

Endüstriyel bir risk: Berilyum

An industrial risk: Beryllium

Emrah Çaylak¹, Metin Aytekin^{2,3}

¹Biyokimya Anabilim Dalı, Sağlık Yüksekokulu, Karatekin Üniversitesi Çankırı, Türkiye

²Cleveland Clinic Hastanesi Patobiyoloji bölümü, Cleveland, Ohio, Amerika

³Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, Kayseri, Türkiye

ÖZET

Berilyum mesleki bir hastalık faktörü olup, berilyum maruz kalan işçilerin % 2-16'sında Kronik Berilyum Hastalığı'na (KBH) neden olmaktadır. Yüksek dozda maruziyete bağlı olarak bireylerde akut lenfositik pnömoni; düşük dozlarda maruziyette ise uzun bir subklinik periyodu takiben kronik granulomatoz karakterli KBH görülmektedir. Farklı miktarlarda berilyum maruziyetinin KBH ve berilyum hassasiyeti (BeS) belirtilerine yol açtığı gözlenmiştir. Hastalar arasındaki genetik farklılıklar bu doz-etki ilişkisine neden olmakta, berilyuma maruz kalmış hastalardaki farklılıklar hakkında yapılacak daha fazla çalışma ise erken tanıya ve KBH belirteçlerinin belirlenmesine neden olacaktır. Bu derlemede berilyum maruziyetinin genel özellikleri, berilyumla-indüklenen hastalıkların immunopatogenezi ve genetik farklılıkları ile berilyumun genotoksitesi ve karsinogenik etkileri özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Berilyum, tanı, akciğer hastalıkları, berilyum hassasiyeti (BeS), kronik berilyum hastalığı

GİRİŞ

Berilyum elektronik, otomotiv, seramik, uzay, havacılık, petrokimya, bilgisayar, metalürji gibi birçok sanayi kolunda düşük yoğunluk, elastiklik, korozyona ve gerileme dayanıklılık, yüksek derecede erime noktasına sahip olma gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı ve füzyon reaksiyonlarında yavaş nötronların moderatörü olarak nükleer çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir metaldir.

Berilyuma bağlı akciğer hastalığı ilk defa 1943 yılında Van Ordstrand tarafından 3 vakada kimyasal pnömoni olarak rapor edilmiştir. Bireylerde hastalık kısa süreli berilyum maruziyetine bağlı gelişmiş ve yaygın infiltratlar, ateş, nefes darlığı saptanmıştır. Hastaların ortamdaki uzaklaşması ile iyileşme bil-

ABSTRACT

Beryllium is a vocational disease factor and beryllium exposure can potentially lead to Chronic Beryllium Disease (CBD) in 2-6 % of workers. While acute lymphocytic pneumonia occurred in individuals who were exposed to high doses of beryllium, low dose exposure to beryllium followed by a long subclinical period can cause CBD characterized with chronic granulomatosis. It has been observed that varying amounts of beryllium exposure are necessary to produce symptoms of CBD or beryllium sensitization (BeS). Genetic differences between patients may be the underlying cause of these dose-effects and further study of the differences in patients exposed to beryllium may lead to earlier diagnosis and the identification of biomarkers of CBD. In this review, it is summarized the general properties of beryllium exposure, the immunopathogenesis and genetic differences of beryllium-induced diseases, genotoxicity and the carcinogenic effects of beryllium. *J Clin Exp Invest* 2012; 3(1): 141-148

Key words: Beryllium, diagnosis, lung diseases, beryllium sensitization, chronic beryllium disease

dirilmiştir. Bu şahısların akciğerlerinde bazı kronik skarlar kalmış, fakat maksimum iyileşme 6 ay sonrasında mümkün olabilmektedir.^{1,2} Daha sonra 1946'da Hardy ve Tabershaw tarafından hastalık kimyasal pnömoni yerine bir çeşit zehirlenme olarak belirtilmiş ve 'Kronik Berilyum Hastalığı (KBH)' olarak adlandırılmıştır.³

Amerika'da yapılan araştırmalar sonucunda dünya üzerinde yaklaşık 1 milyon işçinin berilyuma maruz kaldığı ve berilyum sensitizasyonu (hassasiyeti) (BeS) yada KBH'nın gelişmesi için potansiyel oluşturdukları belirlenmiştir.⁴ Özellikle seramik endüstrisi, maden veya metalürji alanında çalışanlar büyük risk altında olup, berilyuma maruz kalma süresi ve yoğunluğuna bağlı olarak BeS/KBH gelişimi artmaktadır.⁵ Ortalama maruziyet 0.9 µg/m3

Correspondence: Dr. Metin Aytekin, Cleveland Clinic, Lerner Research Institute,

Pathobiology Department. NC22, 9500 Euclid Avenue, Cleveland, Ohio 44195, USA Email: metin.aytekin@gmail.com

Received: 30.06.2011, Accepted: 05.08.2011

Copyright © JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 2012, All rights reserved

olup, Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi'nin (Occupational Safety and Health Administration [OSHA]) standardı olan 2 µg/m³'ün altındadır. Kelleher ve ark.'nın⁶ yaptığı çalışmada ise, kümülatif ve hayat boyu maruz kalan berilyum miktarının günlük ortalama 0.02 ila 1.0 µg/m³ olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalar göre OSHA'nın belirlediği standardın koruyucu olmadığını da göstermektedir.

Berilyum bileşiklerine maruz kalan bireyler arasından duyarlı hale gelenler vücutlarında immünolojik yanıt oluşturanlardır. BeS gelişenlerin tüm maruz kalanlara oranı %0.8-12 arasındadır.⁷ Daha sonra duyarlılığın KBH gelişiminde öncelik edip, granuloma olarak bilinen yangısal hasarları meydana getirerek yavaş ve ilerleyici bir solunum sistemi hastalığına dönüştüğü bildirilmektedir.⁸ KBH'luların tüm maruz kalan işçilere oranı %0.4-8 olup, duyarlılık gelişenlere (BeS) göre risk oranı daha düşüktür.⁷ Böylece duyarlılık gelişiminin hastalığın oluşumu için gerektiği, fakat BeS'li bireylerin hepsinde KBH oluşmadığı tahmin edilebilir.

