

ÇEVRESEL ETKENLERİN GENLER ÜZERİNE ETKİSİ VE GENETİK ANALİZ YÖNTEMLERİ

ENVIRONMENTAL FACTORS' EFFECTS ON GENES AND GENETIC ANALYSIS METHODS

Feriha BAŞOĞLU*, Ayşe Emel ÖNAL**

ÖZET

Fiziksel ve kimyasal çevresel kirlenmelerin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri bilinmektedir. Bu olumsuz etkilerin halk sağlığı açısından en önemlileri, yüksek dozda ve uzun süreli maruziyetlerde daha fazla olmak üzere çeşitli kanserlerin ortaya çıkmasıdır. Bu yazıda başlıca çevresel etkilenmelere yol açan radyasyon, arsenik, kadmiyum, kurşun, krom ve nikel üzerinde durulacak ve etkenlerin mutajen etkilerini saptamaya yarayan güncel genetik analiz yöntemleri özetlenecektir.

ABSTRACT

Physical and chemical environmental pollutants' negative effect on human health is known. Those pollutants may cause different cancer types especially after exposure to high doses for a long time. In this article, environmental exposures to radiation, arsenic, cadmium, lead, chrome, nickel and current genetic analysis methods to detect effects of mutagens will be summarized.

GİRİŞ

Kalıtım molekülü olan DNA'da oluşan ve kuşaktan kuşağa veya hücreden hücreye aktarılabilen kalıcı değişikliklere "mutasyon" denilmektedir. Mutasyona neden olan maddelere ise "mutajen" adı verilmektedir. Çevreden kaynaklanan mutajenlere ise "çevresel mutajen" adı verilir. Çevresel mutajenler fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki grupta toplanabilir. Fiziksel mutajen olarak radyasyon, kimyasal mutajen olarakta her gün bizi etkileyen pek çok kimyasal madde, sigara dumanı, pestisidler, endüstriyel ürünler ve atıklar gibi çevre kirlenmeleri, besinlerimizdeki doğal ve yapay kimyasal maddeler sayılabilir(12). Mutajenlerin DNA üzerindeki etki mekanizmaları farklı olduğu için herbirinin fenotipik etkisi farklı şekilde görülmektedir. Bunun başka bir sebebi de DNA'daki farklı bölgelerin mutasyona duyarlılığının değişkenlik göstermesidir. Çevresel mutajenler genellikle onkogen aktifleştikleri zaman kanser oluşumuna neden olan onkogen veya tümör baskılayıcı gen bölgelerinde değişikliğe sebep olarak hücre bölünmesinin kontrolden çıkıp kanserleşmeye doğru ilerlemesine neden olurlar*. Bu gen bölgelerinin yanı sıra apoptozu düzenleyen ve DNA tamir mekanizmasında rol oynayan ürünlerin sentezlendiği gen bölgelerinde de mutasyona neden olabilirler (17,21).

RADYASYON

Günümüz dünyasında radyasyondan izole yaşamak mümkün değildir. Özellikle 19. yüzyılın sonlarına doğru X ışınları ve radyoaktivitenin keşfedilmesiyle tıp ve endüstri alanlarında kullanılması ve günümüze kadar artan bir hızla yayılması radyasyonu hayatımızın ayrılmaz bir parçası haline getirmiştir. Bu teknoloji insan yaşamını kolaylaştırmasının yanısıra maruziyete bağlı sağlık sorunlarına da neden olmaktadır.

Radyasyon, elektromanyetik dalgalar ve parçacıklar şeklindeki enerji yayılımıdır. Atomlar maddenin temel yapısını meydana getirir; proton ve nötronlardan meydana gelen bir çekirdek ile bunun çevresinde dönmekte olan elektronlardan meydana gelir.

Eğer bir maddenin atom çekirdeğindeki nötronların sayısı, proton sayısına göre oldukça fazla ise böyle maddeler kararlı bir yapı gösterirler ve çekirdeklerindeki nötronlar alfa, beta, gama gibi çeşitli ışınlar yayarak parçalanırlar. Bu şekilde çevreye ışın saçarak parçalanmış maddelere "radyoaktif madde"; çevreye yayılan ışınlara ise "radyasyon" denir(5).

