

28322

T.C.  
ULUDAĞ UNIVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AYAKKABI İŞÇİLERİNDE SİTOGENETİK  
İNCELEMELER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERRİN TUNCA

BURSA, OCAK 1993

T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AYAKKABI İŞÇİLERİNDE SİTOGENETİK  
İNCELEMELER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERRİN TUNCA

Sınav Günü : 10. 2. 1993

Juri Üyeleri : Yrd. Doç. Dr. Ünal EGELİ..... (Danışman)

Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU.....

Doç. Dr. Fahrettin GÜCİN.....

BURSA, OCAK 1993

## CYTOGENETIC ANALYSIS ON THE SHOE WORKERS

**Abstract:** In the present study, the method of cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes was used to investigate 58 (57 men and 1 female) shoe workers exposed to benzene, and 20 individuals selected from general population not exposed to particular mutagenic or carcinogenic agents (control group). Frequencies of damaged cells, including gap, break, acentric fragment and rearrangement were scored in both groups. The incidence of chromosomal aberrations (particularly chromatid gaps and breaks) in the exposed group were significantly increased when compared with the control group.

Shoe workers and the individuals of control group were compared according to their smoking and drinking habits both by themselves and each other.

As a result of those comparisons no correlation was found in the incidence of chromosomal aberration in both situations.

In the same way, there wasn't found any significantly relation between the working period in the group exposed to benzene frequency of chromosomal aberration.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. Peroksidazlar ile fenolün aktivasyonu ve insan lökositlerinin uyarılması	9
2.2. Benzen ve metabolitlerinin transkripsiyon ve replikasyon üzerine etkisi	12
2.3. Genetoksite	14
2.3.1. Mutajenite	14
2.3.2. Sitogenik toksitite	14
2.4. Karsinogenite	15
2.5. Kanser türlerinde rastlanılan rearrangement, gen ve fragile bölgeler	16
2.6. Benzenin kan sistemindeki zehirleyici etkisi	20
2.7. Benzenin neden olduğu hastalıklar	21
2.8. Maksimum alınabilir benzen değeri	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. Kromozom kültürlerinin yapılması	24
3.2. Harvest evresi	25
3.3. Preparatların değerlendirilmesi	26
3.4. İstatistik değerlendirme	27
4. BULGULAR	28
4.1. Bulguların istatistik değerlendirmesi	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
ÖZET	47
KAYNAKLAR	48
TEŞEKKÜR	51
ÖZGEÇMİŞ	52

## TABLO LİSTESİ

	sayfa no
<b>Tablo 1.</b> Benzenin bazı kimyasal özellikleri	4
<b>Tablo 2.</b> Benzenden üretilen petrokimyasal maddeler ve kullanım alanları	4
<b>Tablo 3.</b> 1,4'-benzokinonun biyolojik etkilerinden bazıları	12
<b>Tablo 4.</b> Mutajen ve karsinojenler için test sonuçları	18
<b>Tablo 5.</b> Bazı ülkelerde kabul edilen MAC değerleri	22
<b>Tablo 6.</b> Kontrol grubuna ait kromozom bulguları	29
<b>Tablo 7.</b> Ayakkabı işçilerine ait kromozom bulguları	30
<b>Tablo 8.</b> Kontrol grubuna ait verilerin standart sapmaları, ortalamaları ve minimum, maksimum değerleri	32
<b>Tablo 9.</b> Ayakkabı işçilerine ait verilerin ortalamaları, standart sapmaları ve minimum, maksimum değerleri	33
<b>Tablo 10.</b> Kontrol grubuna ve ayakkabı işçilerine ait toplam anomali oranlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları	34
<b>Tablo 11.</b> Ayakkabı işçilerinde ve kontrol grubunda kişisel özellikler ile kromozom bulgularının korelasyon testi ve t testi ile incelenmesinden elde edilen sonuçlar	38
<b>Tablo 12.</b> Ayakkabı imalatçıları ile sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu arasında yapılan varyans analizi sonuçları	40
<b>Tablo 13.</b> Ayakkabı işçileri ile kontrol grubunun toplam anomali değerlerinin varyans analizi ile karşılaştırılması	40
<b>Tablo 14.</b> Ayakkabı işçilerinde kunduracı ve sayacı olma durumuna göre toplam kromozomal anomali oranlarının varyans analizi ile karşılaştırılması	41

## ŞEKİL LİSTESİ

	sayfa no
Şekil 1. Organik bileşiklerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi	2
Şekil 2. Benzen halkasında elektronların sabit olmayışı nedeniyle halkada bulunan bağların yerlerinin değişiminin gösterimi	3
Şekil 3. Tümörün kimyasal olarak meydana gelişindeki temel basamaklar	5
Şekil 4. Benzenden meydana gelen metabolitlerin başlıcaları	7
Şekil 5. Benzenin metabolik yolu	8
Şekil 6. Fenolün peroksidazlara bağlı metabolizması sonucu bifenol ve 4,4'-difenokinonların oluşumu	10
Şekil 7. Benzenin kabul edilen genotoksite meydana getirme mekanizması	11
Şekil 8. Benzenin etkilediği kromozom bant bölgeleri	19
Şekil 9. Ayakkabı işçileri ile kontrol grubu arasındaki kromozom bulgularının ortalamalarından yararlanılarak yapılan grafik	41

## 1. GİRİŞ

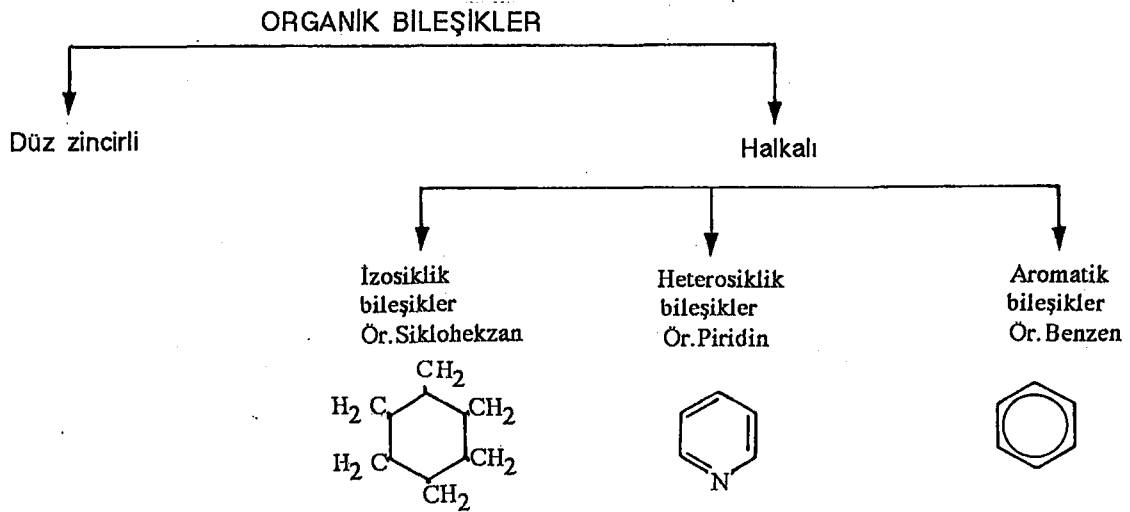
Muhtelif kimyasal maddelerin mutajen ve kanserojen etkilerinin olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Organik çözücü olarak kullanılan benzen de bu maddelerden biridir (Grilli ve ark., 1987). Benzen gerek muhtelif plastik ev eşyalarının, gerekse boya ve yapıştırıcıların yapısında bulunan tüm dünyada çok geniş kullanım alanına sahip bir maddedir (Savaşçı ve ark., 1991). Pek çok insan direkt olmasada indirekt olarak ister istemez benzene maruz kalmaktadır. Bu insan grubu içerisinde ayakkabı işçileri önemli bir yer tutmaktadır.

Bu çalışmada Bursa Ayakkabıcılar Derneğine üye işçilerden alınan periferik kan lenfosit kültürlerinde yapıştırıcı içerisinde bulunan benzenin insan kromozomları üzerine etkisi araştırılmış, sayısal ve yapısal kromozom kusurları değerlendirilmeye çalışılmıştır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Organik çözücüler gerek günlük yaşantımızda evlerde ve gerekse endüstride bir çok işyerinde yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir (Vural, 1985). Organik çözücülere en çok solunum yolu ile maruz kalınmakta ve uçucu bileşikler olduğu içinde çoğunun normal oda sıcaklığında buhar basıncı yüksek olmaktadır. Özellikle iş yerlerinde, çözücülerin havadaki buharına devamlı olarak maruz kalmayla solunum sistemi toksititeye uğrayabilmektedir. Genel olarak yağları çözen, yağda çözünen her madde fizyolojik bakımdan aktiftir ve bu nedenle iyi bir çözücü, belirli koşullarda toksik özelliğe sahiptir. Uçucu çözücüler organizmaya, başlıca solunum yolu ile girdikleri gibi deri ve oral yol ile de önemli derecede absorbe olabilmektedirler. Aromatik hidrokarbonlar genel olarak kan zehirleri grubuna girerler. Benzen en toksik olanıdır, toluen ve ksilen daha az zararlıdır (Vural, 1985).

Organik bileşikler düz zincirli (Asiklik= Halkasız) ve halkalı (siklik) olmak üzere iki temel grupta toplandıktan sonra halkalı bileşiklerde kendi aralarında üç gruba ayrılırlar. Bunlar; yapısında yalnız C ve H olan izosiklik bileşikler, yapısında C,H,O,N,S ve halojenleri bulunduran heterosiklik bileşikler ile aromatik bileşiklerdir. Bu sınıflandırma şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Organik bileşiklerin sınıflandırmasının şematik gösterimi (Oskay, 1975).

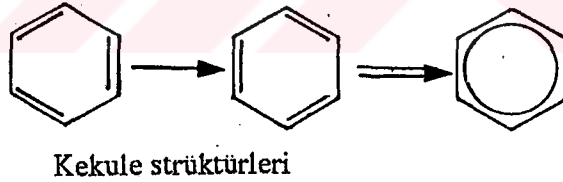


Aromatiklik, molekülde halka şeklinde kaplanmış delokalize  $\pi$  (Hückel kuralına göre tek halkalı bir bileşikte bulunması gereken elektron) elektron sisteminin bulunmasıdır (Oskay, 1975).

Aromatik hidrokarbonlar yalnız C ve H bulduran doymamış karakterdeki güzel kokulu bileşiklerdir. Yapısında bulundurduğu C ve H aynı sayıdadır. 1825 yılında Faraday tarafından gaz yağından benzen elde edildikten sonra bütün aromatik maddelerin yapısında benzen olduğu ortaya çıkarılmıştır (Oyman, 1988).

Benzen,  $C_6H_6$  molekül formülüne sahip en basit aromatik hidrokarbondur. Benzeni ve diğer aromatik hidrokarbonları alifatik hidrokarbonlardan farketkiren özellikler ise aromatik özelliklerdir. Aromatik hidrokarbonlar iyonik karakterdeki substitusyon (yer değıştirme) reaksiyonlarına yatkınlık gösteren bileşiklerdir (İkizler, 1988).

Benzen halkası içinde sayısı 6 olan elektronlar sabit bir karbona bağı değil, yer değıştirmeye elverişlidirler. Bu özellik de molekülün aromatik niteliğini belirler (Şekil 2).



Şekil 2. Benzen halkasında elektronların sabit olmayışı nedeniyle halkada bulunan bağların yerlerinin değışiminin gösterimi (İkizler, 1988).

Çok geniş kullanım alanına sahip olan benzen çeşitli yollarla üretilebilmektedir. Bunlardan başlıcaları; toluenin hidrodealkilasyonu, etilen üretiminde yan ürün olarak eldesi, petrol rafinerilerinde katalitik yolla elde ve kömürün karbonizasyonudur (Savaşçı ve ark., 1991). Benzen oda sıcaklığında renksiz, aromatik yapıda bir sıvıdır. İyi bir organik çözügendir. Organik çözügenlerin çoğunda çözünür. Suda çözünürlüğü çok düşüktür. Benzenin diğer bazı kimyasal özellikleri tablo 1'de özet olarak verilmiştir (Savaşçı ve ark., 1991)

Tablo 1. Benzenin bazı kimyasal özellikleri (Savaşçı ve ark.,1991).

Molekül ağırlığı	78.11
Donma noktası	5.5°C
Kaynama noktası	80.1°C
Yoğunluk	0.879
Viskozite (20°C)	0.654 mPa.s
Alevlenme noktası (kapalı kap)	-11°C
Kendiliğinden tutuşma noktası	595°C

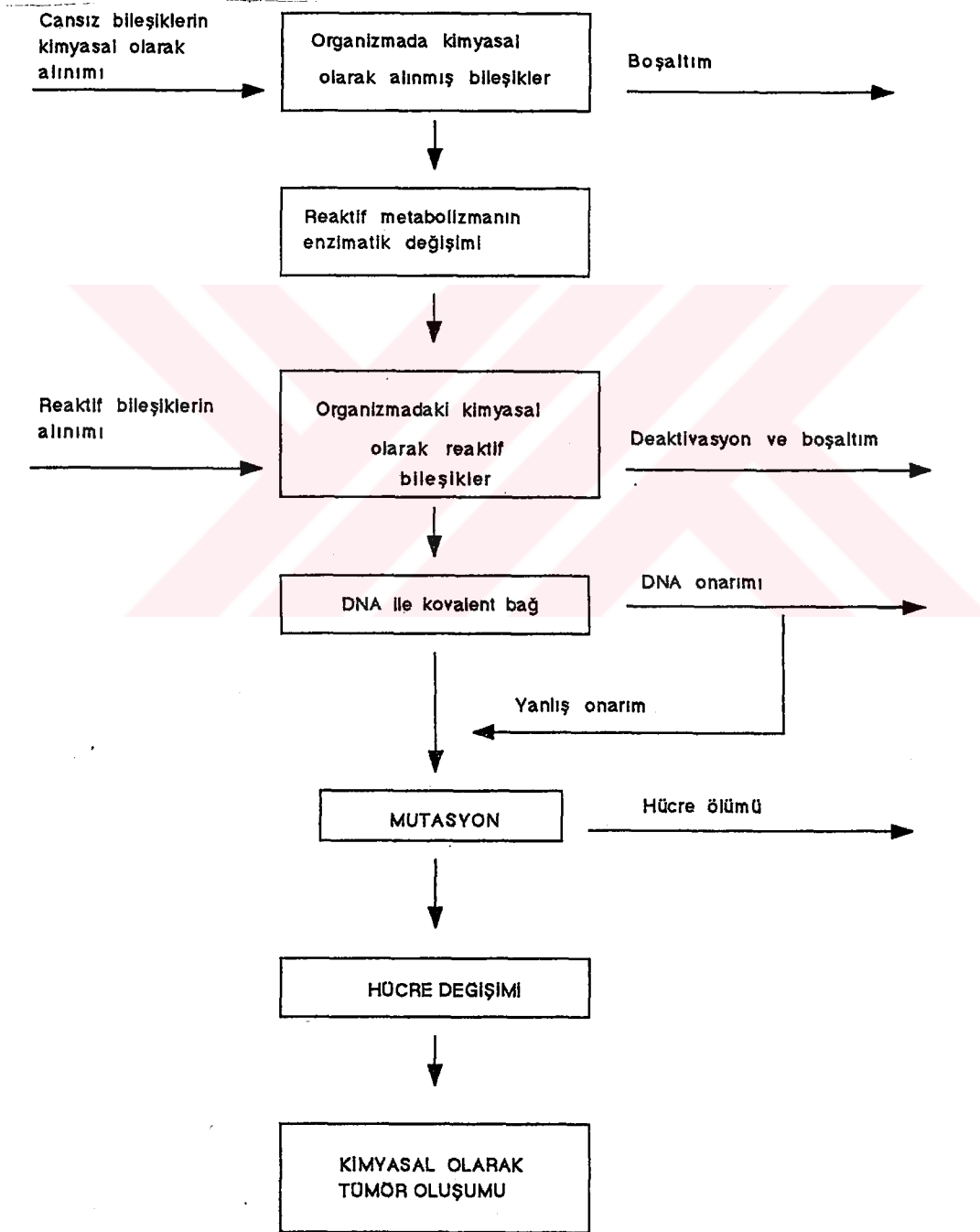
Benzen büyük ölçüde stiren üretimi için etilbenzen, kümen, sikloheksan, dodesil benzen, nitrobenzen ve maleik anhidrit gibi önemli kimyasal maddelerin üretiminde kullanılmasının yanısıra çözügen olarak kullanılmaktadır (Savaşçı ve ark., 1991).

