mutasyonun proteinin önemli bir bölgesinde oluşması ve protein için disfonksiyonel bir neden olması gerekmektedir. Bu mutasyonlar sanıldığı kadar zor oluşan durumlar değildir. Bir yetişkin için her 20 dakikada bir vücudunun herhangi bir hücresinin herhangi bir gen bölgesinde mutasyon oluşabilmekte ve bu mutasyon, DNA'nın üstün kendini yenileme mekanizması ile tamir edilmektedir. Ancak her mutasyon yenilenemeyebilir ve genom içerisinde bu mutasyon, nesillere geçirilebilir nitelik kazanabilmektedir. Aslında, sistem öylesine komplekstir ki, tek bir nokta mutasyonun, ölümcül bir protein mutasyonu haline dönüşebilmesi için sayısız işlemin gerçekleşmesi gerekmektedir. Bir diğer unsur, insan organizmasının diploid olma koşuludur. Anne ve babadan gelen alellerin üzerinde taşınan bu mutasyonlar her zaman taşınsa bile önemli bir sorun meydana getirmeyebilir. Örneğin, anne tarafından verilen herhangi bir tek nokta mutasyonu, baba tarafından taşınmıyor ise heterozigot bir karakteri oluşturacak ve mutant protein yerine normal olanı da sentezlenecektir. Araştırmacılar için hangi gen ve hangi mutasyon çalışılması sorusu bu yüzden çok önemli bir soru haline gelmektedir. Yapılan üç boyutlu protein çalışmalarında, proteinlerin aktif katalitik bölgelerindeki

mutasyonların zaten proteinin sentezlenmemesi için bir neden olduğu ve bunun hücreler tarafından düzeltilinceye kadar mümkün olabildiğince sentezlenmediği bilinmektedir. Ancak sistem üzerindeki birden fazla sorun, pozitif ve negatif cevap mekanizmasındaki herhangi bir sistematik yanlışlığa dönüştüğü zaman hastalık patofizyolosinde, tek nokta mutasyonlarının rolünün araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır(165,174).

Antioksidan sistem molekülleri; SOD, katalaz, peroksidazların görevi, sistem tarafından her nefes alış verişimizde, sigara ile her nefesimizi içimize çekişte, stres, sinirlilik, trafik yorgunluğu ile sistemde meydana gelen elektron açıklarını kapatmak için çalışmaktadırlar. Örneğin akciğer epitel hücrelerinde, sigara içen bireylerde her sigaradan bir nefes içimize çektiğimizde 10.000.000.000 radikal oksijen türleri meydana gelmektedir. Bu nedenle bu proteinlerin düzgün transkripsiyon ve translasyonları sağlıklı yaşam için çok önemlidir. Sistemde antioksidan moleküllerin yanı sıra, vitamin E, diyetle almış olduğumuz birçok bitkisel içerik (rezveratrol, quercetin vb) aynı rolü oynamaktadır. SOD bu sistemin ilk molekülü olup, iki tane süperoksit molekülünden, hidrojen peroksit ve su yapımını sağlamaktadır. Hidrojen peroksit daha sonra katalaz ve peroksidazlarca su ve oksijene çevrilmektedir. Buradan anlaşılabilceği üzere, ne kadar çok SOD üretilirse o kadar radikal oksijen türlerine karşı direnç sağlanabilmektedir. Ancak enzim aktivasyonu ya da üretimi esnasında herhangi bir dengesizlik meydana gelirse bu sistem üzerinde problemler meydana gelecektir. Çünkü sitokinlerin yüksek düzeyde sentezlenmesi ve SOD aktivitesinin azalması, artan radikal oksijen türlerinin miktarı için bir açıklama olabilir.

Asbeste bağlı akciğerin benign ve malign hastalıkları da dahil olmak üzere solunum sisteminin birçok hastalığında oksidan ve antioksidan sistemde sorunlar olduğunu gösteren çok sayıda çalışma vardır (82,83,89,90,147,148,152,153). Ancak asbeste bağlı oluşan akciğer hastalıklarında oksidan-antioksidan markerların doğuştan gelen defektleri ile ilgili yapılmış çalışma sayısı çok azdır

Hücreyi serbest radikallerin toksik etkilerinden koruyan antioksidan enzim sistemi süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (*CAT*) başta olmak üzere glutatyon peroksidaz (GSH-PX), glutatyon redüktaz (GR) ve sülfhidril grubu içeren bileşiklerdir (150,151). Son 15 yılda yapılan çalışmalarda tümör hücrelerinde antioksidan enzim aktivitesine, özellikle SOD aktivitesine özel bir dikkat gösterildiği görülmektedir. Birçok olguda normal ve malign hücreler arasında SOD aktivitesinde belirgin farklılık tespit edilmiştir (152,153).