Genel kabul gören radyasyon sınıflaması aşağıdaki gibidir:

- 1.Non-iyonize Elektromanyetik Radyasyon
-Radyo dalgaları

Dergiye geldiği tarih/ Date received:14.08.2007 -Dergiye kabul edildiği tarih: 13.04.2009

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul
(İletişim kurulacak yazar: feriha_85@yahoo.com)

** İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Çevre Sağlığı Bilim Dalı, Çapa, İstanbul

- Mikrodalga
- Kızıl ötesi ışınları
- Görünen ışık
(Kırmızı, turuncu, sarı, yeşil, mavi, mor)
- Mor ötesi ışınlar

2. İyonize Elektromanyetik Radyasyon

- X-ışınları
- Gama ışınları
- Kozmik ışınlar

3. İyonize Partiküler Radyasyon

- Beta parçacıkları
- Alfa parçacıkları
- Nötronlar (15,22).

Doğal ve yapay radyasyon olmak üzere 2 çeşit radyasyon vardır.

Doğal radyasyonlar, doğa kaynaklarından ortaya çıkan radyasyon tipidir. Bunlar arasında kozmik ışınlar, topraktan yayılan radon ışınları, toprakta, suda ve yiyeceklerde olabilecek doğal radyoaktif maddeler sayılabilir. Doğal olmayan radyasyonlar ise, insan eliyle oluşturulan veya kullanılan araç ve gereçlerden alınan radyasyonlardır. Bizler doğal radyasyona yapay radyasyondan daha fazla maruz kalmaktayız. Çevre koruma kurumlarının önerdiği standartlara göre, tek bir kaynaktan ya da bölgeden alınabilecek doz, yılda 15 miliremdir. Örneğin bir röntgen çektiğimizde maruz kalınan radyasyon miktarı 10 milirem kadarken sadece kozmik ışınlardan yılda 200-300 milirem radyasyona maruz kalmaktayız. Bu da bize maruz kaldığımız radyasyonun üçte ikisinin doğal kaynaklardan olduğunu göstermektedir.

İyonizan radyasyon ya direkt olarak DNA zincirinde kırılmalar oluşturur ya da hücre içindeki moleküllerle etkileşerek oksijen radikalleri oluşumunu sağlar ve bu oksijen radikalleri DNA bileşenleri ile etkileşerek zincirde kırılmalar ve diğer tip bozulmalara yol açarlar. Her hücre tipinin radyasyona duyarlılığı farklıdır. Over ve testisin germinal hücreleri, hematopoetik sistem hücreleri, gastrointestinal sistem epitel hücreleri gibi sık bölünen hücrelerin duyarlılığı fazla iken, akciğer, böbrek, kartilaj, kas, sinir hücreleri gibi sık bölünmeyen hücrelerin duyarlılığı daha azdır.

Bu etki sonucunda kişilerin doku ve organlarında kanserleşme meydana gelir. Röntgen ışınlarının gelişmesine öncülük edenlerin çoğunda deri kanseri, radyoaktif maden çalışanlarında akciğer kanseri, güneşten kaynaklanan doğal UV ışınına fazla maruz kalanlarda deri kanseri gelişmiştir. Bunun yanında Hiroşima ve Nagazaki'de atom bombası atıldıktan sonra lösemi, akut ve kronik myeloid lösemi vakalarında artış meydana gelmiştir(22).

ARSENİK

Metaloid özellik gösteren ve yer kabuğunda en bol bulunan elementlerden biridir. Yer kabuğunda ortalama olarak 1,5-2 ppm arasında bulunmaktadır. Bu miktar bölgenin jeolojik yapısına göre farklılıklar göstermektedir. Volkanik aktivitesi olan ve jeotermal bölgelerde miktar 100 ppm'e kadar çıkabilir (7,8).

Arseniğin başlıca çevreye yayılım kaynağı sularıdır. Su aracılığı ile çevreye yayılımı nedeniyle canlılar üzerinde biriki-

me neden olmaktadır. Endüstriyel atıkların arıtılmadan çevreye bırakılması insan sağlığı açısından önemli sorunlara yol açmaktadır. Birçok pestisid ve sigara da arsenik içerdiğinden maruziyete neden olan önemli kaynaklar arasında sayılmaktadır (13).

Arsenik maruziyeti sonucunda mutajenik etki ile birçok kansere, deri, akciğer, karaciğer, idrar kesesi, böbrek ve kolon kanserlerine ve sonuçta ölüme neden olabilmektedir(19). Arsenikle kronik maruziyette periferik kan lenfositlerinde, ağız mukozası ve idrar yolları hücrelerinde kanser görülmesi daha sıktır(1). Akciğer kanseri oluşumunda da arsenik ile sigara sinerji göstermektedir(16).