Benzenden üretilen petrokimyasal maddeler çok çeşitli kullanım alanları ile günlük yaşantımıza girmiş durumdadır. Bu kullanım alanlarından bazıları tablo 2'de özet olarak gösterilmiştir.

Tablo 2 . Benzenden üretilen petrokimyasal maddeler ve kullanım alanları (Savaşçı ve ark., 1991).

ÜRÜNLER	KULLANIM ALANLARI
Etıl Benzen	Solvent
Stiren	Reçine, koruyucu kaplamalar
Polistiren	Gıda san., beyaz eşya, ambalaj
ABS	Boru, otomobil parçaları
SAN	Tıbbi cihazlar
Kümen	Çözügen
Fenol	Reçine, tarım alanları
Bisfenol A	Reçine, fungusit, kağıt
Epoksi reçine	Yapıştırıcılar
Polikarbonatlar	Elektronik, Gıda san.
Nitro Benzen	Çözücü, Ayakkabı parlaticıları
Anilin	Boya, Fotoğraf kimyasalları
Metilen-Difenil Diizosiyanat	Reçine, elyaf, kauçuk, naylon
Poliüretanlar	Mobilyacılık, ayakkabı tabanı
Kloro Benzen	Çözücü, DDT
Dodesil Benzen	Deterjan aktif maddeleri
Linear Alkil Benzen	Deterjan aktif maddeleri
Maleik Anhidrid	Reçine, tarım ilaçları, koruyucu
Doymamış Poliester	Kaplama, yapıştırıcı
Alkit Reçineleri	Koruyucu, yapıştırıcı, cila
Sikloheksanon	Solvent, emülsiyon, yapıştırıcı
Karpolaktom	Plastik, sentetik deri
Naylon-6	Dokuma, yer döşemesi
Apidik Asit	Naylon elyaf, gıda san

Organik kimyasal karsinojenlerin yapısal çeşitliliğinin fazlalığı nedeniyle uzun süre karsinojenik aktivasyon mekanizması anlaşılammıştır. Bugün organik karsinojenlere maruz kalma ile tümör oluşumundan sorumlu bölüm için gerçek kanıtlar bulunmuş olup buda şekil 3'de özetlenerek şematik olarak verilmektedir (Lutz, 1979).



Şekil 3. Tümörün kimyasal olarak meydana gelişindeki temel basamaklar (Lutz, 1979).

Çeşitli yollarla organizmaya giren kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkisi ile kimyasal reaksiyonlara girer ve böylece "metabolitlere" dönüşürler (Vural, 1984). Karsinojenik kimyasalların bir çoğu esas karsinojen olarak bilinen, kimyasal olarak reaktif formunun metabolik aktivasyonundan sonra ya da kendi kendine biyolojik makro moleküllerle kovalent bağ yapabilirler. Biyolojik makro moleküllerde oluşan bu bağ, eğer hassas olan DNA ile yapılmış ise direkt olarak kalıtsal hasar oluşturabilir. DNA'da meydana gelen bu hasar, hücre bölünmesine kadar tamir edilememişse bir mutasyon oluşabilir ve bu da hücre transformasyonuna neden olarak tümör oluşumunda gerçek bir rol oynayabilir (Lutz, 1979).

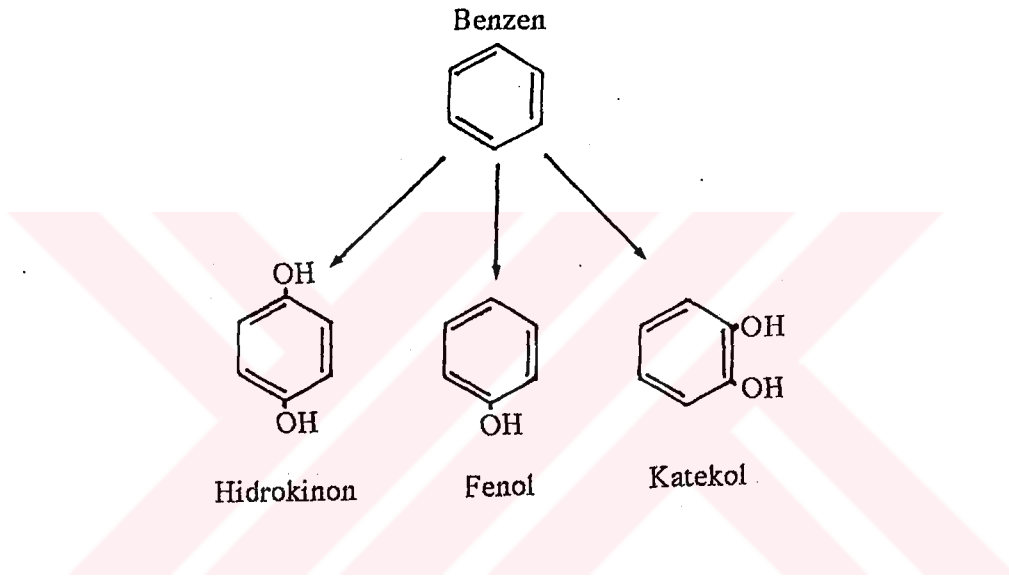
Kanserojen maddeler, etki mekanizmalarına göre genotoksik ve epigenetik kanserojenler olmak üzere ikiye ayrılabilirler. DNA ile etkileşerek kanserojenik etki gösteren kimyasal maddeler genotoksik kanserojenler olarak sınıflandırılır. Birçok kanserojen maddenin kendilerinin veya metabolitlerinin kuvvetli elektrofİL oldukları ve böylece DNA ile birleşerek değişime yaptığı gösterilmiştir. Benzen de bunlardan biridir. Epigenetik kanserojenler, genotoksik özellik göstermeyen kimyasal kanserojenler sınıfını oluşturmaktadır. Bu tip kanserojenler kronik doku hasarı, hormonal dengesizlik, immunolojik etkiler ve hücrelerde genetik nedenle veya genotoksik kanserojen maddelerin etkisi ile başlatılan etkiyi, teşvik edici mekanizma ile kanser oluşturdukları ileri sürülmektedir. Genotoksik kanserojenler aynı zamanda epigenetik mekanizma ile de etki gösterebilirler (Vural, 1984).

Karsinogenler sadece hücrede çok hassas bir molekül olan DNA'yı etkilemekle kalmaz aynı zamanda çeşitli RNA ve proteinleri de etkiler. Bu makro moleküllerden bazıları hücresel büyümenin kontrolünde veya DNA replikasyonunda önemli bir rol oynar ve bu da tümör başlangıç mekanizması için epigenetik olarak önemli bir olaydır. Bununla birlikte, DNA ile oluşan karşılıklı bağların, RNA ve proteinlerle oluşturulan bağlardan daha fazla tümör etkisi gösterdiği saptanmıştır (Lutz, 1979).

Dünyada çok geniş bir kullanım alanına sahip olan benzen meslekleri gereği birçok insanı kontamine edebilmektedir (Grilli ve ark., 1987). İnsanlarda, benzenin düşük konsantrasyonlarına maruz kalmayı takiben ortalama 1/3'ü havada değişmeden etkisini kaybetmektedir. 2/3'ü 24-48 saat içinde ürün metabolizması ile boşaltımla dışarı atılır. Bunların yaklaşık % 87'si fenol ile, % 9'u katekol ile, % 3'ü de hidrokinon ile birleşerek vücuttan atılmaktadır.

Hematopoietik sistem üzerindeki toksik ve karsinojenik etkileri çok iyi bilinen benzen, insanlık için anlamlı bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Daha önceki çalışmalar benzenin tek başına büyük bir toksik ajan olmadığını göstermiştir, fakat kemik iliğine giden metabolitler

hepatik metabolizması ile dönüşüme uğramakta ve toksik etkiler ortaya çıkarmaktadırlar. Bununla birlikte benzen kemik iliğinde kendi başına direkt olarak aktive olamamaktadır. Benzene maruz kalmayı takiben kemik iliğinde konsantrasyonu yükselen benzenin başlıca 3 fenolik metaboliti oluşur. Bunlar ; katekol, hidrokinon ve fenoldür (Şekil 4). Trans, trans-mukonik asite en az onlar kadar önemli olan ikincil metabolitlerdendir (Smith ve ark. , 1989).



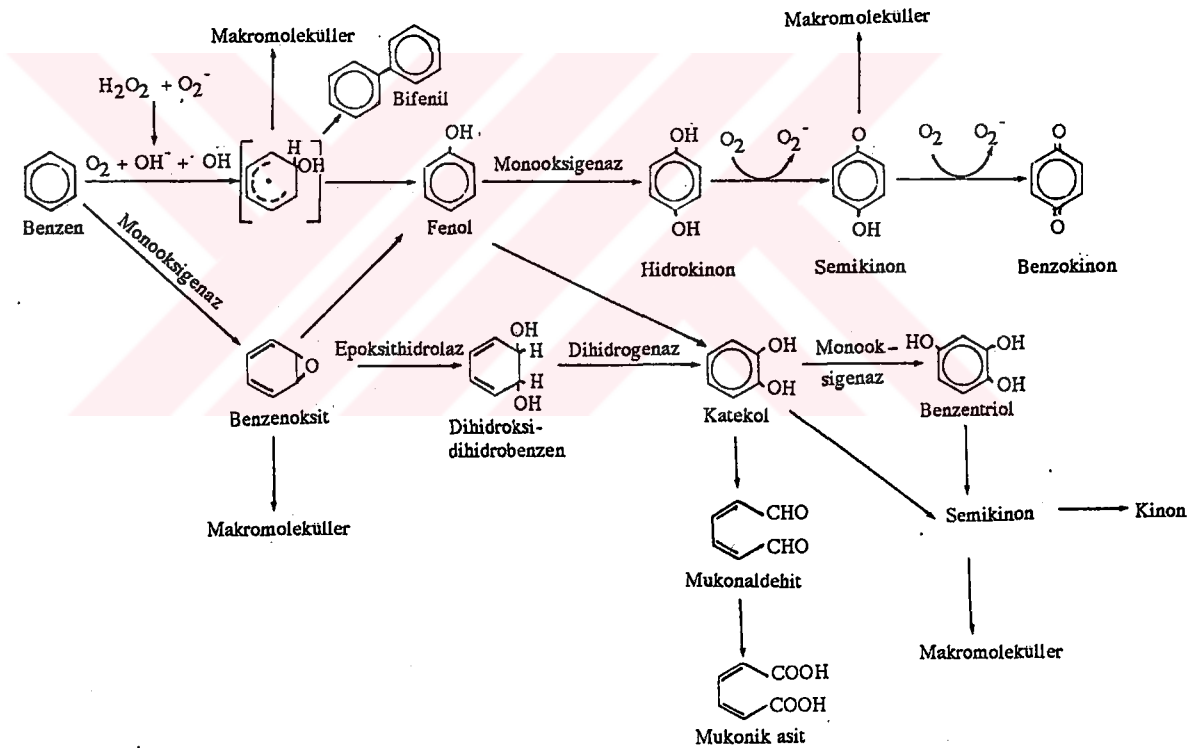
Şekil 4 . Benzenden meydana gelen metabolitlerin başlıcaları (Smith ve ark. , 1989).

Kemik iliğinde oluşan metabolitlerden ilk anda konsantrasyonu en fazla yükselen fenol olup, bundaki konsantrasyon yüksekliği kısa süre sonra yerini hidrokinon ve katekole bırakır. Kemik iliğinde meydana gelen bu fenolik bileşikler bilinen toksik türleri meydana getirebilirler ve bunlardaki seçimli toplanmanın oranı çoğunun ikincil bioaktivasyon mekanizmaları ile olmaktadır (Greenlee ve ark. , 1981).

Kemik iliği, vücudun granülositik lökositlerinin % 90'ının toplandığı karaciğer ile büyüklük olarak kabaca eş bir organdır. Bu lökositler, ekstrasellüler alanlar ve fagosomlardan serbest kalan çeşitli peroksidatif enzimleri bünyelerinde bulundurabilirler. Ayrıca bunların yapıları oksidatif metabolizmanın gerçekleşmesine müsaittir. Peroksidatif enzimlerden biri olan miyeloperoksidaz (MPO), kemik iliğinin granülositik hücrelerinin önemli hücresel bileşimini ve ergin periferel nötrofillerin kuru ağırlığının % 5'ini oluşturmaktadır (Test ve Weiss 1986).

Kemik iliğindeki erginleşmemiş gronüositlerin, dolaşımında bulunan erginlerinden daha fazla MPO içerdikleri belirlenmiştir. Bu bize benzen metabolizmasının büyük kısmının kemik iliğinde gerçekleştiğini göstermektedir. MPO, benzenin 3 esas metaboliti içinde büyük bir potansiyel olup, hematotoksik etkilerdeki rolü kanıtlanmış bulunmaktadır. Ayrıca in vivo şartlarda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) 'in de.oksitatif parçalanmada rolü vardır (Yamazaki, 1958).

Kemik iliğinde toksite oluşturan benzenin bioaktivasyon mekanizması şekil 5'de gösterilmektedir (Kalf, 1987).



Şekil 5. Benzenin metabolik yolu.(Kalf, 1987).

Benzen metabolizmasının büyük kısmı karaciğerde gerçekleşmektedir. Burada benzen, hidrokinonu metabolize eden fenole enzimatik olmayan yolla dönüşmekte ve bu sırada  $H_2O_2$  in parçalanması sonucu oluşan radikaller moleküle bağlanmaktadır. Radikalik bir hal alan

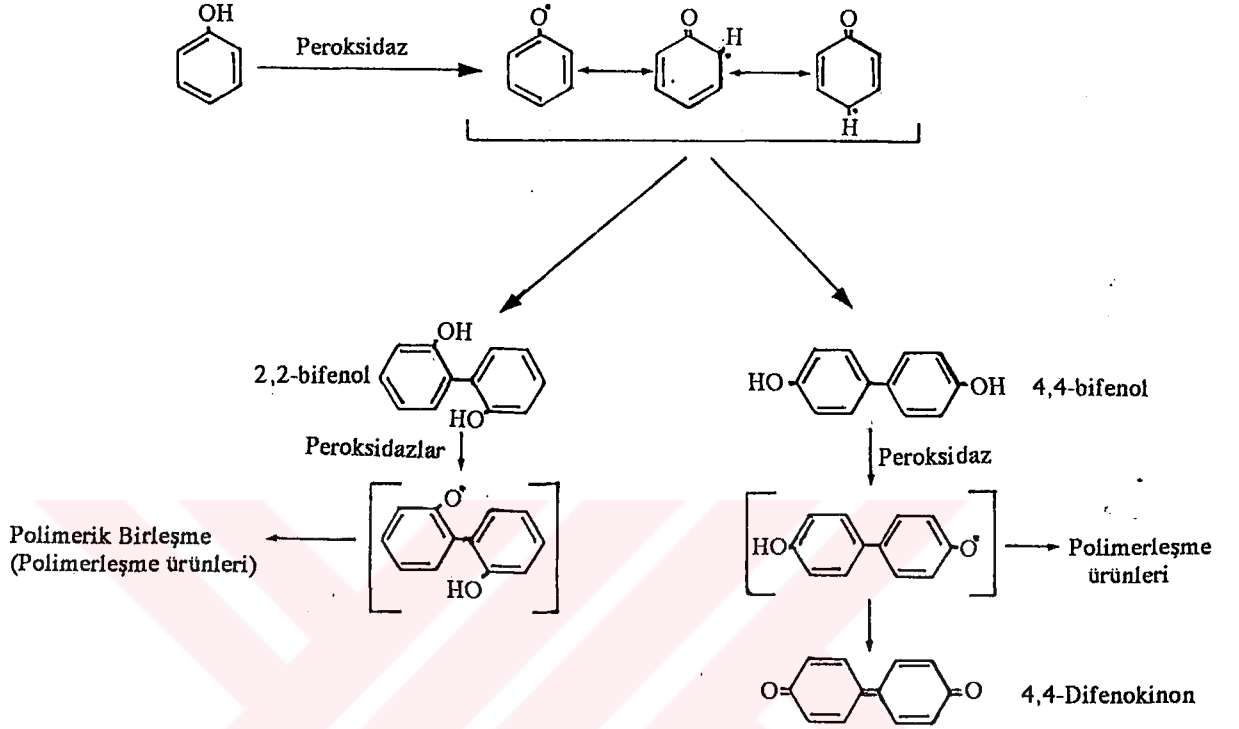
molekül kararsız duruma gelmiş olur. Bu da onun kolayca yeni reaksiyonlara girerek başka moleküller şekline dönüşmesine neden olmaktadır. Radikalik moleküller birleşerek bir makro molekül oluşturabileceği gibi iki molekülden ibaret ve daha kararlı olan bifenilide meydana getirebilirler. Bu aşamalar sırasında enzimatik olmayan yolla oluşan fenolden, direkt hidroksilasyonla serbest radikallere sahip büyük hidroksilli benzen metabolitleri oluşabilir. Benzen oksijenlenme yani yükseltgenme ile benzen oksiti de meydana getirebilir. Oluşan benzen oksit, makromolekülleri oluşturabileceği gibi epoksit hidrolaz denen ve su ile birleşerek ayrıştırma yapabilen enzim ile dihidroksidihidrobenzen meydana gelebilir. Yine buradan dehidrogenaz denen ve hidrojen çekebilme yeteneğindeki enzim ile katekol oluşabilir. Alkol yapısında olan katekol mukonik aside kadar yükseltgenebileceği gibi benzentriol, semikinon, kinon gibi bileşikler ve makromolekülleri oluşturabilir (Şekil 5). Tüm bu reaksiyonların invitro olarak meydana gelmesi imkansız veya çok zor isede vucutta bulunan enzimler sayesinde gerçekleşebilmektedirler. Fenol hem kemik iliği hemde karaciğer için en büyük metabolittir ve kemik iliğinde peroksidaza bağlı yolla hidrokinon ve katekole dönüşerek metabolize olur (Kalf, 1987).