Berilyum sensitizasyonu asemptomatik olup, berilyum lenfosit proliferasyon testi (BeLPT) ile laboratuvar tanısı yapılabilmektedir.⁹ BeLPT, çözünebilir berilyum tuzları varlığında periferik kandan alınan lenfositlerdeki proliferasyonu tespit eder. KBH ise BeS'ten farklı olarak akciğer dokusunda non-kazeöz granuloma ve mononükleer hücre infiltrasyonunun varlığı ile ayırt edilebilir.⁸

Kronik Berilyum Hastalığı (KBH)

Hastalığın subklinik seyrinde bir belirti görülmemekte; ilerlemiş vakalarda ise zorlu dispne, balgamsız öksürük, bitkinlik ile göğüs ve eklem ağrısına rastlanmaktadır.^{10,11} Akciğer dışında deri, karaciğer, dalak, myokard, böbrekler, tükürük bezleri ve kemikler de etkilenmektedir.^{3,11} Akciğer fonksiyon testlerinde; kısıtlanmış, tıkanmış veya karışık fizyolojik sonuçlar ve akciğerin azalmış difüzyon kapasitesi tespit edilir. Göğüs radyografisi genellikle normal olmakla beraber; ilerlemiş vakalarda yaygın fibrozis son safhasına bağlı olarak belirgin infiltratlar gözlenir. Klinik ve radyolojik bulgular, anamnezde endüstriyel maruziyet hikayesinin alınmaması veya BE-LPT'nin yapılmaması ile sarkoidoz ile karıştırılabilir.¹² Kronik Berilyum Hastalığı'nın tanısı genellikle bronkoskopi ile bronkoalveolar lavaj (BAL) alınması ve transbronşiyol biyopsi ile yapılabilir. BAL'da KBH veya berilyum hassasiyetine bağlı olarak lenfositoz görülür ki, iki rahatsızlık için bu artış %12 ve %41-53'tür.^{13,14} Biyopside ise histolojik olarak sarkoidoz gibi diğer granulomatoz akciğer hastalıklarından kolayca ayırt edilebilen özellikte granulomalar ve lenfositik interstisyel infiltrasyon hakimdir.¹⁵

Berilyum Sensitizasyonu (Hassasiyeti)

Berilyumun doz-etki ilişkisine ait eşik seviyeleri bilinmemekle beraber; yüksek derecede maruziyet akut berilyum hastalığına neden olmaktadır. Berilyum bileşiklerine az düzeyde maruz kalan bireyler vücutlarında immünolojik yanıt oluşturmazlar ve BeS gösterirler. KBH'nın oluşmasında berilyuma maruziyet önemlidir; fakat miktarı hastalığın şiddetini belirlemektedir.¹⁶

1950'lerde berilyuma bağlı gecikmiş-tip deri reaksiyonu (patch testing) bildirilmiştir.¹⁷ Tuz yada partikül şeklinde berilyum materyallerine deri teması ile maruz kalma da BeS gelişimine neden olabilmektedir.^{18,19} Patch testinde berilyum florid deri üzerine sürülmekte ve 48 saat içinde hissizleşme reaksiyonu gözlenmektedir. KBH'lı bireylerde yapılan testlerde %100 oranında patch testinin pozitif çıktığı gözlenmiştir. Fakat akut pnömonili hastalarda da pozitif test sonuçları alınmaktadır. Buna rağmen sarkoidoz veya diğer akciğer hastalıkları olan bireylerde aksi tespit edilmiştir. Berilyum patch testindeki en önemli problem kontrol bireylerinin yarısında da pozitif sonuç elde edilmesidir. Ayrıca, test sonrasında bireylerin akciğer fonksiyonlarında akut kötüye gitme oluşmaktadır.²⁰ Sonuç olarak patch testine bağlı olarak bireylerde duyarlılık oluşması ve akciğer hastalıklarını uyarması nedeniyle, patch testinin insanlarda kullanılmasının oldukça tehlikeli ve sakıncalı olduğu düşünülmektedir.

1970'lerde deri testine eşdeğer in vitro testler geliştirilmiştir. Bu testlerde, lenfosit kültürlerine berilyum tuzlarının eklenmesi ile hücre büyümesinde artış gözlenmiştir. İlk zamanlar bu durumun malignant olabileceği şüphesiyle transformasyon olarak adlandırılmış, fakat şuan bu hücre büyümesinin normal bir süreç olmadığı bilinmekte ve proliferasyon sınıfına sokulmaktadır. Deodhar ve ark.²¹ tarafından KBH'lı hastaların bu testlerde 2/3 oranında pozitif; sağlıklı ve normal bireylerin ise negatif sonuç verdiği gösterilmiştir. KBH'lı hastaların bir kısmında negatif olarak testin yanıt vermesi, hipersensitivitenin hastalığın esas nedeni mi yoksa sadece bir yan etkisi mi olduğu sorusunu akla getirmektedir.²²

1980'lerde bronkoskopi ile toplanan canlı hücrelerde aktif hastalığın berilyuma karşı artmış immün yanıtla birlikte bulunması nedeni ile KBH bir hipersensitivite hastalığı olarak kabul edilmiştir.^{23,24} BAL üzerinde yapılan ilk çalışmalarda; lenfositoz ve hücresel reaksiyonlara katılan ve granulomanın oluşumuna neden olduğu bilinen T-lenfositlerin bu lenfositozda baskın olduğu ve akciğer hücrelerinde yapılan BE-LPT'lerin de pozitif yanıt verdiği tespit edilmiştir.