Aktif akciğer tüberkülozunda serbest radikal aktivitesinin yüksek olduğu ve bunun fibrozis gelişiminde bir rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır (81). Nodüler tüberkülozlularda SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı, infiltratif ve miliyer tüberkülozun dağılma evresinde SOD aktivitesinin belirgin olarak azaldığı ve dağılma olmadığında SOD aktivitesinin biraz arttığı gözlenmiştir (82,83). Astım gibi havayollarının inflamatuvar hastalıklarında, oksidan stresin artan oksidan ve/veya azalan antioksidan sistem etkinliğine bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir (84,85,86). Bronş kanserli ve malign plevral mezotelyomalı hastalarda plazma lipid peroksit düzeylerini kontrol olgularına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (89,90,147). Yapılan çalışmalarda KOAH ve astım akut alevlenme döneminde MDA düzeylerini stabil döneme göre daha yüksek bulunmuştur (75,103).Yapılan birçok çalışmada astımlı çocuklarda, antiinflamatuvar tedavi ile RO türevleri düzeylerinin düştüğünü saptamışlardır (100- 106). Ayrıca bir çalışmada Serum TAK seviyesi tedavi edilmemiş AC Tbc li hastalarda, OSAS ve kistik fibrozislilerde normalden düşük olarak saptanmış (104). Akciğer kanserli hastalarda Gencer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada oksidatif stresin arttığı ve bu artışın prognozu daha kötü olan küçük hücreli kanserlerde daha fazla olduğu saptanmışlar (107). Bronkoalveolar lavajla (BAL) kanserli hastalarda *SOD* ve katalaz aktivitesinde anlamlı düşüş tespit edilmiştir (158-161). Karsinomada *SOD* aktivitesinin oldukça anlamlı olarak düştüğünü göstermiştir (156). İnsan akciğer kanseri dokusunda SOD ve katalaz aktivitesinde düşüş ve DNA lezyon düzeyinde artış tespit ederek olası kanser sebebinin serbest radikaller olabileceğini belirten çalışmalar vardır (157,162). Akciğer kanserli hastalarda yapılan diğer bir çalışmada hem serum hem de doku MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Ancak her iki grup arasında doku ve serum SOD ve glutasyon reduktaz enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (149). Peskin ve arkadaşları akciğer karsinomuna yönelik yaptıkları bir çalışmada sitozolik SOD aktivitesinin normal homolog dokuya oranla 0.1-1.2 oranında azaldığını tespit etmişlerdir. (154,155)

Antioksidanlar, muhtemel kanserojenlerin etkisine karşı önemli bir rol oynarlar. Ho ve ark. bu konuyla ilgili olarak, katalaz geninin promotör bölgesinde ortak olan *Val116Ala* *MnSOD* gen polimorfizmi ve T>C (Timin>Sitozin) substitisyonunun, Hong Kong'daki Çinliler üzerinde akciğer kanseri riskini arttırmadığı veya redüklemediğini belirtmişlerdir (177). Young ve ark.'nın çalışmalarında, KOAH gelişmemiş dirençli sigara kullanıcılarında 213 *SOD3* polimorfizminin CG/GG (Sitozinguinin/Guaninguanin) genotipi ve G alelinin

frekansını, KOAH'lı olan sigara kullanıcılarına göre önemli ölçüde yüksek bulmuşlar (178). Astımın patojenezinde de ROT'i etkili olabilmektedir. Mak ve ark. bu konuyla alakalı olarak, c.47T>C'deki *MnSOD*'un T aleli ve A-21T'deki katalaz geninin A alleli kontrol ve hasta grupları arasında farklılık göstermezken, C-262T'deki katalaz geninin C allelinin hasta ve kontrol grupları arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığı zaman, astım hastalarında *SOD* ve katalaz aktivitelerinin artmış olduğu gözlenmiştir (148). Tuğcu ve ark, *MnSOD* gen polimorfizmi ile ürolitiyaz riski arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve kontrol grubunda homozigot Ala aleli, hasta grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek bulmuşlardır (144). Yüce ve ark. çalışmalarında, *Mn-SOD* enziminin polimorfizmi ve pseudoeksfolyasyon sendromu ile ilişkili olarak, pseudoeksfolyasyon bulunan hastalarda *Mn-SOD* gen polimorfizmi için önemli bir modifiye rol üstlenmediğini ortaya koymuştur (41). Mitrunen ve ark. Çalışmalarında, varyant A alelini içeren *MnSOD* genotiplerinin, wild tip homozigot genotipler (*MnSOD* TT) ile karşılaştırıldığında göğüs kanseri riskini 1.5 kat arttırdığını belirtmişlerdir. Olguta ve ark'nın yaptığı bir araştırmada Romanya toplumunda aterom ile ekstra sellüler *ECSOD* polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamamıştır (170). Sun ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada alkol ve sigara içen özofagus kanserli hastalarda *MnSOD* gen polimorfizmini araştırmışlar ve anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (171).

Kinnula ve arkadaşlarının yaptığı astım hastası Finli ailelerdeki *SOD* genlerinin iki fonksiyonel değişkeni adlı çalışmada, çalışılan *SOD* genetik varyantlarından hiçbiri astım gelişiminde major genetik düzenleyici olarak görülmemiş. Ayrıca *SOD1* geninin fonksiyonel olarak önemli *Ala16Val* ve *Arg213Gly* varyantlarının astımın genetik yatkınlığında major bir rol oynaması pek muhtemel olmadığını belirtmişlerdir. (172)

Akyol ve arkadaşları son 10 yıldaki DNA onarım sürecinde veya xenobiyotik ve oksidatif metabolizmaya dahil olan genlerdeki polimorfizm akciğer ve plevra hastalıklarının etiyoloji ve patojenezinde önemli rol oynayabileceklerini belirten 24 çalışmayı gözden geçirmişler ve asbest fiberlere maruz kalmanın plevral mezotelyoma, akciğer kanseri ve plevral plaklar gibi neoplastik olmayan diğer durumlar için büyük bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir. En sık çalışılan *GSTM1* polimorfizmi asbest ile ilgili tüm hastalıklar için null genotipi ile ilgili artan bir risk gösterdiğini, muhtemelen bu *GSTM1* in ROT'nin birleşimindeki rolü ile ilgili olduğunu belirtmişler. *GSTT1* null ve *SOD2* c.47T>C polimorfizimlerine odaklanan araştırmalar çelişkili sonuçlar vermişler, fakat asbestozisdeki

alfa1 antitripsin ve akciğer kanserindeki *MPO* üzerine yapılan çalışmaların sonuçlarının daha anlamlı olduğunu. *MPM* riski ile ilgili genetik çalışmalar arasında *GSTM1* null genotipi ve 2 *VRCC1* ve *VRCC3* ve değişken alelleri araştırmalarda artan risk gösterdiğini, *NAT2* asetiletor sütatüs, *SOD2* polimorfizm ve *EPHX* aktivitesi için sonuçların çelişkili olduğunu belirtmişlerdir (166).

