

Asbest Maruziyeti ve Malign Mezotelyoma'da Etiyopatogenez ve Epidemiyolojik Özellikler; Tümör Supresör Gen İlişkileri

ETIO-PATHOGENESIS AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES IN ASBEST EXPOSURE AND MALIGNANT MESOTHELIOMA: THE ROLE OF TUMOR SUPPRESSOR GENES: REVIEW

Dr. Tuncer TUĞ^a, Dr. Esra TUĞ^b

^aGöğüs Hastalıkları AD, ^bSağlık, Kültür ve Spor Daire Başkanlığı, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, ELAZIĞ

Özet

İnorganik lifsel bir mineral olan asbest tozlarının inhalasyonu sonucu, akciğer dokusunda kalıcı yapısal fonksiyon bozukluklarının yanı sıra hemen daima kısa sürede öldürücü olan malign plevral mezotelyoma (MPM) ve akciğer kanseri gelişebilmektedir.

Dünyada asbestin yaygın olarak kullanıldığı sanayi kollarında çalışan işçilerde ve yakınlarında bu mineralin inhalasyonu sonrasında asbest maruziyeti ve MPM sıklığı giderek artmaktadır. Ayrıca, arazi yapısında asbestli toprak bulunan bazı yerleşim alanlarında, beyaz toprak (ak toprak) olarak bilinen ve yapı malzemesi olarak kullanılan asbestli topraktan havaya yayılan asbest liflerinin inhalasyonu sonucu da MPM gelişebilmektedir. Çevresel veya endüstriyel asbest maruziyeti sonucu MPM sıklığı, normal popülasyona göre 20 kat veya daha fazla artmaktadır.

Asbest teması sonucu gelişen MPM olgularında, asbestin genotoksik etkiler oluşturduğu bildirilmektedir. Son yıllarda yapılan sınırlı sayıda moleküler sitogenetik çalışmada, MPM olgularında 1p, 3p, 6q, 9p, 13q, 14q, 15q ve 22q mikrolezyonları ile birlikte bu bölgelerdeki olası tümör supresör gen (TSG)'lerde allelik kayıp veya inaktivasyon olabileceği bildirilmektedir. Bu raporda, asbest maruziyeti ve MPM'de etiopatogenez, epidemiyolojik özellikler ve TSG ilişkilerine ait son veriler, mevcut literatür ışığında gözden geçirilmeye çalışıldı.

Anahtar Kelimeler: Asbest, malign plevral mezotelyoma, etiyojoloji, genotoksisite

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:436-444

Abstract

Malignant pleural mesothelioma (MPM) and lung cancer, which is almost always lethal within a short period, presents with permanent lung parenchymal structural dysfunction due to inhalation of asbestos dust, which is an inorganic and fibrous mineral.

Throughout the world, the frequency of MPM and asbestosis after dust inhalation by workers or their relatives working in industrial areas has gradually increased. In addition, in some residential districts with known asbestos content in soil, MPM may result from inhalation of dust spreading into the near atmosphere from white soil containing asbestos used as building material. Asbestos contamination as a result of environment or industry exposure increases the frequency of MPM in excess of 20 times of that of the normal population.

In cases with MPM resulting from the effects of asbestos exposure, it has been reported that asbestos produces genotoxic effects. In molecular cytogenetic studies recently performed with limited patient numbers, it was also reported that in MPM cases there may be inactivation or allelic loss at the probable TSGs in this regions with 1p, 3p, 6q, 9p, 13q, 14q, 15q and 22q micro-deletions. In this report, data from recent literature regarding the etio-pathogenesis and epidemiological characters of asbestos exposure and MPM, as well as their relationship to tumor suppressor genes, is reviewed.

Key Words: Asbestosis, pleura, mesothelioma, etiology, mutagenicity tests

Asbest liflerinin inhalasyonu sonucu gelişebilen, diffüz parankimal interstisyel fibrozis, diffüz plevral fibrozis ve kalsifikasyonlar, malign plevral mezotelyoma (MPM) ve akciğer kanseri yüksek sıklıkla ciddi mortalite ve

morbidite sebebi olabilen patolojilerdir. Epidemiyolojik çalışmalar ve olgu raporları, inhalasyonla alınan asbest tozlarının akciğer dışı organlara ait kanser sıklığında da artış oluşturduğunu göstermektedir.^{1,2}

Bu patolojilerin gelişimi sonrasında sosyal ve ekonomik açıdan ciddi ve aşılması zor sorunlar oluşabilmektedir. Bireysel açıdan hayat standardı ve yaşam süresi, henüz tedaviye olanak vermeyecek şekilde kısalmaktadır. Genellikle asbeste bağlı patolojiler, dünyada asbestin sıklıkla kullanıldığı

