

DERLEMELER

BİYOMARKÖRLERİN TOKSİKOLOJİDE KULLANIMI

Dr. Cemal AKAY (*)

Gülhane Tıp Dergisi 46 (1) : 73 - 83 (2004)

ÖZET

Biyomarkörler; maruziyeti, erken hücresele yanıtı ve kalıtsal ya da kazanılmış duyarlılıkları yansıtan biyolojik, fizyolojik ve fonksiyonel göstergelerdir. Biyolojik etkinin uyarı sinyalleri olarak düşünölebildikleri gibi, kimyasal maruziyetin ve biyolojik olarak etkin dozun kesin ve tam bir ölçütü olarak da kabul edilebilirler. Ksenobiyotikler ve oluşan etkiler arasındaki ilişkinin tanımlanması için ise, maruziyet ve hastalık sürecinde yer alan mekanizmaların belirlenmesi gerekir. Bu, çok basamaklı süreç kimyasal maruziyetle başlar, internal doz ve biyolojik olarak etkin dozla devam eder, yapı ve fonksiyonlarda değişiklikler oluşturduktan sonra hastalığın ortaya çıkmasıyla sonuçlanır. Herhangi bir biyomarkör-etki ilişkisinin validasyonu, beraberce yürütölen deneysel modelleri ve insanlarda yapılan çalışmaları gerektirmektedir. Biyomarkörler, çok çeşitli bilimsel alanlarda kullanılabilmektedir (toksikoloji, epidemiyoloji, moleküler biyoloji, klinik farmakoloji ve diğer klinik bilimler). Konu üzerine ilginin artması yeni markörlerin keşfedilmesine zemin hazırlamaktadır. Biyomarkörler, çok basit olanlardan (kanda hemoglobinin ölçülmesi), çok kompleks ve pahalı metotlara (DNA katım(adder) ürünlerini belirleme metotlarına) kadar geniş bir aralıkta dağılım gösterirler. Sonuç olarak, biyomarkörler alanında moleküler biyolojik-analitik teknikler ile elde edilen ilerlemeler, kimyasal ajanlara maruziyetin, birey ya da popölasyon duyarlılığının, risk değerlendirmelerinin, doz-yanıt ilişkisinin (hem ilaçlar hem de toksik kimyasallar için) ve tedavi rejimlerinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmalara büyük hız kazandıracaktır.

Anahtar Kelimeler: *Biyomarkörler, Duyarlılık, Biyolojik Etkin Doz, İnternal Doz, Eksternal Doz, DNA Katımı(adder).*

(*) MSB İlaç Fabrikası Komutanlığı SolösyonServisi
Reprint Request: Dr. Cemal AKAY, MSB İlaç Fabrikası
06110 Dışkapı/ANKARA
e-mail: eczcelakay@yahoo.com
Kabul Tarihi: 25.12.2003

SUMMARY

The Use of Biomarkers in Toxicology

Biomarkers are physiological, biochemical and functional indicators that reflect exposure, early cellular response, or inherent or acquired susceptibilities. They can be considered as accurate and precise measures of chemical exposures and biologically effective doses, as well as warning signals of biological effect. To identify relationships of agents and effects, it is needed to determine mechanisms involved in the continuum between exposure and clinical disease. This multi-step process starts with exposure, and progresses through internal dose, biologically effective dose, and altered structure or function, and comes to an end with clinical disease and its prognostic significance. The validation of any biomarker-effect relationship needs concomitant experimental and human studies. Biomarkers are used in several fields of science (toxicology, epidemiology, molecular biology, and clinical pharmacology etc.) and as a growing point of interest new markers are being developed at a rapid pace. They show a large spectrum from the very simple ones (blood hemoglobin measurement) to very complex and expensive determinations (DNA adducts). Consequently, advances in field of biomarkers by using analytical techniques based on molecular biology will accelerate the studies dealing with exposure to chemical agents, susceptibility of individuals or population, risk assessment, dose-response relationship (for both drugs and toxic chemicals) and public health.

Key Words: *Biomarkers, Susceptibility, Biologically Effective Dose, Internal Dose, External Dose, DNA Adduct.*

GİRİŞ

Dokularda ve vücut sıvılarında kimyasal maddeler ve bunların metabolitleri, enzimler ve diğer biyokimyasal maddeler için yapılan analizler, biyolojik sistemlerin bu maddelerle olan etkileşimlerini incelemek amacıyla kullanılmaktadır. Genel olarak biyomarkörler, bir biyolojik sistem ile fiziksel, kimyasal ve biyolojik bir ajanın etkileşmesini yansıtan güvenilir bir ölçüm olarak tanımlanabilirler. Ancak bu derleme yazı, spesifik bir ksenobiyotik veya toksik maddelere maruziyetin ya da bunlardan kaynaklanan etkilerin biyolojik sistemde oluşturduğu değişiklikleri yansıtan parametreler (göstergeler) üzerine hazırlanmıştır.

Biyomarkör terimi, ilk kez 1989 yılında US National Academy of Sciences Report'da kullanılmıştır (1). Biyomarkör kavramı, WHO, AGIT gibi önemli kuruluşlar tarafından kabul edilmekte olup kendi adıyla çıkarılan bir dergisi bulunmaktadır.

Kimyasal maddelere maruziyet, çeşitli temas yolları ve farklı düzeylerde olabilir. Toksik maddelere maruziyetle ilgili riskin değerlendirilmesinde karşılaşılan iki sorun, maruziyet düzeyinin belirlenmesi ve oluşan biyolojik etkilerin izlenmesidir. Potansiyel olarak toksik kimyasal maddelere maruz kalmanın yaratabileceği sağlık risklerinin ve biyolojik olarak etkili dozların bir ölçütü olarak kullanılabilirliği gibi, olası biyolojik etkiler için erken bir gösterge olarak da düşünülmektedirler. Ayrıca bireyler arasında duyarlılığın (yatkınlık) tanımlanmasında da pek çok biyomarkörden yararlanılmaktadır.

Biyomarkörlerin kullanılmasındaki temel hedefler özetlenecek olursa bunlar arasında; klinikte hastalığın tanısı, tedavi etkinliğini belirleme, toksisite mekanizmalarına açıklık getirme, koruyucu hekimlik, erken basamakta zararlı etkiyi belirleme, maruziyeti önleme ve izleme dolayısıyla olası ciddi riskleri önceden saptayarak engelleme sayılabilir (2). Kimyasal bileşiğin kendisi (ana bileşik), metaboliti veya metabolitleri, ara ürünler, proteinler ve enzimler bu amaçla biyomarkör olarak kullanılmaktadır. Ölçümler pek çok doku, organ ve vücut sıvısında gerçekleştirilebilir. Bunlar arasında kan, idrar, saç örneği, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin v.s. olabilir.

Bir araştırma alanı olarak biyomarkörler, toksikoloji için giderek daha ilgi çekici hale gelmeye başlamıştır. Konuyla ilgili yeni gelişmeler arasında nükleer manyetik rezonans (NMR) spektrometrisinin ve hızlandırıcı kütle spektrometrisinin kullanıldığı teknikler bulunmaktadır (3). Bu derlemede biyomarkörlerin sınıflandırılması ve toksikolojik açıdan kullanımlarıyla ilgili genel bilgiler verilecektir.