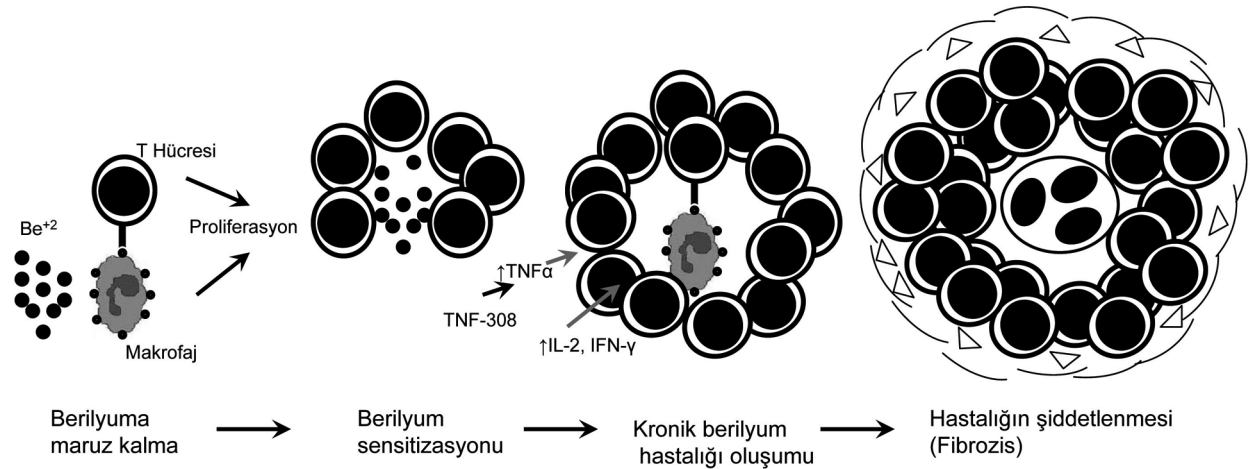
Berilyum sensitizasyonu ile KBH, yapılan analizlerde BE-LPT'nin pozitif çıkmasına rağmen BAL-LPT'nin negatif ve akciğer biyopsisinde granulomatoz inflamasyonun bulunmaması ile ayrılır. Hastaların akciğerlerinde patolojik değişimler ve klinik taramada akciğer fonksiyon testleri ve göğüs radyografisinde normalden sapmalar olmamasına rağmen yapılan çalışmalarda BeS'li bireylerde KBH gelişme oranı her yıl için %10 birikerek artmaktadır.²⁵ Her ne kadar BeS'li hastalarda nihai olarak KBH gelişse de; ilerleme süreci ve BeS'ten hastalığa geçiş faktörleri tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Tanı

Tanıda en önemli iki faktör berilyum maruziyetinin ve kronik bir akciğer hastalığının varlığıdır. Şahıslarda öksürük, nefes darlığı, radyolojik olarak üst akciğer lobunda fibronodüler değişimler veya hilar ade-

nopati; akciğer fonksiyon testlerinde düşük akciğer volümü, difüzyon kapasitesinde anormallikler ve patolojik olarak granulomatoz oluşumlar vardır. Bu kısıtlar muhtemelen berilyum hastalığı yada kısmen berilyum sanayisinde çalışıp sarkoidoz veya diğer interstisyel akciğer hastalığına sahip vakaları işaret eder. Ayrıca, ciddi bir rahatsızlığı olmadan kişilerde bu belirtilerin tespit edilmesi olanaksızdır. Hastalığın latent süresi ortalama 10 yıl olmasına rağmen ilk berilyum maruziyetinden 40 yıl sonra dahi KBH tanısı konulan hastalar mevcuttur.²⁶ Çok kısa süreli bir berilyum maruziyeti sonrasında yıllar sonra KBH gelişen hastalar da rapor edilmiştir.²⁶

Histolojik olarak bu hastalık kristalimsi yapılar içerebilen çok çekirdek taşıyan dev hücreli değişmeyen granuloma ile karakterize edilir (Şekil 1). Benzer yapı tüberküloz ve sarkoidoz gibi hastalıklarda da görülebilmektedir.



Şekil 1. BeS, KBH ve hastalığın daha şiddetli kademesinin gelişiminin immunopatogenezi. Kısaca KBH'nın immunopatogenezi şöyledir: Berilyumun inhalasyonla alınımını takiben, makrofajlar berilyumu CD4+ T hücrelerine sunarlar ve bu da T hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve sitokin salınımına neden olur. CD4+ T hücreleri Th1-tip sitokinlerini (IL-2, IFN-γ ve TNF-α), antijen sunan hücreler ise IL-6, ve TNF-α'yı salgılar. Bu uyarılmış Th-1'ler makrofaj aktivasyonu, birikimi ve agregasyonu ile granulomatoz yangı oluşumuna neden olmaktadır. İmmün yanıtın baskılanması, berilyumla-uyarılmış immün yanıtı hafifletmeyerek fibrozislerin nihai gelişimine neden olmaktadır.

Solunum ve deri yolu ile vücudun ne kadar berilyuma maruz kaldığının bilinmesi için gelişmiş tarama (monitoring) tekniklerine ihtiyaç vardır. Bu amaçla, biyolojik sıvılardaki berilyum ve berilyum türevlerinin biyokimyasal olarak teşhisi, toplam vücut maruziyetinin belirlenmesinde kullanılabilir. İlk çalışmalarda idrar berilyum seviyelerinin bu maksatla kullanılabileceği belirtilmiş; fakat maruz kalma süresi veya hastalığın ciddiyeti ile korelasyon göstermemiştir.^{11,27} Buna rağmen, biyokimyasal analiz metodlarındaki gelişmeler berilyumun biyolojik taramasının değerini arttıracaktır. İndüktif eşleşmiş plazma

kütle spektrometri (ICP-MS) kullanılarak, havadaki berilyum ile idrar berilyum seviyelerinin metalurji işçilerinde korelasyon içinde olduğu gösterilmiştir.²⁸ Daha fazla araştırmalar yapılarak solunum ve deri yolu ile berilyum maruziyetini ölçecek ve vücutta dokusal maruziyet-biyolojik etkili doz ilişkisinin tespitinde yararlanılacak doğrulanmış biyolojik belirteçler bulunmasına ihtiyaç vardır.

İmmunopatogenez

Hastalığın muhtemel patogenezi ile ilgili iki teori mevcuttur: KBH'yı ilk tanımlayan Hardy ve Tabers-

haw'un toksisite veya kimyasal pnömoni önerisi³ ya da duyarlılık (sensitizasyon, BeS) akciğer hastalığı hali.¹⁶

Toksisite hipotezi, akut hastalığın toksisiteye bağlı gelişmesine ve hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda sadece akut toksik reaksiyonların görülmesi ile oluşturulmuştur. Berilyuma karşı aşırı duyarlılığın gösterilmiş olduğu hayvan modeli halen mevcut değildir. Çünkü hipersensitivite hastalıklarının hayvanlarda oluşturulması oldukça zor bir işlemdir. İmmün reaksiyonlara bağlı yanıtın haricinde, yıkıcı etkilerin gösterilmesi ile sensitizasyonun varlığı kanıtlanabilir.

