

**ÇEVRESEL OLARAK ASBESTE MARUZ KALAN KİŞİLERİN  
LENFOSİTLERİNDEKİ NÜKLEER BÖLÜNME İNDEKSİ  
(NDI) DEĞERLERİNİN İNCELENMESİ**

**Investigation of Uclear Division Index (NDI) in lymphocytes of People who are  
Environmentally Exposed to Asbestos**

**Münevver BARAN<sup>1</sup>, Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ<sup>2</sup>, F.Sema OYMAK<sup>3</sup>,  
Zuhal HAMURCU<sup>4</sup>, Nalan İMAMOĞLU<sup>4</sup>, Halil DEMİRTAŞ<sup>2</sup>**

**Özet :** Asbest minerallerine maruziyet; akciğer kanseri, malign plevral mezotelyoma ve çeşitli organlardaki kanser vakalarını içeren ciddi sağlık etkilerinin geniş bir çeşitliliği ile ilişkilidir. Türkiye’de pek çok bölgede asbest bulunmaktadır. Bu bölgelerden biri olan Doğanlı Köyü’nde yaşayan ve hemen hemen doğduğundan beri asbeste maruz kalan kişilerin lenfositlerinde Nükleer Bölünme İndeksi (NDI) oranları değerlendirildi. Doğanlı Köyü’nde yaşayan, yaklaşık 30-70 yaşları arasında her iki cinsiyetten 30 hastanın periferik kanları alındı. Yaş, cinsiyet, ve sosyo-ekonomik bakımdan aynı olan Kayseri’ye bağlı bir köyden 25 kişi de kontrol grubu olarak kullanıldı. Alınan kan örnekleri, %25 fetal kalf serum ve fitohemaglutinin içeren Ham’s F-10 medyumlarına ekildi. 44. saatte Sitokalazin-B (Cyt-B) eklenerek, binükleer hücreler elde edildi. 72 saatlik kültür sonunda preparatlar rutin işlemlerle hazırlandı. Elde edilen preparatlar mikroskopta incelenerek, 1000 tane bir çekirdekli (mononükleer) hücre sayılırken aynı zamanda iki çekirdekli, üç çekirdekli, dört çekirdekli (binükleer, trinükleer ve tetranükleer) her bir hücre kaydedildi ve NDI değerleri hesaplandı. Bu çalışmada, asbeste maruz kalan kişilerin ve kontrol kişilerin NDI değerleri arasında fark bulundu ( $p=0.001$ ). Sonuç olarak, her iki grup kişilerin NDI değerleri arasında anlamlı fark bulunması asbest maruziyetinin akciğer kanseri ve malign plevral mezotelyoma (MPM) ile olan ilişkisini desteklemektedir.

**Summary :** Exposure to asbestos minerals has been associated with a wide variety of adverse health effects including lung cancer, malign pleural mesothelioma, and cancer of other organs. There are asbestos deposits in many regions of Turkey. People in the village of Doğanlı (one of those regions) have been exposed to asbestos all their lives. These people’s Nuclear Division Index (NDI) rations in their lymphocytes were evaluated. Peripheral blood samples were taken from 30 subjects who live in Doğanlı village, age range 30-70, from each gender. Twenty-five people of the same age, sex and socio-economic group from a village near Kayseri were used as a control group. Blood samples were cultured in Ham’s F-10 medium, which consists of 25% fetal calf serum and phytohemagglutinin. At 44<sup>th</sup> hour for binucleated cells, Cytochalasin-B (Cyt-B) was added to cultures. After incubation of 72 hours, the slides were prepared according to routine methods. One thousand mononucleated cells were scored for the NDI rations by microscope on slides. At the same time each cell that has two nucleus, three nucleus and four nucleus (binucleated, trinucleated and tetranucleated) were scored and the NDI rations were calculated. In this study, there were significant differences between the NDI values of people who were exposed to asbestos and people in the control group ( $p=0.001$ ). As a result, these significant differences between the NDI values support that exposure to asbestos is associated with lung cancer and malign pleural mesothelioma (MPM).