Biyomarkörlerin Sınıflandırılması:

Hüresel düzeyde biyolojik sistemlerdeki çeşitli değişiklikler olarak da tanımlanabilen biyomarkörler esas olarak üç önemli gruba ayrılırlar:

(I) Maruziyetin biyomarkörleri

(II) Etkinin biyomarkörleri

(III) Duyarlılığın (yatkınlığın) biyomarkörleri

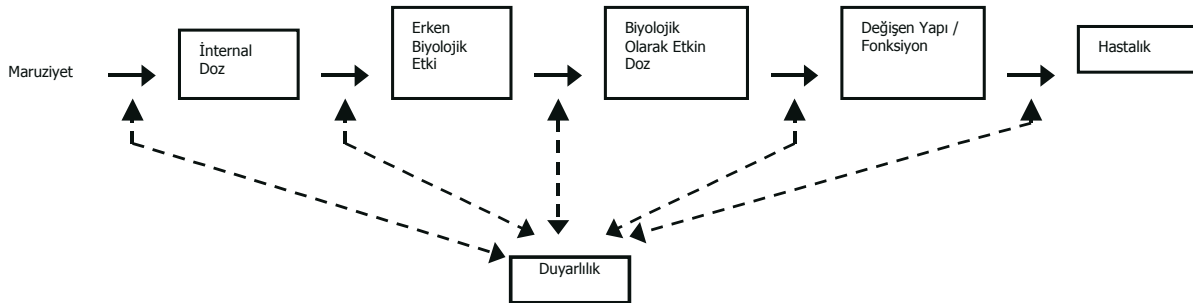
Bu sınıflandırmaya göre, biyomarkörlerde istenilen ortak özellikler şunlardır: Spesifiklik, kolay uygulanabilirlik, ucuzluk, etik kurallara uygunluk, hassaslık (nanogram ve pikogram düzeyinde ölçüm yapılabilirliği) ve tekrarlanabilirlik. Bazı biyomarkörler in vivo sistemlerde kullanılabilirliği gibi in vitro sistemlerde de kullanılabilirliği. Tüm organizmalara uygulanabilen biyomarkörler olduğu gibi sadece memelilere (veya farklı türlere) spesifik olan biyomarkörler de bulunmaktadır. İdeal bir biyomarkör, kimyasal ajanın tetiklediği hastalıkların evreleriyle ilgili olarak bile değerli bilgiler sağlayabilmektedir (4).

I- Maruziyetin Biyomarkörleri

Üzerinde en fazla çalışma yapılan ve hakkında en fazla bilimsel yayın bulunan biyomarkör grubudur. Bu alandaki çalışmalar, özellikle mutajenik ve karsinogenik kimyasallar üzerinde yoğunlaşmıştır (5). Genel olarak, maruziyetin biyomarkörleri kimyasal maddenin, metabolitlerinin ya da biyolojik molekülle etkileşim sonucu oluşan reaksiyon ürünlerinin vücut sıvılarında veya dokularında ölçülmesi esasına dayanır. Maruziyetin biyomarkörleri, İnternal doz biyomarkörleri ve etkin doz biyomarkörleri olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar:

a- İnternal Doz Biyomarkörleri

Bu sınıftaki biyomarkörler, bir bileşiğe maruz kalındığında bileşiğin ya da metabolitlerinin vücut sıvılarında ölçülmesi esasına dayanır. Aşağıdaki şekil, kimyasal maruziyet ve organizma arasındaki etkileşimi göstermektedir. Her ne kadar maruziyet biyozizleme çalışmalarıyla saptanabilse de absorpsiyon, dağılım ve atılmada bireysel farklılıklardan kaynaklanan sorunlar oluşmaktadır. Vücut sıvılarında ya da dokulardaki metabolitlerin ölçülmesi, bu nedenle tercih edilmektedir.



Biyomarkör tiplerinin şema ile gösterilmesi: Kalın oklar bir sonraki biyomarkörlere doğru ilerlemeyi, kesikli oklar ise bu ilerleme sürecine duyarlılığın etkisini göstermektedir (6).

Çok düşük düzeydeki metabolitleri bile ölçebilecek çok gelişmiş teknikler günümüzde kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda en büyük önem maruziyetin, potansiyel göstergesi olarak glutatyon (GSH) konjugasyonu sonucu oluşan metabolitlere, bunların ileri biyotransformasyon ürünlerine verilmektedir. Bunun nedeni, GSH'un biyolojik sistemlerdeki reaktif kimyasalları (halojen içeren bileşikler veya elektrofilik agresif kimyasal atakları önler) detoksifiye etmesidir.

GSH konjugasyonunun son ürünü olan merkaptürük asit gibi spesifik metabolitlerin ölçümü internal doz için daha iyi bir biyomarkördür, fakat bu durumda bileşiğin yapısıyla ilgili bilgiler ve gelişmiş analitik tekniklerin kullanılması gerekmektedir. Merkaptürük asitler sadece birkaç biyo-izleme çalışmasında ölçülmüştür (7). GSH konjugasyonunda ve merkaptürük asitlerin atılmasında bireyler arasında farklılıklar bulunmaktadır.

Günümüzde, vücut sıvılarına doğrudan uygulanan, önemli bir teknik de nükleer manyetik rezonans (NMR) spektrometrisidir (8,9). Bu teknikte ana bileşik ve metabolitlerine karşı maruziyetin tanımlanması ve ölçülmesinde spesifik yapısal bilgiler gerekmektedir. Proton NMR'ı en sık kullanılan teknik olmakla birlikte, diğer nükleer parçacıklar da ksenobiyotiklerin flor gibi atomlar içerdiği durumlarda etkin bir biçimde kullanılabilir. Kütle spektrometrisinden daha az hassas olsa da, NMR, maruziyetin hayvan çalışmaları, yüksek dozlar ve endüstriyel kazalarda olduğu gibi yüksek olduğu durumlarda yararlı olabilir. İyon değişimi yoluyla, katı faz ekstraksiyonunun, ters faz kolonlarının ve liyofilizasyonun kullanıldığı basit ayırma teknikleri duyarlılığı arttırmaktadır. Ksenobiyotiklerin yeni metabolitlerinin tanımlanması ve saptanmasında bu teknikler ciddi öneme sahiptir. Örneğin, çalışma yapılan deney hayvanlarının idrarında N- metilformamidin çeşitli yeni metabolitleri saptanmıştır. Buna ilaveten NMR, etkin biyomarkörlerinin saptanması ve ölçülmesinde de kullanılmaktadır.

b- Etkin Doz Biyomarkörleri

Etkin doz biyomarkörleri, kimyasal bileşiğin kendisinin ya da metabolitlerinin belirli bir hedef yapıyla etkileştiklerinde oluşan değişimleri ifade etmektedir. Bu alandaki çalışmalar daha çok genotoksik kimyasallar üzerinedir. Elektrofilik kimyasalların mutajenik ve karsinojenik etkileri, DNA ile kovalent etkileşim yapmaları sonucu oluşmaktadır. Bileşiklerin metabolizma yolları ve metabolizma hızları arasında bireyler arasında olası farklılıklar nedeniyle hedef bölgedeki etkin doz, internal doz için tercih edilen bir ölçüttür. Burada, vücut doku ve sıvılarında katımlar ve spesifik metabolik ürünler ölçülmektedir (10). Reaktif kimyasallar ve bunların reaktif metabolitleri oldukça

ilgi çeken bir alandır. Bu bileşikler, genotoksisite ve bununla bağlantılı olarak karsinojeniteye neden olabilmektedirler. Örneğin, kandaki protein ve DNA katımları, endüstride yaygın olarak kullanılan etilen oksit gibi reaktif alkilleyici ajanlara karşı DNA'daki etkilerin göstergeleri olarak kullanılabilir. (N-7-(2-hidroksi-etil) guanin gibi DNA katımları saptanmıştır. Maruziyete uğramış hastane çalışanlarında hemoglobinde N-(2-hidroksietil) valin gibi katımlar da bulunmaktadır (7). DNA katımları dokularda, kan hücrelerinde ve fraksiyonlarında ve idrarda tespit edilebilir. Üriner 2,3-dihidro-2-(N-7-guanil)-3-hidroksiaflatoksin B₁, gıdalarla alınabilme riski olan aflatoksin B₁ karsinojeni için bir biyomarkör olarak kullanılabilir. Bu tip katımlar gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) + kütle spektrometrisi veya HPLC + florometrik tayinler gibi metodlarla saptanabilir. Önerilen başka bir metot da radyoaktif olarak işaretlenmiş bileşiklerin kullanıldığı hızlandırıcı kütle spektrometrisidir.

