

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASOTİK TOKSİKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KRİSTAL YAPILI SİLİKAYA MESLEKSEL MARUZİYETLE
KARAKTERİZE SİLİKOZ HASTALIĞI OLANLARDA, GENOTOKSİK
HASARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERCAN S. ÖZER

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. GONCA ÇAKMAK DEMİRCİGİL

ANKARA
MAYIS 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASOTİK TOKSİKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KRİSTAL YAPILI SİLİKAYA MESLEKSEL MARUZİYETLE
KARAKTERİZE SİLİKOZ HASTALIĞI OLANLARDA, GENOTOKSİK
HASARIN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERCAN S. ÖZER

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. GONCA ÇAKMAK DEMİRCİGİL

ANKARA
MAYIS 2010

İÇİNDEKİLER	
Kabul ve Onay	I
İçindekiler	III
Şekiller, Resimler, Grafikler	V
Tablolar	VI
Semboller,Kısaltmalar	VIII
Önsöz	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Partikül Madde	4
2.1.1. Partikülün Tanımı ve Sınıflandırılması	4
2.1.2. Partiküllerin Solunum Sistemindeki Davranışı ve Akciğerlerin Savunma Mekanizması	5
2.2. Kristal Yapılı Silikanın Partiküller Arasındaki Yeri	9
2.2.1. Kristal Yapılı Silikanın Fizikokimyasal Özellikleri	9
2.3. Kuvarsın Mesleki Maruziyet Alanları	10
2.3.1. Kumlamacılık ve Kot Taşlamacılığı	10
2.4. Kuvarsın Oluşturduğu Toksisite Mekanizmaları	11
2.5. Kuvarsın İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	12
2.5.1. Silikoz	12
2.5.2.Akciğer Kanseri	13
2.6. Kuvars Maruziyetini Azaltma Yöntemleri	15
2.7. Türkiye’deki Yönetmelik ve Tüzüklerdeki Toz Maddelere ve Kristalin Silikaya İlişkin Düzenlemeler	16
2.8. Kuvars Toksisitesine Yönelik Araştırmalar	17
2.8.1. Genotoksisite Yöntemleri	17
2.8.1.1. Mikroçekirdek Yöntemi	18
2.8.1.2. Sitokinezin Durdurulduğu-Mikroçekirdek Yöntemi	19
2.8.1.3. İndükte Balgamda Mikroçekirdek Yöntemi	19
2.8.1.4. Kuvars Maruziyetine Yönelik Genotoksisite Yöntemlerinin Kullanıldığı Moleküler Epidemiyoloji Çalışmaları	23

2.8.1.5. Kuvars Maruziyetine Yönelik Epidemiyoloji Çalışmaları	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi	27
3.2. Çalışma Grubundan Biyolojik Örneklerin Alınması	28
3.3. Çalışma Grubuna Ait Akciğer Filmleri	28
3.4. Yöntemlerde Kullanılan Gereç ve Kimyasallar	30
3.5. Mikroçekirdek Yöntemi	
3.5.1. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi	30
3.5.2. İndükte Balgam Analizi ve İndükte Balgam Hücrelerinde Mikroçekirdek Yöntemi	31
3.6. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34
4.1. Genel Bilgiler	34
4.2. Mikroçekirdek Yöntemine İlişkin Bulgular	37
4.2.1 Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi	37
4.2.2. İndükte Balgam Hücrelerinde Mikroçekirdek Yöntemi	39
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
7. ÖZET	47
8. SUMMARY	49
9. KAYNAKLAR	51
10. EKLER	68
10.1. Anket Formu	68
10.2. Gönüllü Olur Formu	71
10.3. Etik Kurul Onayı	77
11. ÖZGEÇMİŞ	78

Şekiller, Resimler, Grafikler

Resim 1: Solunum sistemi elemanları.....	6
Şekil 1: ILO sınıflandırmasında yer alan radyografik bulguların şematize edilmesi.....	29

Tablolar

Tablo 1: Partikül boyutlarının EPA'ya göre sınıflandırılması	5
Tablo 2: IARC'a göre insan karsinojeni partikül ve lifler	5
Tablo 3: Partikül büyüklüğüne göre farklı bölgelerde birikme yüzdesi.....	7
Tablo 4: Solunum sisteminin savunma mekanizmaları.....	8
Tablo 5: Mikroçekirdek yönteminin avantajları	18
Tablo 6: Yetişkin bir bireyde doğrudan balgam alma ve İB hücre sayılarında karşılaştırılması	21
Tablo 7: Ditiyotireitol kullanımının balgam hücre sayıları üzerine etkisi	21
Tablo 8: İndükte Balgam yönteminin avantajları ve dezavantajları	22
Tablo 9: ILO sınıflandırmasına göre akciğer filmlerindeki inceleme kriterleri.....	28
Tablo 10: İşçilere ait genel bilgiler.....	35
Tablo 11: Kontrol grubuna ait genel bilgiler.....	36
Tablo 12: İşçilerin ve kontrol grubunun demografik özellikleri	37

Tablo 13: Lenfosit mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması (ort±ss).....	38
Tablo 14: Silikoz hastalığının derecesine göre lenfosit mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması(ort±ss)....	38
Tablo 15: İndükte Balgam mikroçekirdek sıklığı(‰) bakımından işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması (ort±ss).....	39
Tablo 16: Silikoz hastalığının derecesine göre İndükte Balgam mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması(ort±ss).....	40

Semboller,Kısaltmalar

IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü
MÇ	Mikroçekirdek
SD-MÇ Yöntemi	Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi
İB	İndükte Balgam
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ESD	Eşik Sınır Değer
Cyt-B	Sitokolazin-B
ERS	Avrupa Solunum Derneği
ATS	Amerikan Toraks Derneği
DTT	Ditiyotireitol
ILO	Uluslararası Çalışma Örgütü
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz
EPA	Çevre Koruma Ajansı
Ort $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
8-OHdG	8-hidroksideoksiguanozin
CA	Kromozomal Aberasyon
SCE	Kardeş Kromatid Değişimi

Önsöz

Silikoz, kristal yapılı silika maruziyeti ile karakterize bir pnömokonyöz türüdür. Kristal yapılı silikaya işyeri ortamında solunum yolu ile maruziyet akciğer kanserine de neden olabilmektedir. Silikozun, akciğer kanserine yol açıp açmadığı ise tartışma konusudur ve günümüzde de üzerinde çalışılmaktadır.

Çalışmamızda amaç, kristal yapılı silikaya maruziyetin olduğu iş kollarından kot taşlamacılığı yapmış ve silikoz gelişimi olmuş işçilerde genotoksisiteyi hem hedef hücrelerde, hem de aday hücrelerde araştırmaktır. Silikozlu bireyin, genotoksisite göstermesi, ileride kanser geliştirme riski konusunda da bir gösterge olarak kabul edilebilir.

Ülkemizde işyerlerinde toza maruziyet konusunda yönetmeliklerde yer alan yaptırımlara rağmen, işveren ve işçilerin konu üzerine yeterince bilinçli davranmadığı, daha önce yapılan çalışmalarda ve şu anki çalışmamızda karşımıza çıkmıştır. Özellikle, kot taşlamacılığı ülkemizde ilkel, sağlıksız koşullarda, korunma önlemleri olmaksızın ve merdiven altı diye tanımlanan işyerlerinde yapılmıştır. Şu anda iş kolu tamamen yasaklanmasına rağmen, meslek hastalığı olarak başvurular devam etmekte, kısa süreli çalışmalara rağmen silikoz ve silikozun ilerlemesinin önüne geçilememektedir. Çalışmamızla, bilimsel veriler ışığında, konuyu gündemde tutarak gerekli önlemlerin alınmasına, işçilerin diğer tozlu işlerde de çalışırken almaları gereken önlemlerin ne derece yaşamsal olduğunu vurgulanmasına katkıda bulunmayı umuyoruz.

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Soluduğumuz hava, insan kaynaklı ve doğal aktivite sonucu oluşan pek çok kirleticiyi içermektedir. Özellikle kentsel ve endüstriyel bölgelerde havaya salınan gaz ve partikül fazındaki kirleticiler, başta insan olmak üzere, tüm canlıları olumsuz yönde etkilemektedir ¹.

Kirleticiler arasında partiküller fiziksel, kimyasal özellikleri nedeniyle ayrı yere sahiptir. Partiküllere solunum yoluyla maruz kalınması günlük yaşamda olduğu gibi, mesleki ortamlarda da solunum sistemi için tehdit oluşturmaktadır ^{2,3}.

Akciğer, solunan partiküllerin hedef organıdır. Sağlıklı bir akciğer yüzeyine yayılan partiküller, etkin olarak temizlense de maruz kalınan partikül sayısı arttıkça bu mekanizmalar yeterli olmayabilir. Aynı zamanda yüzey özelliklerinden dolayı bazı partiküllerin az miktarı dahi akciğerde hasara neden olabilir. Partiküller arasında asbest, çeşitli metaller ve bileşikleri, kristal yapılı silika ve odun tozları gibi karsinogenik etkileri kanıtlanmış olanlar bulunmaktadır ⁴⁻¹¹.

Kanserojenik etkinliği olan tozlar arasında bulunan kristal yapılı silikaya maruziyet, en fazla mesleki ortamlarda gözlenir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde; madencilik, kırma, öğütme, kumlama ve inşaat gibi iş kollarında kristal yapılı silikayla karşılaşma olasılığı çok yüksektir. Mesleki kaynaklardan solunan kristal yapılı silika (kuvars ve kristobalit) 1997 yılında Uluslararası Kanseri Araştırma Örgütü (IARC) tarafından insan karsinogeni olarak sınıflandırılmıştır⁵. Ancak, farklı endüstriler arasında kristal yapılı silikanın biyolojik etkinliğinin değişken bulunması, daha sonraki in vivo/in vitro mekanistik araştırmaların ve epidemiyolojik çalışmaların temelini oluşturmuştur. Bu çalışmalara, moleküler epidemiyoloji çalışmalarının katkısı ise, gerçek maruziyet koşullarında insan verilerini sağlaması olabilir. Böylece, mekanistik deneysel

alışmalarla, insan durumları arasında moleküler epidemiyoloji çalışmaları köprü görevi görebilmektedir. Moleküler epidemiyoloji çalışmalarında, etki biyogstergelerinin ana rolü, oluşabilecek hastalıkların erken sinyallerini alabilmek ve geri dönüşümsüz durumları nleme stratejileri belirlemektir ¹².

Kristal yapılı silika içeren tozlara maruziyet ile ilgili maruziyet göstergelerinin ve etki biyogstergelerinin kullanıldığı çalışmalara örnekler arasında; kömür madencileri¹³⁻¹⁵, döküm ve seramik iřileri¹⁶, granit iřileri¹⁷, imento iřileri¹⁸, kumlamacılar¹⁹ ve taş kırıcılar²⁰, değirmen, cam fabrikası ve kumlama iřileri¹² bulunmaktadır.

Kristal yapılı silikaya maruz işçilerde görülen pnmokonyz türü silikozdur. Silikoz, işyerlerinde çalışma sırasında ortaya çıkabildiği gibi, işi bıraktıktan yıllar sonra da oluşabilir. Hastalık geri dönüşümsüzdür ve ilerleyici özelliği söz konusudur²¹. Çeşitli epidemiyolojik araştırmalarla, silikoz ile akciğer kanseri arasındaki ilişki de araştırılmaktadır. Silikoz ve diğer mesleki akciğer hastalıkları gelişmişlkelerde de önemini korumaktadır. Türkiye’de, çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı’nın 2007 İstatistiksel Yıllığı’na göre, kaydedilen 1208 mesleksenel hastalıktan, 1000 tanesi silikoz ve silikotberklozdur²². Sözü edilen kayıtlar, sadece sosyal güvenlik sistemine kayıtlı işçileri kapsamaktadır. Kumlama işlerinde çalışan işçilerde akut silikoz gelişme riski yüksektir, bundan dolayı pek çok endstrileşmişlkede kumlama işi yasaklanmıştır. Türkiye’de silikanın kolay ve ucuz elde edilebilmesi nedeniyle, silika içeren tozlarla kumlamacılık küçük ölçekli işyerlerinde geniş kullanıma sahiptir. Yakın zamanda,ülkemizde bir başka kumlama işkolu olan kot taşlamacılığı, özellikle sosyal güvenliği olmayan işçiler arasında akut silikoz ve ölüm nedeni olarak araştırmalara konu olmaktadır^{23,24}.

Amacımız, işyeri maruziyetinin etkeni sadece kristal yapılı silika olan kot taşlamacılığında çalışmış ve silikoz hastalığı gelişmiş bireylerde, genotoksisiteyi aday ve hedef olmak üzere iki ayrı dokuda Mikroçekirdek (M)

yöntemiyle araştırmak, ayrıca akciğer X ışını filmleri ile genotoksisite göstergeleri arasındaki ilişkiyi saptamaktır.

Çalışmamızda; mitoz bölünme geçiren her türlü hücrede uygulanabilen MÇ Yöntemi kullanılmıştır. Çalışmamızda yer alan periferel kan lenfositlerinde (PKL) Sitokinezin Durdurulduğu MÇ (SD-MÇ) Yönteminin, kanser riskini öngörme etkinliği Bonassi ve ark. tarafından ortaya konulmuştur²⁵. PKL, kristal yapılı silika maruziyet için aday doku özelliği taşımaktadır. İndükte balgam (İB) hücrelerinde ise silikozlu hastalarda hedef doku olarak MÇ Yöntemi uygulanmıştır. İB hücreleri, akciğerdeki hücrel durumu yansıtan ve bronkoalveoler sıvı (BAL) hücrelerine göre alınması daha kolay olan hücre tipidir²⁶⁻²⁸. Çalışmamızda iki ayrı hücre tipinde, aynı genotoksisite yöntemi uygulanarak, hedef doku ve aday doku arasındaki benzerlik ve farklılıklar ortaya konulmaya çalışılmıştır. Kullandığımız yöntemler ile, akciğer kanseri ve silikoz arasındaki olası bağlantılara da ışık tutabileceğimizi düşünmekteyiz.

Verilerimizin, kristal yapılı silika risk değerlendirmesinin, tehlike belirlemesi basamağına katkıda bulunması beklenmektedir. Kullandığımız hücrelerin sözü edilen maruziyet ve hastalıklarda seçiciliğini, etkinliğini araştırıp, gelecek çalışmalar için öneri ortaya koymaktır. Konuya çalışmamızla daha fazla dikkat çekerek, hastalık ortaya çıkmadan önlenmesi için çabaların arttırılmasının sağlamasını da istemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Partikül Madde

2.1.1. Partikülün Tanımı ve Sınıflandırılması

Partikül; havada bulunan katı, sıvı veya katı çekirdeğin etrafında çevrili sıvı şeklindeki, farklı parçacık boyutu ve kimyasal kompozisyonu olan parçacıklardır. Partiküller doğada; toz, duman, is, sıvı damlacıkları, spor, bakteri, metalik bileşikler, temel karbon ve inorganik iyonlar gibi hem organik hem de inorganik yapıda bulunabilirler²⁹⁻³².

Lif ; bitkisel kaynaklı ipliksi, ince ve uzun yapıda olan çoğunlukla tekstil sektöründe üretim aşamasında kullanılan bir hammaddedir ve solunum sistemi için tehlike oluşturabilmektedir. Bu tür lifler kendiliğinden oluşabildiği gibi endüstri kaynaklı da olabilmektedir. Özellikle cam lifi, mineral yün ve refraktör liflerin kullanımındaki artış çeşitli sağlık sorunlarının oluşmasına neden olmaktadır³³.

Partiküller çok küçük boyutlu olduklarından havada asılı olarak kalabilirler. Bu nedenle partiküllerin vücudumuza en önemli giriş yolu solunum yoludur³⁴. Partiküller genellikle düzensiz şekillere ve farklı yoğunluklara sahip olduğundan sınıflandırılırken aerodinamik çap ifadesi kullanılır. Aerodinamik çap (da), partikülün fiziksel çapı (d) ile yoğunluğunun (p) karekökünün çarpımı sonucunda bulunur^{34,35}.

$$da=d \times \sqrt{p}$$

Çevre Koruma Ajansı (EPA) partikülleri, aerodinamik çap değerlerine göre sınıflandırarak sınıflandırmayı daha basit hale getirmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Partikül boyutlarının EPA'ya göre sınıflandırılması ³¹

Partikülün Sınıfı	Partikülün Boyutu
Çok kaba (ultracoarse)	$da > 10 \mu m$
Kaba (coarse)	$2.5 \mu m > da \leq 10 \mu m$
İnce (fine)	$0.1 \mu m < da \leq 2.5 \mu m$
Çok ince (ultrafine)	$da \leq 0.1 \mu m$

Partikül maddenin kimyasal yapısı ve büyüklüğü; çekirdekleşme, yoğunlaşma, buharlaşma, çökelme gibi süreçler sonucunda değişebilmektedir ^{36,37}.