**Anahtar kelimeler :** Asbest, malign plevral mezotelyoma, nükleer bölünme indeksi

Doğada bulunan mineral silikatlardan oluşan lifsel bir madde olan asbest, yapısal özelliklerinden dolayı günümüzde pek çok ülkede kullanıldığı gibi Türkiye’de de çeşitli endüstri alanlarında yararlanılmaktadır (1, 2).

Türkiye asbest mineralleri açısından oldukça zengin bölgelere sahiptir. Bu bölgeler arasında Antakya, Sivas, Erzincan, Bursa, Eskişehir, Yozgat, büyük mineral depoları olarak bilinmektedir. Bunlara ilaveten İzmir, Çanakkale, Konya, Kayseri, Çorum, Çankırı, Adana ve Diyarbakır’ın kırsal yöreleri çevresel kökenli asbestle ilgili daha küçük mineral depoları olarak

<sup>1</sup> Bilim Uzm.Erc.Ün.Sağlık Bil.Ens.Tıbbi Biy. AD, Kayseri

<sup>2</sup> Prof.Dr.Erc.Ün.Tıp Fak.Tıbbi Biyoloji AD, Kayseri

<sup>3</sup> Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Tıp Fak.Göğüs Hast. AD, Kayseri

<sup>4</sup> Doktora Öğr. Erc.Ün.Sağlık Bil.Ens.Tıbbi Biy. AD, Kayseri

bilinir (3). Türkiye’de yaklaşık 113 asbest deposu (yığıntısı) bilinmektedir. Bunların %65’i krizotil, %39’u tremolit ve %1’i krokidolit içermektedir (1). Asbest solunması mesleki olabileceği gibi çevresel yolla da olabilmektedir. Asbestli araziye sahip yerleşim alanlarında bulunan asbestli toprak, evlerde sıva ve çatı malzemesi olarak kullanılmaktadır (4,5). Çevresel yada mesleki olarak asbeste maruz kalan kişilerde, mineral tozlarının solunması sonucu, organik ve fonksiyonel patolojiler yanında, normal popülasyona göre oldukça yüksek oranda akciğer ve plevral malignitelerinin oluştuğu da bilinmektedir (1).

Türkiye, çevresel olarak asbest maruziyetinin neden olduğu hastalıklar açısından Dünya’daki önemli ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye’deki asbestli bölgelerde görülen mezotelyomlarla ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak Nükleer Bölünme İndeksi (NDI) değerleri açısından, asbestle ilgili olarak yapılan çalışmalara rastlanmamıştır. NDI değerleri, spesifik kimyasal ve fiziksel bir ajanın hücre bölünmesi üzerindeki etkilerini araştırmak için önemli veriler sağlar (6). Bu yüzden asbestli araziye sahip olan Doğanlı Köyü (Yıldızeli/Sivas)’nde yaşayan ve doğduğundan beri asbeste maruz kalan kişilerin lenfositlerinde, asbestin hücre döngüsü üzerine etkilerini araştırmak için NDI değerleri hesaplandı ve kontrol köydeki kişilerin NDI değerleriyle karşılaştırıldı. Çalışmamızın, bu konudaki bilgilere önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Doğanlı Köyü’nde yaşayan asbeste maruz kalan her iki cinsiyetten toplam 30 kişinin ve kontrol olarak seçilen Kayseri’ye bağlı bir köyde yaşayan 25 kişinin muayeneleri yapıldıktan sonra periferik kan örnekleri alındı.

Daha önce yapılan bir çalışmada, Doğanlı Köyü’nden alınan üç toprak örneği, Maden Tetkik Arama (MTA) dairesi laboratuvarında incelendiğinde, köyden alınan bir kayaçta krizotil asbest lifleri tespit edilmiştir. Halen sıva için toprak alınan yerden alınan örnekte asbest liflerine

rastlanmamıştır. 510 kişinin mikrofollmlerinin alındığı bu çalışmada sadece 14 kişinin standart akciğer grafilerinde fibröz mineral ekspozisyonu için tipik kalsifikasyonlar bulunmuştur. Bunların toplam nüfustaki oranının % 2.7, 20 yaşın üzerindeki nüfusa oranının ise % 4.51 olduğu bulunmuştur (7).