Berilyum içeren materyallerin BeS ve KBH oluşumu esnasındaki vücut biyoyararlanım değerleri oldukça farklıdır. Sülfat, klorid, florid, vs. gibi berilyum tuzları oldukça çözünebilir olup, BeS geliştirebilmekte; 18 fakat KBH'ya neden olmadıkları düşünülmektedir. Metal, oksit, alaşım, vs. gibi berilyum partikülleri çözünebilir değildir ve vücutta yıllarca kalıp granuloma oluşturma yeteneğine sahiptir.²⁹ Ekstraselüler akciğer sıvısı stimulantları,³⁰ köpek alveolar makrofajları,³¹ fagolizozomal stimulant sıvısı,³² fare makrofaj hücre serisi modeli³³ gibi partiküllerden berilyumun çözünmesi ile ilgili in vitro çalışmalar maruziyeti takiben berilyumun biyoyararlanımının gerçekleştiğini göstermiştir.

Solunum yolu ile alınan berilyum partikülleri ilk olarak akciğer mukosiyal hücreleri ile alveolar makrofajlar tarafından tutulur. Arta kalan berilyum ise bölgesel lenf nodülleri ve pulmoner interstisyuma taşınır ve burada ilk maruziyetten sonra senelerce kalır. Berilyum maruziyeti sonrasında T hücrelerine antijen sunumu akciğerlerde makrofajlar ile deride Langerhans hücreleri ile gerçekleşir. T hücreleri antijeni yüzeylerindeki Human-Lökosit antijeni (HLA) molekülleri ile tanıyarak aktive olur.³⁴ Aktive olmuş T hücreleri ürettikleri sitokinlere göre iki ana tipteki yardımcı T hücreleridir. Bu sitokinler immün yanıtın başlangıcında ve sonlanmasında yardımcı rol oynarlar. Tip-1 T yardımcı hücreleri (Th-1), en başta interlökin-2 (IL-2) ve interferon-gama (IFN- γ); tip-2 T yardımcı hücreleri (Th-2) ise IL-4, IL-5, IL-10 VE IL-13 üretirler. Bu iki ana tipteki T hücreleri farklı fonksiyonları yerine getirirler.^{35,36}

Normal sigara içmeyen sağlıklı bireylerin BAL'ında bulunan hücrelerin %10-15'i lenfositlerdir.³⁷ KBH'da ise BAL'daki mevcut makrofaj ve lenfositlerin sayısı ve oranında belirgin bir yükseliş görülür.^{9,38} Bu lenfositlerin çoğu CD4+ T hücreleridir.³⁸⁻⁴⁰ ve KBH'nın patogeneğinde önemli rol oynarlar.^{24,37,41,42} KBH'lı bireylerin akciğerlerinde CD4+ T hücreleri aktive olduğunda, bu hücreler klonal olarak proliferasyon göstermekte ve IL-2, IFN- γ ve tü-

mör nekroz faktörü (TNF- α) gibi Th-1 tipi sitokinleri salgılamaktadır.^{39,43} Th-2 sitokinleri ise aynı hastaların akciğerlerinde tespit edilmemektedir. Bu uyarılmış Th-1'ler makrofaj aktivasyonu, birikimi ve agregasyonu ile granulomatoz yangı oluşumuna neden olmaktadır. Sonraki immün yanıt ise kendi başına devam edebilen bir şekilde sadece akciğerde sınırlı kalacak şekilde meydana gelir.³⁹ IL-10, berilyum stimülasyonu sonrasında BAL hücreleri tarafından üretilir ve muhtemelen berilyum antijeni uyarısı ile KBH hastalarının akciğerlerinde meydana gelen immün yanıt üzerine minimum inhibitör etkiye sahiptir.⁴⁴ IL-10 veya IL-4 gibi sitokinlerle endojen olarak immün yanıtın baskılanması, berilyumla-uyarılmış immün yanıtı hafifletmeyerek fibrozislerin nihai gelişimine ve akciğer fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır.

Sonuç olarak; berilyuma-spesifik CD4+ T hücreleri haricindeki farklı T lenfositlerinin bulunması yada hastalığın ilerlemesinde bu hücrelerin fonksiyonlarının daha ayrıntılı bilinmesi KBH'lılar ile son safha akciğer fibrozisi gelişen bireylerde daha iyi tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ve risk altında olan bireylerin belirlenmesi ile bireylerin bu hastalığın çıkabileceği sanayi kollarında çalıştırılmaması yöntemi ile KBH'dan korunmaları olanak sağlanmaktadır.

Genetik

T hücrelerine antijen sunumu akciğerlerde makrofajlar ile deride Langerhans hücreleri yüzeyinde yer alan HLA molekülleri ile meydana gelmektedir.³⁴ T hücreleri yabancı antijeni kompleks bir şekilde işler. Yüzeylerinde yer alan 8 ila 25 aminoasit uzunluğunda HLA molekülünün bağlandığı bir peptid ligand içeren T hücre reseptörleri bulunur. HLA sınıf I molekülleri CD8 T hücrelerinde yer alan bir peptid ligandla işlenirken, HLA sınıf II molekülleri CD4 T hücrelerinde yer alan başka bir peptid ligandla işlenir. Bu HLA molekülleri antijen sunan B hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler üzerinde yer alır. Farklı HLA moleküllerinin değişik peptid ligandlarına afinite duymasına benzer olarak berilyum da bir peptid liganda bağlanarak etki göstermektedir. Fakat berilyumun nasıl bağlandığı ve immünolojik yanıtı hangi mekanizmalar ile sebep olduğu halen bilinmemektedir ve araştırılması gereken bir konudur.