Uluslar arası Kanser Araştırma Örgütü'ne göre insanda karsinojenlerin yer aldığı Grup-1 maddeleri incelendiğinde (Tablo 2) partikül ve liflerin bir kısmının da karsinojenik etkide olduğu görülür.

Tablo 2: IARC'a göre insan karsinojenik partikül ve lifler (IARC Monografları)³⁸

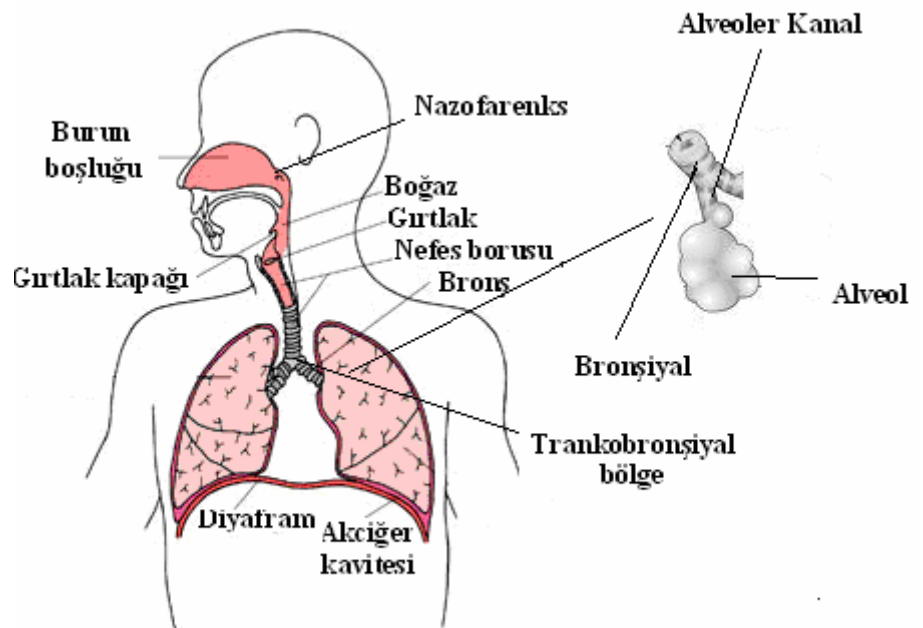
Maddenin İsmi	Monograf
Kristal Yapılı Silika	IARC 1997 Vol 68 ⁵
Asbest	IARC 1987 Vol 14 ⁴
Berilyum ve Bileşikleri	IARC 1993 Vol 58 ⁷
Kadmiyum ve Bileşikleri	IARC 1993 Vol 58 ⁷
Krom	IARC 1990 Vol 49 ⁸
Nikel Bileşikleri	IARC 1990 Vol 49 ⁸
Eriyonit	IARC 1987 Vol 42 ⁹
Talk İçeren Asbest Formlu Lifler	IARC 1987 Vol 42 ⁹
Bazı Odun Tozları	IARC 1995 Vol 42 ⁶

2.1.2. Partiküllerin Solunum Sistemindeki Davranışı ve Akciğerlerin Savunma Mekanizması

Partiküller küçük parçacıklar olduklarından hava akımıyla hareket ederler. Bundan dolayı vücuda çoğunlukla solunum sistemiyle alınırlar. Fakat vücuda alınan partiküllerin az bir kısmı solunum sisteminde ilerleyebilir.

Bunlarında ancak belirli bir kısmı akciğerlere ve bronşlara ulaşabilir. Partiküllerin solunum sistemindeki ilerleyişini belirleyen en önemli etken partikülün aerodinamik çapıdır^{3,5}.

Burun ve nefes borusu (Resim 1), sadece solunan havanın ısıtılması ve nemlendirilmesi değil, temizlenmesi açısından da etkin bir bölgedir. Burun 5 μm 'den büyük partiküller için önemli bir filtre görevi üstlenir. 10 μm 'den büyük partiküller ise burunda tamamen tutulur. Aerodinamik çapı 5-30 μm arasında olan partiküllerin büyük bir kısmı nazofarenkste, 1-5 μm olan partiküllerin büyük kısmı ise trankobronşiyal bölgede birikir (Tablo 3). Daha küçük çaptaki partiküller bronşiyollere ve alveollere kadar ulaşabilir. Bu bölgelerde biriken partiküller daha yavaş temizlenirler ve akciğerlerde hasar oluşturma riskleri daha fazladır. 1 μm 'den küçük boyutlu olanlar ise çoğunlukla solunum yoluyla tekrar atılarak ve makrofajlar tarafından fagosite edilerek temizlenirken; büyük boyutlu olanlar, bronşlarda tutulur ve mukosiliyal hareketle gırtlığa sürüklenir. Sonra yutularak sindirim sistemine geçer ve dışarı atılır^{3,5,10,39}.



Resim 1: Solunum sistemi elemanları^{40,41}.

Tablo 3: Partikül büyüklüğüne göre farklı bölgelerde birikme yüzdesi ⁴².

Partikül Aerodinamik Çap	Orofarenks % Birikme	Trankobronşiyal % Birikme	Alveoler % Birikme	Ekspirasyon Havasındaki Partikül Yüzdesi
1	0	0	16	84
2	0	2	40	58
3	5	7	50	38
4	20	12	42	26
5	37	16	30	17
6	52	21	17	10
7	56	25	11	8
8	60	28	5	7

Partikülün solunum sistemindeki ilerleyişini, partikülün sahip olduğu aerodinamik özellikler de etkilemektedir. Bazı lifler, aerodinamik yapılarından dolayı hava yolu duvarında birikmektedir. Ancak asbest gibi uzun (300 μm) lifler, hava akımından koruyarak distal bölgeye, hatta akciğer zarı altına ulaşabilir. Bazı partiküller elektriksel olarak yüklüdür. Özellikle 4 μm 'den küçük partiküllerde, elektriksel yük birikmeyi arttıran bir faktördür ^{5, 34}.

Bir partikülün solunum sisteminde birikmesi, temizlenmesi ya da sistemik Emilimi, partikülün fizikokimyasal özelliklerine göre işleyen savunma mekanizmalarıyla ilişkilidir (Tablo 4). Partiküllerin akciğerde birikmesini etkileyen başlıca mekanizmalar sıkışarak kümeleşme, yerçekimsel birikim ve difüzyondur ³⁹.

Tablo 4: Solunum sisteminin savunma mekanizmaları⁴³

Üst Solunum Yolları ve Bronşlar	Alveoler Boşluk
Anatomik Bariyerler	Alveoler Makrofajlar
Öksürük Refleksi	Lenfosit aracılı savunma
Mukosiliyer Temizlenme	Kompleman Aktivasyonu
Sekretuar Ig A ve Diğer Ig'ler	Nötrofiller
Hava Yolu Epiteli	

Sıkışarak kümeleşme; çarpıp durma olarak ifade edilebilir. Partiküller kütlelerinden kazandıkları doğrultularından dolayı hava yolunun kıvrımlarını izlemek yerine solunum yolundaki kıvrımlara çarparak birikirler. Bu şekilde kümeleşme partikül çapının karesiyle ve hız ile doğru orantılıdır. 1-10 µm. boyutlarındaki partiküllerin yaklaşık %20'si bu yolla çökerler³⁹.

Yerçekimsel birikim mekanizması, bir partikülün hızının sonlanmasına dayalıdır. Hava, akciğer periferine doğru gittikçe akım hızı sıfıra yaklaşır. Bundan dolayı havayla beraber ilerleyen 0.5-5 µm'lik partiküller yerçekimi etkisi ile çökerler³⁴. Yerçekimsel birikimin, en etkin olduğu bölgeler 15-23. bronş dallanmalarıdır⁴⁴.

Difüzyon işlemi; 0.1 µm. ya da küçük partiküllerin, gaz moleküllerinin sürekli hareketi esnasında devamlı bombardımana tabii tutularak çökmeleridir. Partikül çapı küçüldükçe akciğer içinde kat ettiği mesafe artmaktadır. Bu özellik, çok küçük partiküllerin akciğerin distal alanlarına neden daha fazla ulaşabildiğini açıklamaktadır. Burada temizleme yavaş olduğu için hasar veya fibrozis görülebilir⁴⁴.

2.2. Kristal Yapılı Silikanın Partiküller Arasındaki Yeri

2.2.1. Kristal Yapılı Silikanın Fizikokimyasal Özellikleri

Silisyum; yer kabuğunda oksijenden sonra en yaygın bulunan elementtir. Doğada silisyum dioksit (silika; SiO_2) şeklinde bulunur. Silika; silisyum ve oksijen atomlarının birleşmesinden meydana gelir. Bu durum kendiliğinden olabileceği gibi yaşamlarını sürdürebilmek için silikaya ihtiyaç duyan diatom gibi bitkilerin ve radiolarian gibi hayvanların aracılığıyla da oluşabilir. Doğada, diatomlar ve radiolarianlar öldüklerinde suyun dibine çöker, sonra sertleşerek bir tortu olarak birikerek diatomit veya radyolarit şekline dönüşürler. Bunların yapısındaki silika amorf yapıdadır. Silikanın toksisitesi yüksek olan türü kristal yapılı olanlarıdır. Kristal yapılı silikanın, dört tanesi doğada nadir bulunmakla beraber, toplam 7 ayrı çeşidi vardır. Bunlardan en fazla bulunanları, dolayısıyla en önemlileri kuvars, kristobalit ve tridimittir. Kristobalitin ve tridimitin tamamına yakını volkanik kayalarda yer alır. Kuvars ise yeryüzündeki tüm kayalarda mevcuttur. Doğadaki silikanın tamamına yakını kuvars oluşturduğundan ^{5,45,46} bu aşamadan itibaren kristal yapılı silika, kuvars olarak da adlandırılacaktır.

Kuvars, suda çok az çözünür. Amorf silika suda kuvarsı göre daha iyi çözünür. Ortamın sıcaklığı, pH, ortamdaki metal varlığı ve partikül boyu küçüldükçe çözünürlük artar. Kuvars; hidrofluarik asit, kateşol ve alkalilerin sulu çözeltisiyle reaksiyona girmektedir⁵.

Kristalin silikanın kristal yapısı, tetrahedral birimlerle $(\text{SiO}_4)^{4-}$ ifade edilir. Silika partiküllerinin yüzeyinde; iyonize Si-O^- gruplara ya da dehidratasyonla siloksanlara dönüşebilen silanol (SiOH) grupları bulunur ⁴⁷.

2.3. Kuvarsın Mesleki Maruziyet Alanları

Kuvars yeryüzünde yüksek oranda bulunduğu için yüksek oranda maruziyet söz konusudur. Meydana gelen maruziyetlerin en aza indirilmesi için maruziyet alanları iyi bilinmelidir ^{45,48}.

Taş ocakları²⁰, kuvars değirmenleri^{23,15}, kumlamacılık^{12,15}, madencilik¹³, çömlekçilik¹⁶, kot taşlama¹⁹, seramik ve porselen işçiliği⁴⁹, çimento üretimi¹⁸ kuvars maruziyetine neden olan başlıca iş kollarıdır. Bunlardan kot taşlamacılığı ve kumlamacılık kuvars maruziyetinin en yoğun olduğu iş alanları arasında olduğu, bu iş kolundaki maruziyetin sadece kuvars maruziyeti olması^{48,50-52} dolayısıyla ayrıntılı olarak incelenecektir.

2.3.1. Kumlamacılık ve Kot Taşlamacılığı

Kumlama işlemi, yüzeyin aşındırılıp renginin açılması veya yumuşatılıp düzleştirilmesi amacıyla, basınçlı hava veya buhar verilerek yüzey üzerine kum partiküllerinin püskürtülmesi işlemidir ^{19,53}.

Temizlenen yüzeylerin geniş olması, çalışanların yüksek konsantrasyonda toza maruz kalmasına neden olur. Bu nedenle kumlamacılık ve kot taşlama silikoz oluşması açısından en önemli meslek gruplarıdır ¹⁹.

Ülkemizde kumlamacılıkta ve kot taşlamada kullanılan kuvarsın bol ve ucuz olarak bulunması, alternatifinin az olması yaygın kullanımının nedenidir. Aynı zamanda taşlanmış kotun dünyada popüler hale gelmesi ülkemizdeki üretimi daha da arttırmıştır. Fakat birçok küçük ölçekli işyerinde koruyucu önlemlerin alınmaması, kapalı ortamda çalışılması, işlem gören kotun solunum sistemine yakın tutulması ve kot taşlama işinin sürekli artış göstermesi; kuvars kaynaklı solunum sistemi hastalıklarının artmasına neden olmuştur^{54,55}.

Kot taşlamaya yönelik kuvars kullanımı; İngiltere’de 1950 yılında, diğer Avrupa ülkelerinde ise 1966 yılında yasaklanmıştır. ABD’de ise kot kumlama yasaklanmamış, fakat kullanılacak kuvars miktarına %1 sınırı getirilmiştir. Ülkemizde ise; Sağlık Bakanlığı’nın 27 mart 2009 tarihinde yayınladığı genelge⁵⁶ ile her türlü kot giysi ve kumaşlara uygulanan silis tozu veya silika kristallerini içeren herhangi bir madde kullanılması yasaklanmıştır^{50,56-58}.

2.4. Kuvarsın Oluşturduğu Toksisite Mekanizmaları

Solunum yollarında; inhalasyonla alınan çeşitli partiküllere, mikroorganizmalara ve toksinlere karşı immünolojik olmayan ve immünolojik olmak üzere iki çeşit savunma mekanizması uygulanmaktadır. Bu savunma mekanizmalarını geçip akciğer dokularına ulaşan partiküller, bu dokularda toksisiteye neden olurlar^{21,59}.

Partiküller içinde toksisitesi en belirgin olan kuvarsın olası toksisite mekanizmaları incelenecek olursa⁶⁰;

1- Doğrudan sitotoksik etkileri ve bunun sonucu ortaya çıkan hücre hasarı: kuvarsın yüzeyindeki SiOH grupları biyolojik membranlarla hidrojen bağları oluşturarak bu bölgelerde lipaz ve proteazların serbestleşmesine neden olduğu böylece akciğer hasarının meydana geldiği düşünülmektedir^{60,61}.

2- Pulmoner fagositlerde ve alveoler makrofajlarda serbest radikal yapımının aktivasyonu: silika alveoler makrofajlarla etkileştiği zaman fagositler bu molekülleri yabancı bir molekül gibi görüp yok etmek için reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği, bu durumun devam etmesiyle ortamdaki serbest radikal miktarının, antioksidan miktarını aşip hasar oluşturduğu düşünülmektedir^{60,62}.

3- Alveoler makrofajlar ve alveoler epitel hücrelerden aracı madde serbestleşmesi: silikanın neden olduğu inflamasyonla birlikte aktive olmuş

kemokinler; polinükleer lökositlerin ve makrofajların akciğer kapillerlerinden hava boşluklarına doğru toplanmasına neden olduğu, ve toplanmış olan bu moleküller proinflamatuvar sitokinler ile aktive olarak ROS salgılayarak doku hasarına neden oldukları düşünülmektedir⁵⁶⁻⁵⁸.

4- Alveoler makrofajları ve epitel hücrelerinden büyüme faktörlerinin salgılanması: fibrojenik faktörlerin salınımı, fibroblast proliferasyonunu uyarır ve kollojen sentezini artırır, bu da fibrozise neden olur⁶⁰⁻⁶².

Yukarıdaki patojenik özellikler sonucu gelişen lezyonların, özellikle akciğerin üst loblarında yerleşme eğilimi gösterdiği, erken evrede ise, mediastinal ya da hiler lenf bezlerinde geliştiği, daha sonra bunların visceral plevra ve parankime yerleştiği belirlenmiş, bu moleküllerin burada fibroblast proliferasyonunu uyararak kollojen sentezini artırdığı, bu durumun ise fibrozisi indüklediği düşünülmektedir. Lezyonların giderek büyümesi sonucu basit formlerleyerek progresif masif fibrozis geliştiği görülmüştür^{60,62}.

2.5. Kuvarsın İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

2.5.1. Silikoz

Silikoz, çoğunlukla 0,5-2 µm arasındaki boyutlarda kuvarsın inhalasyonu sonucu gelişebilen, geri dönüşümsüz, çoğu zaman ölümcül, fibrotik dokularla karakterize bir akciğer hastalığıdır. Silikoz; kuvarsa uzun süre, yüksek konsantrasyonlarda maruz kalınması sonucu meydana geldiğinden, mesleki bir hastalık olarak kabul edilmektedir^{63,64}.

Silikoz; klinik olarak akut, akselere ve kronik olmak üzere üç çeşidi vardır. Akut silikoz; bireyin, kumlama, tünel kazma ve seramik gibi oldukça yüksek dozlarda kuvars maruziyeti olan mesleklerde birkaç hafta ile 5 yıllık bir

süre arasında oluşabilir. Akut silikozda, akciğer dokusu inflamasyonu ve ödeminin yanında alveoler yüzey proteini hasarı gibi morfolojik bozukluklar mevcuttur ^{65,66}.