Hastalıkların gelişiminde çevresel ve mesleki faktörler ile genetik faktörlerin etkisi ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Hem çevresel hem de mesleki olarak maruziyeti söz konusu olan asbeste bağlı hastalıklarda genetik altyapının rolü ile ilgili çalışmalar da vardır. Asbeste maruz kalan hastalar üzerinde farklı markerların yanında birçok genetik polimorfizm çalışılmış ve bu polimorfizmlerin asbeste maruz kalanlarda hastalık gelişiminde etkili olup olmadığı araştırılmıştır. GST polimorfizmi M1, T1, P1 (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*), *MnSOD* asbestli hastalarda en sık çalışılmış polimorfizmlerdir (166).

Franko ve arkadaşları asbestozisli hastalarda katalaz enzim genetik polimorfizmini çalışmış ve çalışmanın sonucunda *CAT* 262 geno tipine sahip bireylerin artmış asbestozis riski ile ilişkilendilebileceğini söylemişlerdir. Ancak bu bulguyu net olarak ortaya koyabilmek için daha geniş grupların katılımının olduğu ve *CAT* genotip-fenotip ilişkisini araştıran başka çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir (168).

Kelsey ve arkadaşları asbestosiste *GST* enzim polimorfizmini araştırmışlar, *GST*'deki polimorfizmlerle ilişkili pulmoner fibrozis tablosunun bu izoforma özgü olduğu gözlemlenmiştir. Yeni açıklanan *GST* polimorfizmine ait delesyonu daha önce gözlenen *GST* M1 delesyonuna bağlı İLO klasifikasyonunda belirtilen majör parankimal hastalığının birlikte görülme olasılığını değiştirmemiştir. Ancak *GSTM1* delesyonu ve asbest maruziyeti neticesinde radyografide gözlenen interstisyel değişiklikler araştırma sonuçları ile uyuşmuyor. Aynı zamanda verilerle *GSTI* delesyonu ve asbestozis arasında bağlantı bulunmaktadır.

Jakupson ve ark. çalışmasında da asbest işçilerinin PA akciğer grafilerindeki bulgularla *GSTM1* gen mutasyonu arasında çelişki görülmüştür. Bu çelişki az sayıda gözlemlenen ve çalışılan deneklerle ilişkilendirilmiş ve bu durum *GSTI* mutasyonu ile asbestozis ilişkisini açıklamada yetersiz olabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Etkene maruziyetle radyografik değişiklikler sadece baz alınmamalı asbest maruziyetine bağlı radyografik değişikliklerle *GSTM1* ile ilişkisini daha net ortaya koyan araştırmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir (169).

Literatür değerlendirildiğinde asbestle ilgili çalışmaların çoğunda farklı parametrelerin aktiviteleri ve bu indikatörlerin polimorfizmlerinin çalışıldığı görölmüştür. Bu çalışmalarda asbestli hastalarda önemli antioksidan markerlerden *SOD* polimorfizmi ile ilgili çalışma sayısı sınırlıdır. Ayrıca bu çalışmalarda asbest maruziyetine bağlı akciğer hastalığı gelişmesinde genetik faktörlerin etkisi ile ilgili net bir sonuç yoktur. Bizim alışmamızda, asbeste maruz kalan gruplardan asbest plağı gelişen hasta grubunda *SOD2* ve *SOD3* polimorfizmi sıklığında bir artış olmadığı saptandı. Bu sonuç şüphesiz hasta sayımızın azlığından kaynaklanabilir. Ancak aynı demografik özelliklere sahip ve aynı ortamlarda benzer şekilde çevresel asbeste maruz kalan bireylerin bir kısmında hastalık gelişip bir kısmında hastalık gelişmemesi cevaplanması gereken bir sorudur. Bu sorunun cevabını bulmak için daha geniş ve farklı çalışmaların gerekliliği açıktır. Burada genetik faktörler dışında başka faktörler de araştırılabilir. Ancak genetik faktörler de sadece *SOD2* ve *SOD3* polimorfizminden ibaret değildir. Çok sayıda oksidan ve antioksidan faktörün bu farklılıkta etkisi olabileceği gibi oksidan antioksidan dışı birçok genetik defektin bu fark üzerinde etkisi olabilir. Oksidan-antioksidan dengenin bozulmasının etyopatogenezinde önemli yeri olan kanser, KOAH ve astım gibi hastalıklarda bile yukarıda bahsedildiği gibi bazı çalışmalarda *SOD* polimorfizmi ile ilgili anlamlı sonuç bulunamamıştır. Ayrıca hasta grubumuzun belli coğrafik bölgedeki benzer etnik bireylerden oluşmasının sonuçlarımız üzerinde etkisi de olabilir.

Öte yandan, çalışmamızdaki hasta grubu asbeste bağlı benign plevral plaklar taşıyan hastalardan oluşmaktaydı. Bu plakların malignite riski taşımadığı, yine akciğer parankiminde belirgin bir fibrozis ve inflamasyonun eşlik etmediği bilinmektedir. Oksidan antioksidan parametrelerin en çok ilişkilendirildiği malign formasyon, fibrozis ve inflamasyon tablosunun eşlik etmemesi *SOD* başta olmak üzere oksidan-antioksidanların plevral plak oluşumundaki etkilerini kısıtlıyor olabilir.