Saltini ve ark.⁹ akciğer T hücrelerinin berilyumla uyarılması sonrasında bir HLA Sınıf II proteini olan HLA-DR'nin ekspresyonunun arttığını rapor etmiştir. Normal immünolojik yanıtı ilişkin bir diğer olay ise T hücreleri aktive edildiğinde IL-2 (T lenfositlerinin bir büyüme faktörü) reseptörlerinin sayısının artmasıdır. Berilyumla-indüklenen yanıtta IL-2 reseptörleri-

ne bağlanacak antikorlar bloke edilmektedir. Saltini ve ark. ayrıca berilyumla-indüklenen T hücre serileri de geliştirmiştir. Bu hücreleri haftalarca berilyumla kültüre etmiş ve CD4+ T hücre serilerinin berilyum sülfata yanıt verdiğini ancak; zirkonyum, nikel veya lityuma yanıt vermediğini göstermiştir.⁹ Bu da CD4+ T hücrelerinin berilyumla oluşan hipersensitivite ile ilişkili T hücresi olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca BAL CD4+ T hücrelerinin kültürde berilyum maruziyeti sonrasında yüksek seviyelerde IFN- γ (ort.: %15.3) ve TNF- α (ort.: %17.8); düşük seviyede IL-2 (ort.: %8.8) eksprese ettikleri; öte yandan, aynı hastaların kanındaki CD4+ T hücre seviyelerinin tespit sınırı altında (%1) olduğu bulunmuştur.⁴⁰

Berilyumla etkinleştirilen peptitlere HLA molekülleri bağlandığı için spesifik HLA molekülleri berilyumla hipersensitivitenin gelişmesini de belirlemektedir. İnsanlarda 3 tip HLA sınıf molekülü eksprese edilmektedir: HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR. HLA sınıf II molekülleri, α ve β zinciri olarak 2 protein zinciri içerir. HLA sınıf II moleküllerindeki heterojenite farklı β zincirlerini kodlayan çoklu allellerden kaynaklanmaktadır. HLA-DP için en az 75, HLA-DQ için 31 ve HLA-DR için en az 170 farklı β zinciri alleli tespit edilmiştir. KBH'da Richeldi ve ark.⁴⁵ tarafından berilyum hastalığında miktarı artan ve HLA-DP β zinciri için spesifik bir allel olan HLA-DPB1*0201'i tespit edilmiştir. Bu allel hastaların %30'u ve kontrollerin %10'unda bulunuyordu. Diğer bir HLA-DP alleli HLA-DPB1*0401 ise hastaların %14'ü ve kontrollerin %48'inde bulunmuştur. Alleller arasında biyokimyasal olarak 69. pozisyonundaki glutamatın HLA-DPB1*0201'de yer alması nedeniyle bir farklılık tespit edilmiştir. Bu alleli taşıma yönünden yapılan incelemede KBH'luların %97'si ve kontrollerin ise %30'unda tespit söz konusu olmuştur.⁴⁶ Yaklaşık olarak BeS'li bireylerin %20'si berilyumla-indüklenen hastalıkların genetik yatkınlığına ait olan HLA-DPGLu69-içeren alleli taşımamaktadır. Yine, normal bireylerden farklı olarak HLA-DR β zincirinin 47. pozisyonunda fenilalanin bulunmasının da^{47,48} HLA-DPGLu69-negatif kişilerdeki berilyum hipersensitivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.⁴⁹ Benzer olarak, HLA-DPGLu69-negatif kişilerde berilyum hipersensitivitesi ile HLA-DR*13 allellerinin ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁴⁸ HLA-DR*13 allellerinde, DR β -zincirinin 47. pozisyonunda fenilalanin ve 71. pozisyonunda bir glutamik asit (HLA-DP 69. pozisyonundaki glutamik asitin karşılığı olan) yer almaktadır. Berilyumla indüklenen hastalıkların immunopatogenezinde bu genetik yatkınlık allellerinin rolünün hastalıkla ilgili CD4+ T hücrelerindeki Major histocompatibility complex (MHC) II molekülüne berilyum sunumu ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Bu ilişkinin anlaşılması, KBH'nın patogenezi ile epi-

demiyolojisinin daha iyi bilinmesine ve endüstri konusunda berilyum maruziyetine bağlı hastalık tehdidindeki işçilere korunma stratejilerinin oluşturulmasına yardım edecektir.

HLA moleküllerinin belirlenmesi bireylerde bulunması muhtemel genetik predispozisyonu ispatlar. Bu duruma etki diğer başka moleküllerin ve durumların varlığı ile keşfedilmelidir. Ayrıca berilyum hastalığına karşı bulunan bu genetik predispozisyonun klinik olarak tanıda kullanılabilir olup olmayacağı da araştırılmalıdır. Öte yandan berilyuma maruz kalan bireylerin sınırlı bir kısmında, hastalığın kalıtsal yatkınlığının bulunmasına bağlı olarak hastalık ortaya çıkmaktadır. Çok düşük miktarlarda bile berilyuma maruz kalmanın hastalığa neden olması, işçilerin maruz kalacağı berilyum seviyelerinin azaltılması olanağını da ortadan kaldırmaktadır. Hastalığın tanısında berilyuma karşı hipersensitivitenin varlığı ve granuloma oluşumunun gösterilebilmesi gibi iki önemli silah vardır. Özellikle berilyum hipersensitivitesi yönünden işçilerin taranması da endüstrideki iş güvenliği tedbirlerine katkıda bulunacak ve duyarlı işçilerin hastalığa yakalanmadan iş ortamına katılmasını ve sonuçta hastalığa yakalanma riskini engelleyebilecektir.