Akselere silikoz; daha yavaş gelişim gösterir. 5-10 yıl sonra oluşur. Kuvarsın büyük bir kısmı, kollojen ve retikulin yapılarıyla etkileşerek fibrotik alanlar meydana getirir. Bu alanlar içinde çok sayıda tek çekirdekli hücre, fibroblast ve kollojen lifler dairesel şekilde yerleşerek silikotik nodülleri oluşturmaya başlarlar. Alveoler bölümler hipertropik ve hiperplastik epitelyum hücreler ile tabakalar şeklinde kaplanmıştır ^{65,66}.

Kronik silikoz; uzun süre düşük dozda kuvars maruziyeti sonucu gelişir. 10 yıl ve üzerindeki sürelerde oluşur. Kuvars ile etkileşmiş makrofaj, fibroblast ve lenfositler hasarlı bölgede dairesel olarak birikirler. Asseleredeki silikotik nodüller daha belirgindir. Oluşan nodüllerin büyüklüğü kalsifikasyon ve nekrozisin, dolayısıyla hastalığın derecesini gösterir. ⁶⁵⁻⁶⁷.

2.5.2. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, yapısal olarak, normal akciğer dokusundaki hücrelerin, çeşitli nedenlerle ihtiyaç ve kontrol dışı çoğalarak akciğer içinde giderek büyüyen bir kitle oluşturmaktadır. Akciğer kanseri, tüm dünyada en sık görülen kanserlerin başında gelmektedir. Tanı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen en fazla ölüme yol açan kanserlerden biri durumundadır. Akciğer kanseri, tedavi ve prognoz açısından; küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri olmak üzere iki çeşittir ^{68,69}.

Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri; tüm akciğer kanserlerinin %75'ini oluşturur. Yassı epitel hücreli, büyük hücreli ve adeno kanser olarak üç gruptan oluşur. Bu tür kanser, ilk olarak kemoterapi ve/veya radyoterapi ile tedavi edilir ^{64,65}.

Küçük hücreli akciğer kanseri; daha nadir görülen bu türdür. Oldukça hızlı seyirlidir ve tanı konduğu zaman çoğunlukla vücudun başka bölümlerine yayılmış olarak karşımıza çıkar. Bu tür kanserin öncelikli tedavisi cerrahidir^{68,69}.

Kanserin nedenleri çok çeşitlidir. Kanser oluşumunda oluşunda pek çok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörleri başlıca iki gruba ayırmak mümkündür. Bunlar; kişisel özellikler ve çevresel faktörlerdir. Kişisel özellikler arasında ailevi yatkınlık, bazı genetik faktörler rol oynamaktadır. Ancak kansere neden olan faktörlerin % 80'ini, sigara içilmesi, gıda katkı maddeleri, endüstriyel ve madensel kirlilikler gibi çevresel faktörler oluşturur^{50,70,71}.

1986 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO)⁷² raporunda mesleki kuvars maruziyeti limitinin 40 µg/m³'e indirilmesi önerilmiş, fakat raporda kuvarsın kanser yapıcı etkisinden bahsedilmemiştir. 1987 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü'nün⁷² yaptığı çalışmalardan sonra kuvarsın kanser oluşturma etkisi hakkında yetersiz kanıt olduğu sonucuna varılmıştır. Fakat daha sonraki yapılan incelemelerde ve elde edilen araştırma sonuçlarında; kontrol gruplarının uygun seçilmediği, hastaların tamamen kuvars maruziyetinde olanlardan seçilmediği, silikotik nodüllerin yanlış sınıflandırıldığı, hastalığın tayininde ve örneklemelerde hatalar yapıldığı görülmüştür^{5,9,62,72}.

1997 yılında IARC⁵ tarafından, kuvarsın karsinojen olduğunu gösteren çalışmaların ayrıntılı olarak incelendiği yeni bir monograf hazırlanmıştır. Çalışmalar sonucunda IARC; insanların mesleki olarak kuvarsın kanser yapıcı etkisi olduğunu belirlemiş ve kuvars; Grup 1 yani insan karsinojenleri içine alınmıştır⁵.

Akciğer kanseri riski; toplam kuvars maruziyeti, maruziyet süresi, maruziyetin konsantrasyonu, radyografik olarak tanımlanan silikoz varlığı, silikoz

tanısı tarihinden itibaren takip süresinin uzunluğu gibi etmenlere bağılı olarak ortaya çıkabilmektedir ⁵.

2.6. Kuvars Maruziyetini Azaltma Yöntemleri

Hava yolu toksisitesine neden olabilecek kimyasalların toksisitesini engellemek veya azaltmak için çeşitli yöntemler düşünülmüş ve izlenmesi gereken yöntemler belirlenmiştir; fakat bunların hepsine birlikte uyulması gerektiği sonucuna varılmıştır ^{73,74}.

Kuvars toksisitesinden korunmak için uygulanacak en iyi yöntem, kuvars kullanımının ortadan kaldırılması veya azaltılmasıdır. Bu durum söz konusu değilse kuvarsla aynı veya yeterli verimi sağlayan, sağlığa zararsız veya kuvarsa göre daha az zararı olan, başka bir molekülün kullanılması iyi bir seçenektir. Bunun yanında; çalışma yönteminin bütün olumsuz yönleri irdelenip, tamamı veya kusurlu yönlerinin değiştirilmesi, kaynaktan yayılan silikanın ortama yayılmasının engellenmesi gibi yöntemlerde kullanılabilir ⁷³.

Ortam ve kuvars kaynağı üzerinde bütün korunma yöntemleri uygulansa bile mesleksi kuvars maruziyetini engellemek mümkün olmayacağı gibi, işçilerde olası sağlık sorunları için işçiler üzerinde de bazı düzenlemeler gerekmektedir. Bunlar; işçilerin yöntemin ayrıntıları konusunda eğitilmesi, işverenin kullanılan yöntem hakkındaki yenilikleri araştırarak riski azaltacak her yeniliğe açık olması, işçilerde yapılacak ihmalin getireceği zararların kavranmasının sağlanmak amacıyla eğitimler verilmesi, çalışma ortamına afiş, uyarı levhaları asılması, yapılan hatalarda işçiyi caydırıcı cezaların verilmesi, işçilerin çok uzun süre silikaya maruz kalmasını engellemek için işçilerde rotasyon sisteminin uygulaması, çalışanın maske, eldiven ve solunum cihazları gibi kişisel güvenlik ekipmanlarıyla çalışmasının sağlanması ve bu bireylerin şikayetlerinin dinlenerek düzenli şekilde sağlık taramalarının yapılması, sağlık

taramasını işe girebilmek için gerekli kılınması bu durumun işyerlerine yasal zorunluluk haline getirilmesi şeklinde sıralanabilir ^{73,75}.

2.7. Türkiye’deki Yönetmelik ve Tüzüklerdeki Toz Maddelere ve Kristalin Silikaya İlişkin Düzenlemeler

Resmi gazetede 14.09.1990 tarihinde 20635 sayılı Maden ve Taş Ocağı İşletmelerinde ve Tünel Yapımında Tozla Mücadeleyle İlgili Yönetmelik yayınlanmış ve bu yönetmelik üzerinde 26/02/2000 tarihinde 23976 sayılı bir düzenleme yapılmıştır. Bu yönetmelikte kuvarsa ait eşik sınır değerler ile bu değerlere göre işyerlerinde çalışma süreleri aşağıdaki şekilde belirtilmiştir ⁷⁶;

Eşik sınır değerler;

Madde 16 -(Değişiklik: RG 26/2/2000-23976) Yönetmelik kapsamına giren tüm işyerlerinde ipliksi toz dışında ortam havasında kristal yapıda SiO₂ içeriği %5'ten fazla olan solunabilir tozların Eşik Sınır Değerleri (ESD) aşağıdaki eşitlik yardımı ile bulunur.

$$ESD = \frac{25}{\% \text{ SiO}_2} \text{ mg/m}^3$$

Kristal yapıda SiO₂ içeriği %5'ten az olduğu takdirde ESD 5 mg/m³ olarak kabul edilir.

Solunabilir toz içinde kristal yapıda SiO₂ oranı %5'ten az olan yerlerde birinci ölçmeyi takip eden toz ölçmelerinde kristal yapıda SiO₂ yoğunluğu tespiti zorunlu değildir. Ancak kayaç değişikliği durumlarında bu oran yeniden tespit edilir ⁷⁶.

Eşik Sınır Değerlerine göre işyerlerinde çalışma;

Madde 17 - (Değişik: RG 26/2/2000-23976) Toz yoğunluğu ESD'nin üstünde olan işyerlerinde üretime yönelik olarak işçi çalıştırılmaz. Bu gibi işyerlerinde toz oluşumunun önlenmesi veya tozun bastırılması yöntemleri ile toz yoğunluğunun ESD'nin altına düşürülme çalışmaları yapılır. Toz bastırma çalışmaları sonucunda toz ölçümü yenilenir, toz yoğunluğu ESD'nin altına düştüğü tespit edildiğinde çalışmalara izin verilir ⁷⁶.

2.8. Kuvars Toksisitesine Yönelik Araştırmalar

Kuvars ile ilgili araştırmalar IARC 1987 monografından⁹ sonraki in vivo, in vitro ve epidemiyolojik araştırmalara dayanarak, IARC'nin 1997'deki monografında⁵ grup değiştirerek insan karsinogenleri arasına alınmıştır. Kuvarsın kullanıldığı ya da işlendiği işkollarında biyolojik etkinlik açısından ve fizikokimyasal özellikleri açısından, toksisitenin değişkenlik gösterdiğinden dolayı, halen araştırmalar devam etmektedir.

2.8.1. Genotoksisite Yöntemleri

Genotoksisite, fiziksel ya da kimyasal etkenlerle genetik materyalde oluşan hasardır. Genetik materyalde oluşan hasarlar tamir edilemediğinde DNA sekans değişiklikleri, kromozom aberasyonları ile sonuçlanabilen tek veya birden fazla nükleotid değişiklikleri ve bunların sonucu olarak da rekombinasyon, mutasyon, doku hasarı, yaşlanma ve kanser oluşabilmektedir ⁷⁷.

Genotoksisite testleri; DNA'da meydana gelen hasarı tespit ederek kanserden korunmada, çevresel etkenlerin (UV, irradyasyon) ve endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların piyasaya sürülmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmada kullanılmaktadır. En fazla kullanılan genotoksisite yöntemleri; Kromozomal Aberasyon (CA), MÇ, Comet, Kardeş

Kromatid Değişimi(SCE) yöntemleridir ⁷⁷⁻⁷⁹. Tez çalışmamızda kullandığımız yöntem olarak MÇ Yöntemi'ne yer verilecektir.

2.8.1.1. Mikroçekirdek Yöntemi

Mikroçekirdek; hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya akrosentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. Kromozom sayısındaki değişikliği uyaran etkenler, sentromer bölünme hatalarına ve iç iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; yapısal değişikliklere neden olanlar ise, kromozom kırıkları oluşturarak, MÇ oluşuma neden olurlar ⁸⁰⁻⁸².

Mikroçekirdek Analizi; anafaz safhasındaki kromatin dağılımının bozulması sonrasında oluşmuş mitotik hücrelerin incelenmesi temeline dayanan genotoksisite değerlendirme testidir. Telefaz safhasından sonra, bu yer değiştirmiş kromatin, yavru hücre sitoplazması içinde çekirdekten ayrı, tekli veya çoklu MÇ olarak gözlenir. MÇ sayısındaki artış, çeşitli etkenlerin hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin belirlenmesinde bir gösterge olarak değerlendirilmektedir ^{80,82,83}. MÇ Yönteminin diğerlerine göre pek çok avantajı mevcuttur (Tablo 5).

Tablo 5: Mikroçekirdek yönteminin avantajları ^{80,83-85}

Hem sayısal hem yapısal kromozom hasarını belirlemede etkili bir yöntemdir.
Hastaya fiziksel rahatsızlık vermez.
Tekrarlanabilir.
Ağız ve burun boşlukları, bronşlar, özofagus, mesane gibi dokularda da çalışılabilir.
Uygulama kolaydır.
Çok fazla sayıda hücre değerlendirilebilir.
İstatistiksel yönden anlamlı sonuçlar elde edilir.

Pek çok hücre tipinde uygulanabilmesi yöntemin en önemli avantajlarından^{12, 15, 84-90}. Araştırmamızda; SD-MÇ Yöntemi ile İB hücrelerinde uygulanabilen MÇ Yöntemi kullanılmıştır.

2.8.1.2. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi

Mikroçekirdek testi 1950’lerde bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde, 1970’lerde hayvan hücrelerinde^{91,92}, daha sonra Heddle ve arkadaşları tarafından kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır⁹³. Pek çok çalışmada kullanılan bu yöntem PKL’nde Fenech ve Morley⁹⁴ tarafından geliştirilmiş, mitoz bölünmede sitokinezin bloke edildiği yöntem değişikliği ile son halini almış ve kanserin bir göstergesi olduğu ispatlanmıştır²⁵.

Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek yönteminde; sitoplazmanın bölünmesi sitokolazin-B (cyt-B) ile engellenir. Cyt-B bunu, sitoplazmanın iki yavru hücreye bölünmesinin sağlayan mikrofilament halkasının oluşumu için gerekli olan aktin polimeraz enzimini inhibe ederek gerçekleştirir. Sonuçta çekirdek bölünmesini tamamlamış, sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler oluşur. Bu tip hücreler değerlendirmeye alınarak MÇ bulunduran hücrelerin oranı kolaylıkla tespit edilebilmektedir^{94,95}. SD-MÇ Yönteminin işçi sağlığı üzerine kullanıldığı çalışmalar arasında; diş teknisyenleri⁹⁰, kuvars maruzyeti¹² kömür madeni işçileri bulunmaktadır¹⁵.

2.8.1.3. İndükte Balgamda Mikroçekirdek Yöntemi

Balgamın sitolojik incelemesi, akciğer hastalıklarının tanısında ve hava yolu inflamasyonunun gösterilmesinde çok eski yıllardan beri sık kullanılan bir yöntemdir⁹⁶. Doğrudan balgam incelenmesi, zor ve sonuçları yeterince güvenilir olmayan bir yöntemdir. Bunun nedeni olarak; bazı hastalardan yeterli

balgam elde edilememesi, tükürük kontaminasyonu, işlemin zaman alması, yalnızca hücre dağılımı ve total hücre sayımı yapılabilmesi olarak sıralanabilir^{97,98}.

Doğrudan balgam çıkaramayan kişilerde hipertonic solüsyonları nebulizör yoluyla inhale ettirerek alt solunum yollarından yeterli balgam elde etmek için yapılan işleme balgam indüksiyonu, elde edilen materyale de İndükte Balgam adı verilir⁹⁹.

Uzun yıllar çeşitli hastalıkların tanısı için kullanılsa da esas 1989 yılında Gibson ve arkadaşları²⁷, İB yönteminin güvenilir ve geçerli bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur. 1992 yılında Pin ve arkadaşları⁹⁶ bu yöntemi özellikle astımda inflamasyonun gösterilmesinde kullanmışlardır.

Yöntemin standardize edilmesi için 2002 yılında Avrupa Solunum Derneği(ERS) ve Amerikan Toraks Derneği(ATS) ortak bir protokol yayınlamışlardır⁹⁹.

İndükte Balgam yönteminde, ultrasonik nebulizör ile hipertonic tuzlu su kullanılarak, yüksek miktarda, doğrudan hastalık bölgesinden alınan ve epitel hücre bakımından daha temiz balgam eldesi sağlanmaktadır. Aynı zamanda ditiyotireitol (DTT) kullanılarak bu avantajlar daha da artırılmıştır^{97,100}.

Ditiyotireitol; Müsinöz glikoproteinlerle çapraz bağ yaparak balgamı jel formunda tutan disülfid bağlarını parçalayarak mukoliz meydana getirir. Böylece rezidüel mukusa hapsolmuş hücrelerin sıvılaşma sonucunda açığa çıkmasını sağlar. Bu durum daha az numunede daha fazla hücre ile çalışılabilme imkanı tanır (Tablo 6-7). Aynı zamanda DTT örnekte çok az hücre hasarına yol açar¹⁰¹.