KURŞUN

Kurşun insan faaliyetleri ile ekolojik sisteme en önemli zararı veren ilk metal olma özelliği taşımaktadır. Kurşun atmosfere metal veya bileşik olarak yayıldığından ve her durumda toksik özellik taşıdığından çevresel kirlilik yaratan en önemli ağır metaldir. 1920' lerde kurşun bileşikleri benzine ilave edilmeye başlanmıştır ve bu kullanım alanı kurşunun ekolojik sisteme yayılımında önemli rol oynamıştır. Diğer kurşun kaynakları ise endüstri (akümülatör, seramik, porselen, kauçuk...vb), kurşun bazlı boyalar, su boruları ve dolayısı ile içme suları, konserveler, kurşun içeren besinlerdir (9).

Kurşun başlıca gastrointestinal sistem ve solunum yoluyla absorbe edilmektedir. Absorbe edilen dozun %99'u hemoglobine bağlanır. Önce yumuşak dokularda dağılır. Bu maddenin vücuttan atılımı çok yavaştır. Maruziyetin devamı halinde kemiklerde depolanmaya başlar. Teratojen etkisi olan bir maddedir. Yani anne karnındaki çocuğa etki etmektedir. Erken doğum, mental gerilik, öğrenme güçlüğüne neden olur. Bunların yanı sıra genetik materyal üzerine etki ederek kanserleşmeye de yol açabilmektedir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC - The International Agency for Research on Cancer), Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) bağlı bir kuruluştur. Kurşun bu kuruluş tarafından 2. sınıf karsinogen (muhtemel karsinogen) olarak kabul edilmektedir(2).

KADMIYUM

Kadmiyum modern toksik metal olarak isimlendirilmektedir. Kadmiyum başta çinko olmak üzere çeşitli mineral filizlerinde bulunan ve endüstride yoğun kullanımı olan bir metaldir. Günümüzde kadmiyum endüstriyel olarak; boya pigmenti ve plastiklerde, nikel-kadmiyum pillerinde, seramik ve cam yapımı vs. bulunur ve bunların yaygın kullanımı sonucunda önemli miktarda kadmiyum kirliliği ortaya çıkar.

Kadmiyum hava, yiyecek, sigara dumanı ve sulardan da alınır. Sigara içimi alım miktarını iki katına çıkarmaktadır. Kronik kadmiyum maruziyeti sonucunda prostat ve akciğer kanseri gelişme riski artmaktadır.(6)

KROM

Vücutta insülin hareketini sağlayarak karbonhidrat, su ve protein metabolizmasını etkileyen ve doğada her yerde bulunan bir metaldir. Endüstriyel olarak; kromla kaplama, boya endüstrisi, deri ve tekstil endüstrisi vs. kullanılmaktadır.

Krom doğada iki formda bulunmaktadır. Bu formlar hekzavalan ve trivalan formlarıdır. Hekzavalan olanı trivalan formdan daha toksiktir. Bu formu akciğer gibi çeşitli doku membranlarından geçebilir ve hücre içinde trivalan forma dönüşebilir.

Başlıca deri ile temas, krom içeren toz ve buharların inhalasyonu ile maruziyet gerçekleşmektedir. Dermal maruziyet sonucu kontakt dermatit meydana gelir. Hekzavalan krom deri ve burun mukozasına şiddetli korozif etki göstererek krom ülseri ve burun delinmelerinin meydana gelmesine yol açar. Hekzavalan krom ayrıca mutajenik etki göstererek akciğer kanseri gelişme riskini de artırmaktadır(14).

NİKEL

Nikel sertliği ve dayanıklılığı sebebiyle birçok metal alaşımının yapımında kullanılmaktadır. Nikelin esas kullanım alanı paslanmaz çelik, bakır-nikel alaşımları ve diğer korozyona dayanıklı alaşım üretimleridir. Saf nikel kimyasal katalizör olarak elektrolitik kaplamada ve alkali pillerde, pigmentler, madeni para, kaynak ürünleri, mıknatıslar, elektrotlarda, elektrik fişlerinde, makine parçaları ve tıbbi protezlerde kullanılmaktadır.