Berilyumun genotoksik ve karsinojenik etkisi

Metaller organik ürünlere göre organizmada yıkılamayıp, zararlı olacak düzeylerde biriktirmektedir. Hücrelerdeki makromoleküllerin metabolik ve sinyal transdüksiyonu yolları ve genetik süreçlerdeki etkisi oldukça karmaşıktır. Metaller karsinojenik etkilerini 3 ana mekanizma ile gösterirler: i) oksidatif DNA hasarı veya hücre büyümesini tetikleyecek arayolları stimüle edebilecek hücrel redoks reaksiyonlarını etkileyerek yada oksidatif stresin indüksiyonuna sebep olarak, ii) ana DNA tamir sistemlerinin inhibisyonu sonucunda genomik instabiliteye (dayanıklılığa) ve kritik mutasyonların oluşmasına neden olarak, iii) tümör baskılayıcı genler gibi hücrel büyüme kontrol eden faktörlerin inaktivasyonuna yada hücre proliferasyonunu indükleyen sinyal arayollarının düzenlenmesini bozarak.⁵⁰

Berilyum ve bileşiklerine mesleki maruziyet, akciğer kanserlerine bağlı mortaliteyi attırmakta; berilyum metali, oksitleri ve tuzlarının solunum yolu ile alınması ise deneysel olarak rat ve maymunlarda akciğer tümörlerini oluşturmaktadır,^{51,52} Be⁺² iyonları, Mg⁺² ile aynı yükü taşımakta ve biyokimyasal olarak nükleotid ve nükleik asitlerin fosfat gruplarına kompetisyon (yarışmalı) olarak bağlanmaktadır. Berilyum fizyolojik koşullarda redoks reaksiyonlarına katılmaktadır.

Genotoksik etkileri

Hücrel olmayan enzimatik bir ölçümde çok yüksek konsantrasyonlu (10mM) BeCl₂ çözeltisi, DNA sentezine katılmış ve yanlış olarak dizilmiş nükleotidlerin kodona girmesine neden olmuştur.⁵³ Bakteriyel bir deney sisteminde ise berilyum tuzları kardeş kromatid değişimlerinde kromozomal sapma ve gen mutasyonlarına neden olarak indüklemiştir. Berilyum sülfata maruz bırakılmış ratlarda ise mikronükleusların miktarında bir artışa rastlanmazken; berilyum oksite maruz kalmış işçilere ait bir grupta yine kardeş kromatid değişimleri ve mikronükleusların miktarında bir artış olmamıştır. BALB 3/T3 hücrelerinde yapılan bir çalışmada berilyum, DNA tamirinde görevli MCM4, MCM5, Rad23 ve DNA ligaz I genlerinde baskılanmaya (down-regulation) neden olmuştur.⁵⁴ Berilyum memelilerdeki DNA tamiri mekanizmalarını bozarak yukarıdaki etkileri meydana getirmiş olabilir.

Karsinojenik etkileri

Bilindiği üzere tümör gelişimi hücre büyümesi ve farklılaşması mekanizmalarının bozulması sonucu meydana gelmektedir. Karsinojenik maddeler hücre büyümesini; hücredeki büyüme faktörlerinin ekspresyonunu etkileyerek veya büyüme kontrol fonksiyonlarını inaktive ederek değiştirirler. Berilyumun da aralarında bulunduğu bazı metal iyonları mitojenik sinyal yollarını aktive ederek hücrel proto-onkojenlerin ekspresyonunu arttırmaktadırlar. BeF₂'nin mitojenik protein kinazların (MEK1, ERK1, p38, MAPK ve JNK) fosforilasyonunu ve insan makrofajlarında transkripsiyon faktörlerini indüklediği belirlenmiştir.⁵⁵ Be (II) tarafından hücrel pro-onkojenleri indüklediği gösterilmiştir: BALB 3/T3 hücrelerinde yapılan bir çalışmada berilyumun K-ras ve cjun genlerini aktive ettiği; fakat c-myc, c-fos, c-sis veya p53 genlerini ise aktive etmediği rapor edilmiştir.⁵⁶ Aynı hücre serilerinin kullanıldığı diğer bir çalışmada ise, berilyum c-fos, c-jun, c-myc ve c-ras genlerinin ekspresyonu arttırdığı tespit edilmiştir.⁵⁴ Hem mitotik sinyal yollarının uyarılması ve hem de DNA tamir fonksiyonlarının baskılanması hücre proliferasyonu dengesini bozmaktadır. Epigenetik olarak (DNA metilasyonu veya histon asetilasyonu sonucu gen ekspresyonunu düzenlenmesi), berilyum maruziyeti ile akciğer tümörleri oluşturulan ratlarda, DNA'nın hipermetilasyonu ile INK4 tümör baskılayıcı geninin etkilenmesi, gen ürünü p16INK4a düzeylerinde azalmaya neden olmuştur.⁵⁷

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, ratlar 410-980 mg/m³ berilyum metaline aerosol şeklinde maruz bırakıldığında %64'ünde, bu tek doz maruziyetten 14 ay sonrasında akciğer tümörleri meydana

gelmektedir.⁵⁸ Öte yandan 180 gün boyunca günlük 0.035 mg/m³ berilyuma maruz bırakılan ratlardaki akciğer kanseri oranı önemli oranda artmıştır.⁵⁹ 0.62 mg/m³ berilyum cevherine maruz bırakılan ratların 19'unun 18'inde bronşio-alveolaer hücre, adenom, adenokarsinom ve epidermal tümörler ortaya çıkmıştır. Primer akciğer bronşiol kanseri 0.006 veya 0.0547 mg/m³ berilyum oksite 9 ay maruziyet sonucunda meydana gelmiştir.⁶⁰ Doz-etki yönünden özellikle alveoler yapıda gelişmiş adenokarsinomların baskın olduğu akciğer tümörleri 13 ay boyunca 0.034 mg/m³ berilyum sülfat maruziyeti ile %100 oranında gerçekleşmiştir.⁶¹ Yine primatlarda da 0.035 mg/m³ berilyum sülfat maruziyeti ile akciğerin hilus ve periferel bölgesinde tümörler oluşturulmuştur.⁶²

SONUÇ

Çok az çalışma haricinde, BeS/KBH'nın patogenezi, klinik seyri ve mortalite ve morbidite oranlarının azaltılması konusunda bilim dünyasındaki araştırmalar oldukça yavaş ilerlemektedir. Bu amaçla hastalardan alınan doku örneklerinin incelenmesi ile gen veya protein ekspresyonu profillerinin oluşturulması gerekmektedir. Çoğu çalışmada ise sadece plazma, serum yada BAL örnekleri kullanılmaktadır. Ayrıca hasta ile sağlıklı bireylerden alınacak akciğer dokusu örneklerinin oluşturulmasında, bireylerin yaş, cinsiyet, doku lokalizasyonu, sigara kullanma alışkanlığı gibi özelliklerin tam olarak eşleştirilmesi elde edilecek analiz sonuçlarını etkilemektedir.