## SONUÇ

Asbest maruziyetine bağlı akciğerlerde hastalık oluşup oluşmamasındaki sorumlu faktörlerden özellikle genetik altyapının payını anlamak amacıyla bu çalışmayı yaptık. Birçok hastalığın etyopatogenezinde oksidan-antioksidan faktörler suçlansa da biz çalışmamızda araştırmış olduğumuz *SOD2* ve *SOD3* polimorfizm sıklığında asbeste maruz kalıp plevral asbest plakları gelişenlerle asbeste maruz kalıp herhangi bir akciğer hastalığı gelişmeyenler arasında anlamlı bir fark saptamadık. Bu sonuç asbest maruziyetine bağlı plevral plak gelişiminde *SOD* polimorfizminin etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak olgu sayımızın azlığı en önemli kısıtlılığımızdır. Daha geniş çaplı çalışmaların gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca asbeste bağlı akciğer hastalıklarının diğer formları da dahil olmak üzere tüm asbestle ilişkili hastalıkların genetik altyapı ile ilişkisini anlamak için daha başka çalışmalarda farklı polimorfizmler araştırılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Çöplü L. Asbeste bağlı plevra hastalıkları. In:Çavdar Tuğrul, Ekim Numan (Eds).Plevra Hastalıkları.Turgut yayıncılık ve tic. Toraks Kitapları. Sayı 4. Ekim 2003:224-229.
2. Wagner GR. The fallout from asbestos. Lancet 2007;369:973-974.
3. 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.
4. Roggli VL. Environmental asbestos contamination: what are the risks? Chest 2007;131:336–338.
5. Senyigit A, Babayigit C, Gökirmak M, et al. Incidence of malignant pleural mesothelioma due to environmental asbestos fiber exposure in the Southeast of Turkey Respiration 2000; 67: 610-614.
6. Barış YI. Türkiye’de asbest ve fibröz zeolit (erionit) ile ilgili akciğer hastalıkları. Beslenme, Çevre ve Kanser Sempozyum Bildiri Kitabı. 31 Mart-3 Nisan 2002; Ankara, s. 2-23.
7. Zeren EH, Gumurdulu D, Roggli VL, et al. Environmental malignant mesothelioma in Southern Anatolia: A study of Fifty Cases. Environmental Health Perspectives 2000; 108: 1047-1050.
8. Yazıcıoğlu S. A high incidence of pleural calcification, pleural mesotheliomas and bronchial carcinomas due to asbestosis in Southern Turkey. Diyarbakır Tıp Fak. Derg. 1980;11:354-361.
9. Yazıcıoğlu S, Ilcayto R, Balcı K, et al. Pleural calcification, pleural mesotheliomas, and bronchial cancers caused by tremolite dust.Thorax, 1980; 35: 564-569.
10. Peacock C, Copley SJ, Hansell DM et al. Asbestos related benign pleural disease. Clinical Radiology 2000; 55:422-532.
11. Miller WT, Geftter, WB. Asbestos-Related Chest Diseases: Plain Radiographic Findings. Seminars in Roentgenology 1992; 27(2): 102-120.

12. Attanoos RL, Gibbs AR. Asbestos-related deaths. *Current Diagnostic Pathology* 2002;8:373-383.
13. Mossman BT and Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1666-1680.
14. Churg A. The uptake of mineral particles by pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 154: 1124-1140.
15. Selikoff IJ, Hammond EC. Asbestos and Smoking. *JAMA* 1979; 242: 458-459.
16. Aberle DR, Gamsu G, Ray CS, Feuerstein IM. Asbestos-related pleural and parenchymal fibrosis: Detection with high-resolution CT. *Radiology* 1988; 166: 729-734.
17. Asbestos, asbestosis and cancer: The Helsinki criteria for diagnosis and attribution. *Scand J Work environ Health* 1997; 23:311-316.
18. Wagner GR. Asbestosis and silicosis. *Lancet* 1997;349:1311-1315.
19. Peacock C, Copley SJ, Hansell DM. Asbestos-related benign pleural disease. *Clinical Radiology* 2000; 55:422-432.
20. Miller WT Jr, Gefer WB, Miller WT Sn Asbestos-related chest diseases: Plain radiographic findings. *Seminars in Roentgenology* 1992; 27:102-120.
21. <http://www.amershamhealth.com/medcyclopaedia/Volume%20V%201/PLEURAL%20PLAQUES.asp>
22. Topçu F. Asbest ve plevra. *Solunum* 2002; 4 (ek 1): 144-148.
23. Chapman SJ, Cookson WO, Musk AW, Lee YC. . Benign asbestos pleural diseases. *Curr Opin Pulm Med*. 2003 Jul; 9(4): 266-271
24. McLoud TC, Woods BO, Carrington CB, et al. Diffuse pleural thickening in the asbestos-exposed population. *Am J Roentgenol*. 1985; 144: 9-18.
25. McLoud TC, Woods BO, Carrington CB, et al. Diffuse pleural thickening in the asbestos-exposed population. *Am J Roentgenol*. 1985; 144: 9-18.

26. 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.
27. 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.
28. Rosenstock L, Hudson LD. Nonmalignant Asbestos-Induced Pleural Disease. *Sem Respir Med*. 1986; 7: 197-202.
29. Panduri V, Surapureddi S, Soberanes S, Weitzman SA, Chandel N, Kamp DW. p53 mediates amosite asbestos induced alveolar epithelial cell mitochondria-regulated apoptosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 34: 443–452.
30. Epler GR, McCloud TC, Gaensler EA. Prevalance and Incidence of Benign Asbestos Pleural Effusion in a Working Population. *JAMA*. 1982; 247: 617-622.
31. Kamp DW. Asbestos-induced lung diseases: an update. *Transl Res*. 2009 Apr; 153(4): 143-152.
32. 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.
33. Selikoff IJ, Seidman H: Asbestos-associated deaths among workers in the United States and Canada, 1967-1987. *Ann NY Acad Sci* 1991; 643: 1-14.
34. Metintaş M, Gibbs AR, Harmancı E et al. Malignant localized fibrous tumor of the pleura occurring in a person environmentally exposed to tremolite asbestos. *Respiration* 1997; 64: 236-239.
35. Metintaş Muzaffer. Mezotelyoma. In: Çavdar Tuğrul, Ekim Numan (Eds). *Plevra Hastalıkları*. Turgut yayıncılık ve tic. Toraks Kitapları. Sayı 4. Ekim 2003: 230-259.
36. Metintas M, Metintas S, Ak G, Erginel S, Alatas F, Kurt E, Ucgun I, Yildirim H. Epidemiology of pleural mesothelioma in a population with non-occupational asbestos exposure. *Respirology*. 2008 Jan; 13(1): 117-121.