Her iki gruptan alınan periferik kanlar, steril koşullarda Ham’s F10 (Biol. Ind.), %25 fetal kalf serum (Biol. Ind.), %1.5 fitohemaglutinin (Biol. Ind.), 100 U/ml penisilin (Biol. Ind.), ve 100 µg/ml streptomisin (Biol. Ind.) içeren lenfosit kültür ortamlarına ekildi. Kültür ortamları inkübasyon için 37 °C lik etüve kondu. 44. saatte 3µg/ml final konsantrasyonunda Sitokalazin-B (Cyt-B) eklendi ve 72. saatlik çıkarım yapıldı (8). Çıkarım sonrası elde edilen hücre süspansiyonundan preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar %5’lik giemsada 6 dakika boyandıktan sonra mikroskopta değerlendirildi.

NDI değerlerini bulmak için; 1000 tane bir çekirdekli (mononükleer) hücre sayılırken kaç tane iki çekirdekli, üç çekirdekli ve dört çekirdekli (binükleer, trinükleer ve tetranükleer) hücre varsa kaydedildi ve NDI değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı (9).

$$NDI = \{1N + (2 \times 2N) + (3 \times 3N) + (4 \times 4N) \} / \text{Total hücre sayısı}$$

N = Nükleus sayısı

Her iki grubun NDI değerleri ve bir, iki, üç ve dört çekirdekli hücre sayıları istatistiksel olarak Student- t testine göre değerlendirildi.

## BULGULAR

Asbeste maruz kalanların 22’si kadın (%73.3) ve 8’i erkektir (%26.6). Kadınların yaşı 32-80 (ort: 58.9) arasında, erkeklerin yaşı ise 36-75 (ort: 62.5) aralıklarında değişmektedir. Kontrol grubunda bulunan kişilerin 15’i kadın (%60) ve 10’u erkektir (%40). Erkeklerin yaşı 33-77 (ort: 54.6) arasında, kadınların yaşı ise 35-75 (ort: 54.9) aralıklarında değişmektedir.

Kontrol grubu olarak seçilen ve asbeste maruz kalan kişilerin NDI değerleri Tablo I’de gösterildi. Asbeste maruz kalan kişilerle (1.15±0.07) kontrol grubundaki kişilerin (1.21±0.06) NDI değerleri Student-t testine

göre karşılaştırıldığında aralarında fark olduğu bulundu ve kontrol kişilerin NDI değerlerinin asbeste maruz kalanlara göre daha büyük olduğu görüldü (p=0.001). Ayrıca, asbeste maruz kalan

kişilerle kontrol kişilerin bir, iki, üç ve dört çekirdekli hücre sayıları karşılaştırıldığında; iki çekirdekli (p=0.001), üç çekirdekli (p=0.01) ve dört çekirdekli (p=0.004) hücre sayıları arasında fark bulundu ( Tablo I).

**Tablo I.** Asbeste maruz kalan kişilerle kontrol kişilerin Nükleer Bölünme İndeksi (NDI) değerleri

	Asbeste maruz kalan kişiler (n=30) (X±SD)	Kontrol kişiler (n=25) (X±SD)	t	p
1 çekirdekli hücre sayısı	1018.70±7.72	1024.68±23.75	1.301	0.199
2 çekirdekli hücre sayısı	171.53±97.90	259.72±91.90	3.420	0.001
3 çekirdekli hücre sayısı	3.37±3.30	5.48±2.40	2.669	0.01
4 çekirdekli hücre sayısı	2.67±3.03	5.56±4.18	2.968	0.004
Total hücre sayısı	1196.20±101.92	1295.04±105.72	3.521	0.001
NDI	1.15±0.07	1.21±0.06	3.536	0.001

NDI = {1N + (2 X 2N) + (3 X 3N) + (4 X 4N) }/ Total hücre sayısı  
N = Nükleus (çekirdek) sayısı

## TARTIŞMA

Bizim çalışmamızda da asbestin hücre döngüsü üzerine etkisi olup olmadığını araştırmak için NDI değerleri hesaplanmıştır. NDI değerleri açısından asbeste maruz kalan kişilerle kontrol grubundaki kişileri karşılaştırdığımızda aralarında anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.001). Asbeste maruz kalan kişilerde NDI değerleri azalmış ve kontrol köydeki kişilerde ise artmıştır (Tablo I). Asbeste maruz kalan kişilerde NDI değerlerinin azalması, asbestin hücre döngüsü üzerinde azaltıcı yönde etkisi olduğunu bize göstermektedir. Ayrıca iki çekirdekli (p=0.001), üç çekirdekli (p=0.01) ve dört çekirdekli (p=0.004) hücre sayılarının kontrol grubundaki kişilerde asbeste maruz kalanlara göre fazla olduğu bulunmuştur.