Başlıca maruziyet toz ve buharların solunmasıyla gerçekleşmektedir. Kontamine besinlerin yenmesiyle ağız yolundan da alınabilir. Sigarada da 1-2 mikrogram kadar nikel bulunmaktadır. Başlıca etkisi solunum sistemi kanserlerinden olan burun ve akciğer kanser gelişim riskini artırmaktır (10). Sözü edilen metallerin maruziyete neden olduğu kaynaklar ve sebep oldukları kanser türleri tablo 1 de görülmektedir.

Tablo 1. Bazı metallerin kaynakları ve karsinojenik etkileri

METAL VE KAYNAKLARI	KARSİNOJENİK ETKİ
ARSENİK	
İçme suları	Akciğer kanseri,
Endüstriyel atıklar	Lenfoma, Lösemi,
Arsenikli pestisidler	Dermal Karsinoma,
Sigara	Hepatik Anjiosarkoma, Mesane Kanseri, Böbrek ve Kolon kanseri
KADMIYUM	
Boya, plastik, pil, seramik, cam endüstrisi	Akciğer kanseri
Madencilik	Prostat kanseri
Sigara	
KROM	
Demir-çelik sanayi	Akciğer kanseri
Termik santraller	
Boya, deri, tekstil, cam, lastik endüstrisi	
Fotoğrafçılık	
Kuyumculuk	

GENETİK ANALİZ YÖNTEMLERİ

FISH (Floresan In Situ Hybridization):

Prob adı verilen ticari olarak üretilmiş ve baz dizisi bilinen florokrom isaretili DNA parçaları ile hastaya ait DNA'nın kendi ortamında, kromozom yapısı bozulmadan hibridizasyonu (yapay olarak çoğaltılmış ve DNA problemleri olarak hazırlanmış olan spesifik DNA fragmentlerinin niteliği araştırılacak olan hedef DNA molekülü ile birleştirilmesi işlemi) temeline dayanan moleküler sitogenetik bir yöntemdir. FISH tekniğinin kolay uygulanabilirliği, duyarlılığı ve etkinliği bu yöntemin hem temel araştırma hem de diagnostik alanda tercih edilen bir yöntem haline gelmesine neden olmuştur.

Kanser genetiğinde onkogenler, tümör supressor genler, translokasyon, insersiyon ya da duplikasyon ve delesyonların tesbitinde kullanılır.

Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH:Comparative Genomic Hybridization):

Dengesiz kromozomal materyalin incelenmesine olanak sağlayan alternatif bir yaklaşımdır. Kontrol ve test DNA'larının metafaz üzerinde hibridize edilmesi prensibine dayanır. Üç megabaz ve üzerindeki büyüklüğe sahip DNA bölgele- rindeki değişimler renk farklılığından yararlanılarak rahatça değerlendirilir.

CGH'in uygulama alanları arasında kanser genetiği yer almaktadır.

Dizi analizi (DNA Sequencing):

İnsan genetik yapısı, üzerinde 30 bin kadar gen bulunduran büyük bir DNA molekülünden oluşur. Genetik bilimindeki hızlı gelişme ve yeni teknolojiler DNA üzerindeki şifrenin tek bir harfindeki değişiklikleri bile ortaya koymamızı sağlayacak düzeye ulaşmıştır. DNA üzerinde yer alan ve özel bir şifre hataları ortaya koymanın birkaç farklı yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntemlerden en kesin sonucu sağlayan DNA dizilemesi'dir. Bu yöntemde insan hücrelerinden elde edilen DNA'nın araştırılacak hastalığa yönelik gen bölgesi PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılır. Çoğaltılan bu bölgeler florokrom maddelerle işaretli bazlarla tekrar bir PCR reaksiyonuna sokulur. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan hedef bölgelerdeki baz dizisi şifresini oluşturan bazlar genetik analizör ile tek tek okunarak incelenen gende söz konusu hastalığa yol açabilecek değişimlerin varlığı araştırılır. Bu yöntem de kanserli vakalardaki genetik değişikliklerin tespitinde kullanılmaktadır(3,4).