### **2.1. Peroksidazlar ile Fenolün Aktivasyonu ve İnsan Lökositlerinin Uyarılması.**

Proteinlerde yaygın bir şekilde bulunan fenol bağının insanlardaki oluşumu horseradishperoksidaz (HRP) ve MPO etkisiyle olmaktadır. Bunların yanısıra bu oluşumu  $H_2O_2$  'de etkilemektedir. Oluşan fenol bağı fenoksi radikallerinin indirgenmesi, glutathion ve ascorbate gibi antioksidantların aktivasyon yetenekleri ile engellenmektedir (Smith ve ark., 1989).

Peroksidazlar, molekülleri radikalik hale dönüştürebilen enzimlerdir. Bu enzimler sayesinde in vivo şartlarda kararsız durumda olan radikalik bileşiklere dönüşebilirler. Kararsız bileşiklerde, kolayca yeni bir forma dönüşebileceklerdir. Bu şekilde fenol, 2,2'-bifenol veya 4,4'-bifenolü oluşturabilir. 2,2'-bifenol yine peroksidazlardan etkilenecek şekilde radikalik hal alabilir, buradan polimerik birleşme sonucu polimerleşme ürünleri meydana gelebilir. 4,4'-bifenolde aynı şekilde peroksidazlardan etkilenecek şekilde polimerleşme ürünlerini veya 4,4'-difenokinonu oluşturabilmektedir (Şekil 6), (Smith ve ark., 1989).



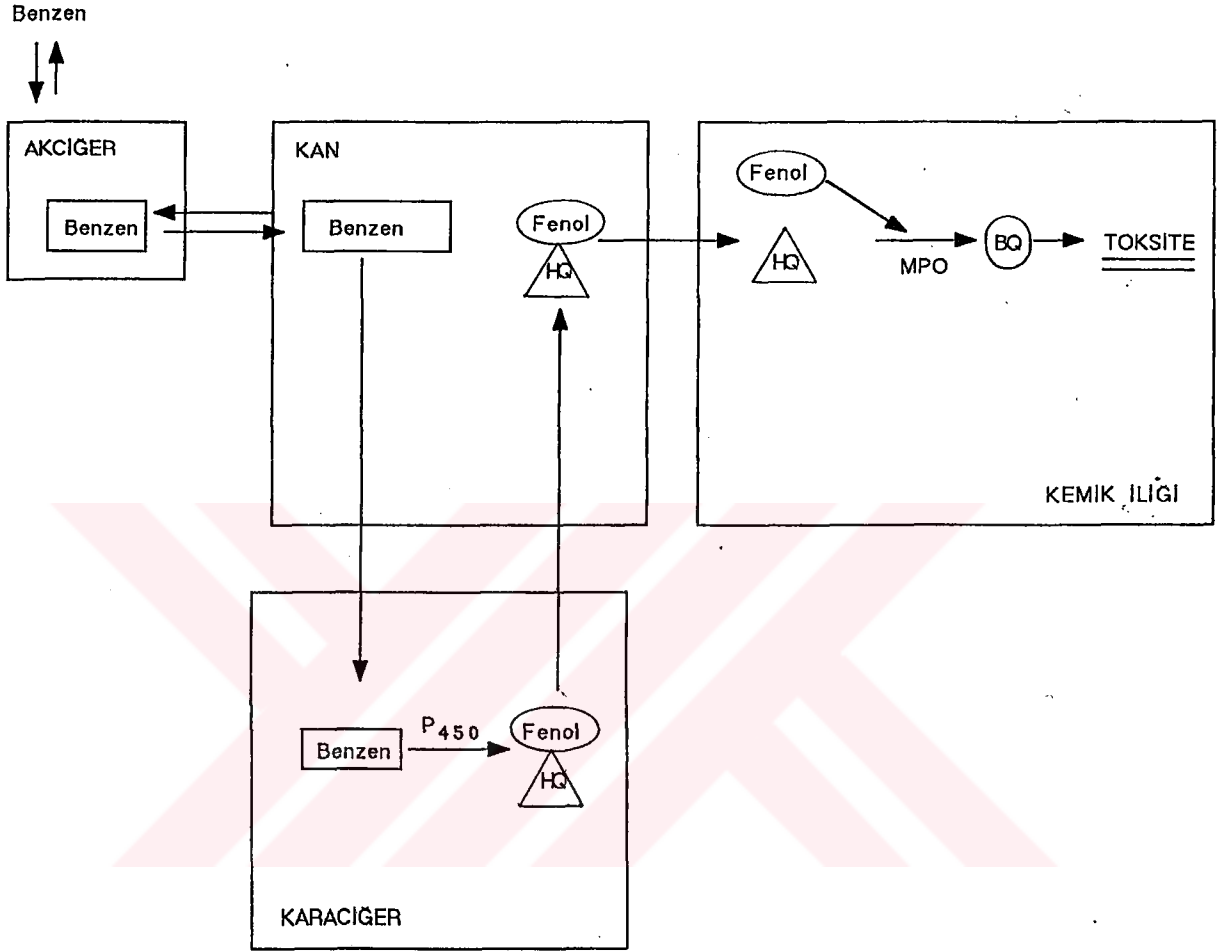


Şekil 6. Fenolün peroksidazlara bağlı metabolizması sonucu bifenoL ve 4,4'-difenoL-kinonların oluşumu (Smith ve ark., 1989).

Hem bifenoller hemde 4,4'-difenoL-kinonlar insan lenfositleri üzerinde çeşitli sitogenetik ve genotoksik etkiler oluştururlar. Ayrıca, *invivo* şartlarda benzenin kemik iliği toksitesinin potansiyelini oluşturmaktadırlar (Smith ve ark., 1989).

Solunum yoluyla alınan benzen akciğerlerden kan yoluyla karaciğere taşınır. Burada fenol ve hidrokinona dönüşür (Hepatik değişim). Benzenden oluşan fenol ve hidrokinon, buradan yine kan yolu ile kemik iliğine taşınır (Metabolitlerin kemik iliğinde seçici toplanması ve hidrokinon oksidasyonunun fenole bağlı uyarıcılarının lokalize olması) ve burada peroksidatif enzimlerden MPO ile oldukça toksik bir madde olan 1,4'-benzokinon oluşur. Benzenin genotoksikite meydana getirme mekanizması şekil 7'de şematik olarak gösterilmektedir (Smith ve ark., 1989).





Şekil 7. Benzenin kabul edilen genotoksite meydana getirme mekanizması; BQ,1,4'-benzokininon ; MPO, miyeloperoksidaz. (Smith ve ark.,1989).

Farelerde fenol ve hidrokinonu takiben kemik iliğinde 1,4'-benzokininonun miyelotoksitite için önemi açıkça gözlenmiştir. 1,4'-benzokininonun bilinen etkilerinden bazıları tablo 3'te liste halinde verilmiştir (Smith ve ark.,1989).

Tablo 3. 1,4'-benzokinonun biyolojik etkilerinden bazıları (Smith ve ark. , 1989).

- 
- DNA ve protein bağları
  - Mikrotübül oluşumuna müdahale
  - DNA ve RNA sentezini engelleme
  - Tek iplikte DNA kırıklarına neden olma
  - İn vitro olarak insan lenfositlerinde Sister Chromatid Exchange (SCE)'lere neden olma
  - Hücre bölünmesi esnasında kromozomal parçalanmalara neden olma
  - Metafaz sırasındaki etkiler ile hücre bölünmesini engelleyici sonuçlar oluşturma
  - Kemik iliğinin blastogenesis'ine ve aglütasyonuna engel olma
- 

Tablo 3'te de belirtildiği gibi 1,4'-benzokinon mikrotübül oluşumuna etkide bulunarak bölünmenin seyrinde değişiklikler oluşturabilmekte, bunun sonucu olarakta poliploidi meydana gelebilmektedir. DNA ve RNA sentezini etkilemesi sonucunda da vucut için gerekli olan proteinler yapılamamakta, buda organizmanın fizyolojisinde değişikliklere neden olmaktadır. Ayrıca kemik iliğinin stromal hücrelerinin büyümesine engel oluşu ile lenfosit üretiminde dolaylı olarakta immün sistemde çalışma bozukluğuna neden olabilmektedir. Bunun yanında lenfositler üzerinde yapmış olduğu direkt etkiler ile onların üremesine ve aglütasyonuna engel olmaktadır. Buda yine immünite zayıflığı oluşturmaktadır (Smith ve ark. , 1989).

1,4'-benzokinonun tablo 3'te sayılan biyolojik etkilerinin yanısıra mutasyonlar, DNA hasarı, kromozomal kırıklar, aneuploidi ve genotoksititeye neden olma gibi etkileri bulunmaktadır ( Smith ve ark. ,1989 ).

## **2.2. Benzen ve Onun Metabolitlerinin Transkripsiyon ve Replikasyon Üzerine Etkisi**

DNA'dan RNA oluşumuna transkripsiyon, RNA'dan protein sentezinin meydana gelmesine de translasyon adı verilmektedir. Benzen ve metabolitleri, hem nüklear hem de mitokondrial replikasyon ve transkripsiyonu durdurucu etki gösterir. 3000 ppm'lik benzen dozuna maruz bırakılan farelerin kan sistemine ait hücrelerde DNA sentezi inhibe edilmiştir. L5178YS farelerinin lenfoma hücreleri benzen metabolitlerine maruz bırakıldıktan sonra inhibe olmuştur, fakat benzen bu hücrelerde bioaktivasyon geçirmemiştir (Pellack-Walker ve ark. ,

1985). P-benzokinon en güçlü inhibitördür, onu sitotoksik olmayan konsantrasyonlardaki hidrokinon, 1,2,4'-benzotriol, katekol ve fenol takip eder. Bu metabolitlerin inhibasyonu her birinin oksidasyonu ile ilişkilidir. Sıralamada fenolün en altta yer alması, onun benzenin en büyük ve birinci metaboliti olmasından kaynaklanmaktadır. Böylece fenol diğer metabolitlere dönüşmekte ve diğerleri hücreler üzerine etki etmektedir. Bir reaksiyonda son oluşan ürünün daha fazla hasar meydana getirebilme gerçeğiyle de bu sıralama uygun bulunmaktadır. DNA sentezini inhibe eden reaktif bileşikler üreten bu metabolitlerin biri ya da fenolün oksidasyonu bu ilişkiye cevap oluşturur (Kalf, 1987).

Sadece p-benzokinon ve 1,2,4'-benzotriol bu hücrelerde tek iplikte DNA (ss DNA) hasarı oluşturma yeteneğindedir. Bunun yanında p-benzokinon 1,2,4'-benzotriole oranla yaklaşık 9 kat daha fazla hasara neden olmaktadır. Benzotriolün sebep olduğu ssDNA hasarı oksidasyonu esnasında oluşan süperoksit anyon radikallerinden kaynaklanmaktadır. Bu arada GSH (glutathione), DNA hasarının tekrarlanmasını önler, DNA'yı korur (Pellack-Walker ve ark., 1986). Bu işlemde içerdiği sülfidril gruplarının rolü vardır. Bu gözlemler göstermiştir ki; p-benzokinon ve 1,2,4'-benzotriol için GSH detoksikasyon mekanizmasında önemli rol oynar ve bu iki bileşiğin hareketi farklı mekanizmalarla GSH üzerindedir (Kalf, 1987).

İn vitro şartlarda 1,2,4'-benzotriol, p-benzokinon ve hidrokinonun doza bağlı olarak tavşan kemik iliği ve fare karaciğer mitokondrilerinde DNA replikasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Fare karaciğer mitokondrial DNA polimerase, enzimlerdeki aktif sülfidril grupları ile bu metabolitlerin ilişkisi sonucu hem hidrokinon, hem de p-benzokinon ile birlikte inhibe edilmektedir (Kalf, 1987).

İn vitro olarak fare lenfositlerinde ve makrofajlardaki transkripsiyon fenol ve hidrokinon ile doza bağlı olarak inhibe edilmektedir (Kalf, 1987).

Benzen ve metabolitleri, nükleus ve mitokondride kırık formundaki DNA hasarına sebep olabilen ve makromoleküllerle kovalent bağlar oluşturabilen reaktif türlerini oluşturabilir. Radyoaktif izotopla işaretlenmiş benzenden üretilen reaktifler fare ve sıçanlarda çeşitli organların makromolekülleriyle kovalent bağlar oluşturmaktadır. DNA ile oluşturulan bağların düzeyi bir çok organda düşük bulunurken kemik iliğinde oldukça yüksek bulunmuştur. Nükleik asit ve proteinlerle kovalent bağ oluşturan reaktif türlerine dönüşebilen benzenin mikrosomal metabolizması PB (Phenobarbital) ile uyarılırken, GSH ile de inhibe edilmektedir. Bu metabolizmanın seçici olduğu bilinmektedir (Artellinoi ve ark., 1985).

## 2.3. Genetoksite

### 2.3.1. Mutajenite:

Benzen mikrobiyal sistemlerdeki mutajenite çalışmalarında kullanılan adi agar plak tekniklerinde genel olarak non mutajenik bulunmuştur; fakat fare karaciğer mikrosomlarında , *Salmonella*'da histidin dönüşümünde anlamlı artış ve daha birçok örnek bunun tersini göstermektedir (Kalf, 1987). Buradaki farklılık enzim sistemlerinden kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar, benzenden dolayı meydana gelen DNA hasarının tamirine bir cevap vermektedir. Benzen, memeli hücre kültürlerindeki bazı gen lokuslarında da mutasyonlara neden olmamıştır (Kalf, 1987 ).

### 2.3.2. Sitogenik toksitite:

SCE'ler DNA çift sarmalindeki değişiklikler ile oluşan kromatidlerde DNA'nın kırılmasına neden olmaktadır. Bu olaylar S fazında meydana gelmektedirler ve SCE'ler DNA heliksini değiştirmekle DNA'daki metabolizma olaylarına ya da tamir olaylarına engelolmakta, kovalent bağları bozmaktadır. SCE formasyonunun moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir fakat, SCE'ler mutasyonel ajanlardan meydana gelmektedirler (Sorsa ve ark. , 1990). SCE'ler analiz edildiği metafazların preparasyon metodunda kromozomal aberasyonlar için analog olan 5-Bromodeoksiüridin (BudR) hücre kültürü medyumuna katılır . Buda boyanın farklı şekillerde alınımını ortaya çıkarmaya imkan vermektedir. Benzen mikronükleus, SCE, aneuploidi ve yapısal kromozomal aberasyonların meydana gelmesine neden olmaktadır (Dean, 1985).

Proktor ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarda benzenin etkisinin kültüre verilen benzen dozuna bağlı olarak doz arttıkça, arttığını göstermişlerdir (cf. Kalf, 1987).