DNA, hemoglobin ve albumin katımlarının çoğu, etkin doz için selektif biyomarkörlerdir. Fakat katımların yapısı hakkında bilgi vermeyen non-selektif biyomarkörler de vardır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan işaretli ³²P dir. Bu metod DNA katımlarının saptanmasında çok hassas olmakla birlikte yapı hakkında bilgi vermez. Her 10⁹-10¹⁰ baz için bir katım saptanabilir. Hem memelilerde (insanlar da dahil olmak üzere) hem de balıklar gibi pek çok türde kullanılabilir. Dokulardan hazırlanan DNA preparatlarını gerektirdiği için invaziv bir tekniktir.

Genel ve selektif başka bir biyomarkör de idrardaki 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin olup, bu biyomarkör DNA'daki oksidatif hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Bu gibi biyomarkörlerin avantajları arasında şunlar yer almaktadır: a) Bilinen bir katım için spesifik bir tayin gerekli değildir. b) Maruziyetin deneysel çalışmalara göre daha düşük olduğu insan popülasyonlarında biyomarkör olarak kullanılabilirler. c) DNA katımları oluşturabilen, potansiyel olarak çeşitli toksik ajanlara karşı maruziyetin saptanmasında kullanılabilirler. Pek çok genotoksik kimyasal bileşik, reaktif metabolitler oluşturduğu halde, etkin doz biyomarkörlerinin tanımlanması üzerine, radyoaktif olarak işaretlenmiş metabolitlerin proteinlere kovalent bağlanmasının kullanıldığı deneysel çalışmalar dışında, az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu durum, hedef moleküllerin tanımlanmasıyla ilgili yoğun çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Oksidatif Stres Biyomarkörleri

Normal fizyolojik koşullarda vücutta oluşabilen oksidanlar [süperoksit radikali (O₂⁻), hidroksil

radikali (OH[•]) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) vb.] ve antioksidan özellikteki enzimler (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi) denge halinde çalışmakta ve herhangi bir sağlık sorunu ortaya çıkmamaktadır. Yaşamın devamı için her iki sisteme de ihtiyaç vardır. Ancak endojen ya da eksojen nedenlerle, bu dengenin oksidanlar lehine bozulmasına oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stres oluşumu, çeşitli ciddi sağlık sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bunlar arasında, gelişmiş ülkelerde ölümlerin büyük bir oranını oluşturan kalp damar sistemi hastalıkları ve kanser bulunmaktadır. Oksidatif strese neden olan tehlikeli reaktif oksijen türleri çeşitli biyolojik makromoleküllerle (DNA, RNA, lipoproteinler) kolaylıkla etkileşebilmektedir. Bu etkileşimin şiddetli olması, hücre ya da dokuda harabiyete neden olmaktadır. Antioksidan savunma sistemi enzimatik (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon reduktaz) ve enzimatik olmayan savunma sistemi (vitamin E, vitamin A, glutatyon) olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Oksidatif stres oluşumu, antioksidan sistemde yer alan enzimlerin düzeylerinde ciddi değişimlere neden olduğundan, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler ve oksidasyon süreci sonucunda ortaya çıkan F₂-izoprostanları, protein karbonilleri ve 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin gibi kimyasal bileşikler biyomarkör olarak kullanılmaktadırlar (11,12).

II- Etkinin Biyomarkörleri

Etkinin biyomarkörleri doğrudan hasarın tanımlanmasında ve olası risklerin değerlendirilmesinde, doz-yanıt ilişkilerinin belirlenmesi için kullanılabilir. Hasarın tanımlanmasında, biyomarkörler maruziyete neden olan toksik ajanın saptanmasını ve ilgili toksik etkinin karakterize edilmesini hızlandırır. Toksik mekanizmalarla ilişkili olan biyomarkörler, mevcut verilere dayanarak toksik etkiler gözlenen insandaki durumu tahmin etmek amacıyla kantitatif doz-yanıt değerlendirmeleri için tercih edilir.

Bireylerin kimyasal maddelere karşı verdiği yanıtlar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bireyde etkinin biyomarkörleri ölçülerek kimyasalın oluşturduğu etkinin sonuçları kesin olarak kullanılabilirdiği halde, bunlar sadece bir tek ajan için spesifik olmayabilirler. Pek çok etki biyomarkörü klinik tanılarının koyulmasında yaygın olarak kullanılmakla birlikte, önleyici amaçlar için kullanılacak ideal bir etki biyomarkörü geri dönüşümlü olan etkileri ölçebilecek özellikte olmalıdır.

Biyomarkörler için rutin analizler, ancak belirli dokularda gerçekleştirilebilir. Bu nedenle bu dokular, bilinen ya da varsayılan hedef dokuları temsil eden örnekler olarak kabul edilebilir. Etkinin biyomarkörleri, bazı durumlarda mekanik açıdan kimyasal olarak

indüklenen lezyonlarla ilişkili olmadıkları halde birbirinden bağımsız değişimlerle ilgili bilgiler sağlayabilir. Bu yüzden her ne kadar bir etki analiz ediliyorsa da, buradaki kullanım kavramsal olarak maruziyetin değerlendirilmesine yakındır.

Hematolojik Biyomarkörler

Hem sentez yolağındaki enzimlerin inhibisyonu (ferroşelataz, levülinat dehidrataz gibi), kurşun maruziyetine karşı etkinin biyomarkörleri olarak kullanılabilir. Bu etki, serbest eritrositlerdeki ve idrardaki portporfirin (FEP) düzeylerine de yansır. İdrardaki yüksek δ-amino levülinat düzeyleri FEP'teki değişimlere göre daha yüksek kurşun maruziyetlerinde gözlenir. Ancak hem sentezi üzerine bu etkiler sadece kurşunun neden olduğu etkiler değildir, demir yetersizliği de FEP üzerinde benzer etkiler göstermektedir. Bu biyomarkörlerin toksisite ile olan ilişkilerinin açıklığa kavuşturulabilmesi için yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Lökosit, eritrosit ve trombosit düzeyleri sitotoksik ilaçlarla tedavi edilen hastaların ve benzer maruziyetine uğramış işçilerin izlenmesinde kullanılmaktadır. Benzer şekilde, benzerle indüklenen aplastik anemi veya lökosit sayısının düşüklüğü ile ilgili yapılabilecek tahminler oldukça sınırlıdır. Plazma demirinin yarılanma ömrü, eritrositin demir bağlama yeteneği, demir transport hızı veya eritrosit demir döngüsünün hızı gibi kinetik ölçümler myelotoksitenin biyomarkörleri olarak kullanılmaktadır.

Nefrotoksikite Biyomarkörleri

Böbrek kompleks ve dinamik bir yapı olup, vücudun ana çıkış kapısıdır. Suda çözünen tüm maddeler veya metabolitleri böbrek yoluyla atılır. Aynı zamanda böbrekler, toksik maddelerin saldırsına açık organlardır. Böbrek hasarlarının biyomarkörleri olarak farklı ölçütler, biyomarkör olarak test edilmiş ve kullanılmıştır. Bunlar; fonksiyonel markörler (kreatinin ve β₂-globulin), idrardaki düşük ve yüksek molekül ağırlıklı proteinler (albumin, transferrin, retinol bağlayıcı globulin, romatoid faktör, immunglobulin G), sitotoksikite markörleri (BB50, BBA, HF5 gibi tübüler antijenler), idrardaki enzimler (N-glukozaminidaz, β-galaktozidaz) ve biyokimyasal markörler (6-keto PGF_{2α}, PGE₂ ve TXB₂ gibi eikozanoidler), fibronektin, kalikrein, idrardaki sialik asit ve glikozaminoglikanlar olarak sınıflandırılabilir. β-Liyaz enzimi, P-amino hip-purik asit (PAH), Tetra etilamonyum (TEA), PAH/TEA oranı, β₂-mikroglobulin ve prostaglandin sentetaz düzeyleri de böbrek biyomarkörleri olarak kullanılmaktadır.

Genotoksikite Biyomarkörleri

Karsinojen maddelerin kendileri veya metabolitleri kansere neden olabilirler. Bu maddelerden doğru- dan DNA ile etkileşerek, katım reaksiyonu sonucu

DNA'nın şifresini bozanlara genotoksik karsinojenler, doğrudan DNA üzerine değil de mitozda etkili olanlara (mitotik ajanlar gibi) genotoksik olmayan (epigenetik) karsinojenler denilmektedir. Karsinojen maddelerin mekanizma bilgileri, kendisinin ya da metabolitlerinin saptanması biyomarkör olarak kullanılır. DNA (özellikle N-7 pozisyonu) ve protein katım ürünleri, kromozom defekt testleri biyomarkör olarak kullanılabilir.