Bilim dünyasının berilyum ile indüklenen hastalıkların tanısında kullanılacak değeri kanıtlanmış belirteçlerin, immunopatogeneze rol oynayan faktörlerin ve işçilerin güvenliğinin sağlanmasında etkili olabilecek genetik testlerin belirlenmesine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Van Ordstarnd HS, Hughes R, Carmody MG. Chemical pneumonia in workers extracting beryllium oxide. Report of three cases. *Cleve Clin Q* 1984;51(2):431-9.
2. Hardy HL, Tabershaw IR. Delayed chemical pneumonitis occurring in workers exposed to beryllium compounds. *J Ind Hyg Toxicol* 1946;28(2):197-211.
3. Hardy HL. Delayed chemical pneumonitis in workers exposed to beryllium compounds. *Am Rev Tuberc* 1948; 57(6):547-56.
4. McCanlies EC, Kreiss K, Andrew M, Weston A. HLA-DPB1 and chronic beryllium disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2003;157(5):388-98.
5. Kreiss K, Mroz MM, Newman LS, Martyny J, Zhen B. Machining risk of beryllium disease and sensitization

- with median exposures below 2 micrograms/m³. *Am J Ind Med* 1996;30(1):16-25.
6. Kelleher PC, Martyny JW, Mroz MM, et al. Beryllium particulate exposure and disease relations in a beryllium machining plant. *J Occup Environ Med* 2001;43(3):238-49.
 7. Schuler CR, Kent MS, Deubner DC, et al. Process-related risk of beryllium sensitization and disease in a copper-beryllium alloy facility. *Am J Ind Med* 2005;47(3):195-205.
 8. Newman LS, Maier LA, Martyny JW, Mroz MM, VanDyke M, Sackett HM. Beryllium workers' health risks. *J Occup Environ Hyg* 2005;2(6):D48-50.
 9. Saltini C, Winestock K, Kirby M, Pinkston P, Crystal RG. Maintenance of alveolitis in patients with chronic beryllium disease by beryllium-specific helper T cells. *N Engl J Med* 1989;320(17):1103-9.
 10. Sprince NL, Kanarek DJ, Weber AL, Chamberlin RI, Kazemi H. Reversible respiratory disease in beryllium workers. *Am Rev Respir Dis* 1978;117(6):1011-7.
 11. Stoeckle JD, Hardy HL, Weber AL. Chronic beryllium disease: Long-term follow-up of sixty cases and selective review of the literature. *Am J Med* 1969;46(4):545-61.
 12. Newman LS, Kreiss K. Nonoccupational beryllium disease masquerading as sarcoidosis: identification by blood lymphocyte proliferative response to beryllium. *Am Rev Respir Dis* 1992;145(5):1212-4.
 13. Newman LS, Kreiss K, King TE Jr, Seay S, Campbell PA. Pathologic and immunologic alterations in early stages of beryllium disease. Re-examination of disease definition and natural history. *Am Rev Respir Dis* 1989;139(6):1479-86.
 14. Newman LS, Mroz MM, Maier LA, Daniloff EM, Balkissoon R. Efficacy of serial medical surveillance for chronic beryllium disease in a beryllium machining plant. *J Occup Environ Med* 2001;43(3):231-7.
 15. Freiman DG, Hardy HL. Beryllium disease. The relation of pulmonary pathology to clinical course and prognosis based on a study of 130 cases from the U.S. beryllium case registry. *Hum Pathol* 1970;1(1):25-44.
 16. Sterner JH, Eisenbud M. Epidemiology of beryllium intoxication. *AMA Arch Ind Hyg Occup Med* 1951;4(2):123-51.
 17. Curtis GH. The diagnosis of beryllium disease, with special reference to the patch test. *AMA Arch Ind Health* 1959;19(2):150-3.
 18. Curtis GH. Cutaneous hypersensitivity due to beryllium; a study of thirteen cases. *AMA Arch Derm Syphilol* 1951;64(4):470-82.
 19. Tinkle SS, Antonini JM, Rich BA, et al. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. *Environ Health Perspect* 2003;111(9):1202-8.
 20. Hanifin JM, Epstein WL, Cline MJ. In vitro studies on granulomatous hypersensitivity to beryllium. *J Invest Dermatol* 1970;55(4):284-8.
 21. Deodhar SD, Barna BP. Immune mechanisms in beryllium lung disease. *Cleve Clin J Med* 1991;58(2):157-60.
 22. Sawyer RT, Day BJ, Fadok VA, et al. Beryllium-ferritin: lymphocyte proliferation and macrophage apoptosis in chronic beryllium disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31(4):470-7.
 23. Epstein PE, Dauber JH, Rossman MD, Daniele RP. Bronchoalveolar lavage in a patient with chronic berylliosis: evidence for hypersensitivity pneumonitis. *Ann Intern Med* 1982;97(2):213-6.
 24. Rossman MD, Kern JA, Elias JA, et al. Proliferative response of bronchoalveolar lymphocytes to beryllium. A test for chronic beryllium disease. *Ann Intern Med* 1988; 108(5):687-93.
 25. Newman LS, Bobka C, Schumacher B. Compartmentalized immune response reflects clinical severity of beryllium disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150(1):135-42.
 26. Eisenbud M, Lisson J. Epidemiological aspects of beryllium-induced nonmalignant lung disease: a 30-year update. *J Occup Med* 1983;25(3):196-202.
 27. Denardi JM, Van Ordstrand HS, Curtis GH, Zielinski J. Berylliosis; summary and survey of all clinical types observed in a twelve-year period. *AMA Arch Ind Hyg Occup Med* 1953;8(1):1-24.
 28. Apostoli P, Schaller KH. Urinary beryllium-a suitable tool for assessing occupational and environmental beryllium exposure? *Int Arch Occup Environ Health* 2001;74(3):162-6.
 29. Stefaniak AB, Hoover MD, Dickerson RM, et al. Surface area of respirable beryllium metal, oxide, and copper alloy aerosols and implications for assessment of exposure risk of chronic beryllium disease. *AIHA J (Fairfax, Va)* 2003;64(3):297-305.
 30. Gregory L, Finch JAM, Eidson AF, Hoover MD, Rothenberg SJ. In vitro dissolution characteristics of beryllium oxide and beryllium metal aerosols. *J Aeros Sci* 1998;19(3):333-42.
 31. Eidson AF, Taya A, Finch GL, Hoover MD, Cook C. Dosimetry of beryllium in cultured canine pulmonary alveolar macrophages. *J Toxicol Environ Health* 1991;34(4):433-48.
 32. Stefaniak AB, Guilmette RA, Day GA, Hoover MD, Breyse PN, Scripsick RC. Characterization of phagolysosomal simulant fluid for study of beryllium aerosol particle dissolution. *Toxicol In Vitro* 2005;19(1):123-34.
 33. Day GA, Hoover MD, Stefaniak AB, et al. Bioavailability of beryllium oxide particles: an in vitro study in the murine J774A.1 macrophage cell line model. *Exp Lung Res* 2005;31(3):341-60.
 34. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. WB Saunders Co: Philadelphia, 2000.
 35. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996;383(6603):787-93.