37. Senyigit A, Bayram H, Babayigit C, et al. Malignant pleural mesothelioma caused by environmental exposure to asbestos in the Southeast of Turkey: CT findings in 117 patients. *Respiration*. 2000; 67: 615-622.
38. Metintaş M. Mezotelyoma. In: Plevra Hastalıkları Eds: Gözü O, Köktürk O. Toraks kitapları Sayı 3, Ekim 2003.
39. Metintaş M, Uçgun İ, Elbek O, et al. Computed tomography features in malignant pleural mesothelioma and other commonly seen pleural diseases. *Eur J Radiol* 2002; 41: 1-9.
40. Okten F, Koksall D, Onal M, Ozcan A, et al. Computed tomography findings in 66 patients with malignant pleural mesothelioma due to environmental exposure to asbestos. *Clin Imaging*. 2006; 30(3): 177-180
41. Yuce H, Hepsen IF, Tekedereli I, Keskin U, Elyas H, Akyol O. Lack of association between pseudoexfoliation syndrome and manganese superoxide dismutase polymorphism. *Curr Eye Res*. 2007 Apr; 32 (4): 387-391.
42. Sahin AA, Coplu L, Selcuk ZT, et al. Malignant pleural mesothelioma caused by environmental exposure to asbestos or erionite in rural Turkey: CT findings in 84 patients *AJR Am J Roentgenol* 1993; 161: 533-537.
43. Benamore RE, O'Doherty MJ, Entwisle JJ. Use of imaging in the management of malignant pleural mesothelioma. *Clin Radiol*. 2005; 60(12): 1237-1247.
44. Kawashima A, Libshitz HI. Malignant pleural mesothelioma: CT manifestations in 50 cases. *AJR* 1990; 155: 965-969.
45. Yılmaz U, Utkaner G, Kumcuoğlu Z, et al. 28 malign plevral mezotelyomada BT bulguları. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 1996; 10(1): 16-22
46. BonomoL, FeragalliB, SaccoR, et al. Malignant pleural disease. *Eur J Radiol*. 2000; 34(2): 98-118.
47. Miller WT Jr, Geftler WB, Miller WT Sr. Asbestos-related chest diseases: plain radiographic findings. *Semin Roentgenol*. 1992; 27(2): 102-20.

48. Yilmaz U, Polat G, Sahin N, et al. CT in differential diagnosis of benign and malignant pleural disease. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2005; 63(1): 17-22
49. Mossman BT, Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *AM J Respir Crit Care Med.* 1998; 157: 1666-1680.
50. Donaldson K, Brown RC, Brown GM. Respirable industrial fibres: Mechanism of pathogenicity. *Thorax* 1993;48:390.
51. Roberts GH. Asbestos bodies in lungs at necropsy. *J Clin Pathol* 1967; 20:570
52. Robledo R, Mossman B. Cellular and molecular mechanisms of asbestosis induced fibrosis. *J Cell Physiol* 1999; 180: 158-166.
53. Adamson IY, Bowden DH. Crocidolite induced pulmonary fibrosis in mice. Cytokinetic and biochemical studies. *AM J Pathol* 1986; 122: 261.
54. Kamp DW, Weitman SA. The molecular basis of asbestos induced lung injury. *Thorax* 1999; 54: 638-652.
55. 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.
56. Bergin CJ, Müller NL, Vedal S, Chan-Yeung M. CT in silicosis: Correlation with plain films and pulmonary function tests. *AR Am J Roemgenol* 1986; 146: 477-483.
57. Albin M, Engholm G, Frostroth K, et al. Chest x ray films from construction workers. International Labour Office (ILO 1980) classification compared with routine readings. *Br J Ind Med* 1992; 9: 862-868.
58. Shaio RD, Morgan J, Bozclka B, Chapman Y. Inalual killer activity in asbestos workers. Interactive effects of smoking and asbestos exposure. *Chest* 1988; 94: 482-485.
59. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991; 42(4): 569-605.
60. Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives, In Ed: Arvoma O.I, Halliwell B. *Free radicals and food additives*, New York 1991.
61. McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant /antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.

62. McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant /antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.
63. Carroll E. Cross. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545
64. Henderson W. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Intern Med* 1994; 121: 684-697.
65. Natanson C. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Intern Med* 1994; 120(9): 771-778
66. Saran M, Michel C, Bors W. Reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res* 1990; 10: 221-226.
67. Grozdanovic Z, Briining G, Baumgarten H. Nitric Oxide: A novel autonomic neurotransmitter. *Acta Anat* 1994; 150: 16-24.
68. Witztum J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344(Sep.17): 793-795.
69. Regnström J, Nilsson J, Tornvall P, et al. Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339 (May 16): 1183-1186.
70. Davies MJ. Detection of myoglobin derived radicals on reaction of metmyoglobin with hydrogen peroxide and other peroxidic compounds. *Free Radic Res* 1990; 10: 36-37.
71. Stocker R. Induction of haem oxygenase as a defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1990; 9: 101-112.
72. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 14-21.
73. Paz-Elizur T, Krupsky 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): 1312-1319.