Tümör Biyomarkörleri

Tümör biyomarkörleri, tümörün tanısında ve tedavisinin izlenmesinde kullanılan serolojik markörlerdir. Tümör hacmi ve aktivitesi hakkında bilgi verirler. Bence-Jones proteini laboratuvarında tanımlanan ilk tümör markörüdür. Önemli tümör markörlerini şu şekilde özetleyebiliriz:

1. Neopterin: Önemli bir kanser biyomarkörüdür. Kötü huylu kanserde çok yükselir, kanserin erken teşhisinde ve izlenmesinde çok önemlidir, idrarda bakılabilir. Neopterin, Otoimmün hastalıklarda da (Romatoid artrit) kullanılabilir. Genital tümörler, akciğer kanseri, hematolojik neoplaziler, gastrointestinal karsinoma, pankreatik karsinoma, genitüriner kanal tümörleri gibi malign hastalıkların artmış neopterin düzeyleri ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir (13,14).

2. Osteopontin: Over kanserinde kullanılan bir biyomarkördür, ileri araştırmalar devam etmektedir (15).

3. Nükleer Matriks Proteinleri (NMP) (16):

a) NMP22: Nükleer bir proteindir, mesane kanseri markörüdür, idrarda bakılabilir.

b) BLCA-4: Nükleer matriks proteindir, yeni bir spesifik mesane kanseri biyomarkörüdür.

c) NMP 179: Nükleer matriks proteindir.

4. Kanser Antijenleri (CA):

a) CA 15-3, özellikle meme kanserinin metastazları hakkında bilgi verir, bunun dışında akciğer, karaciğer ve over kanserlerinde de yüksek bulunabilir.

b) CA 19-9, CA 50 ve CA 19-5; CA 19-9, ilk olarak fare kolon kanseri hücrelerine karşı geliştirilen bir markördür, Lewis kan grubu antijenleriyle de ilişkilidir. CA 19-5 düzeyi, mide ve pankreas kanserinin tanısı ve tedavisinin izlenmesinde kullanılır. CA 19-9 ve CA 50 markörleri birbirlerini tamamlayıcı özelliktedir, bu özellik kanserde duyarlılığı arttırmaktadır. CA 19-9, CA 50 ve CA 19-5 hepatoma, kolon kanseri, pankreas kanseri ve biliyer sistem kanserleri ile benign karaciğer hastalıkları ve pankreatitte yükselebilir.

c) CA 125, over kanserli hastaların takibinde önemlidir.

d) CA 72-4 (TAG-72), İnsan adenokarsinoması ile ilgili bir antijendir, özellikle mide ve kolon kanserlerinde yükselir.

5. Onkofetal proteinler:

a) a-Fetoprotein (AFP), primer hepatoselüler karsinomali hastalarda ve germ hücreli tümörlerde yüksek oranda bulunur.

b) Karsinoembriyjenik Antijen (CEA), GIS kansinomalılarında özellikle kolorektal kanserde spesifik bir markördür.

6. Enzimler:

a) Nöron Spesifik Enolaz (NSE); nöroendokrin tümörlerde, küçük hücreli akciğer kanseri ve nöroblastomada yükselir.

b) Laktik Dehidrogenaz (LDH), lösemi ve melanoma gibi malignitelerde yükselir.

c) Plesental Alkalen Fosfataz (PLAP); germ hücreli tümörlerde (seminoma ve beyin primer germ hücreli tümörlerdir) önemli ölçüde yükselir.

d) Prostat Spesifik Antijen (PSA), prostat kanserinin tanı ve izlenmesinde kullanılan önemli bir markördür.

7. Hormonlar:

a) Tirokalsitonin, Tiroidin C hücreleri ve medüller tiroit kanserlerinde sentezlenir.

b) Human Koriyonik Gonadotropin (HCG); Total HCG, akciğer trofoblastik tümörler, over ve germ hücreli tümörlerde yüksek bulunabilir.

c) Paratiroit Hormon İlgili Protein (PTH-RP), kansere bağlı hiperkalsemi olan hastalarda plazma konsantrasyonu yükselir. Hiperkalsemiye neden olan tümörlerce salgılanır.

8. Büyüme Faktörleri/Onkoproteinler:

a) P21 Proteini; hepatoma, karaciğer anjiyokarsinoması ve akciğer kanserinde yükselen markördür.

b) P53; akciğer kanserinde yükselen bir markördür, dokuda, fibroblastlarda ve serumda ölçülebilir. ELİSA kitleri ile P53 proteinleri ölçülmektedir.

9. Diğer markör grupları:

a) β_2 -Mikroglobulin (β_2 -M), nonspesifik bir tümör markörüdür. Lenfoproliferatif hastalıklarda ve solid tümörlerde yüksek seviyelerde bulunur. Böbrek yetmezliği durumlarında da yükselir.

b) Kromogranin A; feokromasitoma, küçük hücreli akciğer kanseri ve multipl endokrin neoplazilerde artış gösterir.

c) Sialik asitler, nonspesifik tümör markörü olarak değerlendirilir. Çeşitli malign ve non-neoplastik inflamatuvar hastalıklarda yüksek bulunabilir.

d) Doku Polipeptid Antijeni (TPA), tiroglobulin, paraproteinler, yassı hücreli karsinoma antijeni de tümör markörleridir (17,18).

Hepatotoksiste Biyomarkörleri

Karaciğer vücudun en önemli detoksifikasyon merkezi olup, aynı zamanda toksik saldırılara açık bir organdır. Çeşitli kimyasal bileşiklerin karaciğer üzerine

olan etkileri geleneksel olarak serumdaki aminotransferaz aktivitesinin (çoğunlukla aspartat veya alanin transferaz) ölçülmesiyle belirlenmektedir.

R Değeri : Alanin aminotransferaz düzeyinin alkanin fosfataz düzeyine oranı R değeri olarak adlandırılır (R = Alanin aminotransferaz/Alkanin fosfataz).

$R \geq 5$ ise, hasarın safrada olmadığı karaciğerde olduğu,

$R \leq 5$ ise, hasarın safrada olduğu,

$R = 2-5$ ise, hasarın hem karaciğer hem de safrada olabileceğini ifade etmektedir. Bu aktivite, karaciğer hücreleri hasar gördüğünde veya hücre zarının geçirgenliği değiştiğinde artmaktadır. Bu amaçla pek çok değişik enzim incelenmiştir. Bunların arasında 5-nükleotidaz, alkol dehidrogenaz, laktat dehidrogenaz, izositrat dehidrogenaz, lösin aminopeptidaz, glutatyon S-transferaz, ornitin karbamoil transferaz gibi enzimler vardır. Karaciğer dışındaki dokularda da bu enzimler bulunmakla birlikte, aktiviteleri sadece karaciğer hasarı sonrasında ortaya çıkmamaktadır. Bu spesifiklik sorununu çözmek için, spesifik izoenzimler kullanılmaktadır. Alkanin fosfataz ve γ -glutamil transpeptidaz gibi enzimlerin serum aktiviteleri, özellikle safra atılmasıyla bağlantılı karaciğer hasarlarının biyomarkörleri olarak kullanılabilir. Ayrıca, çeşitli karaciğer fonksiyon testleri de etkinin biyomarkörleri olarak kullanılabilir. Bunlar arasında, karaciğerde sentezlenen serum proteinlerinin (albumin ve pıhtılaşma faktörleri) ve safra asitlerinin (karaciğer yoluyla itrahın göstergesi olarak bromosülfotalein yarı-ömrü) konsantrasyonları sayılabilir. Bu parametreler, karaciğerdeki viral enfeksiyonlar, alkol ve ilaç kullanımı gibi durumlarda spesifikliklerini kaybetmektedir. Sitokrom P450 enzim sisteminde kimyasal olarak indüklenen değişimlerin indirekt ölçütleri hassas indikatörler olarak önerilmektedir.