Çevresel nedenli fizik ya da kimyasal madde etkileniminde olan bireylerde genetik analiz yöntemleri ile kanser taramalarının yapılması son yıllarda araştırılan tetkikler arasında yer almaya başlamıştır (11,18,20). Günümüzde kadınlarda sık görülen meme kanseri, over kanseri, erkeklerde prostat kanseri, ayrıca mesane ve kolon kanserleri, lenfoma ve lösemi genetik testlerle erken teşhis edilebiliyor. Böbrek ve nazofarenks kanserlerinde de genlerle ilgili çalışmalar sürmektedir. Mide kanserlerinde, hepatoselüler karsinomada önerilen, genetik analiz yöntemleri ile yapılan, basit ama bugün için pahalı tarama yöntemleri vardır. Bu yöntemler ucuzla-

yıp yaygınlaştıkça, yakın bir gelecekte çevresel maruziyetlere bağlı genetik etkilenmeler taranabilecek, korunma ve tedavi daha erken yapılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Basu A, Ghosh P, Das JK, Banerjee A, Ray K, Giri AK. Micronuclei as biomarkers of carcinogen exposure in populations exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India: A comparative study in three cell types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 820-827.
2. European Commission DG ENV. E3 Project ENV.E.3/ETU/2000/0058, "Heavy Metals in Waste" Danimarka, February 2002.
- 3- Gelehrter TD, Collins FS, Ginsburg D, Molecular Genetics: Cytogenetics in Principles of Medical Genetics, Second Edition, Williams&Wilkins, Baltimore, 1998; 158-162.
4. Gelehrter TD, Collins FS, Ginsburg D, Molecular Genetics: Gene Organization, Regulation, and Manipulation in Principles of Medical Genetics, Second Edition, Williams&Wilkins, Baltimore, 1998; 73-89.
5. Glossary of terms for nuclear and chemical agents and defence equipment U.S army center for health promotion and preventive medicine aberdeen proving ground. MD 21010-5304 December 2001.
6. Wastes, U.S. Environmental Protection Agency <http://www.epa.gov/epawaste/index.htm>.
7. Hunt LE, Howard AG. Arsenic speciation and distribution in the carnon estuary following the acute discharge of contaminated water from a dissed mine. *Mar J Bull* 1994; 28 : 33-38.
8. Huysman KD, Frankenberger WT. Arsenic resistant microorganisms isolated from agricultural drainage water and evaporation pond sediments. *Water Air Soil Pollut* 1990; 53: 159-168.
9. John H. Duffus, "Environmental toxicology", New York : Wiley, 1980.
10. Kartal G, Güven A, Kahvecioğlu Ö, Timur S. İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü) Metallerin Çevresel Etkileri –II, 2005.
11. Lewis R, Occupational Exposures, Metals in Current Occupational&Environmental Medicine, Ed:Ladou J, fourth edition, McGrawHill, New York, 2007; 413-438.
12. Lewis R, The Genetics of Cancer in Human Genetics, Concepts and Applications, Fourth Edition, McGraw-Hill, 2001; 305-313.
13. Mazumder DN, Das Gupta J, Chakraborty AK, Chatterjee A, Das D, Chakraborty D. Environmental pollution and chronic arsenicosis in South Calcutta. *Bull WHO* 1992; 7 : 481-485.
14. Mertz W. "Trace Elements in Human And Animal Nutrition-15th Edition" Academic Pres Volume 1 1987.
15. NATO Handbook On The Medical Aspects Of NBC Defensive Operations AMedP 6 (B) Part I Nuclear, February 1996.
16. Smith AH, Smith MM. Arsenic drinking water regulations in developing countries with extensive exposure. *Toxicology* 2004; 198: 39-44.
17. Snustad DP, Simmons MJ, The Genetic Basis Of Cancer in Principles of Genetics, Second Edition, John Wiley&Sons,Inc., New York, 1997; 750-773.
18. Solomon G, LaDou J, Wesseling C. Environmental Exposures&Controls, in Current Occupational&Environmental Medicine, Ed:Ladou J, fourth edition, McGrawHill, New York, 2007; 641-660.
19. Tchounwou PB, Patlolla AK, Centeno JA. Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure : a critical review. *Toxicol Pathol* 2003; 3 : 575-588.
20. Wallace RB. Screening for Early and Asymptomatic Conditions, in Public Health&Preventive Medicine, Ed:Wallace RB, Doebbeling BN, 14 th edition, Appleton&Lange, Stamford, Connecticut 2003; 907-908.
21. Weaver RF, Hedrick PW, Genes and Cancer in Genetics, Third Edition, WCB Publishers, Chicago 2000; 482-503.
22. Yaren H. Karayılanoğlu T.Radyasyon ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2005; 4.