74. Vliet AV, Cross CE. Oxidants, Nitrosants, and the Lung. *Am J Med.* 2000; 109: 398-421.
75. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-1060.
76. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacology* 2001; 429: 195-207.
77. Rhodes P, Leone AM, Francis PL, et al. The L-arginine: nitric oxide pathway is the major source of plasma nitrite in fasted humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 209: 590-596.
78. Fujimoto H, Sasaki J, Matsumoto M, Suga M, Ando Y, et al. Significant Correlation of Nitric Oxide Synthase Activity and p53 Gene Mutation in Stage I Lung adenocarcinoma spn. *J.Cancer Res.*1998; 89: 696-723.
79. Thacova R, Salagovic J, Ceripkova M, Tkac I, Stubna J, Kalina I. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism is related to COPD in patients with non-small-cell lung cancer. *Wien Klin Wochenschr.* 2004; 116 (4): 131-134.
80. Umeki S, Sumi M, Niki Y, Soejima R. Concentrations of superoxide dismutase and superoxide anion in blood of patients with respiratory infections and compromised immune systems. *Clin Chem* 1987; 33: 2230-2233.
81. Jack CIA, Jackson MJ, Hind CRK. Circulating markers of free radical activity in patients with pulmonary tuberculosis. *Tubercle and Lung Disease* 1994; 75: 132-137.
82. Safarian MD, Karapetian ET. Dynamics of the activity of antioxidant enzymes in the blood of patients with pulmonary tuberculosis. *Probl Tuberk.* 1990; (8): 60-61.
83. Erel O. A new automated colorometric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.
84. Ganas K, Loukides S, Papatheodorou G, et al. Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients with asthma. *Respir Med* 2001; 95: 649-654.
85. Fırat İH, FıratS, Ekim N. Oksidan stres ve akciğerler. *Heybeli Ada Tıp Bülteni* 1997; 3: 80-88.

86. MacNee W, Bridgeman ME, Marsden M, et al. The effects of N-Acetylcysteine and glutathione on smoke-induced changes in lung phagocytes and epithelial cells. *Am J Med* 1991; 91 (suppl 30): 30-60.
87. Kumar KV, Das UN. Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension. *Free Radical Res Commun* 1993; 19: 59-66.
88. Dworski R. Oxidant stress in asthma. *Thorax* 2000; 55 (suppl2): 51-53.
89. Sahn SA, Willcox ML, Good ST, et al. Characteristics of normal rabbit pleural fluid: physiologic and biochemical implications. *Lung* 1979; 150: 63-69.
90. Alataş Ö, Metintaş M, Çolak Ö, et al. Bronş kanseri ve malign plevral mezotelyomada plazma lipid peroksit düzeyleri. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği (TÜSAD), XXIII. Ulusal Kongresi, 11-14 Haziran 1995, İstanbul, TP-20.
91. Şahin Ü, Tahan V, Akkaya A ve ark. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks* 1999; 47: 31-35.
92. Feeney L, Berman ER. Oxygen toxicity: Membran damage by free radicals. *Invest Ophthal* 1976; 15: 789-792.
93. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 583 -599.
94. Bolann B J, Ulvik RJ. Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity. *Clin Chem* 1991;37:1993-1999.
95. Peskin AV, Koen Y M, Zbarsky IB. Superoxide dismutase activity in tumors. *FEBS Lett* 1977; 78: 41-45.
96. Peskin AV, Zbarsky IB, Konstantinov AA. An examination of the superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1976; 229: 751-754.
97. Oberley LW, Bize IB, Sahu SK. Superoxide dismutase activity of normal murine liver, regenerating liver, and H6 hepatoma. *J Natl Cancer Inst* 1978; 61: 375-379.
98. Lankin UZ, Gurevich SM. Inhibition of peroxidation of lipids and detoxification of lipoperoxides by protective enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase,

- and glutathione reductase) in experimental malignant growth. Dokl Akad Nauk SSSR 1976; 226: 705-708.
99. Gupta MP, Khanduja KL, Sharma RR. Effect of cigarette smoke inhalation on anti-oxidant enzymes and lipid peroxidation in the rat. Toxicology Letters 1998; 41: 107-114.
  100. Jobsis Q, Raatgeep HC, Hermans PWM. Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children. EurRespir J 1997; 10: 519-521.
  101. Lopade CO, Zakkar M, Swedler WI, Rubinstein I. Exhaled pentane levels in acute asthma. Chest 1997; 111: 862-865.
  102. Mohan K, Dos VN. Oxidant stress, antioxidants, nitric oxide and essential fatty acids in bronchial asthma. Med Sci Res 1997; 25: 307-309.
  103. Pinto AM, Todo-Bom A, Pereira SV, Alves V, Rosa MS. Determinação da neopterina e de defesas antioxidantes na asma de evolução arrastada. Rev Port Pneumol. 2006; 12: 669-682.
  104. Barceló A, Barbé F, de la Peña M, Vila M, Pérez G, Piérola J, Durán J and Agusti AGN. Antioxidant status in patients with sleep apnoea and impact of continuous positive airway pressure treatment. Eur Resp J. 2006; 27:756-760.
  105. Rahman I, Swarska E, Henry M, Stolk J, MacNee W. Is there any relationship between plasma antioxidant capacity and lung function in smokers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease Thorax 2000; 55:189-193.
  106. Aycicek A, Erel O and Kocyigit A. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. Eur J Pediatr. 2005; 164: 775-778.
  107. Gencer M. Oksidatif stres benign ve malign akciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında belirteç olabilir mi? Akciğer Arşivi : 2005; 6: 89-92.
  108. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, Alfonso SD. Cytokine gene polymorphism in human disease: online databases. Genes and Immunity 1999; 1; 319.