Hepatotoksositeye, sitokrom P450 enzim sistemi ile reaktif metabolitlere dönüşen kimyasal bileşikler neden olmaktadır. Örneğin, üzerinde çok fazla çalışma yapılmış olan bileşiklerden karbon tetraklorür, intraselüler glutatyon depolarını boşaltmakta ve böylelikle bazı moleküllerin neden olabileceği hücre ölümlerine ve karaciğer harabiyetine karşı savunma sağlanamamaktadır. Bu açıdan glutatyon düzeyleri, lipid peroksidasyonu ve nekrotik hücrelerin sayısı etki biyomarkörleri olarak kullanılabilir. Ornitin Dekarboksilaz enzimi (ODC) çok spesifik bir karaciğer toksisite biyomarkörüdür, poliaminlerin (DNA sentezinde yer alan maddeler) yolağında rol oynar, karaciğer harabiyetinde çok yükselir, ancak henüz klinikte kullanılmamakta olup araştırma safhasındadır. Taurin, bir beta aminoasittir, in vivo ve in vitro olarak güçlü antioksidan özellik göstermektedir, düzeyinin değerlendirilmesi karaciğer harabiyeti hakkında bilgi vermektedir.

İmmunotoksosite Biyomarkörleri

İmmun sistem, organizmayı enfeksiyon yapıcı mikroorganizmalara ve bazı neoplazmaların oluşumlarına karşı korumaktadır. Genetik faktörler, beslenme, stres, yaşam standartları ve sağlık durumu gibi faktörler immün sistem üzerinde etkilidir. İmmün sistem, kimyasal hasara karşı diğer vücut sistemlerine göre daha duyarlı olabilmektedir.

Solunum yoluyla maruziyeti takip eden hipersensitivite reaksiyonları arasında astma, rinit, pnömoni ve granülomatöz akciğer rahatsızlıkları yer almaktadır. Derideki hipersensitivite reaksiyonları arasında çeşitli akut, kronik ve sub-kronik değişimler sayılabilir. Allerjik deri reaksiyonlarına neden olan ajanların tanımlanmasında, geleneksel olarak Patch (yama) testleri kullanılmaktadır. Ancak bu testlerin de hipersensitivite reaksiyonlarına neden olabileceği gözden kaçırılmamalıdır.

Özellikle IgE gibi spesifik antikorların yüksekliği, mevcut duyarlılığı gösterebilir. Ancak IgE düzeylerinin yüksek olduğu tüm bireylerde allerjik semptomlar ortaya çıkmayabileceği gibi, bu semptomların gözlemlendiği tüm bireylerde de IgE düzeylerinin yüksek olması bir gereklilik değildir.

İmmün sistemin baskılanması enfeksiyon ve neoplazma oluşumu riskini arttırmaktadır. Farklı lenfosit alt-popülasyonlarının (baskılayıcı ve yardımcı T-hücreleri) düzeylerindeki değişimler immün sistemdeki baskılanmanın biyomarkörleri olarak kullanılmaktadır. Asbestin neden olduğu plevral ve pulmoner değişimler ile yine asbestin indüklediği kanser olgularında immunolojik dengelerde değişimler olduğu bildirilmiştir.

Kimyasallara karşı gelişen hipersensitivite olgularındaki artışlar nedeniyle immunolojik etkiler için biyomarkörlerin geliştirilmesi ve uygulanması büyük önem taşımaktadır. Ancak bu konudaki araştırmalarda, temel immunolojik mekanizmaların ve kimyasalların etkilerinin sistem üzerine etkilerinin tamamıyla anlaşılammış olması nedeniyle güçlüklerle karşılaşmaktadır.

Pulmoner Toksisite Biyomarkörleri

Bu amaçla kullanılan biyomarkörler, genellikle hücreler ya da biyokimyasal süreçler üzerindeki etkilerden çok pulmoner fonksiyon üzerindeki temel değişimlerin (ekspirasyon ve zorlu ekspirasyon hacmi gibi) ölçülmesine dayanmaktadır. Bu etkiler, neden olan ajan için spesifik olmadığı gibi bazı hücreler için spesifik olan değişimlerin belirlenmesinde yetersiz kalabilir.

Solunum yollarındaki aktivitedeki artış, inhalasyon tipi maruziyetlerin oluşturulduğu deneysel çalışmalarla değerlendirilebilir. Bu tip testler pulmoner hipersensitivite reaksiyonlarına neden olan çeşitli fak-

törlerin değerlendirilmesinde yararlı olabilmekteyse de, akut reaksiyonların oluşabilmesi riski nedeniyle eğitimli personel tarafından çok dikkatli bir biçimde uygulanmalıdır.

Günümüzde Bronko-Alveoler Lavaj Sıvısı (BALF), akciğer harabiyetini saptamak, akciğer hastalıklarının ilerleyişini takip etmek ve ilaç tedavisinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Akciğer harabiyetinin biyomarkörleri olarak hücresel öğelerin kullanılması daha çok BALF'ta yapılan analizlere dayanmaktadır.

T-hücrelerinin alt-türlerinin ayrılması amacıyla monoklonal antikorların kullanılmasıyla elde edilen total hücre ve farklılaşmış hücre sayıları, alveol iltihaplanmalarının saptanmasında ve interstisyel akciğer hastalıklarının teşhisine yardımcı olarak kullanılmaktadır. Lenfositlerin yüksek yüzdeleri, sarkoidozis ve hipersensitivite pnömonisi gibi granülomatöz süreçlerin biyolojik göstergeleridir. Nötrofil yüzdesindeki artış ve bir miktar eozinofil ise olasılıkla idiyopatik pulmoner fibrozise işaret etmektedir. Sitokinler ve inflamasyonun diğer mediatörleri gibi ekstraselüler komponentler, spesifik araştırma konularında deneysel amaçlarla kullanılmaktadır. BALF analizleri, deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda inhalasyonla veya injeksiyonla verilen toksinlerin doz-yanıt karakteristiklerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bronko-alveoler bölgede oluşan inflamatuvar yanıtlar için en hassas biyomarkörler BALF'taki nötrofil sayısıdır. Ayrıca protein düzeyleri ve ekstraselüler enzimatik aktivite düzeyi de pulmoner toksisite için kullanılan biyomarkörlerdir. BALF'taki protein konsantrasyonlarının yükselmesi alveoler/kapiler bariyerdeki permeabilitenin arttığını gösterir. Laktat dehidrogenaz sitoplazmik bir enzim olup, sadece sindirilmiş ya da hasar görmüş hücreler ekstraselüler alanda bulunur. Beta-glukuronidaz ve benzeri lizozomal hidrolitik enzimler, inhalasyonla alınan partiküllerin toksisitesinin değerlendirilmesi için mükemmel biyomarkörlerdir. Bu partiküller, makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Aktive olan ya da lizise uğrayan makrofajlardan çeşitli enzimler salınır.

BALF'ta pulmoner makrofajlardan salınan sitokinlerin bulunması fibrozis gelişimine işaret eder. Piguet ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar, kuvars ile indüklenen fibrozisin, pulmoner makrofajlardan salınan Tümör Nekroz Faktörü (TNF) ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (19). Lassalle ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda ise, pnömokoniazisi olan kömür işçilerinde makrofajlardan salınan TNF düzeylerinde, kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu bildirilmektedir (20). Pulmoner makrofajlardan salınan trombosit kaynaklı büyüme faktörü düzeyleri

idiyopatik pulmoner fibrozisi (IPF) olan hastalarda yükselmektedir.

GSH, oksidatif strese karşı koruyucu mekanizmalarda yer alan bir tripeptid olup BALF içeriğinde bulunmaktadır. BALF'taki GSH düzeyinin düşmesi oksidatif stres için bir göstergedir. IPF'si olan hastalarda ve kronik olarak egzoz dumanlarına maruz kalan hayvanlar da GSH düzeylerinde düşüşler gözlenmekte ve bu pulmoner fibrozis ile sonuçlanmaktadır.