Tablo 6: Yetişkin bir bireyde hücre sayılarında doğrudan balgam alma ve İB karşılaştırılması ¹⁰²

	Doğrudan Alınan	İndükte Balgam
Total hücre sayısı (10 ⁶ /g)	11,1	16,5
Canlı hücre (%)	71,8	80,6
Skuamoz hücre (%)	55,6	2,7
Makrofajlar (%)	46,2	49,9
Lenfositler (%)	0,6	0,6
Eozinofiller (%)	8,3	15,3
Nötrofiller (%)	42,7	33,3
Epitelyum hücreler (%)	2,2	0,9

Tablo 7: Ditiyotireitol kullanımının balgam hücre sayıları üzerine etkisi ¹⁰⁰

	DTT Kullanılmayan	DTT Kullanılan
Balgam Ağırlığı(g)	2,24	2,06
Toplam Hücre(10 ⁶ /g)	0,70	1,33
Skuamoz Hücre %	11	6
Canlı Skuamoz Hücre %	0,56	1,25
Makrofaj %	54,8	62,4
Lenfosit %	2,5	2,3
Nötrofil %	27,3	22,8
Eozinofil %	2	2,3
Epitelyum Hücre %	2,6	2,2

Hipertonik tuzlu suyun balgam indüksiyonunu sağlamadaki etkinliğinin şu mekanizmayla gerçekleştiği düşünülmektedir; nebulizörle alınan hipertonik tuzlu su, hava yolunu kaplayan sıvının osmolitesinde artışa neden olur. Bu durum hava yolu epitelinin dışarıya sıvı akışı hızlandırır, sıvı akışında ki artış

submukozal bezlerdeki mukus yapımını stimüle eder, böylece hava yolundaki balgam miktarı artar. Balgam miktarındaki artış öksürük reseptörlerinin stimüle ederek öksürükle balgam çıkışını uyarır^{97,99}.

İB yöntemi avantajlı bir yöntem olmasının yanında, yöntemin uygulanmasına engel teşkil etmeyen bazı dezavantajları da mevcuttur (Tablo 8)^{97,101,103,104}.

Tablo 8: İndükte balgam yönteminin avantajları ve dezavantajları^{98,101,103,104}

Avantajları	Dezavantajları
Çocuklarda ve yaşlılarda kolaylıkla yapılır.	Bronkokonstriksiyon riski vardır.
Kısmen fiziksel sıkıntı vermez.	Başarı oranı %80'dir.
Proksimal hava yolundan direkt örnekler alınabilir.	Balgamın işlenmesi biraz fazla iş yükü gerektiriyor.
Hastaların %75-100'ünden yeterli materyal almak mümkündür.	Sonuç için en az 100 dk gereklidir.
Tekrarlanabilir.	Hastalığın tipini her zaman belirleyemiyor.
Geçerlidir.	Hastalığın ciddiyetini belirlemede yetersizdir.
Basit, pratik ve ucuzdur.	
Güvenilirdir.	
Cihazları elde etmek kolaydır.	
İşi bilen bir teknisyten yeterlidir.	
Çok sayıda hastayla çalışılabilir.	

İB analizi; astım, KOAH, tüberküloz, akciğer kanseri, kronik öksürük, eozinofilik bronşit gibi hastalıkların teşhisinin konulmasında etkili bir yöntemdir^{27,105,106}. Aynı zamanda bazı çalışmalarda genotoksisitenin belirlenmesinde de kullanılmıştır^{28,107-109}. Bu çalışmalar arasında işçi sağlığına

yönelik tek çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmada Loomis ve ark.¹⁰⁷ uranyum işçilerinde radon gazının genotoksik etkisini belirlemek için balgam epitel hücrelerinde MÇ analizi yapmışlardır. İşçilerin kansere genetik yatkınlığı ve sigara kullanımı da kaydedilmiştir. Sonuç olarak 92450 epitel hücresi sayılmış ve 1,92 MÇ/1000 hücre ortalaması ($p = 0,81$) hesaplanmış ve radon gazının genotoksitesini hakkında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır¹⁰⁷.

İB hücrelerinin kullanıldığı diğer MÇ çalışmaları; sigara kullananlarda beta-karoten kullanımının MÇ sıklığı üzerindeki etkisinin belirlenmesi¹⁰⁸, içme suyu ile arseniğe maruz kalan kişilerde oluşabilecek genotoksik riskin belirlenmesi²⁸ ve kent havasındaki kirliliğin çocuklarda oluşturduğu genotoksik riskin belirlenmesinde¹⁰⁹ kullanılmıştır.

2.8.1.4. Kuvars Maruziyetine Yönelik Genotoksitesite Yöntemlerinin Kullanıldığı Moleküler Epidemiyoloji Çalışmaları

Yeryüzünde yüksek konsantrasyonda bulunan kuvarsın endüstride yoğun olarak kullanılması bu işyerlerinde çalışan işçilerin kuvarsa maruziyetini sürekli hale getirmiştir^{51,54}. Kuvars kaynaklı oluşabilecek genotoksitesiteyi araştıran sınırlı sayıda insan biyogösterge çalışması mevcuttur^{15,110}.

Schins ve ark.¹⁴ kronik olarak silika içeren kömür tozuna maruz madencilerde in-vivo oksidatif hasarı ölçmüştür. PKL'nde 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ölçülmüş ve kömür işçilerinde kontrole karşı yüksek bulunmuştur. Kronik silika maruziyet ile oksidatif stres yanıtların arttığı bu çalışmayla gösterilmiştir.

Pilger ve ark.'nın¹⁷ benzer bir çalışmasında kuvarsa maruz işçilerin ve silikoz hastaların kan ve idrarlarında 8-OHdG ölçülmüştür. Sonuçta silikozlu hastalarda hasar görmüş akciğer dokularında onarımın etkinliğinin daha az olduğu, pulmoner hava yolu tıkanmasının daha fazla olduğu görülmüştür.

Sobti ve Bhardwa²⁰ CA ve SCE düzeylerini Hindistan'daki taş kırıcılarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuştur. Bu durumu iş yerinde solunan silikayla ilişkilendirmişlerdir.

Başaran ve ark.¹⁶ döküm ve çömlek işçilerindeki DNA hasarını Comet Yöntemiyle araştırmıştır. Sonuçta, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Demircigil ve ark.¹² kristalin silikaya yüksek konsantrasyonda maruz kalan işçiler üzerinde yaptıkları MÇ analizinde; lenfosit ve burun epitel hücreleri kullanılmış, sonuç olarak; çalışan bireylerdeki MÇ sıklığında sağlıklılara göre anlamlı derecede artış belirlenmiştir.

Ülker ve ark.¹⁵ kömür işçileri üzerinde yaptıkları MÇ çalışmasında; işçilerin MN sıklığında kontrol grubuna göre anlamlı olmayan artış saptanmıştır.

2.8.1.5 Kuvars Maruziyetine Yönelik Epidemiyoloji Çalışmaları

Kuvarsın 1997 yılı ile insan karsinojeninin gösterilmesinde katkısı olan epidemiyolojik çalışmalar⁵, bu tarihten sonra da devam etmiştir. Kuvars üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmalar, çeşitli iş kollarında olası maruziyet ile silikoz ve kanser arasındaki ilişkiyi sorgulamaktadır¹¹¹⁻¹²². Buradaki amaç, çeşitli standart-koyucu örgütün, insan karsinojeni olarak kabul edilen kuvarsla ilgili yapılan çalışmalar ışığında, kendi ulusal ya da Avrupa Birliği standartlarını belirleme çabasıdır¹¹¹.

Almanya'da 1985-1987 yılları arasındaki, porselen endüstrisinde çalışmış 17644 birey, 2005 yılına kadar ölüm açısından izlendiğinde, kuvars maruziyeti ile silikoz mortalitesi (SMR = 7.20; 95% CI = 2.32- 16.8) arasında anlamlı ilişki saptanırken, maruziyet ile akciğer kanseri arası ilişkiyi destekler

sonuç bulunamamıştır¹¹⁹. Uranyum madencilerine üzerinde yapılan bir vaka-kontrol araştırmasında radon ile akciğer kanseri arasındaki ilişki incelenecekken, işçilere ait silikoz ve sigara içme alışkanlıkları ile ilgili verilerin de kaydedilmesi akciğer kanseri ile silikoz arasındaki ilişkiyi akla getirmiştir. Sonuçlara göre, akciğer kanseri ile silikoz arasında anlamlı ilişki saptanmış (Çapraz oran silikoz=3.6; 95% CI: 1.4-8.9) ve radon, silikoz varlığı ve sigaranın akciğer kanseri üzerine etki yapan üç faktör olduğu belirtilmiştir¹¹⁸.

Epidemiyolojik çalışmalarda sıkça; sonucu etkileyen faktörlerin varlığından dolayı sonuçların elde edilenden farklı olabileceğinden söz edilmektedir. Özellikle çoklu kaynaklara maruziyetin bulunduğu ortamlarda, mesleki riskleri araştırmak zorluklara neden olmaktadır^{118,121}. Dolayısıyla, çalışmaların bazıları, daha önce yapılmış kohortların meta analizlerde bir araya getirilmesi, verilerin bu şekilde çoğaltılarak yeniden ve daha güvenli değerlendirilmesi şeklinde karşımıza çıkmaktadır^{112,115,120,121}. Silikoz ve akciğer kanseri riskini bir arada inceleyen epidemiyolojik çalışmalar arasında Martin ve ark.¹¹⁵'nin, Lacasse ve ark.^{116,119} 'nın, Amabile ve ark.¹¹⁷, Birk ve ark.¹¹⁸ 'nın çalışmaları bulunmaktadır.

1966-2004 arasını ele alan meta analiz çalışmasında da silikoz ile akciğer kanseri arasında ilişki saptanmıştır. Bunu sigara içmeyenler ve doz-yanıt ilişkisi olan çalışmalara sınırlandırarak bulmuşlardır¹¹⁶. Bir başka çalışmada, “silikozun gelişmediği durumlarda da silika maruziyeti akciğer kanserine neden olur mu?” sorusuna verilecek yanıt için 2007'ye kadar yapılmış konuyla ilgili çalışmalara bakıldığında, net bir sonuca ulaşılamamıştır. Silikoza neden olabilecek silika maruziyetinin altında ya da üstünde maruziyette akciğer kanserinin oluşumu; sigara gibi sonucu etkileyici faktörlerin de kontrol altına alınması yoluyla irdelenmelidir önerisi yapılmıştır¹²⁰.

Kurihara ve Wada¹²¹ tarafından yapılan çalışmada; silikoz ile akciğer kanseri arasında ilişkiyi gösteren sonuç bulunmuştur. Akciğer kanseri

riski, silikozlu olmayan, kuvars maruziyeti bulunanlarda ise gözlenmemiştir. Bir başka bulgu da, silikozlu bireylerde sigara kullanımının akciğer kanser riskini arttırdığıdır. Araştırmacılar, silikaya maruz bireylerde, akciğer kanser sıklığını azaltmada silikozun önlenmesinin ve sigara içiminin bırakılmasının önemli olduğunu vurgulamışlardır¹²¹.

Ulaşılan çalışmalar, silikoz ile akciğer kanseri ilişkisine işaret etmektedir. Ancak, çalışmaların yapıldığı yerlerdeki, toz maruziyet miktarı, iş çeşitliliği moleküler epidemiyoloji çalışmalarının desteğine de gerek duyulduğunu göstermektedir. Kot taşlamacılığı ile ilgili epidemiyolojik verilere rastlanmamıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışma grubumuz, kuvars maruziyeti olan kot taşlamacılığı iş kolunda çalışmış ve çoğunluğu sağlık nedenleriyle işi bırakmış 15 işçiden oluşmaktadır. Çalışma grubu; TC Sağlık Bakanlığı Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi ve TC Sağlık Bakanlığı İstanbul Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne başvuran kot taşlamacılığı iş geçmişi olan bireylerden ve yaş, sigara içimi ve cinsiyet bakımından çalışma grubuna benzerlik gösteren 15 kontrolden oluşmuştur.

Çalışmaya katılan işçilere ve kontrol grubuna yaş, sigara ve alkol kullanımı, ilaç ve vitamin kullanımı, geçirdiği ve mevcut hastalıkları, çalışma saatleri ve ne kadar süre bu iş kolunda çalıştıkları, çalışırken ne tip önlemler aldıkları konusunda bir anket uygulanmıştır (Ek1). Anket kullanımıyla işçilere uygun kontrol bulmak, ayrıca çalışmamızda sonucu etkilen değişkenlerin oluşturacağı hataların önüne geçmek amaçlanmıştır.

Kontrol grubumuz yaş ve sigara içme durumu açısından işçi grubuna benzeyen, çalıştıkları yerlerde toz maruziyeti olmayan erkek bireylerden oluşmuştur. Çalışmaya katılan bireylerden çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verilerek çalışmaya katılma konusunda gönüllü olur formu doldurtulmuştur (Ek 2).

Çalışmamıza; TC Sağlık Bakanlığı Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi tarafından; 24/06/2009 tarihli 162 no'lu kararla Etik Kurul onayı verilmiştir (Ek 3).

3.2. Çalışma Grubundan Biyolojik Örneklerin Alınması

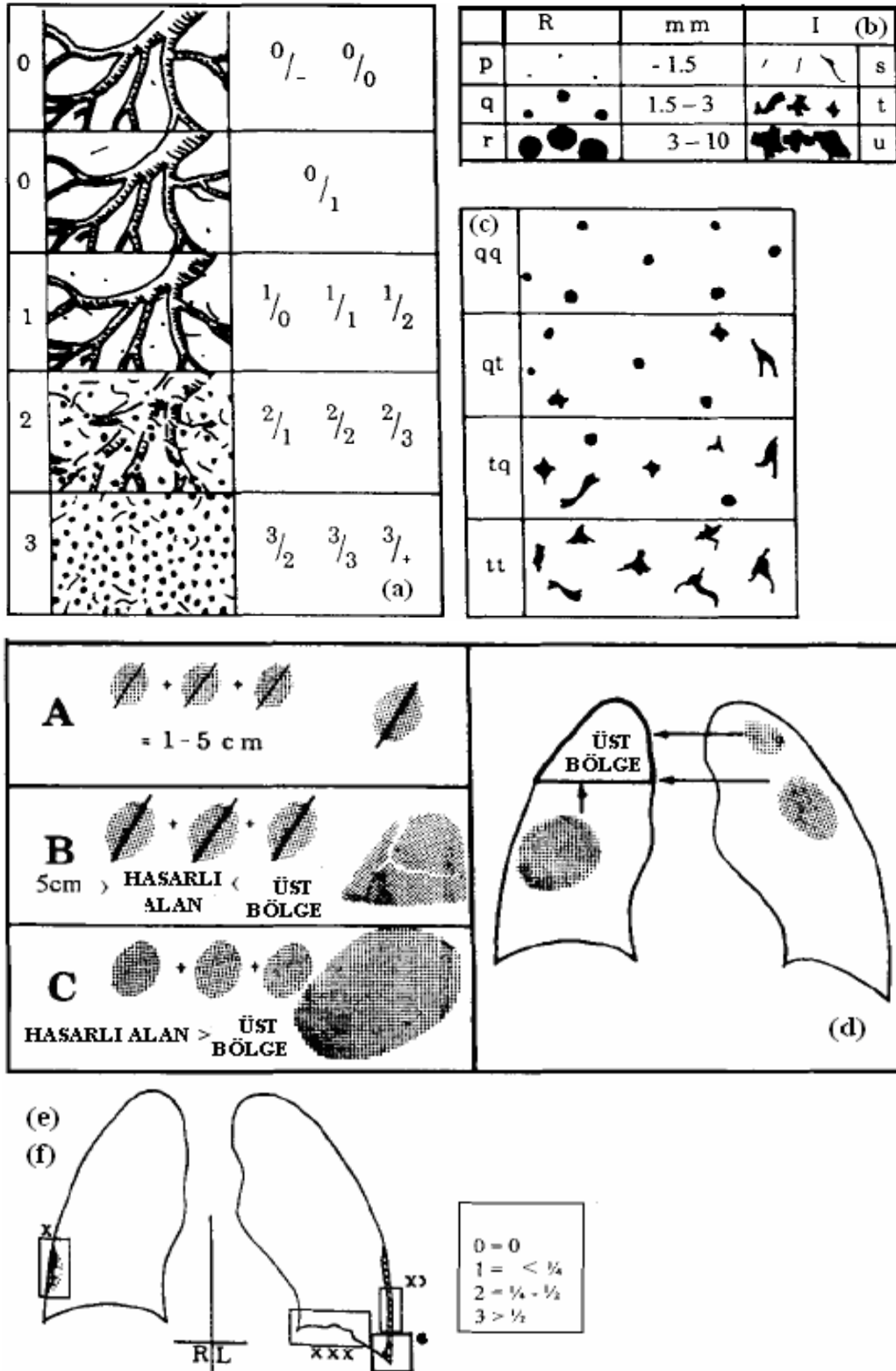
Çalışma grubundan biyolojik örnek olarak, kan ve İB alınmıştır. Ayrıca, tez kapsamına dahil edilmeyen ileri araştırmalar için idrar örnekleri de alınmıştır. Kan örnekleri heparinli vakumlu tüplere, İB örnekleri ise uzman hekim gözetiminde 50 ml'lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Toplanan kan ve balgam örnekleri, soğuk zincir ile en geç 2 saat içinde Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı'na gerekli işlemlerin yapılması için getirilmiştir.