109. Lehninger A. Principles of biochemistry. Worth Publishers Inc. New York 1982; 46-220.
110. Valko M, Leibfritz D, Monocol J, Corinin M, Mazur M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2007; 39: 44-84.
111. Aslan R, Şekeroğlu MR, Gültekin F, Bayıroğlu F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals relation to age, sex, habits, life style and environment. J Environmental Sci And Health 1997; 32 (8); 2101-2109.
112. Aslan S, Şekeroğlu MR, Aslan R, Bayıroğlu F. Pentoklorofenolün tavşanlarda bazı antioksidan enzimler ile laktik asit dehidrogenaz ve kreatin kinaz düzeylerine etkisi. Yü. Vet. Fak. Derg. 1996; 7 (1-2): 99-101
113. Şekeroğlu MR, Aslan R, Tarakçıoğlu M, Algün E, Kara M. Sigara kullananlarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. Tüber Toraks Der. 1997; 45
114. Chow KC. Dietary vitamin E and cellular susceptibility to cigarette smoking. Ann N Y Acad Sci 1982; 393: 426-431.
115. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites leukocytes dependent inflammatory reactions. Am J Pathol. 1982; 107: 397
116. Kinnula VL, Lehtonen S, Koistinen P, Kakko S, Savolainen M, Kere J, Ollikainen V, Laitinen T. Two functional variants of the superoxide dismutase genes in Finnish families with asthma Thorax 2004; 59: 116-119.
117. Karlsson J, Ronneberg R, Semb B. Vitamins Q and E, extracorporeal circulation and hemolysis. Mol Cell Biochem 1997; 173 (1-2): 33-41.
118. Augustin W, Wiswedel I, Noac H, Reinheckel T, Reichel O. Role of endogenous and exogenous antioxidants in the defence against functional damage 1997.
119. Evelson P, Ordonez CP, Liesuy S, Boveris A. Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. J-Photochem-Photobiol. 1997; 38 (2- 3): 215-219.
120. Aalt B, Haenen RM, Doelman JA. Oxidants and antioxidants: State of the art. The American Journal of Medicine 1991; 91 (3): 3-13.

121. Steiner M. Vitamin E: more than antioxidant. *Clin Cardiol.* 1993; 16: 16-18.
122. Thiele J, Traber MG, Tsang K, Cross CE, Packer L. In vivo exposure to ozone depletes vitamins C and E and induces lipid peroxidation in epidermal layers of murine skin. *Free Radic Biol Med.* 1997; 23 (3): 385-391.
123. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinic Chemistry* 1995; 41/12: 1819-1828.
124. Mecoci P, Beal MF, Polidori MC, Cherubini A, Chiosne F. Mitochondrial membrane fluidity and oxidative damage to mitochondrial DNA in aged human brain. *Mol Chem Neuropathol* 1997; 31 (1): 53-64.
125. Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature* 1954; 174: 689-691.
126. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
127. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase; an enzymic function for erythrocyte protein (hemocuprein) *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-6055.
128. Paz-Elizur T, Krupsky 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): 1312-1319.
129. Caporaso N. The molecular epidemiology of oxidative damage to DNA and cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95 (17): 1263-1265.
130. Gackowski D, Speina E, Zielinska M, Kowalewski J, Rozalski R, Siomek A, Paciorek T, Tudek B, Olinski R. Products of oxidative DNA damage and repair as possible biomarkers of susceptibility to lung cancer. *Cancer Res.* 2003; 63 (16): 4899-4902.
131. Molina R, Filella X, Auge JM, Fuentes R, Bover I et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis. Comparison with the main clinical and pathological prognostic factors. *Tumour Biol.* 2003; 24 (4): 209-218.



132. Vliet AV, Cross CE. Oxidants, Nitrosants, and the Lung. *Am J Med.* 2000; 109: 398-421.
133. Fujimoto H, Sasaki J, Matsumoto M, Suga M, Ando Y. Et al. Significant Correlation of Nitric Oxide Synthase Activity and p53 Gene Mutation in Stag I Lung adenocarcinoma spn. *J.Cancer Res.*1998; 89: 696-723.
134. Thacova R, Salagovic J, Ceripkova M, Tkac I, Stubna J, Kalina I. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism is related to COPD in patients with non-small-cell lung cancer. *Wien Klin Wochenschr* 2004; 116.
135. Ames BN. Dietary carcinogenesis. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983; 221: 1256-1264.
136. Dimitrescu C, Belgun M, Olinescu R et al. Effect of Vitamin C administration on the ratio between the pro- and antioxidative factors (abstract). *Rom J endocrinol* 1993; 31: 81-84.
137. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, et al. Oxygen radicals and human disease (Davis Conference). *Ann Int Med* 1987; 107: 526-545.
138. Ames BN, Gold LS, Willett WC. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5258-5265.
139. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *BR Med Bulletin* 1993; 49: 523-544.
140. Dormandy T L. An approach to free radicals. *Lancet* 1983; 322: 1010-1013.
141. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995; 41: 1819-1828.
142. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(suppl): 715-725.
143. Hruszkewycz A M. Lipid peroxidation and mt DNAdegeneration. A hypothesis. *Mutation Research* 1992; 275: 243-248.