Nazal lavaj sıvısı da (NLF) inhale edilen toksinler için markörler sağlayabilir. Ozon inhalasyonu sonucu nötrofillerin nazal boşluğa geçtiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır.

Akciğer harabiyetiyle ilgili olarak kanda saptanmış bir biyomarkör bulunmamaktadır. Ancak, Cavelleri ve arkadaşlarının çalışmaları, Tip III prokolajeni aminoterminal propeptidi'nin (PIIINP) fibrozis gelişimi için erken bir gösterge olabileceğini göstermektedir (21). Asbestin düşük veya yüksek düzeylerine maruz kalan kişilerde, serum PIIINP'sinde doza bağımlı bir artış olmaktadır. 4-İpemeanol, sadece akciğer üzerine toksik etki gösteren çok özel bir madde olup tatlı patateslerde bulunmaktadır. Ülkemizde yetişen patateslerde 4-İpemeanol miktarı çok az olup daha çok solanin içermektedir. Patateslerin kabuklarının biraz derinden soyulması maruziyet riskini azaltmaktadır. 4-Hidroksi pirolin, kollojen dokunun yıkım ürünü olup, kollojen kaynaklı fibrozisi gösteren bir biyomarkördür. 4-Hidroksi pirolin atılım profili, pulmoner toksisite biyomarkörü olarak kullanılabilir.

Sonuç olarak, akciğerin bağ dokusuyla ilişkili amino asitlerin idrardaki düzeyleri, akciğer harabiyetinin markörleri olarak kullanılabilir. Ancak bunlar spesifik değildir ve sadece herhangi bir organdaki bağ dokusu hasarının göstergesi olarak kabul edilebilirler.

Üreme Sistemi ve Gelişim Üzerine Toksik Etkilerin Biyomarkörleri

Üreme sistemindeki yan etkilerle ilgili markörler erkek ve kadınlardaki toksik etkileri yansıtabilir. Ya da bunlar embriyonik, fetal, perinatal veya neonatal gelişimle bağlantılı olabilir.

Erkek üreme sistemi için sayılabilecek biyomarkörler arasında testiküler fonksiyonlarda bozukluklar, sperm sayısı ve sitogenetik parametreler gibi karakteristikler bulunmaktadır. Hormon düzeyleri (FSH, LH, testosteron vb.) kanda ölçülebilmektedir (testosteron idrar ve tükürükte de ölçülebilmektedir). Ancak sirkadiyan ritm, bu düzeyleri büyük oranda etkilediğinden bireyler arasında ve bireyin kendisinde büyük değişkenlikler göstermektedirler. Daha net sonuçlar, GnRH veya LH uygulamasından sonra

hormonal yanıtların değerlendirilmesiyle elde edilebilir. Erkek üreme sistemi için kullanılan biyomarkörler uygulanma kolaylıklarının yanı sıra valide edilebilirlik gibi özellikler taşımaktadırlar. Bu özelliklere sahip markörler kadın üreme sistemi için az sayıdadır.

Gelişimsel toksisitenin biyomarkörleri de bu konuyla ilgili araştırma alanlarından. Herhangi bir spesifik maruziyet hikayesi bulunmadığı durumlarda maruziyete neden olan ajanı tanımlamak çoğunlukla çok güçtür. Biyomarkörler, gelişimin embriyonik veya fetal basamakları sırasında meydana gelen kimyasal, ya da diğer maruziyetlerin neden olduğu zararlı etkilere ait ölçümleri kapsamalıdır. Geri dönüşümsüz lezyonlar, embriyo ölümüne ya da fonksiyonel anomalilere neden olabilir. Gelişimsel toksisitenin biyomarkörleri arasında düşük vücut ağırlığı, kromozom anomalileri, spesifik organ sistemlerinin gelişimindeki bozukluklar, mental bozukluklar ve zor fark edilebilen davranış değişiklikleri sayılabilir.

Gebelikte düşük riskinin ve fötüs olası kalıtsal bozuklukların önceden değerlendirilmesi için çeşitli biyomarkörler önerilmiştir. Bazı kalıtsal bozuklukların saptanması için kullanılan yöntemler arasında, klasik sitogenetik teknikler ve spesifik DNA problemleri yer almaktadır. İdrardaki insan koriyonik gonadotropini (HCG) düşük riski için oldukça belirleyici bir biyomarkördür. Pek çok biyomarkör, gebeliğin dönemlerini ve bebeğin durumunu takip etmede kullanılsa da bunlar henüz kimyasal bileşiklerin gebelikteki etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda uygulanmamaktadır.

Nörotoksitenin Biyomarkörleri

Nörotoksitenin biyomarkörleri, kimyasal maddelerin sinir sistemi üzerindeki hücresel veya moleküler düzeydeki etkilerinden, oluşturdukları nörofizyolojik ya da davranışsal değişimlere kadar pek çok durumun göstergesi olarak kullanılabilirler.

Plazma ve eritrositlerdeki asetilkolin esterazın inhibisyonu, organizmanın organik fosforlu bileşiklere ya da diğer kolinesteraz inhibitörlerine maruz kaldığına işaret etmektedir. Eritrositlerdeki asetilkolin esteraz beyne benzediğinden etkinin bir biyomarkörü olarak kabul edilebilir. Ancak plazmada bulunan non-spesifik psödokolinesteraz, sadece maruziyetin bir göstergesi olarak düşünülebilir, santral sinir sistemi üzerindeki etkileri ifade etmez. Periferik sinir sisteminin fonksiyonel ölçümleri kapsamlı şekilde tanımlanmıştır. Bu noktadan hareketle kimyasalların bu sistem üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde elektromiyografi ve sinirsel iletim hızının ölçülmesi gibi tekniklerden yararlanılmaktadır.

Üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olan bazı nörofizyolojik ve davranışsal parametreler, nörotoksik

kimyasalların indüklediği santral sinir sistemi bozukluklarının saptanmasında biyomarkör olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla yapılan testler, çok iyi kontrol edilen şartlarda gerçekleştirilmelidir.

Öğrenme ve bellek değişimlerini değerlendirmek için kullanılan metotlar, daha çok çeşitli çözücülere ve ağır metallere maruz kalan işçiler üzerinde denenmektedir.

Bilgisayarlı beyin tomografisi, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), nükleer manyetik rezonans spektrometrisi (MRS) ve pozitron emisyon tomografisi (PET) gibi sinirsel görüntüleme teknikleri non-invaziv olarak kabul edilmekle birlikte, bu tekniklerin bazılarında iyonize edici radyasyonun kullanılması gerekmektedir (22). MRI, mevcut klinik tekniklerle birlikte kimyasalların beyinde oluşturdukları değişimlerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılabilir. MRS ve PET'in kullanımı santral sinir sisteminin biyokimyasal durumunun (enerji üretim hızı, kan akışı, L-glukoz metabolizması vb.) daha detaylı biçimde incelenmesine olanak sağlamaktadır. Bunlar, beyinde çeşitli değişimlere neden olan nörotoksik kimyasallar için biyomarkör olarak kullanılabilir. Ancak pahalı olmaları, kullanım alanlarının omurilik, sinir dokusu ve kastaki değişimlerle sınırlı oluşu ve konuyla ilgili az sayıda veri olması, dezavantajları arasında sayılabilir.

Hayvan deneylerinden elde edilen bu önemli sonuçlar doğrultusunda, ümit vaat eden bir başka nörotoksik biyomarkörü de glial fibriller asidik proteindir. Bu protein astrositlerde bulunmakta olup, kimyasallar beyinde toksik etkiler oluşturduğunda düzeylerinde belirgin artışlar meydana gelmektedir.

III- Yatkınlık Biyomarkörleri

Bu tip biyomarkörler, kalıtsal ya da çevresel etkiler sonucu gelişen ve bireyde özel bir ksenobiyotiğe ya da benzer özellikler taşıyan bir ksenobiyotik grubuna karşı hassasiyeti yansıtan göstergelerdir. Günümüzde, kalıtsal varyasyonların oluşturabileceği etkiler, farmakolojik ve toksikolojik açıdan giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Bu alanda yapılan araştırmaların çoğunda vücuda alınan ksenobiyotiklerin metabolizmasındaki farklılıklar üzerinde durulmaktadır. Genotoksik riskin biyoizlenimi üzerine yapılan çalışmalarda ksenobiyotiklerin metabolizmasına giren enzimlerin çok sayıda genetik polimorfizmi incelenmiştir. Aldehit dehidrogenaz (ALDH2), CYP1A1, CYP1A2, CYP2C, CYP2D6 (p450 sitokromları), EPHX (Epoksihidrolaz), GSTM1, GSTP1, GSTT1 (glutathione S-transferazlar), paraoksonaz (PON) bunlardan bazılarıdır.