3.3. Çalışma Grubuna Ait Akciğer Filmleri

Silikoz varlığını ve derecesini belirleyebilmek adına çalışmada yer alan işçilerin akciğer filmleri Meslek Hastalıkları Hastanelerinde çekilmiştir. Bu filmler Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) standartlarına (Şekil 1)¹²² uygun olarak değerlendirilmek için (Tablo 9), B okuyucusu uzman doktora iletilmiştir.

Tablo 9: ILO sınıflandırmasına göre akciğer filmlerindeki inceleme kriterleri ¹²²

Sınıflandırma türü	Kategori sayısı
Opositelerin yoğunluklarına göre (a)	12
Opositelerin boyutuna göre (b)	3
Opositelerin şekline göre (c)	4
Opositelerin kapladıkları alana göre (d)	3
Akciğerdeki hasar oluşturduğu bölgesine göre (e)	3
Opositelerin oluşturduğu riske göre (f)	4



Şekil 1: ILO sınıflandırmasında radyografik bulguların şematize edilmesi ¹²²

3.4.Yöntemlerde Kullanılan Gereç ve Kimyasallar

Mikroskop (Zeiss), Santrifüj (Bench-top NF 800R), Ultrasonik Nebulizör (Plusmed)

RPMI 1640, Fetal Kalf Serum, Fitohemaglutinin, L-Glutamin, KCl, Sitokolazin B, Dimetilsülfoksit, Giemsa ve May Grünwald boyaları, Asetik Asit, Metanol, %3-4,5 hipertonic tuzlu su, Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS), %0,1 DTT solüsyonunu, Tripan mavisini, Giemsa ve May Grünwald boyaları

3.5. Mikroçekirdek Yöntemi

3.5.1. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi

Çalışmamızda Fenech ve ark. tarafından 1990 yılında en son halini almış Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi kullanılmıştır²⁶.

Steril koşullarda 25 ml fotal buzağı serumu, 2,5 ml fitohemaglutinin, 0,5 ml L-glutamin ile zenginleştirilmiş 100 ml RPMI 4,5'ar ml olacak şekilde santrifüj tüplerine bölünüp -20°C'de kullanılana kadar tutulmuştur. Çalışmadan 15 dakika önce vasatlardan her birey için iki adedi çözünmeye bırakılmıştır. Çözünme tamamlanınca bireylerden heparinli vakumlu tüplere alınan venöz kandan 0,5 ml'si vasat içerisine steril koşullarda eklenmiştir. Tüpler 72 saat 37 °C' de kalmak üzere inkübatöre konulmuştur. 44. saatte steril koşullarda her tüp içerisine 6 µg/ml olacak şekilde Dimetil Sülfoksit içinde çözünmüş cyt-B çözeltisi eklenmiştir. 72. saatin sonunda inkubasyona son verilerek tüpler ters-düz edildikten sonra 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek, üst kısım su trompu ile atılmıştır. Tüplere vorteks üzerinde 0,075M KCl çözeltisinden 5 ml eklenmiş ve buzdolabında 3 dk bekletildikten sonra 1000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi yapıp üst kısım su trompu ile atılmıştır. Vorteks üzerinde 3:1 oranında taze hazırlanmış, soğuk metanol:asetik asit karışımı ile 3 kez 1000

rpm’de 10 dk santrifüj edilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 1000 rpm’de 10 dk santrifüj işlemi son kez yapıldıktan sonra, üst kısım su trompu ile atılmıştır. Altta kalan beyaz çökelti şeklindeki temizlenmiş lenfositler cam pastör pipeti ile daha önceden metanol içinde soğutulmuş lamlar üzerine her bireye 2 lam olacak şekilde damlatılarak yayılmıştır. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan lamlar, kuruma tamamlanınca Giemsa ve May Grünwald boyalarında boyanmış ve distile su içerisinde yıkanarak oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Kuruma tamamlanınca lamlar her birey için 1000 binükleer hücre x400 büyütmede değerlendirilmiştir. Değerlendirme sırasında sadece sitokinezin durdurulduğu binükleer hücrelerde gözlenen MÇ’ler kaydedilmiştir.

3.5.2. İndükte Balgam Analizi ve İndükte Balgam Hücrelerinde Mikroçekirdek Yöntemi

Çalışmamızda 2002 yılında Avrupa Solunum Derneği (ERS) ve Amerikan Toraks Derneği (ATS) tarafından hazırlana protokole bağlı kalınarak Pavord ve ark. tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır^{97,99}.

Bireyler deneyimli bir hekim gözetiminde, yapılacak işlemler hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirilmiştir. İndüksiyon işleminde çıkışı 1ml/dk’ya ayarlanan ultrasonik nebulizör vasıtasıyla bireylere pirojensiz, steril % 3’lük tuzlu su inhale ettirilmiştir. Balgam eldesi zor olduğunda, tuzlu su konsantrasyonu 4,5’a kadar arttırılmıştır. Bu işleme 5-7 dakika arayla istenilen balgam miktarı elde edilinceye kadar toplamda 21 dakikayı geçmemek şartıyla devam edilmiştir. Bu sırada beklenmeyen bir semptomun meydana geldiği durumlarda işleme hemen son verilmiştir.

Balgam alınma işlemi bitince hemen işleme alınamayan örnekler buzdolabında muhafaza edilerek en geç 2 saat içinde işleme alınmıştır.

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilen İB örneklerinde, işlem başlangıcında balgamın daha yoğun ve viskoz kısımları ayrılarak alınmıştır. Elde edilen bu örneklerinin ağırlıkları ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

%0,1 DTT'nin PBS içersindeki çözeltisinden balgam ağırlığın 4 katı olacak şekilde İB üzerine eklenmiştir. Pastör pipetiyle yavaşça aspire edilerek 15 saniye vortekslenmiştir. Tüp karıştırıcı ile oda ısısında 15¹ karıştırılarak homojenize edildikten sonra örnek üzerine DTT çözeltisiyle eşit hacimde PBS çözeltisi eklenip vortekslenmiştir. 5¹ oda ısısında tüp karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra homojenizasyonun tam olarak sağlanabilmesi için oda ısısında 15 dk bekletilmiş, kirliliklerden temizlemek için 52 µm. gözenekli naylon filtreden süzme işlemleri yapılmıştır. Daha sonra +4°C sıcaklıkta 1560 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

Üstteki sıvı kısım su trompuyla atıldıktan sonra altta kalan hücre pelleti, PBS ile resüspande edilerek hacim 1 ml'ye tamamlanıp, hafifçe aspire edilmiştir. Sonra örnekten 10 µl hücre süspansiyonu alınıp üzerine 10 µl tripan mavisi ile 260 µl distile su eklenip hücre canlılığına bakılmıştır. Bulunan değer %50'den fazla olduğunda işleme devam edilmiştir.

Örneklerden üzerine 200 µl damlatılan lam üzerine yapıştırılan ikinci bir lamın yatay pozisyonda ayrılması işlemiyle elde edilen ikişer lam oda ısısında kurumaya bırakılmıştır. Kuruma tamamlanınca lamlar Giemsa ve May Grünwald boyaları ile boyanarak, tekrar kurumaya bırakılmıştır. Sonra lamlar x400 büyütmede, her bireyde 1000 adet alveoler makrofaj olacak şekilde MÇ içeriği bakımından değerlendirilmiştir. Alveolar makrofajlar, geniş sitoplazmaları, yuvarlak şekilleri ve belirgin hücre çekirdekleri ile tanımlanmıştır. Mikroçekirdekler bu hücrelerin sitoplazması içinde, ana hücre çekirdeği ile aynı şekil, renkte olması ve ana çekirdeğin en az 1/3 boyutunda olması ile tanımlanmaktadır.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler ortalama $\pm$ standart sapma (ort $\pm$ ss) olarak belirtilmiştir. Analizler Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi 9.0 ile yapılmıştır. Kolmogorov-Smirnov Testi ile verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları incelenmiştir. İki grup arası karşılaştırmalarda, normal dağılıma uyan parametreler için t Test, uymayanlar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır. İki den fazla grup karşılaştırması yapılırken ANOVA Analizi, post hoc olarak ise Bonferroni Test uygulanmıştır. Lineer Regresyon Analizi, sigara, mesleki maruziyet süresi ve yaşı MÇ sıklıkları üzerine etkisini belirlemek üzere kullanılmıştır.

$p < 0.05$ düzeyindeki sapmalar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1.Genel Bilgiler

Çalışmamıza katılan bireylerin yaş, sigara kullanımı, çalışma süresi, MÇ sıklıkları ve silikoz olan bireylerin hastalık derecelerini gösteren genel bulgular Tablo 10 ve Tablo 11’de gösterilmektedir.

Çalışmada yer alan bireylerin demografik özelliklerine göre değerlendirilmeleri Tablo 12’de verilmiştir. İşçilerin, kot taşlamacılığında çalışma sürelerinin ortalama değeri ve her biri işi bıraktığı için, kaç yıl önce işi bıraktıklarının da ortalaması alınmış ve Tablo 12’de gösterilmiştir. MÇ sıklığını etkilemesi olası yaş ve sigara durumu açısından gruplar karşılaştırıldığında, kot taşlamacılığı yapan bireylerin yaş ortalaması (ort±ss) (25,867±2,669), kontrol grubunun yaş ortalamasına göre (28,200±2,808) istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiştir($p<0.05$; Tablo 12). Dolayısıyla mesleksen maruziyet parametrelerine ait bulgular incelenirken, yaş etkisi kontrol altına alınmaya çalışılmıştır. Grup içinde sigara kullanımı açısından, bireylerin sayıları istatistiksel olarak uyumlu bulunmuştur ($p>0.005$; Tablo 12).

Tablo 10: İşçilere ait Genel Bilgiler

Hasta no	Adı soyadı	Yaş	Sigara kullanımı (adet/gün)	Çalışma süresi(yıl)	Kaç Yıldır İşten Ayrı Olduğu	Lenfosit MÇ Sıklığı(‰)	İndükte Balgam MÇ Sıklığı(‰)	Silikoz Sınıflandırması
1	R.T.	23	İçiyor(1-10)	4	6	7	18	r/r 3/3
2	N.D.	30	yok	2	5	5	7	q/q 3/3
3	V.Y.	27	İçiyor(1-10)	3	7	6	-	r/r 3/3 ax
4	Z.A.	31	yok	4	7	3	16	p/q 2/2
5	S.Y.	23	yok	3	6	6	-	q/q 3/3
6	Z.D.	27	yok	3	7	4	4	p/q 2/3
7	E.Y.	28	yok	5	3	5	15	q/r 3/3
8	S.O.	28	yok	3	8	2	-	p/q 2/2
9	M.A.	24	yok	3	4	2	-	r/r 3/3 tA ₁
10	M.S.	27	yok	3	7	1	11	r/r 3/3 tc
11	R.O.	23	yok	6	5	8	11	p/p 1/2
12	N.D.	23	yok	3	7	4	-	p/q 3/3
13	Z.D.	24	İçiyor(1-10)	9	4	7	6	p/q 1/2
14	Y.Y.	26	yok	4	6	2	-	q/r 3/3 tax
15	N.Ç.	24	İçiyor(1-10)	1,5	4	3	11	p/p 1/1

Tablo 11: Kontrol Grubuna ait Genel Bilgiler

Kontrol no	Adı Soyadı	Yaş	Sigara kullanımı (adet/gün)	Lenfosit MÇ Sıklığı(%)	İndikte Balgam MÇ Sıklığı(%)
1	S.T.	29	yok	1	3
2	F.K.	26	yok	4	-
3	B.D.	31	yok	2	10
4	U.Y.	32	İçiyor(11-20)	2	-
5	B.I.	32	İçiyor(11-20)	6	4
6	M.E.D.	24	yok	1	3
7	E.S.Ö.	27	yok	0	3
8	Ö.Ç.	27	İçiyor(11-20)	1	-
9	E.K.	31	İçiyor(11-20)	0	3
10	Y.T.	31	yok	0	2
11	S.Ö.	26	İçiyor(1-10)	1	-
12	M.G.	30	İçiyor(11-20)	4	3
13	H.Ö.K.	26	yok	2	-
14	G.Ç.	27	İçiyor(1-10)	1	3
15	G.S.	24	İçiyor(11-20)	1	-

Tablo 12: İşçi ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	İşçi	Kontrol
Kişi sayı		
Toplam	15	15
Sigara içen ^a	4	8
1-10 adet	4	2
11-20 adet	0	6
>20 adet	0	0
Sigara içmeyen	11	7
Yaş^b (ort±SS)	25,867±2,669	28,200±2,808
Çalışma süresi(yıl)	3,767±1,821	-
İşten kaç yıl önce ayrıldığı	5,733±1,486	-

^aHasta ve kontrol grubunda sigara içenlerle içmeyenler arasında uyum vardır ki kare testi(p=0,344). ^bHasta ve kontrol grubu arasında yaş açısından fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,027).

4.2. Mikroçekirdek Yöntemine İlişkin Bulgular

4.2.1. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Yöntemi

Çalışmamıza katılan bireylerden alınan kan lenfositlerindeki MÇ sıklığı işçi grubunda (ort±ss) (4.333±2.160), kontrol grubuna göre (1.733±1.710) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 13). Sigara içen ve içmeyenler olarak gruplara ayrıldığında, MÇ sıklığı açısından işçi grubunun sigara içenleri ile kontrol grubu sigara içenleri arasında istatistiksel anlamlı fark (p<0.05) devam ederken, sigara içmeyen işçiler ile sigara içmeyen kontroller arasındaki fark anlamlı değildir (p>0.05). Ayrıca, işçilerin ve kontrol grubunun sigara içenleri ile içmeyenlerin kendi aralarında MÇ sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır(Tablo 13).

Tablo 13: Lenfosit mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması(ort±SS)

	İşçi	N	kontrol	n	P
MÇ					
Genel	4.333±2.160	15	1.733±1.710	15	0.001
Sigara içmeyenler	3.818±2.089	11	1.429±1.397	7	0.091
Sigara içenler	5.750±1.893	4	2.000±2.000	8	0.021

İşçi grubundaki bireylerin tamamı silikoz hastasıdır. Çalışmamızda ILO ¹¹⁵ standartlarına göre akciğer filmleri, 1/0, 1/1 ve 1/2 okunanlar Grup I, 2/1, 2/2 ve 2/3 okunanlar Grup II; 3/2, 3/3 ve 3/+ okunanlar Grup 3 olarak adlandırılmıştır. Kontrol grubundaki bireylerde silikoz öyküsü bulunmamaktadır, bu nedenle karşılaştırmada sağlıklı olarak belirtilmiştir. Lenfosit MÇ sıklıkları bu gruplandırma içinde değerlendirildiğinde (Tablo 14); sağlıklı kontrollerle, grup I ve grup III arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.05). Gruplar kendi aralarında MÇ sıklığı açısından farklılık göstermemiştir (p>0.05). Silikozlu hastaların yaş ortalamaları incelendiği zaman gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05).

Tablo 14: Lenfosit mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında silikoz hastalığının derecesine göre karşılaştırılması(ort±ss)

	Sağlıklı	N	Grup 1	N	Grup II	N	Grup III	n
MÇ								
	1.733±1.710 ^a	15	6.000±2.646 ^b	3	3.000±1.000	3	4.222±2.108 ^c	9
Yaş								
	28.200±2.808	15	23.667±0.577	3	28.667±2.082	3	25.667±2.550	9

^{a-b}p=0,008; ^{a-c}p=0.026

4.2.2.İndükte Balgam Hücrelerinde Mikroçekirdek Yöntemi

Çalışmamıza katılan bireylerden işçi grubunda 15 kişiden 9’undan, aynı şekilde kontrol grubunu oluşturan 15 kişiden 9’undan İB alınabilmektedir. İşçilerden sadece 4 kişi sigara kullanmaktadır. Bunların tamamı günde 10 taneden az sigara kullanmaktadır. Kontrol grubunda ise tamamına yakını 11-20 adet sigara kullandığından kullanılan sigara adeti hesaplamada göz ardı edilmiştir. Alınan İB hücrelerindeki MÇ sıklığı işçi grubunda (11.000 ± 4.743), kontrol grubuna göre (3.778 ± 2.386) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (tablo 15). Sigara içen ve içmeyenler olarak gruplar ayrıldığında, işçi grubunun sigara içenleri ile kontrol grubu sigara içenleri ve sigara içmeyen işçiler ile sigara içmeyen kontroller arasındaki İB-MÇ sıklığı açısından fark anlamlı değildir ($p>0.05$). Ayrıca, işçilerin ve kontrol grubunun sigara içenleri ile içmeyenlerin İB-MÇ sıklığı kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 15).