Erekson ve arkadaşları düşük konsantrasyonlardaki benzen ve metabolitlerinin T lenfositlerinde hücre siklusu kinetiğini, mitotik indeksi etkilediğini ve SCE sıklığına neden olduğunu bulmuşlardır (Kalf, 1987). Aynı araştırmacılar bir başka çalışmada da SCE sıklığında benzen ve metabolitlerini şu şekilde bir etki sıralamasına tabi tutmuşlardır; katekol> p-benzokinon> hidrokinon> 1,2,4'-benzentriol> fenol> benzen. Yine bir başka çalışmada fenol HRP/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sistemiyle oluşan fenol metabolitlerinden 4,4'-bifenol, 4,4'-difenokinon ve

2,2'bifenol'ünyüksek konsantrasyonlarda SCE'ye sebep olurken daha düşük konsantrasyonlarda mitotik inhibasyona ve hücre siklusunda gecikmeye neden olduğu bulunmuştur (cf.Kalf, 1987). Benzen halkasının açılması ile oluşan trans,trans-mukonik asit ise sitogenetik etkiye sahip değildir (Kalf, 1987).

Sitogenetik etkiler, laboratuvar hayvanlarında ve benzene maruz kalmayı takiben insanlarda gözlenmiştir. 1982'den önce yayınlanan çalışmalardan birinde, kemiricilerde benzenin etkisinin kemik iliği hücrelerinde kromozomal hasar şeklinde olduğu belirtilmektedir (Kalf,1987). Fenobarbital, dişilerde SCE artışına sebep olurken, her iki cinste birden de kromozomal aberasyonlara neden olmaktadır (Kalf, 1987).

Uluslararası toksikoloji programının karsinogenite çalışmalarında kullanılan farelerde benzenin kronik etkisi sonucu eritrositlerde, doza, süreye bağlı olarak ve de dişilerde daha çok olmak üzere mikronükleuslar oluştuğu saptanmıştır (Kalf, 1987).

Benzenin myeloklastojenik etkileri, cinsiyet, yaş ve benzen metabolizmasının durumuna bağlı olarak değişmektedir (Kalf, 1987).

Sarto ve arkadaşlarının insan kromozomları üzerinde yapmış olduğu çalışmalarda, fabrikada çalışmaları esnasında 0.2 ppm'den 12.4ppm'lik benzen dozlarına maruz kalan işçilerin periferik kan hücrelerinde SCE sıklığı ve yapısal kromozomal aberasyonlar (SCA) değerlendirilmiştir. Bu dozlar idrardaki fenol düzeyi ve alveolar havadaki konsantrasyonlardan yola çıkılarak belirlenmiştir. Etkilenen gruplarda SCE'deki değişmelerde bir anlamlılık gözlenmemiştir; fakat SCA, yaş cinsiyet ve kontrol grubuyla etkilenen grup arasında farklılıklar göstererek yüksek çıkmıştır (Kalf, 1987).

#### **2.4. Karsinogenite:**

Yüksek konsantrasyonlarda benzene maruz kalma, lösemi ve diğer bazı hastalıkların oluşumu ile ilişkilidir. 1977'de akut myelogenous lösemi'nin 54 çeşidinin benzene maruz kalma ile ilişkili olduğu ortaya çıkarılmış ve aplastik aneminin alt türleri belirlenmiştir. Erytro lösemi, akut monositik lösemi, kronik myelogenous lösemi, akut lymphoblastik lösemi, kronik lymphocytic lösemi ve myeloid metaplasia gözlenmiştir. Bir çok türde geniş olarak yapılan çalışmalar göstermiştir ki; benzene maruz kalma ile lösemi arasında bir ilişki vardır. Benzene bağlı lösemnin mekanizması aydınlatıldığında, benzenin düşük seviyelerine maruz kalma sonucu oluşan lösemi araştırılmış ve kesin kanıtlar açığa çıkarılmıştır. Çalışmaların bir

çıkarılmıştır. Çalışmaların bir çoğunda vurgulandığı gibi, işçiler sadece benzene değil, çalışmaları esnasında bunun yanı sıra diğer çözücülerde maruz kalmaktadırlar. Diğer çözücülerin tek başlarına veya benzene etkileşmelerinin lösemi oluşumundaki rolü bilinmemektedir (Kalf, 1987).

Benzenden dolayı oluşan lösemilerin hayvanlarda uygulanabilir modelinden elde edilen bilgiler, benzenin kanserojen olduğu konusundaki bilgileri doğrulamak için yeterli değildir. Goldstein ve C. Snyder'in ilk yayınlarında , 300 ppm'lik benzen dozuna maruz kalan fare ve sıçanlarda solunum çalışmalarına ait bilgiler verilmiş olup burada benzene kronik olarak maruz kalma sonucu oluşan thymic lymphoma ve kronik myelogenous leukemia'nın belirlenmesinde ilk denemeler yapılmıştır. Cronkite ve arkadaşlarının son çalışmalarında da 90 dişi C57BI/6 farelerinden oluşmuş grup, 16 gün boyunca günde, 6 saat süreyle 300 ppm'lik benzene maruz bırakılmışlar ve daha sonrada hayatları boyunca sağlıkları gözlenmiştir. Bu çalışmanın başlangıcından 64 hafta sonra Lösemi/lymphoma oluşumu, benzene maruz kalan hayvanlarda %8 olarak belirlenmiş, hiç etkilenmeyen grupta ise hiç bulunamamıştır. Son etkilenmeden sonra 28 ile 38. haftalar içinde lösemilerin tüm çeşitleri saptanmıştır. Etkilenen gruptaki 90 fareden 10 tanesi 64 hafta içinde ölürken, 88 fareden oluşan kontrol grubunda bu süre içinde 1 ölüm gözlenmiştir. Ölen 10 fareden 6'sında thymic lymphoma, 2'sinde unspecified lymphoma ve 2'sinde de diğer sebeplerden ölüm görülmüştür. Etkilenmenin sonlanmasını takiben hemapoietic sistemde düzelme görülmüştür (Kalf, 1987).

Maltoni ve arkadaşlarının çalışmalarında benzenin fare ve sıçanlarda çok yönlü bir potansiyele sahip olan kanserojen etkisi olduğunu, daha sonra da Uluslararası Toksikoloji Programında yaptığı çalışmalarda da F344/N sıçanlarında ve B6C3F1 farelerinde her iki cinsiyette de kanserojen olduğunu ortaya çıkarmıştır. Sıçanlarda oral açıklıkta ve deride tümörler ile bazı bezlerde karsinoma gözlenmiştir. Farelerin iki cinsiyetinde de, büyük çoğunlukla karaciğer, akciğer, meme bezleri ve daha birkaç bez bölgesinde tümörlerin sayısında artışlar görülmüştür. Ayrıca dişilerde ovaryum tümörleri görülmüştür (Kalf, 1987).

## **2.5. Kanser Türlerinde Rastlanılan Rearrangement, Gen ve Frajil Bölgeler:**

İnsan malignitesinde özel genomik rearrangement'lar geçtiğimiz son birkaç yıl içerisinde hızla gelişerek teşhis ve prognoz (Hastalık öncesi belirti) için önem kazanmıştır



(Yunis, 1986).

Kanserin pek çok çeşidinde çok genel bir şekilde üç genel mekanizma ortaya çıkarılmıştır. En iyi anlaşılabilen mekanizma, lösemi ve non-hodgkin's lymphoma' daki özel klonal, yapısal kromozomal defektler gösteren malign hücrelerdir. Bu defektler, resiprokal translokasyon, inversiyon, delesyon, kırık noktalar ve proto onkogen bölgelerinden birinde meydana gelen kromozomal rearrangement'ların sonucu oluşan düzensizlikler olabilir (Yunis, 1986).

Klinik düzeyde kromozomal analiz teşhiste önemlidir. Yunis (1986), ileri sitogenetik teknikler kullanılarak yaptığı kromozomal analizi çalışmaları esnasında 400 kanser hastası incelenmiş ve analizi yapılan birçok tümörün malign hücrelerinde spesifik kromozomal defektler belirlenmiştir. Bu anomaliler genellikle translokasyon yada kromozom bantlarındaki kayıplar olarak tanımlanmış, daha seyrek olarak da trisomi yada inversiyon belirlenmiştir.

Bantlama teknikleri sayesinde sadece bir kanser türü için özelleşmiş olan klonal kromozomal hasarlar tespit edilebilmektedir. İleri bantlama teknikleri sayesinde karsinoma hücrelerinde 320 ile 1200 arası bant bölgesi belirlenmiştir (Yunis, 1986).

Yapısal rearrangement'lardaki kromozom kırık noktalarının değerlendirilmesinde kromozomların isimlendirilmesi, kromozom numarası, kol (kısa kol p, uzun kol q), regio, band ve subband sayıları verilerek yapılır. Örneğin 14q32.3 bize 14. kromozomun, uzun kolunun, 3. regio, 2.band, 3.subbandını gösterir. Ayrıca resiprok translokasyon "t" ile, inversiyon "inv" ile ve delesyon"del" ile gösterilerek parantez içersinde kromozom sayı ve band numaraları yazılır (Yunis, 1986).

Yakın geçmişe kadar kanserde meydana gelen özel kromozom defektleri ve bazı kişiler ve ailelerinde daha yüksek oranlarda bulunan hasarlar hakkında çok az şey bilinmesine rağmen şimdi bunların nasıl meydana geldiğine dair doğru cevaplar bulunabilmiştir. Onkogenler ve bazı farklılaşmış hücrelerin çok aktif genleri, kanser kromozom kırık noktaları veya karsinojenik ajnların frajil bölgelerinde lokalize olmuştur (Yunis, 1986).

Yunis ve arkadaşları (1986), yapmış oldukları çalışmalarda, insan ve maymun genomunda, homolog kromozomlar üzerinde lokalize olmuş 96 frajil bölge saptamışlardır. Bu esnada kromozom kırık ve gap'ları ortaya çıkarabilmek amacı ile medyuma folik asit yada Fluorodeoxyuridine (Fdu) gibi inhibe edici bir madde olarak thymidilatesynthetase ilave edilmiş bulunmaktadır.

Yunis 1987'de yapmış olduğu çalışmada high resolution kromozom bantlama tekniğini kullanarak 16 farklı mutajen ve karsinojenin insan lenfosit kültürleri üzerine etkisini incelemiştir

ve 110 frajil bölge tespit etmiştir. Burada bütün ajanların farklı moleküler mekanizmalar sonucu kromozom kırıklarına yol açtığı saptanmış olup, bütün mutajen ve karsinojen ajanlar için frajil testi ve karsinojen testi yapılarak bunların sonuçları tablo 4'da gösterilmiştir.

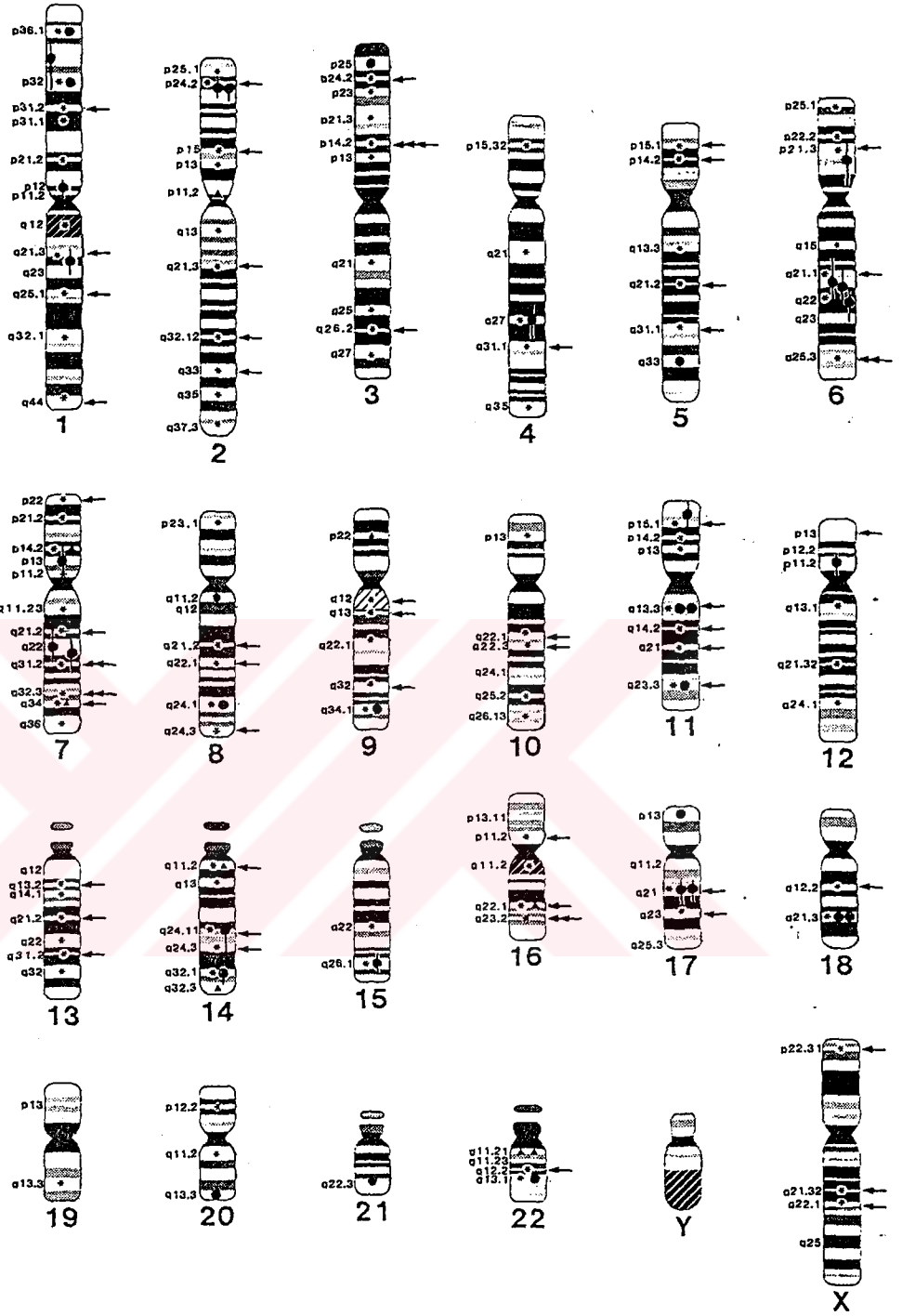
Tablo 4: 16 Mutajen ve karsinojen için test sonuçları (Yunis ve ark. , 1987).

Test edilen ajanlar	Fra test	Ames test	Karsinojen
Actinomycin D (AMD)	+	-	+
Aphidicolin (Apc)	+		
Benzene (Ben)	+	-	+
Blcomicin (Blc)	+	-	
Bromoacetaldehyde (BAc)	+		+
Busulfan (Bus)	+	+	+
Carbon tetrachloride (CTC)	+	-	+
Chlorambucil ((CBC)	+	+	+
Cytosine arabinoside (Ara)	+	-	
Diethylnitrosamine (DEN)	+	+	+
Dimethyl sulfate (DMS)	+	+	+
Distamycin A (DMA)	+		
5-Azacytidine (Aza)	+	+	
Fluorodeoxyuridine (FdU)	+	-	
Radiation (Rad)	+	-	+
Methotrexate (MTX)	+	-	

Tabloda görüldüğü gibi bu 16 mutajen ve karsinojen madde arasında bulunan benzenin 469 µg/ml'lik dozu kullanılarak yapılan testlerin sonucunda frajil testi pozitif (+), Ames testi negatif (-) ve karsinojen testi de pozitif çıkmıştır (Yunis ve ark. , 1987).

Bu çalışmada frajil bölgelerin saptanmasında Fdu (Yunis ve Soreng,1984), Methotrexate (Barbi ve ark. ,1984) ve Aphidicolin gibi maddelerden yararlanılmıştır.16 mutajen ajan kültüre başlandığından itibaren 24 saat sonra ilave edilmişler ve sonuçta bulunan yapısal kromozomal rearrangement'lar ve çeşitli kanserlerden sonra görülebilen yapısal kromozomal defektler kromozom haritası üzerinde gösterilmiştir. Bu ajanlardan benzenin meydana getirdiği kırık noktalar şekil 8'de gösterilmiştir (Yunis ve ark. , 1987).





Şekil 8: Benzenin etkilediği kromozom band bölgeleri. → :5-9 kırık; ⇨ :10-19 kırık; ⇨⇨ :20-22 kırık (Yunis ve ark., 1987).