İnsanlarda polimorfizm gösteren metabolik süreçlerden biri karaciğer enzimlerinin asetilleme hızıdır (N-asetiltransferaz = NAT). Bu enzimi oluşturan genlerin birindeki nokta mutasyonu, hızlı ya da

yavaş asetilleyci metabolik aktiviteye neden olmaktadır. Yavaş asetilleyciler daha az fonksiyonel olan NAT-2 enzimi taşımaktadırlar. Asetilleyci fenotiplerin saptanmasında çeşitli metotlar kullanılmaktadır (sulfametazin veya kafein verilerek idrardaki serbest ve asetillenmiş metabolitlerin ölçülmesi gibi). Yavaş asetilleycilerde, ilaçların neden olduğu yan etkiler ve aromatik aminlerle bağlantılı mesane kanserlerinde belirgin artışlar gözlenmektedir. Hızlı asetilleyciler ise kolon kanserleri açısından risk grubu oluşturmaktadır.

Çeşitli kalıtsal ve olasılıkla çevresel faktörlerin etkileşimi toksik yanıtın gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Örneğin, hidralazin alan hastalarda ortaya çıkan lupus sendromu değişik faktörlere bağlıdır. Bunlar arasında dozun miktarı, uygulama süresi, asetilleyci fenotipi ve cinsiyet sayılabilir. Toksik yanıtın çok etmenli doğası nedeniyle maruziyet ve duyarlılığın biyomarkörleri yanında, etkinin erken biyomarkörleri üzerinde de kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, idrardaki taurin düzeylerinin duyarlılığın bir biyomarkörü olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Taurinin idrardaki düzeyleri karaciğer taurin konsantrasyonunu yansıtmaktadır. Sıçandaki bu düzeyler ile hepatotoksik ajanlara duyarlılık arasında anlamlı bir korelasyon bulunmaktadır. Bu durum, karaciğerde bulunan taurinin koruyucu özellik taşıdığını ve düşük taurin düzeylerine sahip bireylerin karaciğer hasarlarına karşı daha duyarlı olduğunu göstermektedir.

Bu grup biyomarkörler için bir başka örnek de, kanser yatkınlığında belirleyici rol oynadığı düşünülen sitokrom P450 genidir. Bu enzimler, pek çok kanserojen bileşiği reaktif metabolitlere dönüştürmekte olup miktarları bireyler arasında farklılıklar taşımaktadır.

Çalışmaların yoğunlaştığı bir başka önemli konu, bireylerdeki DNA onarım kapasitesidir. İnsan lenfositlerindeki DNA onarımını ölçmeye yönelik bir çalışmada kloramfenikol asetiltransferaz geni taşıyan, kimyasal olarak hasar oluşturulmuş bir plazmid DNA'sı insan lenfositlerine uygulanmıştır. İnkübasyon periyodundan sonra, DNA onarım kapasitesi reaktif kloramfenikol asetiltransferaz aktivitesinin belirlenmesiyle ölçülmüştür. Onarım kapasitesi az olan insan hücrelerinde, dışarıdan verilen genin ekspresyonu alt seviyede gerçekleşmekte ve bu nedenle enzimatik aktivite düşük olmaktadır.

İnsan vücudunun kimyasal maddelerin etkilerine karşı koymaya yönelik potansiyel bir kapasitesi vardır. Ancak bireyin kimyasal toksisiteye karşı direnci, var olan bir hastalık ya da çevresel maruziyetler, beslenme ve yaşam standardı gibi faktörler nedeniyle azalabilir. Bir maruziyet her zaman ciddi toksik etkiler oluşturmamakta; ancak, vücut savunmasının zayıfla-

masına neden olabilmektedir. Bu yüzden vücut direnciyle ilgili biyomarkörler, hem etkiyi hem de immun sistem, hematopoietik sistem ve böbreklerle bağlantılı olarak duyarlılığı yansıtmaktadır.

Biyomarkörlerin Kullanım Alanları:

a)Risk Değerlendirmeleri

Biyo-izleme çalışmaları şeklinde yapılan tayinler, işçilerin karşılaştığı kimyasal maruziyetlerin ve terapötik ajanların klinikte değerlendirilmeleri amacıyla kullanılmaktadır. Bu ölçümler ya da bir başka deyişle biyomarkörler, kimyasal maruziyet, internal doz ve sağlık sorunları arasında bağlantıyı oluşturmaktadır ve risk değerlendirmeleri için önem taşımaktadır. Ancak, her organ için hasarın, toksisitenin veya patolojik değişimin göstergeleri olan bu karakteristik parametrelerin tanımlanması ve valide edilmesi gereklidir. Ayrıca biyomarkörler ve ilgili ölçüm yönteminin spesifikliğı ve duyarlılığı da değerlendirilmelidir.

b)Klinik Tanılar

Biyomarkörler; akut ya da kronik zehirlenme tanılarını doğrulamak amacıyla, uygulanan tedavinin etkinliğini değerlendirmek için ve bireysel olgularda hastalık süresini tahmin etmede kullanılabilirler.

Biyomarkörlerin bu amaçlarla kullanılabilmesi için, iyi tanımlanmış bir neden-sonuç ilişkisi bulunmalıdır. Daha önceki deneyimlerden elde edilen verilerin kullanılması, kısa ya da uzun dönem maruziyet olgularının daha anlamlı bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yöntem ciddi kimyasal zehirlenmelerde pek mümkün olmasa da, etkinin biyomarkörleri klinik sonuçların incelenmesinde oldukça geniş bir uygulama alanı bulabilir.

c) Biyoizleme Çalışmaları

Biyomarkörler, bir popülasyondaki bireylerin özel bir maddeye maruziyetini belirlemede kullanılabilirler (organik çözücülerin solunumu alınması, böbreklerdeki kadmiyum miktarları, kemiklerdeki kurşun düzeyi, yağ dokusunda depolanan klorlu hidrokarbonlar vb.). Bu amaçla yapılan miktar tayinleri, doz-yanıt ilişkilerinin daha hızlı bir şekilde saptanmasını sağlamaktadır.

Görüntüleme ve izleme yöntemlerinde birey ya da popülasyon düzeyinde çeşitli biyomarkörlerden yararlanılabilmektedir. Risk taşıyan gruplar, maruziyet ya da etki biyomarkörlerinin normal düzeyleri üzerinden yapılan karşılaştırmalarla tanımlanabilir. Yapılan bu karşılaştırmalarda karşılaşılan bireysel farklılıklar istatistiksel olarak incelenmektedir.

Bazı toplumsal ve mesleki sağlık kontrol programlarında biyomarkörler kullanılmaktadır. Her ne kadar "biyolojik görüntüleme veya izleme" terimleri olarak geçse de bu terimlerin kullanılması üzerinde bir görüş birliği bulunmamaktadır. Hastalık gelişiminin

izlenmesinde biyomarkörlerin ölçülmesi yüksek maliyetli bir tekniktir. Ancak biyomarkörlerin kontrol amaçlı kullanımlarını maliyetlerinden çok etik ve sosyal sorunlar engellemektedir.

Bazı spesifik kimyasallara ya da metabolitlere karşı kalıtsal ya da kazanılmış duyarlılığın göstergeleri olarak biyomarkörlerin kullanılması çeşitli hastalıklara karşı yatkınlığı olan bireylerin saptanması ve bu bireylerin korunmasında önem taşımaktadır. Kalıtsal yatkınlık için verilebilecek klasik örnek yeni-doğanlardaki fenilketonüridir. Kazanılmış duyarlılığa ise çeşitli gaz ve tozların (toluen diizosiyanat, trimellitik asit anhidridi ve pamuk tozu gibi) solunması sonucu gelişen hipersensitivite reaksiyonları örnek olarak verilebilir.