36. O'Garra, A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 1998;8(3):275-83.
37. Fontenot AP, Maier LA. Genetic susceptibility and immune-mediated destruction in beryllium-induced disease. *Trends Immunol* 2005;26(10):543-9.
38. Saltini C, Kirby M, Trapnell BC, Tamura N, Crystal RG. Biased accumulation of T lymphocytes with "memory"-type CD45 leukocyte common antigen gene expression on the epithelial surface of the human lung. *J Exp Med* 1990;171(4):1123-40.
39. Fontenot AP, Canavera SJ, Gharavi L, Newman LS, Kotzin BL. Target organ localization of memory CD4(+) T cells in patients with chronic beryllium disease. *J Clin Invest* 2002;110(10):1473-82.
40. Fontenot AP, Palmer BE, Sullivan AK, et al. Frequency of beryllium-specific, central memory CD4+ T cells in blood determines proliferative response. *J Clin Invest* 2005;115(10):2886-93.
41. Fontenot AP, Kotzin BL. Chronic beryllium disease: immune-mediated destruction with implications for organ-specific autoimmunity. *Tissue Antigens* 2003;62(6):449-58.
42. Fontenot AP, Newman LS, Kotzin BL. Chronic beryllium disease: T cell recognition of a metal presented by HLA-DP. *Clin Immunol* 2001;100(1):4-14.
43. Tinkle SS, Kittle LA, Schumacher BA, Newman LS. Beryllium induces IL-2 and IFN-gamma in berylliosis. *J Immunol* 1997;158(1):518-26.
44. Tinkle SS, Kittle LA, Newman LS. Partial IL-10 inhibition of the cell-mediated immune response in chronic beryllium disease. *J Immunol* 1999;163(5):2747-53.
45. Richeldi L, Sorrentino R, Saltini C. HLA-DPB1 glutamate 69: a genetic marker of beryllium disease. *Science* 1993;262(5131):242-4.
46. Wang Z, White PS, Petrovic M, et al. Differential susceptibilities to chronic beryllium disease contributed by different Glu69 HLA-DPB1 and -DPA1 alleles. *J Immunol* 1999;163(3):1647-53.
47. Rossman MD, Stubbs J, Lee CW, Argyris E, Magira E, Monos D. Human leukocyte antigen Class II amino acid epitopes: susceptibility and progression markers for beryllium hypersensitivity. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(6):788-94.
48. Maier LA, McGrath DS, Sato H, et al. Influence of MHC class II in susceptibility to beryllium sensitization and chronic beryllium disease. *J Immunol* 2003;171(12):6910-8.
49. Amicosante M, Berretta F, Franchi A, et al. HLA-DP-unrestricted TNF-alpha release in beryllium-stimulated peripheral blood mononuclear cells. *Eur Respir J* 2002;20(5):1174-8.
50. Galanis A, Karapetsas A, Sandaltzopoulos R. Metal-induced carcinogenesis, oxidative stress and hypoxia signalling. *Mutat Res* 2009;674(1-2):31-5.
51. IATC. Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization. Lyon, 1993.
52. Henschler D. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe: toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen). Wiley-VHC. Weinheim, 2003.
53. Zakour RA, Glickman BW. Metal-induced mutagenesis in the lacI gene of Escherichia coli. *Mutat Res* 1984;126(1):9-18.
54. Joseph P, Muchnok T, Ong T. Gene expression profile in BALB/c-3T3 cells transformed with beryllium sulfate. *Mol Carcinog* 2001;32(1):28-35.
55. Misra UK, Gawdi G, Akabani G, Pizzo SV. Cadmium-induced DNA synthesis and cell proliferation in macrophages: the role of intracellular calcium and signal transduction mechanisms. *Cell Signal* 2002;14(4):327-40.
56. Keshava N, Zhou G, Spruill M, Ensell M, Ong TM. Carcinogenic potential and genomic instability of beryllium sulphate in BALB/c-3T3 cells. *Mol Cell Biochem* 2001;222(1-2):69-76.
57. Belinsky SA, Snow SS, Nikula KJ, Finch GL, Tellez CS, Palmisano WA. Aberrant CpG island methylation of the p16(INK4a) and estrogen receptor genes in rat lung tumors induced by particulate carcinogens. *Carcinogenesis* 2002;23(2):335-9.
58. Nickell-Brady C, Hahn FF, Finch GL, Belinsky SA. Analysis of K-ras, p53 and c-raf-1 mutations in beryllium-induced rat lung tumors. *Carcinogenesis* 1994;15(2):257-62.
59. Creedon FT, Delahant AB, Durkan TM, Schepers GW. The biological action of inhaled beryllium sulfate; a preliminary chronic toxicity study on rats. *AMA Arch Ind Health* 1957;15(1):32-58.
60. Vorwald AJ, Reeves AL. Pathologic changes induced by beryllium compounds; experimental studies. *AMA Arch Ind Health* 1959;19(2):190-9.
61. Reeves AL, Deitch D, Vorwald AJ. Beryllium carcinogenesis. I. Inhalation exposure of rats to beryllium sulfate aerosol. *Cancer Res* 1967;27(3):439-45.
62. Vorwald AJ. The induction of experimental pulmonary cancer in the primate (Abstract I-07-e). Springer. Berlin, Germany, 1967.