Burada kromozomlarda meydana gelen kırık noktalar rastgele olmayıp, bazı kromozomlar üzerinde daha yoğun bir şekilde toplanmışlardır. Bu oluşan kırık noktalar 3 kategoride ele alınarak farklı şekiller kullanılarak gösterilmiş olup bu noktalardan en fazla kırığın meydana geldiği bant ise 3. kromozomun kısa kolunun 1. regio, 4. bant, 2.

subbandında toplanmıştır. Bu bant bölgesinde de bir frajil bölge bulunmaktadır (Yunis ve ark., 1987).

## 2.6. Benzenin Kan sistemindeki Zehirleyici Etkisi:

Benzenin zehirlenmesi ile oluşan Aplastik anemi kan sistemi bileşiklerinin çoğunda toksik hasarlar meydana getirir. Periferik lenfosit azalışı, hem insan hemde hayvanlarda benzen toksitesinin ilk kanıtı olup, aplastik aneminin özelliklerini taşımaktadır. Fenol, hidrokinon ve katekol; lenfosit büyümesine baskı yapmakta ve kemik iliği yada lenfoid organlarda onların konsantrasyonu ile in vitro olarak fonksiyonlarını etkilemektedir. Hidrokinon ve onun oksidasyonu ile üretilmiş olan p-benzokinon, kültürde lektin üreten lenfositlerde farklılaşmaya neden olmakta ve üremeyi durdurucu etki göstermektedir. Ayrıca mikrotübül oluşumunu etkilemektedir. Fenol ve katekol sitotoksik konsantrasyonlarda lenfosit aktivasyonunu baskı altında tutmaktadır. Hidrokinon ve katekol in vivo olarak immün sistem hücrelerini etkilemektedir (Kalf, 1987).

Organizmanın, herhangi bir antijen ile karşılaşması halinde, immün sistemin ilk sentezlediği ve dolayısı ile serumda önce beliren antikorlar IgM sınıfında bulunurlar. Bunlar kısa süre sonra azalarak yerlerini, uzun süre koruyucu etkinlik gösteren IgG sınıfı antikorlara bırakırlar (Kılıçturgay, 1991).

Hidrokinon, B hücrelerinde IgM üretilmesini uyaran mitojenleri ve B hücrelerini oluşturan pre-B hücrelerinin sayısını azaltıcı etki göstermektedir. Özetle hidrokinon ve katekol in vivo olarak B lenfositlerinin sayısını azaltmaktadırlar. Hidrokinon in vivo olarak lenfopeniyi arttırmaktadır (Kalf, 1987).

Lenfosit progenitor hücrelerinin erginleşmesi ve üremesini polipeptid lenfokinez enzimi düzenler ki, bu da hem in vivo, hem de in vitro olarak T lenfositleri tarafından üretilir. Benzen lenfositlerde p-benzokinon gibi metabolize olursa lenfokin üretimini inhibe eder (Kalf, 1987).

Post ve arkadaşları hidrokinon ve p-benzokinon ile yaptıkları çalışmalarda, sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda (mikromolar düzeyinde) in vitro olarak fare dalak lenfositlerinde RNA sentezinin doza bağlı inhibasyonuna sebep olduğunu göstermişlerdir. p-Benzokinona maruz kalma ile T hücrelerinin lenfokin üretimi ve T hücrelerinin çoğalması inhibe edilir (Kalf, 1987).

Benzen hem T hücrelerinin tümöre direncini, hemde bakterial enfeksiyon ajanlarına karşı

konanın direncini azaltmaktadır.

## 2.7. Benzenin Neden Olduğu Hastalıklar:

Benzenin etkisiyle, lökositopeni, trombositopeni, anemi, lökositopeni, lymfositosis, granulositlerin fagositik fonksiyonlarında düşüş, glikojen oluşumunda azalma, nötrafil peroksidazında azalma, nötrofillerin  $\beta$ -glukoronidaz aktivitesinde asit fosfatazda yükselme, alkalın fosfatazda azalma, nötrofillerin lipit bileşiklerinin oluşumu, spontan rozet oluşumunda azalma, serumda leukoaglutininlerin azalışı görülebilmektedir (Aksoy, 1989).

Kronik benzen toksitesindeki eosinofillerin, basofil ve monositlerin azalışı tartışma konusudur. Bu problem, modern tekniklerle daha çok araştırılması gereken bir konudur. Kronik benzen toksitesinde diğer bazı nitel anormallikler de bulunmuştur. Craveri' nin tanımlamasına göre benzen toksitesinin hemorajik etkileri sadece trombocytopenia'dan dolayı değil, fibrinolitik aktivitenin azalışından da oluşmaktadır (Aksoy, 1989).

Çeşitli kontrol analizleri göstermiştir ki, çözücülerden etkilenen mesleklerde, diğerlerine göre lösemi oranı çok daha yüksek çıkmıştır. Endüstri işçilerinde çözücülere maruz kalma ile benzenin vücuda alınımı sadece soluma ile değil deriden absorpsiyon ile de olmaktadır. Susten ve arkadaşlarının tüylü fareler üzerinde yapmış olduğu çalışmalar, benzenin yaklaşık %1'inin deriden absorbe edildiğini göstermiştir (Susten ve ark., 1985).

Benzenin hemapoetik, lenfopoetik sistemlerde tümöre sebep olduğu gösterilmiştir (Paci, 1989).

İnsan somatik hücrelerinde sitogenetik işlemlerde genellikle periferik kan lenfositleri kullanılmaktadır. Karsinogenetik işlemlerdeki kromozomal hasarlar sitogenetik temellere dayandırılarak açıklanmaya çalışılmaktadır. Kromozomal hasarlar, proto-onkogenlerin aktivasyonunda çok önemli rol oynamaktadır ve onların kanserdeki birlikleri hastalanmada indirekt olarak etki etmektedir (Sorsa ve ark., 1990). Birçok kimyasal mutajenin S fazına bağlı olarak oluşturdukları kromatid tipi hasarlar birinci bölünmeyi takip eden metafazda yüksek oranda kolaylıkla görülebilecek şekilde ortaya çıkabilirler. Böylece sitogenetik kontrollerde hemen birinci bölünmedeki metafazlar sonuç için kullanılabilir (Sorsa ve ark., 1990).

Benzenin metabolik aktivasyonu memeli hücrelerinde mutajenite gösterirken, *Salmonella*

*typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi bakteri ırklarında ve *Drosophila melanogaster*'de hiç bir mutajenik aktivite göstermemiştir (Jablonicka ve ark. , 1987).

Tice ve arkadaşları, SCE olaylarındaki artışın benzene maruz kalma ile alakalı olduğunu göstermişlerdir. Benzenin etkilerinin kemik iliğinde araştırılması sonucu in vitro şartlarda kromozomal hasarlar ile mikro nükleus testleri pozitif bulunmuştur. Bulunan kromozomal hasarlar kromozom ve kromatid tipi kırıklar , gap'ler ve exchange figürlerdir (Jablonicka ve ark. , 1987).

## 2.8. Maksimum Alınabilir Benzen Değeri:

Benzen endüstride önemli bir kirleticidir. Meslekleri gereğince uzun süreli benzene maruz kalan işçilerin sitogenetik analizleri, onun kanserojen bir mutajen olduğunu göstermiştir. İşçiler üzerindeki çalışmalarda benzenin maksimum alınabilir konsantrasyonunun (MAC) nisbeten yüksek olduğu belirlenmiştir. Tablo 5'de bazı ülkelerde kabul edilen MAC değerleri verilmiştir (Jablonicka ve ark. , 1987).

Tablo 5: Bazı ülkelerde kabul edilen benzenin MAC değerleri (Jablonicka ve ark. 1987).

ÜLKELER	MAC (ppm)
Japonya.....	80
Macaristan.....	5
Polonya.....	30
SSCB.....	5
Danimarka.....	2
Çekoslovakya.....	50
İsviçre.....	6.5
USA.....	3.2

İstatistiksel anlamlı kromozom zararları için en düşük doz seviyelerinin etkilenen hayvanlarda kromozomal zarar için 300 ppm, SCE için 90 ppm ve mikronükleus için 60 ppm olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber hayvanlarda bulunan etki dozunun insanlarda da aynı ölçülerde kabul edilmesi gerçekçi değildir (Jablonicka ve ark. , 1987).



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu araştırma Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü araştırma laboratuvarı ile Uludağ Üniversitesi Biyolojik Araştırma Enstitüsü genetik laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmamızda incelenen vakalar, Bursa Ayakkabıcılar Odası'na bağlı ayakkabı işçileri ile Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi personelinden oluşmaktadır. Fakültemiz personelinden oluşan grup, kontrol grubunu teşkil etmektedir.

Her iki gruptaki vakalar da, seçilirken en az iki üç ay öncesine kadar röntgen filmi çektirmemiş olmalarına, ilaç kullanmamalarına ve virütik bir enfeksiyon geçiriyor olmamalarına dikkat edildi. Çünkü bu tip etmenlerin kromozom kırıklarına yol açtıkları bilinmektedir. Ayrıca her iki gruba da sigara ve alkol alışkanlıkları ile günlük kullanım miktarları hakkında sorular soruldu. Ayakkabıcılardan oluşan gruba meslekleri hakkında da sorular sorularak kaç yıldır bu meslekte çalışmakta oldukları ve sayacı mı yoksa kunduracı mı oldukları da öğrenildi. Çünkü ayakkabı imalatında sayacı ve kunduracılar benzen içeren yapışkanları farklı şekillerde kullanarak, benzenin etkisine farklı şekil ve dozlarda maruz kalmaktadırlar.

Ayakkabı işçileri grubu, yaşları 22 ile 69 arasında değişen 57'si erkek 1'i kadın toplam 58 kişiden oluşmaktadır. Kontrol grubu ise yaşları 23 ile 36 arasında değişen 7'si erkek 13'ü kadın toplam 20 kişiden oluşmaktadır.

Her iki grupta lenfosit kültürleri yapılarak kromozomları incelenip değerlendirildi.

#### 3.1. Lenfosit Kültürlerinin Yapılması:

Araştırmamızda kültür ortamı olarak TC medium 199 kullanıldı. Kültürün hazırlanmasında; 6.5 mg penicilin, 14.3 mg streptomycin, 10 cc TC medium 199, 15-20 cc FBS, steril 0 distile su ile 100 cc'ye tamamlanarak % 10'luk sodyum karbonat ile pH 7'ye ayarlandı. Üzerine 1 cc HA16 phytohemagglutinin M ve 10 damla HA15 phytohemagglutinin P ilave edilerek her kültür şişesine 5'er cc karışımdan kondu.

Her vakanın parmak ucu steril lanset ile delinerek 5'er hematokrit tüpü kan alındı ve 5 cc'lik kültür şişesine ilave edildi. 72 saat süre ile 37 °C'lik etüvde bekletildi.

### **3.2. Harvest Evresi:**

72 saat sonra kùltürlere 0.04 mg/ml cholcicine ilave edildi ve 37 °C'lik etüvde 2 saat bekletildi.

2 saat sonra kùltürler etüvden çıkarılarak 1500 devirde 5 dakika santrüfuj edildi. Süpernatant olarak ve dipte kalan lenfositler üzerine yaklaşık 10 cc 0.075 M potasyum klorür ilave edildi ve kùltürler 37 °C'lik etüvde 7 dakika bekletildi.

Potasyum klorür evresinden sonra kùltürler etüvden çıkarılarak 5 dakika 1500 devirde santrüfuj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra dipte kalan hücreler üzerine pasteur pipeti ile yaklaşık 10 cc 1/3 oranında taze hazırlanmış asetik asit metanol solüsyonu (fiksatif) ilave edilerek 30 dakika oda ısısında bekletildi.

Bu süre sonunda 5 dakika 1500 devirde santrüfuj edildi. Süpernatant olarak dipte kalan hücreler üzerine 1.5 cc fiksatif ilave edildi. Daha önceden hazırlanmış temiz lamalar üzerine üfleme yolu ile hücreler yayılarak preparatlar havada kurutuldu ve giemsa solüsyonu ile boyandı.

#### **Cholcicine Hazırlanması:**

4 mg cholcicine tartılarak 1 cc steril 0 distile su ile sulandırıldı. Bu solüsyondan 0.04 cc alınarak kùltüre ilave edildi.

#### **Potasyum Klorür Hazırlanması:**

1.397 gr potasyum klorür tartıldı, 250 cc'lik balona konularak üzeri distile su ile tamamlandı. Oluşan çözelti 0.075 M'dir.

#### **Giemsa Boyasının Hazırlanması:**

7-8 cc giemsa boyası alınarak üzerine 4 cc pH'sı 6.8 olan buffer solüsyonu ilave edildi ve 0 distile su ile 100 cc'ye tamamlandı. Boya solüsyonu süzöldükten sonra kullanıldı.

Preparatlar bu solüsyon içinde 30 dakika boyanarak bu süre sonunda 0 distile su ile yıkandı ve ışık mikroskopunda immersiyon ile incelendi (Resim 1).





Resim 1: Metafazların ışık mikroskopunda immersiyonda görünüşü.

### 3.3. Preparatların Değerlendirilmesi:

Her vakadan 4 kromozom preparatı hazırlandı ve incelemeye elverişli ortalama 20 metafaz figürü değerlendirildi.

Araştırmamızda incelemeye elverişli bulduğumuz, ayakkabı işçilerinden oluşan grupta toplam 1079 metafaz figüründe kromozom sayı ve yapı (gap, kırık, asentrik fragman, rearrangement vs gibi) kusurları değerlendirildi.

Sağlıklı kişilerden oluşan 2. grup vakalarımızda toplam 435 incelemeye elverişli metafaz figüründe yine kromozom sayı ve yapı kusurları değerlendirildi.



#### 3.4. İstatistik Değerlendirme:

Araştırmamızda gerek ayakkabıcılar, gerekse sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu vakalarının kişisel özellikleri (meslekte çalışma süresi, sigara ve alkol alışkanlıkları) ile kromozom bulguları (gap, kırık, asentrik fragman, rearrangement , sayısal anomaliler ve total anomali yuzdeleri) bakımından karşılaştırılmasında korelasyon analiz testi ve t testi kullanıldı.

İki grubun birbiri ile kromozom bulguları bakımından karşılaştırılmasında ise varyans analizi yöntemi kullanıldı. Anlamlılık derecesi  $P < 0.05$  olarak alındı.

Yine ayakkabı işçilerinde sayacı ve kunduracı olmalarına göre toplam kromozomal anomali oranı bakımından yapılan karşılaştırmada varyans analizi yöntemi kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Araştırmamızın sonuçları iki grup halinde tablo 6 ve 7'da sunulmuş ve bulgular aşağıdaki şekilde özetlenmiştir. Bulgulara ait örnek resimler sayfa 35, 36 'da resim 2, 3, 4 'de gösterilmiştir.

##### **Kontrol grubu:**

Sağlıklı kişilerden meydana gelen kontrol grubunu oluşturan 20 kişiden incelemeye elverişli toplam 435 metafaz figüründe, 1 kırık, 11 gap, 2 poliploidi saptanmış olup, genel kırık oranı % 0.45 ve total kromozomal anomali oranında % 3.21 olarak saptanmıştır.

##### **Dency grubu:**

Ayakkabı işçilerinden oluşan 58 kişilik grupta incelemeye elverişli toplam 1079 metafaz figüründe, 45 kırık, 163 gap, 6 asentrik fragman, 5 rearrangement, 219 toplam yapısal kromozomal anomali, 18 poliploidi ve 237 total kromozomal anomali saptanmış olup, genel kırık oranı % 4.17, gap oranı % 15.1, asentrik fragman oranı % 0.55, rearrangement oranı % 0.46, toplam yapısal kromozomal anomali oranı % 20.29, total sayısal anomali oranı % 1.66 ve total kromozomal anomali oranında % 21.96 olarak saptanmıştır.

Tablo 6: Kontrol grubuna ait kromozom bulguları.