144. Tugcu V, Ozbek E, Aras B, Arisan S, Caskurlu T, Tasci AI. Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) gene polymorphisms in urolithiasis. *Urol Res.* 2007 Oct; 35 (5): 219-224.
145. Özkan Y, Torun M, Şimşek B. Serum malondialdehyde (MDA) levels in lung cancer. *International Congress on Free Radicals in Health and Disease Med Org (Abstracts).* İstanbul 1995: 182.
146. Şahin Ü, Tahan V, Akkaya A ve ark. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks* 1999; 47: 31-35.
147. Petruzelli S, Hietanen E, Bartsch H. Pulmonary lipid in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; 98: 930-935.
148. Mak JC, Leung HC, Ho SP, Ko FW, Cheung AH, Ip MS, Chan-Yeung MM. Polymorphisms in manganese superoxide dismutase and catalase genes: functional study in Hong Kong Chinese asthma patients. *Clin Exp Allergy.* 2006 Apr; 36 (4): 440-447.
149. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 64: 111-126
150. Sun L, König IR, Homann N. Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) Polymorphism, Alcohol, Cigarette Smoking and Risk of Oesophageal Cancer *Alcohol & Alcoholism* Vol. 44, No. 4, 2009; 353–357.
151. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 583 -599.
152. Bolann BJ, Ulvik RJ. Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity. *Clin Chem* 1991; 37: 1993-1999.
153. Peskin AV, Koen YM, Zbarsky IB. Superoxide dismutase activity in tumors. *FEBS Lett* 1977; 78: 41-45.
154. Peskin AV, Zbarsky IB, Konstantinov AA. An examination of the superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1976; 229: 751-754.

155. Oberley LW, Bize IB, Sahu SK. Superoxide dismutase activity of normal murine liver, regenerating liver, and H6 hepatoma. *J Natl Cancer Inst.* 1978; 61: 375.
156. Lankin UZ, Gurevich SM. Inhibition of peroxidation of lipids and detoxification of lipoperoxides by protective enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase) in experimental malignant growth. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1976; 226: 705-708.
157. Jaruga P, Zastawny TH, Skokowski J. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *FEBS Lett* 1994; 341: 59-64.
158. Tang ZP. Observation on the activity of superoxide dismutase and catalase of alveolar macrophage in patient with lung cancer. *Chung- Hua-Chieh-Ho-Ho-Hu Hsi-Taa-Chih* 1991; 14: 213-215.
159. Zhang YX, Zhang YG. Clinical investigation of erythrocyte function inpatients with lung cancer. *Chung- Hua-Chieh-Ho- Ho-Hu Hsi-Taa-Chih* 1993; 16: 278-280.
160. Güner G, İşlekel H, Oto Ö, Hazan E ve ark. Evaluation of some antioxidant enzymes in lung carcinoma tissue. *Cancer Letters* 1996; 103: 232-239.
161. İşlekel H, Güner G, Oto Ö, Aydın C, ve ark. İnsan karsinoma dokularında süperoksit dismutaz ve katalaz düzeyleri. XIII. Ulusal Biokimya Kongresi, Şafak Matbaası, Antalya 1996; 361.
162. Gupta MP, Khanduja KL, Sharma RR. Effect of cigarette smoke inhalation on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the rat. *Toxicology Letters* 1998; 41: 107-114. (4): 131-134.
163. Aydın A, Sarafinowska ZA, Sayal A, Eken A, Erdem O, Erten K, Özgök Y and Dimovski A. *Clin Biochem.* 2006 Feb; 39 (2):176- 179.
164. Martin RC, Ahn J, Nowell SA, Hein DW, Doll MA, Martini BD, Ambrosone CB. Association between Manganese Superoxide Dismutase Promoter Gene Polymorphism and Breast Cancer Survival. *Breast Cancer Res.* 2006 Jul 19; 8(4): 45.
165. Hori H, Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Okano C, Suzuki T, Nakamura J. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology.* 2000 Aug; 23 (2): 170-177.

166. Akyol Ö, Canatan H, Yılmaz R, Et all. PCR-RFLP-based cost-effective identification of SOD 2 signal (leader) sequence polymorphism (Ala – 9 Val ) using NgoM IV: a detailed methodological approach. *Clinical Chemical* 2004; 151-159.
167. Chistyakov AD, Savtostanov KV, Et all. Polymorphisms in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relationship to diabetic neuropathy in type I diabetes mellitus. *BMC Medical genetics* 2001; 2,4.
168. Franko A, Dolzan V, Et all. Asbestosis ve catalaze genetic polymorphism. *ARH Hig Rada toksikol* 2008; 59: 233- 240.
169. Kelsey KT, Nelson HH, et all. The Glutathione S-Transferase and Deletion Polymorphisms in Asbestosis *American Journal Of Industrial Medicine* 1997; 31: 274-279.
170. Samoil OC, Carter A, at all. Polymorphic Variants of Extracellular Super oxide Dismutase Gene in romanian Population with atheroma *Biochem Genet* 2008; 46: 634-643.
171. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res.* 2005 Jul; 38 (7): 995-1014.
172. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 2002 Aug 1; 33 (3): 337-349.
173. Marcus DL, Strafaci JA, Freedman ML. Differential neuronal expression of manganese superoxide dismutase in Alzheimer's disease. *Med Sci Monit.* 2006 Jan; 12 (1): 8-14.
174. Hori H, Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Okano C, Suzuki T, Nakamura J. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology.* 2000 Aug; 23 (2): 170-177.
175. Elsakka NE, Webster NR, Galley HF. Polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene. *Free Radic Res.* 2007 Jul; 41 (7): 770-778 .

176. Zhang Z, Zhang X, Hou G, Sha W, Reynolds GP. The increased activity of plasma manganese superoxide dismutase tardive dyskinesia is unrelated to the Ala-9Val polymorphism. *J Psychiatr Res.* 2002 Sep-Oct; 36 (5): 317-324
177. Ho JC, Mak JC, Ho SP, Ip MS, Tsang KW, Lam WK, Chan-Yeung M. Manganese superoxide dismutase and catalase genetic polymorphisms, activity levels, and lung cancer risk in Chinese in Hong Kong. *J Thorac Oncol.* 2006 Sep; 1 (7): 648-653.
178. Young RP, Hopkins R, Black PN, Eddy C, Wu L, Gamble GD, Mills GD, Garrett JE, Eaton TE, Rees MI. Functional variants of antioxidant genes in smokers with COPD and in those with normal lung function. *Thorax.* 2006 May; 61 (5): 394-399.