Tablo 15: İndükte balgam mikroçekirdek sıklığı(‰) bakımından işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması(ort±ss)

	İşçi	n	kontrol	n	p
İB-MÇ					
Genel	11.000±4.743	9	3.778±2.386	9	0.001
Sigara içmeyenler	10.667±4.590	6	4.200±3.271	5	0.107
Sigara içenler	11.667±6.023	3	3.250±0.500	4	0.090

Sağlıklı kontrol grubu ile, silikoz derecesine göre Grup I, II, III olarak sınıflandırılan işçiler arasında İB-MÇ sıklıkları karşılaştırıldığında (Tablo 16); sağlıklı kontrollerle, grup III arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Lenfosit MÇ sıklığı açısından gruplar kendi aralarında farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Dikkat çeken bir diğer durum, silikoz hastalığı olan bireylerdeki İB-MÇ sıklığına bakıldığında silikoz hastalığının derecesi

arttıkça MÇ sıklığında artış gözlenmesidir (Tablo 16). Bu durum yaş kontrol altına alınarak yapılan korelasyon analizinde, İB-MÇ sıklıkları ile silikoz derecesi arasında güçlü ilişki bulunmuştur ($r=0.705$, $p=0.002$).

Tablo 16: Silikoz hastalığının derecesine göre İndükte Balgam mikroçekirdek sıklığının(‰) işçi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması(ort±ss)

	Sağlıklı	N	Grup I	N	Grup II	n	Grup III	n
İB-MÇ	3.778±2.386 ^a	15	9.333±2.887 ^b	3	10.000±8.485	2	12.750±4.787	4

^{a-b} $p=0.009$

Lineer regresyon analizi ile bütün grup ele alındığında, hem kandaki hem de indükte balgamdaki MÇ sıklığı üzerinde en güçlü etkiyi silikoz hastası olmanın yaptığı bulunmuştur ($p_{PKL\ MÇ}=0.002$, $r=0.611$; $p_{İB\ MÇ}=0.004$, $r=0.745$).

Lineer regresyon analizi ile işçi grubundaki lenfosit MÇ değerinin üzerinde en güçlü etki yapan değişkeni bulabilmek için kullanılan değişkenlerden (çalışma süresi, işi bıraktıktan sonra geçen süre, silikoz derecesi, yaş, sigara içip içmemek) hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı güce sahip bulunmamıştır ($P>0.05$).

Lineer regresyon analizi ile işçi grubundaki İB MÇ değerinin üzerinde en güçlü etki yapan değişkeni bulabilmek için kullanılan değişkenlerden (çalışma süresi, işi bıraktıktan sonra geçen süre, silikoz derecesi, yaş, sigara içip içmemek) hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı güce sahip bulunmamıştır ($P>0.05$).

5. TARTIŞMA

İnsanlarda çevresel ve mesleki etkenlerden kaynaklanabilecek toksik etkileri, hastalıkları öngörebilmek için; bireydeki maruziyet düzeyini, etki biçimini ve/veya duyarlılığı gösteren yöntemlere ihtiyaç vardır. İnsan biyogösterge çalışmaları toksisite, karsinojenite ve hastalığın erken tespitinde etkili yöntemlerdir. Bu çalışmalar pahalı olmayan yöntemler olmasının yanında deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar arasında köprü görevi de görürler¹¹⁰. Moleküler epidemiyoloji alanına dahil edilebilecek araştırmamızda da, bu amaçla genotoksisite etki biyogöstergesi kullanarak, mesleki bir maruziyetin olası etkilerini sorgulamak istedik.

Dünya yüzeyinde oksijenden sonra ikinci sırada yer alan element olan kuvars, mesleki maruziyetler ve mesleki hastalık etkeni olarak da ilk sıralardadır. Silikoz ve akciğer kanseri, kuvarsin oluşturduğu en önemli ve tehlikeli hastalıklardır⁵. Kuvars, keskin kenarlı düzensiz şekilli partiküllerdir. Toksisitesinden kristal yapısının yanında, yüzey radikalleri, hidrofilik bölgeleri, boyutu, oksidatif stresi indükleyen davranışı gibi pek çok etken bir arada sorumludur¹²³. 1997 yılında IARC'nin solunum yolu ile mesleki maruziyetlerde kuvarsi insan karsinojeni olarak belirlerken, her türlü iş ortamında aynı etkiyi göstermediğini vurgulaması, kuvarsin kendisine has özellikleri ve bulunduğu çevrede başka etkenlerle olan etkileşiminden kaynaklanmaktadır⁵.

Özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde, kumlama işkollarında¹⁹ ana maruziyet kaynağı kuvarstır ve oluşan toksisiteden tek başına sorumlu tutulabilir. Ülkemizde dikkatleri üzerinde toplamasına asıl neden olan durum ise, kot taşlamacılığı adı verilen işkolunda, merdiven altı ortamlarda, kısa süre çalışması sonucunda ortaya çıkan akut silikoz ve bu nedenle oluşan ani ve genç meslek ölümleridir^{63,64}. Kot taşlama işlemi, yüzeyin aşındırılıp renginin açılması veya yumuşatılıp düzleştirilmesi amacıyla, basınçlı hava veya buhar verilerek yüzey üzerine kum partiküllerinin püskürtülmesi işlemidir^{19,53}. Sağlık

Bakanlığı 27 mart 2009 tarihinde yayınladığı genelgeyle⁵⁶ kot taşlamacılığını yasaklamıştır. Ancak, karardan daha önce kot taşlamacısı olarak, sosyal güvenliği olmadan çalışmış işçilerin birçoğu silikoz hastalığına yakalanmıştır ya da silikoz şüphesi taşımaktadır. Bu silikoz hastaları, Ankara ile İstanbul Meslek Hastalıkları Hastaneleri'nde izlenmektedir. Araştırmamız, Meslek Hastalıkları Hastanelerine kot kumlamacısı iş öyküsü ile başvuran hastalarda aday ve hedef dokularda MÇ Yöntemi uygulayarak, akciğer filmleri yoluyla silikoz tanısı konmuş bireylerde hastalık ile genotoksisite arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

Silikoz, bağışıklık sistemi ile bağlantılı bir pnömokonyozdur ve kuvars maruziyeti ile karakterizedir⁶³. Pek çok epidemiyolojik çalışma^{116,119,120,124} ise karsinojenik etkinliği de kanıtlanmış kuvarsın silikoz nedeni ile mi, yoksa ayrı bir yoldan dolayı mı akciğer kanserine neden olduğunu araştırmaktadır. Bu tür ilişkilerin araştırılmasının nedenlerinden biri de ülkelerin kuvarsa yönelik koydukları sınır değerlerle ilgili gerekli düzenlemeleri yapmaktır^{110,124}.

Genotoksisitenin, kansere giden yolda ara bir basamak olarak kabul edilmesi, genotoksisite yöntemlerini de kanseri öngörebilen teknikler olarak karşımıza çıkarmaktadır. Çalışmamızda da kullandığımız, SD-MÇ Yönteminin, kanser riskini öngörme etkinliğinin ispatlandığı 2007'de yayınlanan araştırma sonuçları ile gösterilmiştir²⁵. Yöntem, kromozom kırıkları ve kromozom kayıpları konusunda güvenilir ve uygun bulunması nedeniyle¹²⁵ moleküler epidemiyoloji çalışmalarında ideal, değerli bir biyogösterge haline gelmiştir.

MÇ Yöntemi, yaşam tarzı, mesleksi ve çevresel genotoksinlere maruziyetin göstergesi olarak, ağız, burun, serviks gibi başka dokularda da invaziv olmayan yöntemlerle kullanılabilir¹²⁶. Majer ve ark.¹²⁶ eksfoliy hücrelerde MÇ Yöntemini, uygulandığı dokudaki insan kanser riskini görebilmek için yararlı bir biyogösterge olarak önermektedir. Buradan yola çıkacak olunursa, kuvarsın insanlarda genotoksisitesi araştırılırken hedef doku olarak, maruziyet yolunu temsil eden hücre tipleri ile çalışmak önemlidir. Günümüze kadar kuvars

genotoksisitesine yönelik, hedef doku kullanılan işyeri çalışması olarak, burun epitel hücrelerinde MÇ yönteminin kullanıldığı Demircigil ve ark. nın¹² çalışmasına ulaşılmaktadır. Burun epitel hücreleri, PKL ile paralel olarak incelenmiş ve iki yöntem arasında sonuçlar ilişki göstermiştir. Kuvars maruziyeti ile karakterize hastalık olan silikozlu bireylerde, hedef doku olarak İB seçilen çalışmamızda da yaklaşımımız MÇ sıklığını araştırmak için alternatif olup olamayacağını araştırmaktır. İB, bronkoalveoler lavajla (BAL) birlikte hedef bölgeye en yakın alınan numune özelliğini taşımaktadır. Bunun yanında İB; BAL yöntemine kıyasla fiziksel bir sıkıntı vermediği gibi cerrahi bir işlem gerektirmez. İB yönteminde örnek alınan bireylerin yaş aralığının genişliği en önemli avantajıdır. Yaklaşık %75'lik bir verim elde edilmesi, çok sayıda hastayla çalışılabilmesi, basit, ucuz bir yöntem olması ve bunların yanında güvenilir olması yöntemin diğer yöntemlere göre avantajları olarak sıralanabilir^{98,101,103,104}.

Leigh ve ark.⁸⁸ sıçan alveolar makrofajlarında, Albrecht ve ark.¹²⁷ ise sıçan alveolar makrofajlarına ek olarak epitel hücrelerinde in vivo olarak kuvars toksisitesini MÇ yöntemi ile araştırmışlardır.

Nagalakshmi ve ark.⁸⁶ in vitro MÇ yöntemini, V79 (çin hamster akciğer hücresi) hücre dizisinde ve Hel299 (insan akciğer hücresi) hücre dizisinde kuvarsın genotoksisite mekanizmalarına yönelik olarak kullanmıştır.

İnsan biyoizleme çalışmaları arasında kuvars genotoksisitesine yönelik MÇ yöntemi Ülker ve ark.¹⁵ tarafından PKL'nde, Demircigil ve ark.¹² tarafından ise hem PKL, hem de burun epitel hücrelerinde kullanılmıştır. MÇ yönteminin İB hücrelerinde, kuvars maruziyetine yönelik kullanıldığı herhangi bir çalışma ile karşılaşılmamıştır.

Adı geçen hemen hemen bütün çalışmalarda MÇ sıklığı, kuvars uygulamasında ya da kuvars maruziyetinde artış göstermiştir. Çalışmamızın bulgularına göre de; silikoz hastalarında, sağlıklı kontrol grubumuza göre lenfosit

MÇ sıklığı ile İB MÇ sıklığı istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.05$). Çalışmamızın, genotoksisitenin kullanıldığı, kuvars maruziyetine yönelik diğer çalışmalardan farkı^{15-17,20,109}; işçilerin çalıştıkları sürece mesleksi olarak sadece kuvarsa maruz kalmaları, maruziyetin ortalama 4 yıl kadar önce sona ermiş olması ve silikoz hastalığı olanlarda gerçekleştirilmiş olmasıdır. Çalışmamız, bilgilerimize göre, kot taşlamacılarında genotoksisitenin araştırıldığı Türkiye ve dünyada gerçekleştirilmiş ilk çalışmadır.

Çalışmamızda yer alan kot taşlamacılığında çalışmış silikoz hastası işçilerin çoğunluğu, göğüste sıkışma hissi, göğüste hırlama şikayetleriyle hastaneye başvurmuşlardır. Ülkemizde, kot taşlamacılığı işinde çalışmış bireylerde gerçekleştirilen çalışmalarda^{23,50,50}; SFT, radyolojik incelemeler yapılmıştır. Ortalama 3 yıl gibi kısa bir süre bu iş kolunda çalışmış işçilerde 20'li yaşlarında radyolojik olarak silikoz tanısı konulmuştur.

Genotoksisite yöntemlerinde; yaş, sigara içimi, cinsiyet gibi özellikler, sonucu etkileyici faktörler olarak kabul edilmektedir. Çalışmamıza katılanların tamamı erkek bireylerden olduğundan cinsiyetin çalışmamız üzerine etkisi bulunmamaktadır.

Lenfositlerdeki MÇ sıklığının yaş ile artması beklenir. Çalışmamızda kontrol ve işçi grubunun yaşları 30'un altındadır. Ancak, iki grup arasında yaş ortalaması anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol grubunun yaş ortalamasının, işçilerden anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen, MÇ sıklığında işçilerdeki anlamlı artış, geçmiş kuvars maruziyeti ve silikoz ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca regresyon analizinde de, değişkenler arasında yaş ve sigara kullanımı olmasına rağmen, sadece silikoz varlığının MÇ sıklığı üzerinde anlamlı etkisi gözlenmiştir ($p<0.05$). Yaş kontrol altına alınıp gerçekleştirilen korelasyon analizinde de, İB MÇ sıklığı ile silikoz derecesi arasında anlamlı güçlü bir ilişki saptanmıştır ($p<0.05$).

Sigara içilmesinin işçilerde, her iki dokuda da MÇ sıklığını arttıran etkisi olduğu saptanmıştır. Sigara içmeyen işçilerde, sigara içmeyen kontrollere göre iki dokuda da MÇ sıklığında anlamlı olmayan artış gösterirken, bu artış sigara içen işçilerde, sigara içen kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı olmuştur ($p<0.05$). Kuvarsa yönelik epidemiyolojik çalışmalarda da, sigara içiminin silikoz ve akciğer kanseri oluşumunda sinerjik etkinliğinden söz edilmektedir^{120,121}. Daha önce yapılan kuvarsa yönelik çalışmalardan; Başaran ve ark.nın çalışması¹⁶ sigaranın fazladan risk oluşturduğunu ortaya koymuştur. Pilger ve ark.¹⁷ sigara içimi ile 8-OHdG arasında ilişki bulamamıştır. Ancak sigara içen hasta işçilerde, ilişki anlamlıdır. Schins ve ark.nın¹⁴ çalışmasında ise; sigaranın herhangi bir etkisi bulunamamıştır. Demircigil ve ark.¹² nin çalışmasında da özellikle burun epitel hücrelerindeki MÇ sıklığı sigara içimi ile artmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamız, kuvars toksisitesine yönelik olarak İB hücrelerinde gerçekleştirilmiş ilk MÇ çalışmasıdır. Kot taşlamacılığı işkoluna yönelik de ilk genotoksiste çalışma niteliğindedir.

Moleküler epidemiyolojinin, gerçek maruziyet koşullarında kimyasal ve fiziksel etkenlerin insanlardaki etkilerini ortaya koymak açısından önemli bir yeri bulunmaktadır. Bizim moleküler epidemiyoloji çalışmamızın da kuvars konusunda ortaya koyacağı insan verileri ile tartışmalı konulara destek vereceği düşüncesindeyiz.

Özellikle, ülkemizde ciddiyetini koruyan, silikoz gibi, geri dönüşümü olmayan bir hastalıkla genç yaşta karşı karşıya kalan insanların durumu ülkemiz için önemli bir sorundur.

Kot taşlamacılığı ile ilgili yapılmış ya da yapılacak çalışmaların; konuya dikkat çekmek, bu tür işlerde korunmasız çalışmanın ortaya çıkardığı sonuçları ortaya koymak, en önemlisi de hastalıkların oluşum nedenleri konusuna ışık tutması açısından önemi büyüktür.

İş ve işyeri koşullarından kaynaklanan hastalıkların önüne geçilebilmesi için; bilimsel araştırmaların bu konulara eğilmesi, korunma önlemleri konusunda eğitim programlarının uygulanması, etkenlere yönelik sınır değerlerin, düzenlemelerin gözden geçirilmesi ve izlenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızın, silikoz ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi saptamada yer alan tartışmalara da katkıda bulunacağını umuyoruz.

7. ÖZET

Kristal Yapılı Silikaya Mesleksi Maruziyetle Karakterize Silikoz Hastalığı Olanlarda Genotoksik Hasarın Belirlenmesi

Kristal yapıli silikaya (kuvars), mesleksi maruziyet, silikoz hastalığına yol açmaktadır. Kuvars; IARC tarafından 1997’de insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır. Kuvarsa en fazla maruz kalınan işkollarından biri de kot taşlamacılığıdır. Ülkemizdeki pek çok genç insanın silikoz hastalığına yakalanmasına neden olan bu iş kolu yasaklanmış olsa da önemini korumaktadır.

Amacımız; silikoz hastalarında genotoksik riski belirleyerek, silikoz ile kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalara katkıda bulunmaktır.

Çalışmamıza kot taşlamacılığı iş öyküsü olan ve silikoz hastası olan bireyler(n=15) alınmıştır. Silikoz tanısı akciğer filmleri ile konulmuştur. Kontrol grubu ise sağlıklı gönüllülerden oluşmuştur. PKL ve İB hücrelerinde MÇ yöntemi uygulanmıştır. İşçilerin ortalama çalışma süreleri (ort±ss) 3,767±1,821 yıldır. Hastaların 9 tanesi, ILO sınıflandırmasına göre 3. gruptadır.