Vaka No.	Adı - Soyadı	Cinsiyet	Yaş	KROMOZOMAL İNCELEMELER																
				Yapısal Kromozomal Anomaliler										T S A	T S A (%)	T A	T A (%)			
				Inc. Metafaz Sayısı	B	B (%)	G	G (%)	A F	A F (%)	R	R (%)	T Y A					T Y A (%)		
1	H.Y.	K	24	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
2	U.E.	E	31	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
3	B.T.	K	23	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
4	E.K.	E	26	30	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
5	S.O.	K	28	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	0	0.00	1	5	0	0.00
6	N.S.	K	31	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
7	G.G.	K	23	25	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
8	A.K.	K	24	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	0	0.00	1	5	0	0.00
9	H.K.	K	28	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
10	S.G.	E	24	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	0	0.00	1	5	0	0.00
11	N.H.	K	27	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
12	I.U.	E	29	25	0	0.00	2	8	0	0.00	0	0.00	2	8	0	0.00	2	8	0	0.00
13	N.A.	K	29	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
14	D.D.	K	23	20	1	5	2	10	0	0.00	0	0.00	3	15	1	5	4	20	0	0.00
15	C.D.	K	36	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	0	0.00	1	5	0	0.00
16	M.G.	K	36	25	0	0.00	1	4	0	0.00	0	0.00	1	4	0	0.00	1	4	0	0.00
17	A.C.	E	32	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	1	5	2	10	0	0.00
18	O.T.	E	31	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
19	G.T.	K	35	20	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
20	S.T.	E	29	20	0	0.00	1	5	0	0.00	0	0.00	1	5	0	0.00	1	5	0	0.00

B, kırık sayısı; B(%), kırık oranı; G,gap sayısı; G(%), gap oranı; AF, asentrik fragman sayısı; AF(%), asentrik fragman oranı; R, rearrangement sayısı; R(%), rearrangement oranı; TYA, toplam yapısal anomali sayısı; TYA(%), toplam yapısal anomali sayısı; TSA, toplam sayısal anomali sayısı; TSA(%), toplam sayısal anomali oranı; TA, toplam anomali sayısı; TA(%), toplam anomali oranı; K, kadın; E, erkek.

İncelenen toplam metafaz sayısı: 435

Toplam kırık sayısı : 1

Toplam gap sayısı : 11

Toplam asentrik fragman sayısı : 0

Toplam rearrangement sayısı : 0

Toplam yapısal anomali sayısı : 12

Toplam sayısal anomali sayısı : 2

Toplam anomali sayısı : 14



Tablo 7: Ayakkabı işçilerine ait kromozom bulguları.

Vaka No.	Adı - Soyadı	KİŞİSEL ÖZELLİKLER						KROMOZOMAL İNCELEMELER														
		Cinsiyet	Yaş	Meslek	Mes Çal. Sor (Yıl)	Alkol Alış.	Sigara Kut (Paket)	Yapısal Kromozomal Anomaliler														
								Inc.	B	B (%)	G	G (%)	A F	A F (%)	R	R (%)	T Y A	T Y A (%)	T S A	T S A (%)	T A	T A (%)
1	H.T.	F	26	S	16	0	1	18	2	11.11	2	11.11	0	0.00	0	0.00	4	22.22	2	11.11	6	33.33
2	M.S.	F	37	K	29	0	2	17	0	0.00	3	17.64	0	0.00	0	0.00	3	17.64	0	0.00	3	17.64
3	R.D.	E	44	K	35	0	0.5	17	0	0.00	5	29.41	0	0.00	0	0.00	5	29.41	1	5.88	6	35.29
4	Y.Y.	E	24	K	12	1	1	17	0	0.00	3	17.64	0	0.00	0	0.00	3	17.64	0	0.00	3	17.64
5	Z.A.	K	43	S	11	0	0	10	0	0.00	2	20	0	0.00	0	0.00	2	20	0	0.00	2	20
6	A.S.	E	41	K	29	0	1	17	2	11.76	2	11.76	0	0.00	1	5.88	5	29.41	0	0.00	5	29.41
7	S.S.	E	41	K	28	0	1	19	0	0.00	4	21.05	0	0.00	0	0.00	4	21.05	0	0.00	4	21.05
8	H.D.	E	29	S	19	0	1	23	2	8.69	3	13.04	1	4.34	0	0.00	6	26.08	0	0.00	6	26.08
9	R.Y.	E	40	S	30	0	0	13	0	0.00	3	23.07	0	0.00	0	0.00	3	23.07	0	0.00	3	23.07
10	K.E.	E	43	K	31	0	0	13	0	0.00	2	15.38	0	0.00	0	0.00	2	15.38	0	0.00	2	15.38
11	M.K.	E	54	K	44	1	0	15	0	0.00	3	20	0	0.00	0	0.00	3	20	0	0.00	3	20
12	S.L.	E	43	K	28	0	1	25	1	4	3	12	0	0.00	0	0.00	4	16	0	0.00	4	16
13	I.C.	E	52	F	30	0	0	20	0	0.00	2	10	0	0.00	0	0.00	2	10	0	0.00	2	10
14	H.G.	E	39	K	20	0	0	17	0	0.00	2	11.76	0	0.00	1	5.88	3	17.64	0	0.00	3	17.64
15	N.E.	E	22	S	11	1	1	37	1	2.70	5	13.51	0	0.00	0	0.00	6	16.21	0	0.00	6	16.21
16	B.E.	E	33	S	20	2	1	13	1	7.69	0	0.00	0	0.00	0	0.00	1	7.69	0	0.00	1	7.69
17	M.S.	E	24	S	10	0	0.5	43	4	9.30	8	18.60	0	0.00	0	0.00	12	27.90	2	4.65	14	32.55
18	S.G.	E	47	K	37	0	1	10	0	0.00	2	20	0	0.00	0	0.00	2	20	0	0.00	2	20
19	M.A.	E	60	K	50	1.5	0	10	2	20	1	10	0	0.00	0	0.00	3	30	0	0.00	3	30
20	M.K.	E	24	K	11	1	1	22	2	9.09	2	9.09	0	0.00	0	0.00	4	18.18	0	0.00	4	18.18
21	S.T.	E	32	K	20	1.5	2	14	2	14.28	0	0.00	0	0.00	0	0.00	2	14.28	1	7.14	3	21.42
22	I.D.	E	24	S	12	0	0	9	0	0.00	1	11.11	0	0.00	0	0.00	1	11.11	2	22.22	3	33.33
23	M.T.	E	44	K	35	1	0	23	1	4.34	2	8.69	0	0.00	0	0.00	3	13.04	0	0.00	3	13.04
24	S.C.	E	34	K	23	1	0	19	2	10.52	2	10.52	0	0.00	0	0.00	4	21.05	1	5.26	5	26.31
25	S.K.	E	42	S	25	0	0.3	17	1	5.88	2	11.76	1	5.88	0	0.00	4	23.52	1	5.88	5	29.41
26	M.P.	E	38	K	11	2	1	17	2	11.76	2	11.76	0	0.00	0	0.00	4	23.52	0	0.00	4	23.52
27	C.O.	E	33	S	24	1	1	21	2	9.52	2	9.52	0	0.00	0	0.00	4	19.04	2	9.52	6	28.57
28	O.E.	E	30	S	17	1.5	1.5	15	1	6.66	2	13.33	0	0.00	0	0.00	3	20	0	0.00	3	20
29	H.S.	E	69	K	50	0	0	30	2	6.66	4	13.33	1	3.33	0	0.00	7	23.33	0	0.00	7	23.33
30	Z.L.	E	31	K	22	1.5	1.5	15	1	6.66	1	6.66	0	0.00	0	0.00	2	13.33	0	0.00	2	13.33
31	M.C.	E	31	K	12	2	2	20	2	10	2	10	0	0.00	0	0.00	4	20	0	0.00	4	20
32	I.G.	E	42	K	31	1	1.3	20	0	0.00	2	10	0	0.00	0	0.00	2	10	0	0.00	2	10
33	M.S.	E	22	S	8	0.5	0	17	1	5.88	2	11.76	0	0.00	0	0.00	3	17.64	0	0.00	3	17.64
34	E.D.	E	22	S	11	0.5	1	26	1	3.84	4	15.38	0	0.00	0	0.00	5	19.23	0	0.00	5	19.23
35	S.A.	E	43	K	30	0	0	8	0	0.00	1	12.50	0	0.00	1	12.50	2	25	0	0.00	2	25
36	O.K.	E	27	K	14	1	0.5	13	0	0.00	1	7.69	0	0.00	0	0.00	1	7.69	1	7.69	2	15.38
37	S.H.	E	42	S	22	1	1.7	12	1	8.33	1	8.33	0	0.00	0	0.00	2	16.66	1	8.33	3	25
38	I.G.	E	46	K	38	0	0.5	11	1	9.09	2	18.18	0	0.00	0	0.00	3	27.27	0	0.00	3	27.27
39	U.M.	E	48	K	38	2	1.7	21	1	4.76	3	14.28	0	0.00	1	4.76	5	23.80	1	4.76	6	28.57
40	M.K.	E	27	K	7	1	0	10	0	0.00	2	20	0	0.00	0	0.00	2	20	0	0.00	2	20
41	F.K.	E	27	K	10	0	1	24	1	4.16	2	8.33	0	0.00	0	0.00	3	12.5	0	0.00	3	12.5

Tablo 7: Devam

Vaka No.	Adı - Soyadı.	KİSİSEL ÖZELLİKLER						KROMOZOMAL İNCELEMELER														
		Cinsiyet	Yaş	Meslek	Mes. Çat. Sur. (Yıl)	AMFol. Alış.	Sigara Kull. (Pakety)	Yapısal Kromozomal Anomaliler														
								Inc. Metafaz Sayısı	B	B (%)	G	G (%)	A F	A F (%)	R	R (%)	T Y A	T Y A (%)	T S A	T S A (%)	T A	T A (%)
42	R.S.	E	28	S	13	0	0	20	2	10	4	20	0	0.00	0	0.00	6	30	0	0.00	6	30
43	H.K.	E	47	S	35	0	0.8	15	0	0.00	2	13.33	1	6.66	0	0.00	3	20	0	0.00	3	20
44	Z.T.	E	46	K	32	0	3	18	1	5.55	1	5.55	0	0.00	0	0.00	2	11.11	0	0.00	2	11.11
45	İ.B.	E	39	K	25	0	1	26	0	0.00	5	19.23	0	0.00	0	0.00	5	19.23	1	3.84	6	23.07
46	E.D.	E	23	S	10	0	1	13	1	7.69	2	15.38	1	7.69	0	0.00	4	30.76	0	0.00	4	30.76
47	M.A.	E	24	K	5	0	1	11	0	0.00	3	27.27	0	0.00	0	0.00	3	27.27	0	0.00	3	27.27
48	Z.S.	E	46	K	30	0	1	21	0	0.00	4	19.04	0	0.00	0	0.00	4	19.04	0	0.00	4	19.04
49	İ.İ.	E	45	K	30	0	1.5	15	0	0.00	5	33.33	0	0.00	0	0.00	5	33.33	0	0.00	5	33.33
50	M.A.	E	41	K	30	0	1	29	0	0.00	7	24.13	1	3.44	0	0.00	8	27.58	1	3.44	9	31.03
51	E.G.	E	24	K	8	0	0	30	0	0.00	5	16.66	0	0.00	0	0.00	5	16.66	0	0.00	5	16.66
52	G.G.	E	25	K	8	0	0	10	0	0.00	3	30	0	0.00	0	0.00	3	30	0	0.00	3	30
53	M.T.	E	61	K	40	0	1	20	0	0.00	5	25	0	0.00	0	0.00	5	25	0	0.00	5	25
54	S.T.	E	39	K	25	0	2	26	1	3.84	5	19.23	0	0.00	0	0.00	6	23.07	0	0.00	6	23.07
55	N.D.	E	24	K	10	0	1	21	0	0.00	5	23.80	0	0.00	0	0.00	5	23.80	0	0.00	5	23.80
56	M.K.	E	45	K	30	0	0.8	30	0	0.00	4	13.33	0	0.00	1	3.33	5	16.66	0	0.00	5	16.66
57	S.C.	E	50	K	35	2	1.5	25	0	0.00	5	20	0	0.00	0	0.00	5	20	1	4	6	24
58	A.İ.	E	40	K	30	0	0	11	1	9.09	1	9.09	0	0.00	0	0.00	2	18.18	0	0.00	2	18.18

Mesleklerde; S, sayacı; K, kunduracı; Ke, kesici; F, frezeci.

İncelenen toplam metafaz sayısı : 1079  
 Toplam kırık sayısı : 45  
 Toplam gap sayısı : 163  
 Toplam asentrik fragman sayısı : 6  
 Toplam rearrangement sayısı : 5  
 Toplam yapısal anomali sayısı : 219  
 Toplam sayısal anomali sayısı : 18  
 Toplam anomali sayısı : 237

Kontrol grubuna ait tablo 6'daki kromozomal bulgulara ait değerlerden yararlanılarak bu verilerin ortalamaları, standart sapmaları ile verilerin minimum ve maksimum değerleri hesaplanmış olup bu sonuçlar tablo 8' de verilmiştir.

Tablo 8: Kontrol grubuna ait verilerin standart sapmaları, ortalamaları ve minimum maksimum değerleri.

Değerlendirilen kriterler	Ortalamalar	Min.	Max.
İncelenen metafaz sayısı	21.75±3.35	20	30
B	0.05±0.223	0	1
B(%)	0.25±1.11	0	5
G	0.55±0.68	0	2
G(%)	2.6±3.2	0	10
AF	0±0	0	0
R	0±0	0	0
TYA	0.6±0.82	0	3
TYA(%)	2.85±3.92	0	15
TSA	1±0.3	0	1
TSA(%)	0.5±1.53	0	5
TA	0.7±1.03	0	4
TA(%)	3.35±5.02	0	20

Ayakkabı işçilerinin kromozomal incelemelerine ait sonuçları gösteren tablo 7'daki verilerden yararlanılarak kromozomal bulgular ile kişisel verilerden bazılarının ortalama değerleri, standart sapmaları ile verilerin minimum ve maksimum değerleri hesaplanmış olup, bu sonuçlar tablo 9'da gösterilmiştir.



Tablo 9: Ayakkabı işçilerine ait verilerin ortalamaları, standart sapmaları ve minimum, maksimum değerleri.

Değerlendirilen kriterler	Ortalamalar	Min.	Max.
Meslekte çalışma süresi	23.4±11.4	5	50
Alkol alışkanlığı	0.49±0.72	0	2
Sigara kullanımı (paket)	0.82±0.68	0	3
İncelenen metafaz sayısı	18.6±7.1	8	43
B	0.77±0.89	0	4
B(%)	4.18±4.83	0	20
G	2.81±1.64	0	8
G(%)	15.04±6.82	0	33.33
AF	0.1±0.31	0	1
AF(%)	0.54±1.69	0	7.69
R	0.08±0.28	0	1
R(%)	0.56±2.05	0	12.5
TYA	3.77±1.88	1	12
TYA(%)	20.33±6.11	7.69	33.33
TSA	0.31±0.59	0	2
TSA(%)	1.79±3.94	0	22.22
TA	4.09±2.1	1	14
TA(%)	22.12±6.72	7.69	35.29

Bazı literatürlerde, total anomali oranı gösterilirken +gap, -gap şeklinde ayrılarak, total anomali miktarı bir gap'ler dahil edilerek, bir de dahil edilmeyerek gösterilmiştir (Yardley-Jones ve ark., 1990). Bizde tablo 10'da kontrol grubuna ve ayakkabı işçilerine ait gap'leri içeren ve içermeyen total anomali miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmalarını gösterdik.

Tablo 10: Kontrol grubuna ve ayakkabı işçilerine ait total anomali oranlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları.

	Kontrol grubu	Ayakkabı işçileri
Toplam anomali		
+gap	3.35±5.02	22.1±6.7
-gap	0.75±2.45	7.08±6.84





Resim 2: Ayakkabı işçilerinden 30 nolu vakaya ait kromozom figüründe kromatid tipi kırk.



Resim 3: Ayakkabı işçilerinden 1 nolu vakaya ait kromozom figüründe kromatid tipi kırk ve gap.



Resim 4: Ayakkabı işçilerinden 6 nolu vakaya ait kromozom figüründe kromatit tipi gap.

#### 4.1. Bulguların İstatistik Değerlendirmesi.

Ayakkabı işçilerine ait verilerimizden ortalama çalışma süresi 23.39 yıl olarak saptanırken, en az çalışma süresi 5, en fazla 50 yıl olarak belirlendi. Alkol kullanımına dair verilerin istatistiki değerlendirmesinde vakalardan edinilen bilgiler rakamsal hale dönüştürülürken, seyrek alkol kullanımı 1, her gün kullanım 2, 2-3 günde bir kullanım 1.5 ve çok seyrek bir şekilde kullananlarda 0.5 olarak kabul edildi. Buna göre alkol kullanımı ortalaması 0.48 olarak, sigara kullanımının ortalaması da 0.81 olarak saptanırken sigara tüketiminde en yüksek miktarın günde 3 paket olduğu bulundu. Kontrol grubunda ise sigara kullanımının ortalaması 0.15 olarak belirlendi.