Daha önceden yapılan bir çalışmaya göre Metotraksat (MTX)'in doza bağlı NDI değerlerini ve mitotik indekslerini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, MTX'in neden olduğu DNA hasarını

minimumuna indirgeme yeteneğine sahip olan antijenotoksik ajan olarak Vanilin (VA) ve Klorofilin (CHL)'nin kullanıldığı V79 Chinese Hamster akciğer hücrelerinde MTX'in tek başına NDI değerlerini doza bağlı olarak azalttığı görülmüştür (9). Bugünkü bilgilerimize göre asbestin NDI üzerine etkisi olup olmadığına dair çalışmalara rastlanamamıştır.

Asbest türü açısından ele alındığında da bu köyde bulunan asbest türü krizotildir. Çevresel olarak maruz kalınan asbestin cinsi mezotelyoma ve akciğer kanserine neden olmada önemli rol oynamaktadır. Krizotilin karsinogenik etkisinin diğer asbest türlerine göre daha az olduğu bilinmektedir (10). Doğanlı Köyü'nde mezotelyoma ve akciğer kanserinden ölüm mutad değildir. Ayrıca, asbestin etki mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Köydeki toplam nüfusta % 2.7 ve 20 yaşın üzerindekielerde % 4.51'lik plevral kalsifikasyon oranı çevresel olarak asbest maruziyetini göstermektedir (7).

#### KAYNAKLAR

1. Barış Yİ. *Asbestos And Erionite Related Chest Diseases*. Semih Ofset, Ankara 1987, pp 36-102.
2. Kılıçaslan Z. *Mesleki ve Çevresel Akciğer Hastalıkları*. "Akciğer Hastalıkları" Arseven O (Editör). Alemdar Ofset, İstanbul 2002, ss 371-405.
3. Uluş E. and Yılmaz S. *Türkiye'de Asbest Envanteri*. MTA Enst. Yayınları, MTA Enst. Matbaası, Ankara 1975, No:157.
4. Yılmaz UM, Utkaner G, Yalnız E, Kumcuoğlu Z. *Computed tomographic findings of environmental asbestos-related malignant pleural mesothelioma*. *Respirology* 1998, 3: 33-38.
5. Yazıcıoğlu S, İlçayto R, Balcı K, et al. *Pleural calcification, pleural mesotheliomas, and bronchial cancers caused by tremolite dust*. *Thorax* 1980, 35: 564-569.
6. Fenech M. *The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method*. *Mutat Res* 1997, 392: 11-18.
7. Özesmi M, Demir R, Topcu FO, et al. *Doğanlı Köyü (Yıldızeli/Sivas) halkında plevral kalsifikasyon sıklığı ve sebebi*. *Tüberküloz ve Toraks* 1991, 39: ss 47-50.
8. Fenech M. *The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations*. *Mutat Res* 1993, 285: 35-44.
9. Keshava C, Keshava N, Whong W-Z, et al. *Inhibition of methotrexate-Induced chromosomal damage by vanillin and chlorophyllin in V79 cells*. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 1997/98, 17: 313-326.
10. Demiroğlu H. *Hazards of white asbestos*. *Lancet* 1998, 352: 322-323.

*Baran M, Altuntaş Dönmez H, Oymak S, Hamurcu Z, İmamoğlu N, Demirtaş H*

*Çevresel olarak asbeste maruz kalan kişilerin lenfositlerindeki Nükleer Bölünme İndeksi (NDI) değerlerinin incelenmesi*

*Baran M, Altuntaş Dönmez H, Oymak S, Hamurcu Z, İmamoğlu N, Demirtaş H*