Periferel Kan Lenfositlerindeki MÇ sıklığı işçi grubunda (4.333±2.160), kontrol grubuna göre (1.733±1.710) istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Aynı şekilde, İB hücrelerindeki MÇ sıklığı da işçi grubunda (11.000±4.743), kontrol grubuna göre (3.778±2.386) istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur (p<0.05). Silikozlu bireylerde sigara içiminin MÇ sıklığını her iki dokuda da arttırıcı etkisi gözlenmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamız kuvars maruziyetine yönelik İB hücrelerinde MÇ yönteminin ilk kez kullanıldığı çalışmadır. Çalışmamız ile silikoz hastalığının MÇ sıklığını dolayısıyla genotoksik riski arttırdığı bulunmuştur. Böylece, bu sonuç silikoz ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi de desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: kuvars, genotoksisite, balgam indüksiyonu, mikroçekirdek yöntemi , silikoz

8.SUMMARY

Determination of Genotoxicity in silicotic patients characterized with occupational exposure to crystalline silica

Occupational exposure to crystalline silica (quartz) results to the silicosis disease. Quartz has been classified as human carcinogen in 1997. Denim-blasting is one of the working area in which there could be the highest exposure to quartz. Although this working area, which has caused many young silicosis patients has been banned in our country, still it is critically important.

Our aim is, to give support the research investigating the relationship between silicosis and lung cancer by determining the genotoxic risk in silicosis patients.

The silicosis patients (n=15) worked in denim-blasting have been engaged to our study. They have been diagnosed with their X ray chest films. The control group consisted of healthy volunteers (n=15). Micronucleus (MN) Assay has been carried in peripheral blood lymphocytes (PBL) and in cells from sputum induction (SI). The mean work duration of the workers was (mean $\pm$ sd) 3,767 $\pm$ 1,821 years. Nine of the silicosis patients were in group 3 according to the ILO classification.

The MN frequency in PBL of workers (4.333 $\pm$ 2.160) were found to be statistically significantly higher vs. the control group (1.733 $\pm$ 1.710) ($p < 0.05$). In the same manner, SI MN frequency in workers (11.000 $\pm$ 4.743), were statistically significantly higher vs. the control group (3.778 $\pm$ 2.386) ($p < 0.05$). It has been observed that smoking had increasing effect for MN frequency in both of the tissues.

As a conclusion it is the first study using SI-MN assay regard to quartz exposure. With our study, it has been established that to have silicosis

increased the MN frequency thus the genotoxic risk. In this respect, this result supports the relationship between the silicosis and lung cancer.

Keyword: quartz, genotoxicity, sputum induction, micronucleus assay, silicosis

9. KAYNAKLAR

1. Kocbach A, Li Y, Yttri KE, Cassee F R, Schwarzel PE, Namork E. Physicochemical characterisation of combustion particles from vehicle exhaust and residential wood smoke. Part Fibre Toxicol. 2006; 3(1): 1-10.
2. Nemery B, Bast A, Behr J, Borm PJA, Bourke SJ, Camus P, Vuyst PD, Jansen HM, Kinnula VL, Lison D, Pelkonen O, Saltini C. Interstitial lung disease induced by exogenous agents: factors governing susceptibility. Eur Respir J. 2001; 18:30-42.
3. Mirici A, Tutar U. İn hale Edilen Partikülün Solunum Sistemindeki Serüveni. Toraks Dergisi. 2002; Ek 3(2):3-6.
4. Asbestos. International Agency for Research on Cancer.. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 14. Lyon: IARC , 1987.
5. Silica. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 68. Lyon: IARC; 1997.
6. Wood Dust and Formaldehyde. International Agency for Research on Cancer IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 42 Lyon: IARC; 1995.
7. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 58. Lyon: IARC; 1993.

8. Chromium, Nickel and Welding. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 49. Lyon: IARC; 1990.
9. Silica and Some Silicates. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 42. Lyon: IARC; 1987.
10. Salvi S, Holgate ST. Mechanisms of particulate matter toxicity. Clinical and experimental allergy. Clin. Exp. Allergy. 1999; 29(9): 1187-94.
11. Aydoğan S, Tuncay A. Taş ve Kağıt İşçiliğinde Çalışanlar ile Büro Çalışanlarında Akciğer Fonksiyonlarının Karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Dergisi 2007; 16(2):103-108.
12. Demircigil GC, Coskun E, Vidinli N, Erbay Y, Yilmaz M, Cimrin A, Schins RP, Borm PJ, Burgaz S. Increased micronucleus frequencies in surrogate and target cells from workers exposed to crystalline silica-containing dust. Mutagen. 2010; 25: 163-169.
13. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel DP, Sharp DS, Weston A, Burleson G.R., Simeonova P., Mckinstry M., Luster M.I.. Association of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 gene polymorphisms with silicosis. Toxicol Appl Pharmacol. 2001; 172(1): 75-82.
14. Schins RP, Borm PJ. Epidemiological evaluation of release of monocyte TNF-alpha as an exposure and effect marker in pneumoconiosis: a five year follow up study of coal workers. Occup Environ Med. 1995; 52(7): 441-450.

15. Ulker OC, Ustundag A, Duydu Y, Yucesoy B, Karakaya A. Cytogenetic monitoring of coal workers and patients with coal workers' pneumoconiosis in Turkey. *Environ Mol Mutagen*. 2008; 49(3): 232-237.
16. Basaran N, Shubair M, Undeger U, Kars A. Monitoring of DNA damage in foundry and pottery workers exposed to silica by the alkaline comet assay. *Am J Ind Med*. 2003;; 43(6): 602-610.
17. Pilger A, Germadnik D, Schaffer A, Theiler A, Pils P, Sluka F, Winker N, Rudiger HW. 8-Hydroxydeoxyguanosine in leukocyte DNA and urine of quartz-exposed workers and patients with silicosis. *Int Arch Occup Environ Health*. 2000; 73(5): 305-310.
18. Aydın S, Aral I, Kilic N, Bakan I, Aydın S, Erman F. The level of antioxidant enzymes, plasma vitamins C and E in cement plant workers. *Clin Chim Acta*. 2004; 341(1-2): 193-198.
19. Sevinc C, Cimrin AH, Manisali M, Yalcin E, Alkan Y. Sandblasting under uncontrolled and primitive conditions in Turkey. *J Occup Health*. 2003; 45: 66-69.
20. Sobti RC, Bhardwaj DK. Cytogenetic damage and occupational exposure. I. Exposure to stone dust. *Environ Res*. 1991; 56(1): 25-30.
21. Greenberg MI, Waksman J, Curtis J. Silicosis: A Review. *Dis Mon*. 2007 ; 53(8): 394-416 .

22. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Kurumu Bakanlığı.. Ankara: Sosyal Günelik Kurumu Yayınları 2003;82-83
23. Akgun M, Mirici A, Ucar EY, Kantarci M, Araz O, Gorguner M. Silicosis in Turkish denim sandblasters. *Occup Med.* 2006; 56(8): 554-558.
24. Cimrin A, Sigsgaard T, Nemery B. Sandblasting jeans kills young people. *Eur Respir J.* 2006; 28(4): 885-886.
25. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti MP, Bolognesi C, Cebulska-Wasilewska A, Fabianova E, Fucic A, Hagmar L, Joksic G, Martelli A, Migliore L, Mirkova E, Scarfi MR, Zijno A, Norppa H, Fenech M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogen.* 2007; 28(3), 625-631.
26. Fenech M, Denham J, Francis W, Morley A. Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes of cancer patients following. *Int J Radiat Biol.* 1990; 57 (2): 373-383.
27. Gibson PG, Girgis GA, Morris MM. Cellular characterization of sputum from patients with asthma and chronic bronchitis. *Thorax* 1989; 44:693-699.
28. Tian D, Ma H, Feng Z, Xia Y, Chris LX, Ni Z, James A, Barbara C, Dina S, Judy LM. Analyses of Micronuclei İn Exfoliated Epithelial Cells From Individuals Chronically Exposed to Arsenic Via Drinking Water İn Inner Mongolia, China 2001. *J. Toxicol. Environ. Health.* 2001; 64(A): 473-484.

29. Wilson, WE, Chow JC, Claiborn C, Fusheng W, Engelbrecht J, Warson JG. Monitoring Of Particulate Matter Outdoors. Chemosphere. 2002; 49: 1009-1043
30. Particulate Matter [İnternette]. 2008 [07/09/2009 tarihinde bakıldı]. URL: www.epa.gov/particles
31. Characteristics of Particles - Particle Size Categories[İnternette]. 2008 [07/09/2009 tarihinde bakıldı]. URL: <http://www.epa.gov/air/oaqps/eog/bces/module3/category/category.htm>
32. Prados AI, Dickerson RR., Doddridge BG, Milne PA, Moody JL, Merrill J. T, Geophys J. Transport of Ozone and Pollutants from North America to the North Atlantic Ocean During the 1996 (AEROCE). J. Geophys. Res. 1999; 104(D21): 26219–226233.
33. Toxicology of Man-Made Organic Fibers. ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals Technical Report) No. 69. Brussels 1996.
34. Stewart WC, Donovan BY. Deposition and clearance. İçinde: Murray J.F., Nadel J.A., editörler. Textbook of respiratory medicine. 2. baskı. Philadelphia: WB Saunders Company ;1994. 345-369
35. Hahn FF, Barr EB, Ménache MG, Seagrave J. Particle Size and Composition Related to Adverse Health Effects in Aged, Sensitive Rats. Res Rep Health Eff Inst. 2005; (129):1-73.
36. Seinfeld J, Pandis S. Atmospheric chemistry and physics of air pollution: from air pollution to climate change. 1. baskı. New York: Wiley; 1998.

37. Lazaridis M, Semb A, Larssen S, Hjellbrekke AG, Hov O, Hanssen JE, Schaug J, Tørseth K. Measurements of particulate matter within the framework of the European Monitoring and Evaluation Programme EMEP/I. First results. Sci Total Environ. 2002; 285(1-3): 209-235.
38. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans [İnternette]. 2009 [21/01/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/crthgr01.php>
39. Stuart B0. Deposition and Clearance of Inhaled Particles. Environ Health Perspect. 1976; 16: 41-53.
40. Respiratory System [İnternette]. 2008 [25/01/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
www.umm.edu/respiratory/anatomy.htm
41. Caglayan B. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) [internette]. 2009 [25/01/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
<http://www.akcigerim.com/?sayfa=koah>
42. O'Callahan C, Barry PW. The science of nebulised drug delivery. Thorax 1997; 52 (2): 31-44
43. Nicod LP. Pulmonary defence mechanisms. Respiration 1999; 66:2-11.
44. Numanoglu N. Solunum Sistemi ve Hastalıkları. 1.baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp AŞ Yayınları; 1997.
45. Manuel LJ. Crystalline Sılica Primer. Second series. USA: Special Publication; 1992. 1-25.

46. Fubini B. Surface Chemistry and Quartz Hazard. *Ann. Occup. Hyg.* 1998; 42(8): 521-530.
47. Gulumian M. An Update on the Detoxification Processes for Silica Particles and Asbestos Fibers: Successess and Limitations. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2005; 8(6): 453–483.
48. Calvert GM, Rice FL, Boiano JM, Sheehy JW, Sanderson WT. Occupational Silica Exposure and Risk of Various Diseases: An Analysis Using Death Certificates From 27 States of the United States. *Occup Environ Med.* 2003; 60: 122-129.
49. Dorevitch S, Babin A. Health hazards of ceramic artists. *Occup Med.* 2001; 16(4): 563-75
50. Akgun M, Araz O, Akkurt İ, Eroglu A, Alper F, Saglam L, Mirici A, Gorguner M, Nemery B. Kot Kumlama işçilerinde Silikoz Epidemisi. *Eur Respir J.* 2008; 32: 1295–1303.
51. Rogers A, Yeung P, Berry G, Lee J, Gardiner I, Apthorpe L. Silicosis and lung cancer—A study of A compensation register in australia. *Ann. occup. Hyg.* 1997; 41(1): 397-402.
52. Kuschner WG, Stark P. Occupational lung disease Pt 2: Discovering the cause of diffuse parenchymal lung disase *Postgraduate Med.* 2003; 113 (4): 81-88.
53. Sahbaz S, İnonu H, Ocal S, Yılmaz A, Pazarlı C, Yeginsu A. Denim sandblasting and silicosis two new subsequent cases in Turkey. *Tüberk Toraks* 2007; 55: 87-91.

54. Cimrin A. 'Silicosis' over again; causes and responsibilities. *Tuberk Toraks* 2007; 55: 118-122.
55. Akgun M, Gorguner M, Meral M, Turkyılmaz A, Erdogan F, Saglam A. Silicosis caused by sandblasting of jeans in Turkey: A report of two concomitant cases. *J Occup Health* 2005; 47: 346-349.
56. 27/03/2009 tarihli ve 9805 sayılı Genelge, Kot Giysilere Uygulanan Püskürtme İşleminde Kum Kullanımının Yasaklanması Hakkında Genelge. Ankara: Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü ; 2009.
57. Rosenman KD, Reilly M. J., Kalinowski D. J., Watt FC.. Silicosis in the 1990. *Chest* 1997; 111: 779-86.
58. Steenland K, Brown D. Silicosis Among Gold Miners: Exposure Response Analyses And Risk Assessment. *Am J Public Health* 1995; 85(10): 1372-7.
59. Ucar N, Saka D, Coskun Ö, Sarı A. Akciğerin Savunma Mekanizmaları. *Solunum Hastalıkları* 2002; 13: 153-160
60. Parker JE, Petsonk EL. Fishmann's Pulmonary Diseases and Disorders. Third series. New York: Mc Graw-Hill International; 1998.901-914.
61. Saffiotti U. Silicosis and lung cancer: a fifty-year perspective. *Acta Biomed.* 2005; 2: 30-37.
62. Castranova V. From coal mine dust to quartz: mechanisms of pulmonary pathogenicity. *Inhal Toxicol.* 2000; 12(3-7): 7-8.

63. Akkurt I. Mesleki Akciğer Hastalıkları [İnternette]. 2007 [10/02/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
<http://www.toraks.org.tr/mesleki-gelisim-kursu-4-ppt-pdf/iakkurt.pdf>
64. Akkurt İ. Silikoz. STED. Mart 2002; 11(9): 346-348
65. Castranova V, Vallyathan V. Silicosis and coal workers' pneumoconiosis. Environ Health Perspect. 2000; 108(4): 675-684.
66. Gökdoğan T. Taş ocaklarında solunabilir tozdeki kristalin SiO₂ miktarının belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi; 2009.
67. Shi X, Dalal NS, Hu XN, Vallyathan V. The chemical properties of silica particle surface in relation to silica-cell interactions. J Toxicol Environ Health 1989; A-27(4): 435 – 454.
68. Akciğer Kanseri [internette]. 2006 [05/02/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
<http://www.kanser.org/toplum/akanseri.php?content=1#content>
69. Saltürk C. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde klinik ve patolojik evrelerin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.
70. Bilir N. Sigara ve Kanseri. 1. Baskı. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları;2008.
71. Michelle S, Ginsberg MD. Epidemiology of lung cancer. Seminars In Roentgenology 2005; 40(2): 83-89.
72. Silica, Coal Report Of A WHO Study Group, Recommended health-based limits in occupational exposure to selected mineral dusts. World Health

Organization, WHO Technical Report Series 734.. Geneva: WHO; 1986.
80

73. İşyeri Ortamında Solunum Riskleri Değerlendirmesi ve Koruma Mesleki ve Çevresel Akciğer Hastalıkları Sempozyumu. Ergor A., Demiral Y.. Ankara: 2006.
74. Crystalline Silica Exposure [İnternette]. 2002 [27/01/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
<http://www.osha.gov/Publications/osha3177.pdf>
75. Akkurt İ. Mesleki Akciğer Hastalıkları [İnternette]. 2005 [10/02/2010 tarihinde bakıldı]. URL:
http://www.toraks.org.tr/mesleki-kurslar-2-ppt-pdf/ibrahim_Akkurt.pdf
76. 14.09.1990 Tarihli 20635 Sayılı Yönetmelik Bölüm 2, Madde 16, Maden ve Taşocakları İşletmelerinde ve Tünel Yapımında Tozla Mücadeleyle İlgili Yönetmelik. Ankara: Resmi Gazete; 1990.
77. Kramer PJ. Genetic toxicology. J Pharm Pharmacol 1998; 50: 395-405
78. Jena B, Kaul CL, Ramarao P. Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ıch guidelines. Indian J Pharm. 2002; 34: 86-99.
79. Albertini R, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DE, Tice R, Waters MD, Aitio A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in Humans. Mutat Res. 2000; 463(2): 111-172.