Her iki grup içinde yapılan korelasyon analizi sonuçları tablo 11'de özetlendiği gibi olup, kırık, gap, asentrik fragman, rearrangement, toplam yapısal anomali, toplam sayısal anomali ve toplam anomali oranları ayakkabı işçilerinden oluşan grupta, meslekte çalışma süresi, alkol alışkanlığı ve sigara kullanımı ile, sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubunda ise sigara kullanımı ile karşılaştırılmasında korelasyon analizi (Duncan) ve t testi kullanıldı. Bu testlerin sonucunda sadece ayakkabı işçilerinde çalışma süresi ile asentrik fragman oranı, alkol alışkanlığı ile kırık oranı, alkol alışkanlığı ile gap oranı ve alkol alışkanlığı ile toplam yapısal anomali arasındaki ilişkinin anlamlı olduğu, diğerlerinde anlamsız olduğu bulundu. Alkol alışkanlığının karşılaştırılması esnasında, gap oranının ve toplam yapısal anomali oranının anlamlı çıkmasının sebebi bulunan t hesap değerinin mutlak değerinin t tablo değerinden büyük olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo 11: Ayakkabı işçilerinde ve kontrol grubunda kişisel özellikler ile kromozom bulgularının korelasyon testi ve t testi ile incelenmesinden elde edilen sonuçlar.

Grup adı	Grupların birey sayısı (n)	t (tablo) (t <sub>t</sub> )	Karşılaştırılan kriterler		Korelasyon katsayısı (r)	t (hesap) (t <sub>h</sub> )	Sonuç	Yorum
			I.	II.				
Ayakkabı işçileri	58	t <sub>57;0.05</sub> = 2	Çalışma süresi	B (%)	0.006	0.044	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				G (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				A F (%)	0.689	7.11	T <sub>h</sub> > T <sub>t</sub>	Anlamlı
				R (%)	0.1394	1.0637	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T Y A (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T S A (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T A (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
			Alkol alışkanlığı	B (%)	0.263	2.04	T <sub>h</sub> > T <sub>t</sub>	Anlamlı
				G (%)	-0.405	-3.33	T <sub>h</sub> > T <sub>t</sub>	Anlamlı
				A F (%)	-0.221	-1.694	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				R (%)	-0.074	-0.55	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T Y A (%)	-0.331	-2.621	T <sub>h</sub> > T <sub>t</sub>	Anlamlı
				T S A (%)	0.0638	0.478	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T A (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
			Sigara kullanımı	B (%)	0.149	1.1298	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				G (%)	-0.168	-1.281	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				A F (%)	-0.056	-0.419	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				R (%)	-0.124	-0.937	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T Y A (%)	-0.127	-0.962	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T S A (%)	-0.024	-0.185	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T A (%)	0.00	0	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
Kontrol	20	t <sub>19;0.05</sub> = 2.09	Sigara kullanımı	B (%)	-0.045	-0.194	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				G (%)	0.128	0.548	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				A F (%)	-	-	-	-
				R (%)	-	-	-	-
				T Y A (%)	0.091	0.39	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T S A (%)	-0.124	-0.53	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız
				T A (%)	0.033	0.142	T <sub>h</sub> < T <sub>t</sub>	Anlamsız

t testi yapılırken kullanılan t hesap değerini bulmak için kullanılan formül aşağıdaki gibidir;

$$t_h = \frac{r\sqrt{n-1}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Ayakkabı işçileri ile sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu arasında kromozomal bulguların karşılaştırılması amacı ile yapılan varyans analizinde tüm karşılaştırmalar için tablo değeri 3.33 ve anlamlılık değeri  $P < 0.05$  olarak kabul edildi (Tablo 12). Buna göre, kırık oranları bakımından karşılaştırmada,  $F_h$  (hesap değeri); 12.94 olarak bulundu. Burada  $F_h > F_t$  olduğundan da sonuç anlamlı kabul edildi. Gap oranları bakımından incelendiğinde  $F_h$ ; 61.51 olarak bulundu ve  $F_h > F_t$  olduğundan anlamlı olarak değerlendirildi. Asentrik fragman oranlarını karşılaştırdığımızda  $F_h$ ; 2.026 olarak bulundu, burada  $F_h < F_t$  olduğundan, aradaki fark anlamsız olarak kabul edildi. Rearrangement oranları karşılaştırıldığında  $F_h$ ; 1.458 olarak bulundu. Burada da  $F_h < F_t$  olduğundan aradaki fark anlamsız olarak değerlendirildi. Toplam yapısal anomali oranı bakımından karşılaştırıldığında  $F_h$ ; 142.72 olarak bulundu. Burada  $F_h > F_t$  olduğundan aradaki fark anlamlı olarak değerlendirildi. Toplam sayısal anomali oranı bakımından karşılaştırıldığında ;  $F_h$ ; 2.016 olarak bulundu.  $F_h < F_t$  olduğundan aradaki fark anlamsız olarak kabul edildi. Toplam anomali oranı bakımından karşılaştırıldığında  $F_h$ ; 130.401 olarak bulundu. Burada da  $F_h > F_t$  olduğundan ayakkabı işçileri ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı kabul edilerek değerlendirildi.

Tablo 12: Ayakkabı imalatçıları ile sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu arasında yapılan varyans analizi sonuçları.

Karşılaştırılan kriterler	Grup ortalamaları		$F_t(\alpha =0.05)$ ;1, 76	$F_h$	P	Sonuç	Yorum
	Ayakkabı işçileri (N=58)	Kontrol (N=20)					
B (%)	4.187	0.250	3.96	12.94	<0.001	$F_h > F_t$	Anlamlı
G (%)	15.044	2.6	3.96	61.51	<0.001	$F_h > F_t$	Anlamlı
A F (%)	0.54	0	3.96	2.026	>0.05	$F_h < F_t$	Anlamsız
R (%)	0.558	0	3.96	1.458	>0.05	$F_h < F_t$	Anlamsız
T Y A (%)	20.331	2.850	3.96	142.72	<0.001	$F_h > F_t$	Anlamlı
T S A (%)	1.788	0.5	3.96	2.016	>0.05	$F_h < F_t$	Anlamsız
T A (%)	22.121	3.350	3.96	130.4	<0.001	$F_h > F_t$	Anlamlı

Total anomalinin +gap, -gap şeklinde ayrılması ile oluşan değerlerin varyans analizi ile karşılaştırılması tablo 13'de görüldüğü gibidir. Yine burada da kontrol grubu ile ayakkabı işçileri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Tablo 13: Ayakkabı işçileri ile kontrol grubunun total anomali değerlerinin varyans analizi ile karşılaştırılması.

	Grup ortalamaları		$F_t(\alpha =0.057)$ ;1,76	$F_h$	P
	Ayakkabı işçileri (n=58)	Kontrol (n=20)			
toplam anomali					
+gap	22.121	3.35	3.96	130.4	P<0.05
-gap	7.075	0.75	3.96	16.255	P<0.05

(P<0.05; gruplar arası fark anlamlı).

Ayrıca ayakkabı işçilerinde sayacı ve kunduracılar arasında toplam kromozomal anomalinin karşılaştırılmasında kullanılan varyans analizi sonuçları tablo 14'da da görüldüğü gibi anlamsız bulunmuştur.

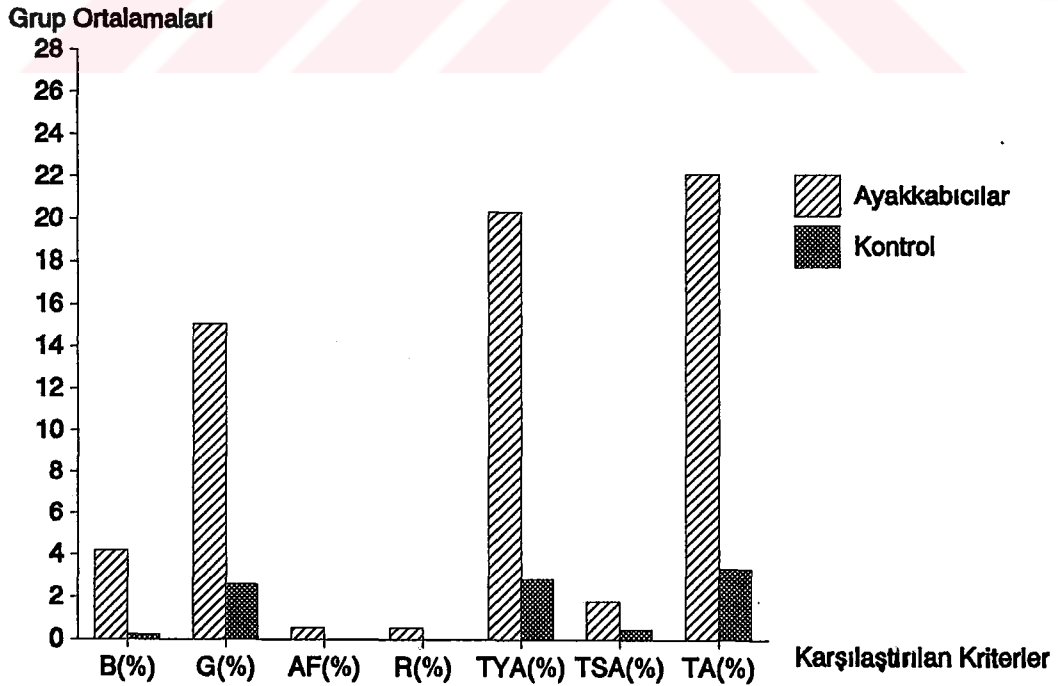


Tablo 14: Ayakkabı işçilerinde kunduracı ve sayacı olma durumuna göre toplam kromozomal anomali oranlarının varyans analizi ile karşılaştırılması.

	Grup ortalamaları		$F_t(=0.05)$	$F_h$	P
	Sayacı (n=17)	Kunduracı (n=39)			
TA(%)	24.875	21.66	3.15	2.625	P>0.05

(P>0.05; gruplar arası fark anlamsız).

Bundan başka, ayakkabı işçileri ile kontrol grubu arasında kromozom bulguları açısından yapılan varyans analizinde her bir kriter için bulunan ortalamalardan yararlanılarak çizilen grafik şekil 9'da görülmektedir. Grafikte de görüldüğü gibi iki grup arasında bariz farklar vardır.



Şekil 9: Ayakkabı işçileri ile kontrol grubu arasındaki kromozom bulgularının ortalamalarından yararlanılarak çizilen grafik.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ:

Benzen, benzinin arıtılmasından üretilen kurşunsuz gazların bileşiminde bulunan çok önemli bir endüstriyel kimyasaldır, böylelikle de her yerde bir çevre kirlenmesine neden olmaktadır (Kalf ve ark., 1987). Dünyada geniş üretimi ve kullanım sahası olan benzenden, birçok yerde meslekler gereğince etkilenilmekte veya çeşitli kontaminasyonlar meydana gelebilmektedir (Grilli ve ark., 1987).

Benzen ve metabolitlerinin, nükleer ve mitokondrial replikasyon ve transkripsiyonu durdurucu etki gösterdiği (Lee, 1985) gibi, nükleus ve mitokondrilerde kırık formundaki DNA hasarına sebep olabilen ve makro moleküllerle kovalent bağlar yapabilen reaktif türlerini oluşturduğu da belirlenmiştir (Kalf ve ark., 1987). Ayrıca benzen mikronükleus, SCE, aneuploidi ve yapısal kromozomal aberasyonların meydana gelmesine neden olmaktadır (Dean, 1985).

Yunis'in (1987) yaptığı çalışmada benzenin fragile testi pozitif (+), ames testi negatif (-) ve karsinojen testi de pozitif (+) çıkmıştır. Bu test sonuçlarındaki farklılık benzenin, enzim sistemlerine bağlı olarak metabolitlerine dönüştüğünü ve bu dönüşümden sonra etkili olduğunu göstermektedir (Kalf ve ark., 1987).

Benzen bir miyelotoksindir; insanların kronik olarak maruz kalması ve deney hayvanlarına verilen yüksek konsantrasyonlar sonucu lympho-thrombo ve pancytopenia yada aplastik anemi gibi kan hastalıklarına neden olmaktadır (Laskim ve ark., 1977; Goldstein, 1983). Ayrıca benzen akut myelogenous leukemia' nın oluşumunda karsinojen bir etki oluşturmaktadır (Kalf, 1987).

Yine Yunis (1987) benzenden dolayı meydana gelen kırık noktaların kromozomlar üzerinde rastgele dağılmayıp, belli fragil bölgelerde yoğunlaştığını belirlemiş olup, bunlar içinde en önemlisinin 3. kromozomun kısa kolunun 1. regio, 4. band, 2. subbandında toplandığını belirtmiştir.

Araştırmamızda ayakkabı işçilerinden oluşan grup, çalışmaları süresince kullandıkları yapışkanlar içerisinde bulunan benzen ve türevlerine maruz kalmaktadırlar.

58 kişilik ayakkabı işçileri grubunda kromozomal bulgulardan, kırık oranı % 4.17 olarak bulunmuştur. Styles ve Richardson'un (1984) benzen buharına maruz kalmış fareler üzerinde doza bağlı olarak, benzenin sitogenetik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 100 ppm'lik benzen buharına maruz kalan farelerde kromatid tipi kırığa

sahip hücre ortalaması % 0.21 olarak bulunmuştur. Jablonicka ve arkadaşlarının (1987) benzene maruz kalan fabrika işçileri üzerinde yapmış oldukları çalışmada kromatid tipindeki kırıkların oranı % 1.69 olarak belirlenmiştir. Rupa ve arkadaşlarının (1989) insan lenfosit kültürlerinde benzen heksakloritin genotoksik etkilerinin incelenmesi için yaptıkları çalışmalarda kırık oranı kültüre başlandıktan sonraki 48. saatte 0.1 ppm'lik doz ilavesinde % 1.75 , 24. saatte 0.1 ppm'lik doz ilavesinde % 2 ve kültüre başlandığı anda ilave edilen 0.1 ppm'lik dozda % 3 olarak bulunmuştur. Jones ve arkadaşlarının (1990) düşük seviyelerdeki benzene maruz kalan işçiler üzerinde yapmış oldukları çalışmada kromatid tipi delesyon % 0.77 oranında gözlenmiştir.

Çalışmamızda ayakkabı işçilerinden oluşan grupta gap oranı % 15.1 olarak bulunmuştur. Styles ve Richardson'un (1984) benzen buharına maruz kalan fareler üzerinde doza bağlı olarak, benzenin sitogenetik etkileri konulu çalışmalarında 100 ppm'lik doz için ortalama gap oranı, % 3.16 olarak bulunmuştur. Jablonicka ve arkadaşlarının (1987) benzenden etkilenen işçiler üzerinde yapmış oldukları sitogenetik analizde; sigara içenlerde daha yüksek oranda olmak üzere ortalama gap oranı % 0.71 olarak bulunmuştur. Rupa ve arkadaşlarının (1989) insan lenfosit kültürlerinden benzen heksakloritin genotoksik etkileri üzerine yapmış oldukları çalışmada kültür başlangıcında ilave edilen 0.1 ppm'lik doz için kromatid tipi gap oranı % 3.33 olarak bulunmuştur. Jones ve arkadaşlarının (1990) düşük seviyelerdeki benzen dozuna maruz kalan işçilerdeki kromozomal aberasyonlarının analizine yönelik çalışmalarında ortalama gap oranı % 0.77 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda ayakkabı işçilerine ait grupta asentrik fragman oranı %0.55 olarak bulunmuş olup bu oran kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olarak değerlendirilmiştir. Clare ve arkadaşlarının (1984) benzenden akut olarak etkilenmiş işçilerin kan lenfositlerinde yapılan kromozom analizi çalışmalarında asentrik fragman oranı % 0.11 olarak bulunmuştur. Styles ve Richardson (1984)'un benzen buharına maruz kalan farelerde yapmış oldukları sitogenetik çalışmalarda 100 ppm'lik benzen dozunda ortalama asentrik fragman oranını % 0.49 olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda ayakkabı işçilerine ait grupta toplam sayısal anomali oranı ki; bu bizim vakalarımızda sadece poliploididen oluşmuş olup % 1.66 olarak bulunmuş ve buda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamsız olduğu gösterilmiştir. Rupa ve arkadaşlarının (1989) insan lenfosit kültürlerinde benzen heksakloritin genotoksik etkileri hakkındaki çalışmalarında poliploidi oranı, 0.1 ppm'lik konsantrasyonun kültür başlangıcında ilavesi

durumunda % 1.33 olarak bulunmuştur. Clare ve arkadaşlarının (1984) benzenden akut olarak etkilenen işçilerde kan lenfositlerinde kromozom analizi çalışmalarında poliploidiye rastlanmamıştır.