Biyomarkörlerin kullanım alanları maddeler halinde verilecek olursa;

- Herhangi bir kimyasal maruziyetin saptanması
- Birey ve popülasyon düzeyinde duyarlılığın belirlenmesi
- Kimyasalın organizmadaki etkisinin belirlenmesi
- Neden-sonuç ve doz-yanıt ilişkilerinin tanımlanması
- Klinikte tedavi etkinliğinin izlenmesi ve mesleki çevresel etkilerin saptanması
- Tanı koyma, tedavinin yönlendirilmesi ve değerlendirilmesi
- Etki kaynağının belirlenmesi
- Eksternal ve internal doz arasındaki ilişkinin saptanması
- Halk sağlığı çalışmaları
- Risk gruplarının değerlendirilmesi, bunlar arasında sayılabilir.

SONUÇ

İnsanlar bilerek veya bilmeyerek yüzlerce kimyasal maddeye, ilaca ve ksenobiyotiğe maruz kalmaktadır. Bu maruziyetler mesleki olarak, çevresel ya da besin maddeleri yoluyla oluşabilmektedir. Vücudumuzdaki metabolik olaylar ve dolayısıyla insan sağlığı bu maruziyetlerden değişen düzeylerde etkilenir. Bir biyolojik sistemde fiziksel, kimyasal ya da biyolojik bir etkileşim sonucu ortaya çıkan değişimler olarak tanımlanan biyomarkörler, son 25 yıl içinde daha çok kimyasal maruziyetlerin organizma üzerinde yarattığı etkilerin tanımlanmasında kullanılmıştır. Ancak, günümüzde bu amaçla kullanımlarına ek olarak kromozomal değişimler ve DNA katımlarına dayanan görece yeni ve daha kompleks tekniklerin geliştirilmesiyle koruyucu hekimlik ve risk değerlendirmelerinde de geniş uygulama alanı bulmaktadırlar. Bu ve benzer sebeplerden dolayı

biyomarkörler, toksikoloji, moleküler biyoloji, biyokimya ve klinik farmakoloji gibi pek çok farklı disiplin için oldukça ilgi çekici bir konu haline almıştır. Hastalıklar ve çeşitli maruziyetlerle ilgili olarak kesin ve spesifik biyomarkörlerin tanımlanması ve bunların validasyonu üzerine yapılacak çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Biyomarkörler, teknolojisindeki gelişmeler klinik pratikte tanı konması ve tedavinin yönlendirilmesi gibi konular üzerinde son derece etkili olmaktadır. Reseptör, enzim, taşıyıcı ve membrandaki çeşitli polimorfizmler ve bunların hastalık patolojisindeki rolleri de ayrı bir araştırma alanı olup, risk taşıyan grupların belirlenmesine yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır.

Biyo-izleme çalışmaları, koruyucu hekimlik, risk değerlendirmeleri ve polimorfizm gibi alanlarda biyomarkörlerin kullanımları maliyet açısından ve etik nedenlerden dolayı sınırlı olsa da bu konu toplum sağlığı açısından ihmal edilmemelidir. Ülkemizde bu alanda yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yanlış tanı ve tedavi rejimleri nedeniyle hastaların gördüğü ciddi zararlar ve bunun beraberinde gelen büyük ekonomik kayıplar göz önüne alındığında biyomarkörlerin etkin bir biçimde kullanılması ve geliştirilmesine yönelik çalışmalara ağırlık verilmesi gerektiği gerçeği açık bir şekilde ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. *Environmental Health Criteria 155, Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles, World Health Organization, Geneva, 1993.*
2. *Grandjean, P., Brown, S.S., Reavey, Phil, Young D.S.: Biomarkers in environmental toxicology: State of the Art. Clinical Chemistry, 41, 12, 1902-1929, 1995.*
3. *Timbrell, J.A., Draper, R., Waterfield, C.J.: Biomarkers in Toxicology-New uses for some old molecules?. TEN, 1,1, 1994.*
4. *Henderson, R.F., Bechtold, W.E., Bond, J.A., Sun, J.D.: The use of biological markers in toxicology. Crit .Rev. Toxicology, 20, 2, 65-81, 1989.*
5. *Biomarkers in Human Cancer. Part I, Pre-disposition and use in risk assesment. Environmental Health Perspectives, 98 ,1992. Part II, Exposure Monitoring and Molecular Dosimetry. Environmental Health Perspectives, 99, 1993.*
6. *Silbergeld, E.K., Davis, L.D.: Role of biomarkers in identifying and understanding environmentally induced disease. Clinical Chemistry, 40, 7, 1994.*
7. *van Welie, R.T.H., van Dijck, R.G. J.M., Vermeulen, N.P.E. and van Sittert, N.J.: Mercapturic acids, protein adducts, and DNA adducts as biomarkers of electrophilic chemicals. Critical Reviews in Toxicology, 22, 271-306, 1992.*

8. Nicholson, J.K. and Wilson, I.D.: High resolution proton magnetic resonance spectroscopy of biological fluids. *Progress in NMR Spectroscopy*, 21, 449-501, 1989.
9. Preece, N.E. and Timbrel, J.A.: The use of NMR in drug metabolism studies: Recent Advances. *Progress in Drug Metabolism*, 12,147-203, 1990.
10. Links, J.M., Kensler, T.W., Groopman, J.D.: Biomarkers in environmental health research & practice. *Drug and Chemical Toxicology*, 22(1), 1-14, 1999.
11. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J. Jul;17(10):1195-214*, 2003.
12. Waterfield C.J.: Biomarkers of Effects and Response. Ballantyne, B., Marrs, T.C., Syversen, T. *General and Applied Toxicology*, 2 nd edition, volüm 3, chapter 85, London, Macmillan Referece Ltd., 2000, p.1875-1874
13. Altındağ, Z.Z., Şahin, G., Isimer, A., Akpek, G., Kansu, E.: Dihydropteridine reductase activity and neopterin levels in leukemias and lymphomas: is there any correlation between these two parameters? *Leuk Lymphoma. Oct;35(3-4):367-74*, 1999.
14. Altındağ-Arat, Z.Z., Şahin, G.: Neopterin ve klinik önemi. *T Klin Tıp Bilimleri*, 13;224-230, 1993
15. Kim, J-H., Skates, S.J., Ueda, T., Wong, K-K., Scorge, J.O., Feltmate, C.M., Berkowitz, R.S., Cramer, D.W., Mok, S.C.: Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer. *JAMA*; 287:1671-1679; 2002.
16. Oehr P.: Proteomics as a tool for detection of nuclear matrix proteins and new biomarkers for screening of early tumors stage. *Anticancer Res. Mar-Apr;23(2A):805-12*, 2003.
17. Sturgeon, C.: Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. *Clinical Chemistry*, 48:8;1151-1159; 2002.
18. Ayyıldız, M.O., Kızılay, E., Müftüoğlu, E.: Tümör markırları ve klinik kullanım alanları. *T.Klin Tıp Bilimleri*, 19:114-122; 1999.
19. Piguet, P.F., Collart, M.A., Grau, G.E., Sappino A.P., Vassalli, P.: Requirement of tumor necrosis factor for development of silica-induced pulmonary fibrosis. *Nature (Lond)*, 344: 254-247; 1990.
20. Lassalle, P., Cosset, P., Aerts, C.: Abnormal secretion of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha by alveolar macrophages in coal worker's pneumoconiosis : Comparison between simple pneumoconiosis and progressive massive fibrosis. *Exp Lung Res*, 16:73-80; 1990.
21. Cavalleri, A., Gobba, F., Bachella, L., Ferrari, D.: Evaluation of serum aminoterminal propeptide of Type III procollagen as an early marker of the active fibrotic process in asbestos-exposed workers. *Scand J Work Environ Health*, 17: 139-144, 1991.
22. Downing, G.: Clinical Biomarkers. *National Forum*, 79, 3, p15, 4p, 1c, 1bw, 1999.