80. Vanparys P, Vermeiren F, Sysmans M, Temmerman R. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutat Res.* 1990; 244: 95-103.
81. Labay K, Ould-Elhkim M, Kles V, Guffray M, Paul JM, Sanders P. Effects of griseofulvin in medium-term liver carcinogenesis assay and peripheral blood micronucleus test in rat. *Teratog Carcinog Mutagen.* 2001; 21: 441-451.
82. Zijno A, Marcon F, Leopardi P, Salvatore G, Carere A, Crebelli R. An assessment of the in vivo clastogenicity of erythrosine. *Fd Chem Toxic.* 1994; 32: 159-163.
83. Acar H, Caliskan U, Demirel S, Largaespada DA. Micronucleus incidence and their chromosomal origin related to therapy in acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients: detection by micronucleus and FISH techniques. *Teratog Carcinog Mutagen* 2001; 21(5): 341-347.
84. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am J Epidemiol.* 1991; 134(8): 840-850.
85. Stich HF, San RHC, Rosin MP. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1983; 407: 93-105.
86. Nagalakshmi R, Nath J, Ong T, Whong WZ. Silica-induced micronuclei and chromosomal aberrations in Chinese hamster lung (V79) and human lung (HEL 299) cells. *Mutat Res.* 1995; 335(1): 27-33.

87. Burgaz S, İscan A, K. Büyükbıngöl Z, Bozkurt A, Karakaya AE. Evaluation of micronuclei in exfoliated urothelial cells and urinary thioether excretion of smokers. *Mutat Res.* 1995; 335(2): 163-169.
88. Leigh J, Bonin A, Wang H. In Vivo Genotoxicity of Crystalline Silica as Evidenced by Micronuclei in Pulmonary Alveolar Macrophages: Low-Dose Study. *Inhal Toxicol.* 2000; 12(9-3): 199-204.
89. Burgaz S, Cakmak G, Erdem O, Yilmaz M, Karakaya AE. Micronuclei frequencies in exfoliated nasal mucosa cells from pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. *Neoplasma* 2001; 48(2): 144-147.
90. Burgaz S, Demircigil GC, Yilmazer M, Ertas N, Kemaloglu Y, Burgaz Y. Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel. *Mutat Res.* 2002; 521(1-2):47-56.
91. Widel M, Kolosza Z, Jedrus S, Lukaszczyk B, Raczek-Zwierzycka K, Swierniak A. Micronucleus assay in vivo provides significant prognostic information in human cervical carcinoma: The updated analysis. *Int J Radiat Biol* 2001; 77: 631-636.
92. Jagetia GC, Jayakrishnan A, Fernandes D, Vidyasagar MS. Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment; *Mutat Res.* 2001; 491: 9-16.
93. Heddle JA, Countryman RI. The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res.* 1976; 41: 321-332.

94. Fenech M, Morley AA. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobis* 1985; 43: 233-246.
95. Usui N, Yoneda M. Regional response to cytochalasin b of the equatorial cell cortex in sea-urchin eggs during the first mitosis. *Develop, Growth Differ.* 2008; 31(3): 257-267.
96. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25-29.
97. Pavord ID, Pizzichini MMM, Pizzichini E. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997; 52: 498-501.
98. Frederick E, Hargreave MD. Induced sputum and response to glucocorticoids. *J Allergy Clin immunol.* 1998; 102: 102-105.
99. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O. Sputum induction. *Eur Respir J.* 2002; 20(37): 3-8.
100. Louis R, Shute J, Goldring K, Perks B, Lau LCK, Radermecker M, Djukanovic R. The effect of processing on inflammatory markers in induced sputum. *Eur Respir J.* 1999;13: 660-667.
101. Efthimiadis A, Spanavello A, Hamid Q. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridization. *Eur Respir J.* 2002;20 (37): 19-23.
102. Spanavello A, Beghé B, Bianchi A, Migliori GB, Ambrosetti M, Neri M. Comparison of two methods of processing induced sputum: selected versus entire sputum. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157: 665–668.

103. Oktem S, Erdinc M. Eozinofilik Bronşit. Solunum Hastalıkları 2002; 13: 136-141
104. Berlin IN, Buncher CR, Fontana RS. The National Cancer Institute cooperative early lung cancer detection program. Am Rev Respir Dis. 1984; 130:545-70.
105. Cianchetti S, Bacci E, Ruocco L. Salbutamol pretreatment does not change eosinophil percentage and eosinophilic cationic protein concentration in hypertonic saline-induced sputum in asthmatic subjects. Clin Exp Allergy. 1999; 29: 712-728.
106. Abadoglu O. The effect of montelukast on eosinophil apoptosis: induced sputum findings of patients with mild persistent asthma. Allergol Immunopathol. 2005; 33: 105-11.
107. Loomis DP, Shy CM, Allen JW, Saccomanno G. Micronuclei in epithelial cells from sputum of uranium workers. Scand J Work Environ Health 1990; 16: 355-362.
108. Poppel GV, Kok FJ, Hermus RJJ. Beta-carotene supplementation in smokers reduces the frequency of micronuclei in sputum. Br. J. Cancer 1992 ; (66): 1164-1168.
109. Lahiri T, Roy S, Basu C, Ganguly S, Ray MR, Lahiri P. Air pollution in Calcutta elicits adverse pulmonary reaction in children. Indian J Med Res. 2000; 112:21-6.
110. Borm PJA, Tran L. From quartz hazard to quartz risk: the coal mines revisited. Ann occup hyg. 2002; 46(1): 25-32.

111. Mannetje A, Steenland K, Attfield M, Boffetta P, Checkoway H, Deklerk N, Koskela RS. Exposure-response analysis and risk assessment for silica and silicosis mortality in a pooled analysis of six cohorts. *Occup Environ Med.* 2002; 59(11): 723-738.
112. Elci OC, Akpınar ME, Blair A, Dosemeci M. Occupational dust exposure and the risk of laryngeal cancer in Turkey. *Scand J Work Environ Health.* 2002; 28(4), 278-284.
113. Ross MH, Murray J. Occupational respiratory disease in mining. *Occup Med. (Lond)* 2004; 54(5): 304-310.
114. Steenland K. One agent, many diseases: exposure-response data and comparative risks of different outcomes following silica exposure. *Am J Ind Med.* 2005; 48(1): 16-23.
115. Martin S, Simard S, Desmeules M. Meta-analysis of silicosis and lung cancer. *Scand J Work Environ Health* 2005; 31(6): 450-458.
116. Lacasse Y, Spigno F, Mortara V, Vitto V, Biagioli M, Traversa F. Lung cancer in subjects suffering from silicosis in the Province of Genoa from 1979 to 2004. *G Ital Med Lav Ergon.* 2007; 29(4): 898-902.
117. Amabile JC, Leuraud K, Vacquier B, Caër-Lorho S, Acker A, Laurier D. Multifactorial study of the risk of lung cancer among French uranium miners: radon, smoking and silicosis. *Health Phys.* 2009; 97(6): 613-621.
118. Birk T, Mundt KA, Guldner K, Parsons W, Luippold RS. Mortality in the German porcelain industry 1985-2005: first results of an epidemiological cohort study. *J Occup Environ Med.* 2009; 51(3): 373-85.

119. Lacasse Y, Martin S, Gagné D, Lakhal L. Dose-response meta-analysis of silica and lung cancer. *Cancer Causes Control*. 2009; 20(6): 925-33.
120. Erren TC, Glende CB, Morfeld P, Piekarski C. Is exposure to silica associated with lung cancer in the absence of silicosis? A meta-analytical approach to an important public health question. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009; 82(8): 997-1004.
121. Kurihara N, Wada O. Silicosis and smoking strongly increase lung cancer risk in silica-exposed workers. *Ind Health*. 2004; 42(3): 303-314.
122. Classification of Radiographs of Pneumoconiosis, International Labour Organisation. Guidelines for the use of the International occupational safety and health series 22, Geneva: ILO; 2000.
123. Ghiazza M, Polimeni M, Fenoglio I, Gazzano E, Ghigo D, Fubini B. Does vitreous silica contradict the toxicity of the crystalline silica paradigm? *Chem Res Toxicol*. 2010; 23(3): 620-629.
124. Brown T. Silica exposure, smoking, silicosis and lung cancer--complex interactions. *Occup Med. (Lond)* 2009; 59(2): 89-95.
125. Fenech M. The in vitro Micronucleus Technique. *Mutat Res*. 2000; 455: 81-95.
126. Majer BJ, Laky B, Knasmüller S, Kassie F. Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. *Mutat Res*. 2001; 489: 147–172.

127. Albrecht C, Knaapen AM, Gonca CD, Coskun E, Van Schooten FJ, Borm PJ, Schins RP. Genomic instability in quartz dust exposed rat lungs: Is inflammation responsible?. J Phys Conf Ser. 2009; 151, 012014.

10. EKLER

10.1. Ek 1: Anket Formu

Adı Soyadı					
Yaşı	Kilosu	Boy	Doğum Yeri		
Telefon					
Eğitim Durumunuz? :İlkokul Ortaokul Lise Üniversite Hiçbiri					
Şu Anda Çalışıyor Musunuz? Evet Hayır					
Evet İse					
Hangi İşte Çalışıyorsunuz?					
Ne Kadar Süredir Bu İş Kolunda Çalışıyorsunuz?					
Çalışma Programınız Nedir?					
HergünSaat Çalışıyorum HaftanınGünü Çalışıyorum					
Çalışırken Ne Tip Bireysel Önlemler Alıyorsunuz (Maske, Eldiven, Özel Giysi, Solunum Aracı)?					
Hayır İse					
Bundan Önce Çalıştığımız İş Ve İşyerleri Nelerdir?					
Ne Zaman Bıraktınız?			Kaç Sene Çalıştınız?		
Neden Bıraktınız?					
Çalışırken Ne Tip Bireysel Önlemler Alıyordunuz (Maske, Eldiven, Özel Giysi, Solunum Aracı)?					
Evinizde Isınma Aracı Olarak Ne Kullanıyorsunuz					
Kömür Sobası	Kalorifer	Elektrik Sobası			
Sigara İçme Alışkanlığınız					

Hiç İçmedim	Eskiden İçerdim	 Önce Bıraktım
İçiyorum; 1-10sigara/Gün	11-20sigara/Gün	20'den Fazla....Sigara/Gün
.....Yıldır İçiyorum.		
Bulunduğum Ortamda Sigara İçiliyor() Sigara İçilmiyor ()		
Kahve İçme Alışkanlığınız Var Mı?		
Günde 1 fincan () 2 Fincan () 3 Ve Daha Fazla Fincan ()		
Çay İçme Alışkanlığınız Var Mı?		
Günde 1 bardak () 2 Bardak () 3 Ve Daha Fazla Bardak ()		
Alkol Kullanıyor Musunuz? Hangi Sıklıkta?		
Sağlık Sorununuz Var Mı?		
Nedir?....		
Ne Kadar Süredir?		
Herhangi Bir Hastalığınız Var Mı?		
Geçirdiğiniz Hastalıklar	Evet	Hayır
Astım		
Kronik Bronşit		
Amfizem		
Zatürree		
Tüberküloz		
Plörezi		
Kalp Hastalığı		
Göğüs Travması		
Diğer		
Yakınmalar	Hayır	Sürekli
Yıldır		Bazen
		Kaç

Öksürük

Balgam

Hırıltılı Solunum

Göğüste Sıkıntı Hissi

Solunum Zorluğu

Nefes Darlığı

En Son Ne Zaman Röntgen Çektirdiniz?

Hangi?

Herhangi Bir İlaç Alıyor Musunuz?

Nedir?

Ne Kadar Süredir?

Birinci Derece Yakınlarınızda Genetik Hastalık Var Mı, Nedir?

Beslenme Alışkanlığınız Nedir?

Et.....Izgara.... Haşlama.....

Sebze.....

Karışık.....

10.2. Ek 2: Gönüllü Olur Formu

Çalışmanın Adı: Silikozis tanısı konulmuş hastalarda mikroçekirdek sıklığı ve neopterin düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi.

Sorumlu Araştırmacının Adı: Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL

Diğer Araştırmacıların Adı: Sema BURGAZ, Ayşe Başak ENGİN ABİKE, Ercan ÖZER, Hınç YILMAZ, Dilek ERGUN, Türkan NADİR ÖZİŞ, Cebraail ŞİMŞEK, Fatih HAMŞİOĞLU

“Silikozis tanısı konulmuş hastalarda mikroçekirdek sıklığı ve neopterin düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi.” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni silikoz hastası olmanız ve bu hastalığın altında yatan nedenleri araştırmamızdır. Silikoz hastası olmayıp çalışmaya katılmanız ise sizin örneklerinizden araştırmamızda elde edilen sonuçlar ile silikoz hastası olanlarınızın sonuçlarını karşılaştırmaktır. Çalışmaya en az 25 silikoz hastası ve 25 silikoz hastası olmayan kişinin katılması planlanmaktadır.

1. Bu genetik çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

2. Genetik araştırma nasıl yapılacaktır?

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, kolunuzdan kan alınacaktır. Size verilen kapaklı kaba su bardağının yarısını dolduracak miktarda idrarınızı yapmanız istenecektir. Ayrıca, balgam uygulaması yapılacaktır. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir, ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha örnek vermeniz istenebilir. Örnekleriniz Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, F. Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında tetkik edilecektir. Çalışmamızda kullanılacak örneklerin yeterli kısmı kullanılacak, geri kalan kısmı tıbbi atık toplama sistemine yollanacaktır.

4.Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilecek mi?

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

1- Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

2- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

3- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

4- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum, ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

5. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak ?

Çalışma doktorunuz, araştırmada yer alan diğer araştırmacılar kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Size ait bulgular üçüncü kişilere, onayınız dışında hiçbir şekilde açıklanmayacaktır. Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Kendinizle ilgili genetik bilgiyi öğrenmeyi seçmeniz durumunda size (varsa) sağaltım ile ilgili bilgiler ve genetik danışmanlık hizmeti verilecektir.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

6. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Yrd Doç Dr Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL

GÖREVİ : Öğretim Üyesi, proje yöneticisi

TELEFON : 0312 2023089

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi F. Toksikoloji Anabilim Dalı dalında, Yrd Doç Dr Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr Hınç Yılmaz'ı aşağıdaki telefon ve adres'ten arayabileceğimi biliyorum,

İkametgah Adresi :

İş Adresi : Ev Telefonu :

İş Telefonu :

Cep Telefonu :

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

10.1. Ek 3: Etik Kurul Onayı



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi



TIBBİ, CERRAHİ VE İLAÇ ARAŞTIRMALARI
ETİK KURUL KARARI

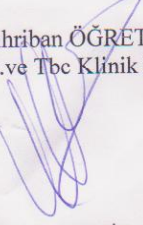
Karar No : 162
Karar Tarihi : 24.06.2009
Madde : 14

“Silikozis tanısı konulmuş hastalarda mikro çekirdek sıklığı ve neopterin düzeylerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi” isimli çalışma, sorumlu araştırmacısının Yrd. Doç. Dr. Gonca ÇAKMAK DEMİRCİGİL olan çok merkezli çalışma değişiklikleri tamamlandıktan sonra Klinik Şefi (Göğüs Hastalıkları ve TBC) Uz. Dr. Cebail ŞİMŞEK tarafından yürütülmesine karar verilmiştir.

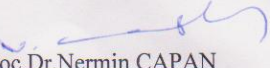
Doç.Dr. Yurdanur ERDOĞAN
Göğ.Hast.ve Tbc Klinik Şefi
Etik Kurul Başkanı



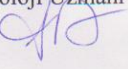
Uzm.Dr.Mihriban ÖĞRETENSOY
Göğ.Hast.ve Tbc Klinik Şefi



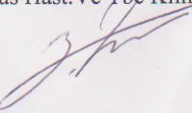
Doç.Dr.Nermin ÇAPAN
Göğ.Hast.ve Tbc Klinik Şefi
Farmakolog



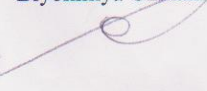
Doç.Dr.Funda DEMİRAĞ
Patoloji Uzmanı



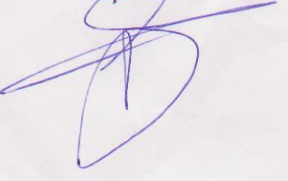
Uzm. Dr. Bahadır BERKTAŞ
Göğüs Hast.Ve Tbc Klinik-Şef Yardımcısı



Özgül KAPLAN
Biyokimya Uzmanı



Ecz. Semra ÜSTÜN
Başeczacı



11. ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi : 04.02.1982

Doğum Yeri : Divriği

İlkokul: Divriği Selavattepe İlkokulu

Ortaokul: Divriği-Cürek Ortaokulu

Lise :1995-1998 Divriği-Cürek Lisesi

Lisans: 2001-2005 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Yüksek Lisans: 2005-2010 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasotik

Toksikoloji ABD

Yabancı Dil: İngilizce