Bizim çalışmamızda ayakkabı işçilerinde toplam kromozomal anomali oranı %21,96 olarak saptanmıştır. Jablonicka ve arkadaşlarının (1987) benzene maruz kalan işçilerde; lenfositlerdeki sitogenetik çalışmalarında toplam kromozomal anomali oranı % 2.15 bulunmuştur. Rupa ve arkadaşlarının (1989) insan lenfosit kültürlerinde benzen hekzakloridin genotoksik etkileri üzerine olan çalışmalarında toplam anomali oranı 0.1 ppm'lik dozun kültüre başlangıçtan itibaren verilmesi halinde % 9 olarak bulunmuştur. Jones ve arkadaşlarının (1990) düşük benzen seviyelerine maruz kalan işçilerde kromozomal aberasyonların analizine dayalı çalışmalarında toplam aberasyonlar % 2.6 olarak bulunmuştur.

Gad-El Karim ve arkadaşlarının 1984 ve yine aynı araştırmacıların 1985 yıllarında yapmış oldukları çalışmalarda benzenin myeloklastojenik etkileri cinsiyet, yaş ve benzen metabolizmasının durumuna bağlı olduğu belirlenmiştir. Yine Kalf (1987) yaptığı çalışmada etkilenen gruplarda SCA'nın, yaşa cinsiyete bağlı olarak ve kontrol grubu ile farklılıklar göstererek yüksek çıktığını göstermiştir. Ayrıca tek başına klastojenik olmayan toluenin benzenin etkilerini azalttığı belirlenmiştir (Harper ve ark., 1984). Buna karşılık; Aksoy ve arkadaşları (1976) ile Clare (1984) çalışmalarında benzene maruz kalma süresi, yaş, cinsiyet ve metafaz figürlerindeki zararın oranı arasındaki bağlantının kararlı bir şekilde olmadığını göstermişlerdir.

Nitekim bizim çalışmamızda da benzene maruz kalma süresi ile kromozomal anomali oranının artışı arasında bir anlamlılık belirlenememiştir (Tablo 13). Ayrıca alkol kullanımı ile kromozom anomalileri arasında negatif bir korelasyon belirlenmiştir. Biz bu durumun nedenini kişilerin genetik yapılarının farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Benzenin neden olduğu neoplastik hücre transformasyonunun mekanizması henüz tam olarak araştırılmamıştır. Fakat onkogenlerdeki tirozin-kinaz gruplarının aktivasyonunun hücrelerin neoplastik transformasyonunda anahtar rolü oynayabileceği açıklanmıştır (Cronkite, 1987; Kalf, 1987; Snyder ve ark., 1987). Benzen kromozomal hasarlara sebep olarak onkogenlerin tirozin-kinaz gruplarını etkileyebilir ve bunun sonucu kanserleşme açığa çıkabilir. Fakat gerek bizden önceki çalışmalarda gerekse, bizim çalışmamızda uzun süreli benzene maruz kalan işçilerdeki kanserleşmelerin meydana gelmesi ile kromozom anomali sayısındaki artış arasında direkt bir ilişki belirlenememiştir.

Bizim elde ettiğimiz kromozom anomali sonuçları oldukça yüksek olmasına rağmen yaptığımız sözlü danışmada işçilerde mide, cilt, solunum ve sarılık şikayetleri dışında kanserleşmeyi düşündürecek her hangi bir belirtiye rastlanmamıştır. Bu durum da bize kanser gelişiminin çok adımlı bir süreç olduğunu, bu oluşumda sadece kromozomal hasarların artısının yeterli olmadığını göstermektedir.

Şasiadek ve arkadaşları (1989) yapmış oldukları çalışmada benzen ve onun türevlerine maruz kalmış işçilerin karyotiplerindeki zararın kromozomal lokalizasyonunu analiz etmeyi amaç edinmişlerdir. Bu çalışmada 10-13 yıl arasında benzen ve onun türevlerine maruz kalmış 33 işçinin periferal kan lenfositlerinde araştırma yapılmıştır. Benzenin konsantrasyonunun bu periyot esnasında MAC değerinin altında olduğu belirlenmiştir (0.1 ppm). İşçilerden otuzbirinde benzenin kronik toksikasyonunun hematolojik semptomlarından hiç birine ve klinik belirtilerine rastlanmamıştır. İki vakada pansitopenia gözlenmiştir. Çalışılan gruptaki yapısal kromozom kusurları % 4.7, kontrol grubunda ise sadece % 1.68 oranında hasar görülmüştür. 18 yıl boyunca benzene maruz kalmış 43 yaşındaki bir kadının incelenen metafazlarının % 41'inde büyük olasılıkla fragile bölgesi 3p13 olan klonal zarar meydana gelmiştir.

1. ve 2. kromozomların genellikle çift olarak gap'lerin meydana gelmesine musayit iken 2,4 ve 9. kromozomların ise çift olarak kırığa musait olduğu belirlenmiş, kontrol grubunda ise bulunan kırıkların dağılımı kromozomlar üzerinde rastgele olarak bulunmuştur. Fakat benzenden meydana gelen tümörlerin etiolojisinde bulunan tesadüfi olmayan dağılım henüz tam olarak doğrulanmamıştır (Şasiadek ve ark. , 1989).

Biz çalışmamızda elde ettiğimiz oldukça yüksek sıklıktaki kromozom anomalilerinin nedeninin işçilerin çalışma ortamlarındaki benzen seviyesinin çok yüksek oluşundan kaynaklanmış olabileceğini düşünüyoruz.

Türkiye'de benzenin işyeri ortamındaki MAC değeri 20 ppm olarak kabul edilmesine rağmen Aksoy ve arkadaşları (1976) İstanbul'da bir işyerinde yaptıkları çalışmada MAC değerinin 650 ppm'e kadar çıktığını belirlemişlerdir. Bununla beraber Türkiye'de üretilen yapıştırıcıların çoğunun yapısında % 1'den fazla benzen, % 44'lere hekzan bulunmasından dolayı olduğunu sanmaktayız. Ayrıca sağlıklı çalışma koşullarının (Havalandırmasız dar bir alan, hijyenik kurallara dikkat etmeme vs.) ve bu konudaki denetimsizliğinde büyük bir etken olduğunu düşünüyoruz.

Ülkemizdeki işyeri ortamındaki 20 ppm'lik MAC değerinin 1 ppm'e indirilmesi ve hekzan miktarının ise 50 ppm ile sınırlandırılması konusunda çalışmalar yapılmaktadır.

Dileğimiz bu çalışmaların bir an önce tamamlanmasıdır.

Sonuç olarak çalışmamızda uzun süre benzene maruz kalan ayakkabı işçilerinde yapısal kromozom anomalilerinin arttığı gösterilmiş, işçilerin çalışma koşullarının iyileştirilmesi, MAC değerinin 20 ppm'den 1 ppm'e indirilmesi için acil tedbirlerin alınması gerektiği düşünülmüştür.





## ÖZET

Çalışmamızda biri kadın, diğerleri erkek olan toplam 58 ayakkabı işçisi ve rasgele olarak seçilmiş hiç bir mutajen ve kanserojen ajana maruz kalmamış 20 kişilik kontrol grubu üzerinde periferik kan lenfositleriyle, sitogenetik analiz yöntemi kullanılmıştır. Her iki grupta da, gap, kırık, asentrik fragman, rearrangement ve poliploididen oluşan hücresel hasarın sıklığı araştırılmıştır. Kromozomal hasar (Özellikle kromatid gap ve kırıkları) kontrol grubuna oranla, etkilenen grupta anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur.

Ayakkabı işçileri ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin sigara kullanımları ve alkol alışkanlıkları hem kendi içlerinde hem de diğer grupla karşılaştırılmış, her iki durumda da karşılaştırılan kriterler arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Ayrıca, çalışmaları sırasında benzenden etkilenme süresi ile kromozomal hasarın sıklığı arasında da anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Aksoy,M., Erdem,S., ve ark. " Combination of genetic factors and chronic exposure in the aetiology of leukemia " , Hum. Hered. 26 (1976) 149-153.
2. Aksoy,M. " Hematotoxicity and carcinogenicity of benzene " , Enviromental Health Perspectives. 82 (1989) 193-197.
3. Artellinoi,G. , Grilli,S. , Calaeci,A. , Mazzullo,M. , ve Prodi,G. "In vivo and in vitro binding of benzene to nucleic acids and proteins of various rat and mouse organs " , Cancer Lett. 28 (1985) 159.
4. Clare,M.G. , Yardley-Jones,A. , Maclean,A.C. , ve Dean,B.J. " Chromosome analysis from peripheral blood lymphocytes of workers after an acute exposure to benzene " , British Journal of Industrial Medicine. 41 (1984) 249-253.
5. Croncote,E.P. " Chemical leukemagenesis; benzene as a model " . Semin. Hematol. 24 (1987) 2-11.
6. Dean,B.J. " Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols " , Mutat. Res. 154 (1985) 153.
7. Gad-El Karim, M.M. , Harper,B.L. , ve Legator,M.S. " Modification of the clastogenic effect of benzene in mice with toluene , phenolbarbital, 3-methylcholanthrene, Araclor 1254 and SKF 522 A " , Mutat. Res. 135 (1984) 225.
8. Gad-El Karim, M.M. , Sadogopa-Ramanujam,V.M. , Ahmed,A.A. , ve Legator,M.S. " Benzene myeloclastogenicity: a function of its metabolism " , Am. J. Ind. Med. 7 (1985) 475.
9. Goldstein,B.D. " Clinical hematotoxicity of benzene " , Adv. Mod. Environ. Toxicol. 4 (1983) 51.
10. Greenlee,W.F. , Gross,E.A. , ve Irons,R.D. " Relationship between benzene toxicity and the disposition of <sup>14</sup>C-labeled benzene metabolites in the rat " , Chem. Biol. Interact. 33 (1981) 285-299.
11. Grilli,S. , Lutz,W.K. , ve Parodi,S. " Possible implications from results of animal studies in human risk estimations for benzene; nonlinear dose-response relationship due to saturation of metabolism " , Cancer Research Clinical Oncology. 113 (1987) 349-358.
12. Harper,B.L. , Sadogopa-Ramanujam,V.M. , Gad-El Karim,M.M. , ve Legator,M.S.

- " The influence of simple aromatics on benzene clastogenicity " , Mutat. Res. 128 (1984) 105.
13. İkizler,A. Organik kimyaya giriş. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi. (2. Baskı) Trabzon 1988.
14. Jablonicka,A., Vargova,M., ve Karellova,J. " Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes in workers exposed to benzene " , Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology. 81, No:2 (1987) 113-127.
15. Kalf,G.F. " Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene " , CRC Critical Reviews in Toxicology. 18, 2 (1987) 141-159.
16. Kılıçturgay,K. İmmünolojiye giriş. U.Ü. Tıp Fakültesi. Güneş kitapevi. Bursa 1991. Sayfa no: 43.
17. Laskin,S. ve Goldstein,B.D. " Benzene toxicity: a critical review " , J. Toxicol. Environ. Health Suppl., 2 (1977).
18. Lee,E.W. " Effect of benzene on DNA synthesis in mouse hemopoietic cells following exposure by inhalation " , Toxicologist, 5 (1985) 146.
19. Lutz,W.K. "In vivo covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis " , Mutation Research , 65 (1979) 289-356.
20. Oskay,E. Organik Kimya. Hacettepe Üniversitesi yayınları. (Değiştirilmiş üçüncü baskı) Sevinç matbaası. (1975) sayfa no:351.
21. Paci,E., Buiatti,E., Constantini,A.S., Miligi,L., Pucci,N., Scaipelli,A., Petrioli,G., Simonato,Z., Winkelmann,R., ve Kaldor,J.M. " Aplastic anemia, leukemia and other cancer mortality in cohort of shoe workers exposed to benzene " , Scan J. Work Environ Health. 15 (1989) 313-318.
22. Pellack-Walker,P., Walker,J., Evans,H., ve Blumer,J. " Relationship between the oxidation potential of benzene metabolites and their inhibitory effect on DNA synthesis in L5178YS cells " , Mol. Pharmacol. 28 (1985) 560.
23. Pellack-Walker,P., Frank,D., ve Blumer,J. " The role of glutathione in 1,2,4-benzenetriol and p-benzoquinone-induced DNA damage " , Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 27 (1986) 81.
24. Rupa,D.S., Reddy,P.P., ve Reddi,O.S. " Genotoxic effect of benzene hexachloride in cultured human lymphocytes " , Human Genetics. 83 (1989) 271-273.
25. Savaşçı,Ö.T., Öztürk,H., Uygun,E., ve Başar,Y. Petrokimyasal maddelerin üretim zinciri. Petkim Petrokimya Holding A.Ş. Araştırma Merkezi. Ocak (1991) sayfa: 167-217.

26. Smith, M.T., Yager, J.W., Steinmetz, K.L., ve Eastmond, D.A. " Peroxidase-dependent metabolism of benzene's phenolic metabolites and its potential role in benzene " , Environmental Health Perspectives. 82 (1989) 23-29.
27. Synder, R., ve Jowa, L. " Formation of reactive metabolites from benzene " , Arch. Toxicol. 60 (1987) 61-64.
28. Sorsa, M., Ojajarvi, A., ve Salomaa, S. " Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: preliminary experiences from a prospective cancer study in a cytogenetic cohort " , Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis. 10 (1990) 215-221.
29. Styles, J.A., ve Richardson, . " Cytogenetic effect of benzene: dosimetric studies on rats exposed to benzene vapour " , Mutation Research. 135 (1984) 203-209.
30. Susten, A.S., Dames, B.L., Burg, J.R., ve Neimeler, R.W. " Percutanèous penetration of benzene in hairless mice: An estimate of dermal absorption during tire building operations " , Am. J. Ind. Med. 7 (1985) 323-335.
31. Şasiadek, M., Jagielski, J., ve Smolik, R. " Localization of break points in the karyotype of workers professionally exposed to benzene " , Mutation Research. 224 (1989) 235-240.
32. Test, S.T., ve Weiss, S.J. " The generation and utilization of chlorinated oxidants by human neutrophils " , Adv. Free Rad. Biol. Med. 2 (1986) 91-116.
33. Vural, N. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi yayınları No:56 (1984).
34. Yardley-Jones, A., Anderson, D., Lovel, D.P., ve Jenkinson, P.C. " Analysis of chromosomal aberrations in workers exposed to low level benzene " , British Journal of Industrial Medicine, 47 (1990) 48-51.
35. Yamazaki, I. " The oxidoreductive feature of intermediates formed in the reaction of peroxidase " , In: Proceedings of the International Symposium on Enzyme Chemistry (K. Ichihara, Ed. ), Pan-Pacific Press, Tokyo. (1958) 224-229.
36. Yunis, J.J. " Chromosomal rearrangements, genes and fragile sites in cancer: Clinical and Biologic Implications " , Important Advances in Oncology (1986) 93-128.
37. Yunis, J.J., Soreng, A.L., ve Bowe, A.E. " Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogenes " , Oncogene , 1 (1987) 59-69.

## TEŞEKKÜR

Bu çalıőmamın belirlenmesi ve yürütülmesinde en önemli rolü olan danıőmanım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Unal EGELI'ye; çalıőmam sırasında örneklerin alınmasında ve vaka bulunmasında yardımlarımı esirgemeyen Bursa Ayakkabıcılar Derneği baőkanı Sayın Halit SIVRI ve sekreteri Sayın Sebahat KIZAK'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

## **ÖZGEÇMİŞ**

03.02.1969 tarihinde Bursa'da doğdum. İlkokulu Bursa Merinos İlkokulu'nda okudum. Ortaokul ve liseyi Bursa Atatürk Lisesi'nde bitirdim. 1986 yılında Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne girdim ve 1990 yılında mezun oldum. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Aralık 1990'dan beri aynı enstitüde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