Geliş Tarihi/Received: 03.06.2004

Kabul Tarihi/Accepted: 26.10.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Tuncer TUĞ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD
23119, ELAZIĞ
tugtuncer@hotmail.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

sanayi alanlarında çalışan işçilerin veya yakınlarının asbestle teması sonrasında gelişmektedir.¹⁻³ Ayrıca, coğrafi olarak arazi yapısı asbest içeren bazı yerleşim alanlarında, asbestli (beyaz) toprağın yapı malzemesi olarak kullanılması, çevresel bir maruziyete yol açabilmektedir. Bu yerleşim birimlerinde çevresel asbest maruziyetine bağlı selim ve malign akciğer ve plevra patolojilerine oransal olarak sık rastlanılmaktadır.³

Literatürde asbest maruziyeti sonucu gelişen MPM olgularında, kromozomal delesyonlara sık olarak rastlanıldığı bildirilmektedir. Son yıllarda yapılan sınırlı sayıdaki moleküler sitogenetik çalışmada MPM'li hastalarda, 1p, 3p, 6q, 9p, 13q, 14q, 15q ve 22q mikrodelesyonları ile birlikte bu bölgelerdeki olası tümör supresör gen (TSG)'lerde allelik kayıp veya inaktivasyon olabileceği bildirilmektedir.^{1,4-6}

Bu raporda, son 60 yılda çevresel ve toplumsal sağlık açısından giderek artan önemli sorunlar oluşturabilen asbest maruziyeti ve MPM'de, etiopatogenez, epidemiyolojik özellikler ve TSG ilişkilerine ait son veriler, mevcut literatür ışığında gözden geçirilmeye çalışıldı.

Asbest

Asbest, Yunanca'da asbestinon kökünden alınmış yanmaz anlamında bir kelime olup, doğada bulunan mineral silikatlardan ibaret lifsel bir maddedir. Ucuz ve kolay elde edilebilen, örgü yapmaya elverişli ve kolay işlenen bir mineral olmakla birlikte, yüksek ısı, sürtünme, güçlü mineral asitler gibi fizik ve kimyasal etkenlere de oldukça dayanıklıdır.^{3,7} Asbest lifleri eğri-kavisli (serpentin) veya düz (amfibol) oluşlarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Asbest tek bir madde değildir. Ca, Mg, Al silikatların bir karışımıdır. Tiplerine göre içlerinde Fe, Ni gibi diğer metaller de bulunabilir.⁷

Asbest Maruziyetinin Etiyolojik ve Epidemiyolojik Özellikleri

Asbest, yapısal özelliklerinden dolayı, inşaat sektörü, kara, deniz, hava taşıtları ve uzay araçlarının yapımı, su ve sıvı atıkların taşınmasında kullanılan boruların yapımı, ısı ve ses izolasyonu, tekstil ve yanmaz elbise yapımı gibi endüstri alanında

3000'den fazla iş kolunda kullanılmaktadır.^{3,7} Bu iş kollarında çalışanlarda ve hatta çalışanların ev ortamına taşıdığı toz minerallerin ev halkınca solunması sonucu asbeste bağlı patolojiler oluşabilmektedir.⁸

Endüstride kullanılan asbestin %90'ını oluşturan ve serpentin grubundan olan krizotil (beyaz asbest), akciğerde hacim kaybederek erimesi ve parçalanması nedeniyle en az zararlı olan asbest türüdür. Buna karşın amfibol grubundan olan krokidolit, amozit ve tremolit en zararlı türlerdir. Tümör gelişimiyle ilişkili olan liflerin çap, boy ve şekli tümör insidansını da etkiler. Çapı 0.25 mikrondan daha az ve boyu 8 mikrondan daha uzun olan ince uzun lifler tümör oluşumunda daha etkindir. Kısa ve kalın lifli olanlar daha az kanserojendir.⁷

Asbest solunması ülkemizde olduğu gibi çevresel yolla da oluşabilmektedir. Türkiye'de Bursa, Kütahya, Konya, Kayseri, Elazığ, Diyarbakır, Malatya, Ş. Urfa, Adıyaman, Sivas, Burdur, Afyon, Kırıkkale, Denizli, Kayseri, Tokat, Amasya, Çankırı, Çorum, Yozgat, Eskişehir ve Ankara'nın kırsal kesimlerinde çevresel kökenli asbest maruziyeti ile ilgili hastalıkların bulunduğu gösterilmiştir. Bu yörelerde ak, gök, höllük veya ceren toprağı olarak bilinen asbestli toprağın, bebeklerde pudra gibi kullanılması, duvarlara kireç yerine badana gibi sürülmesi, çatı toprağı olarak damlara serilmesi sonucunda köylüler çocukluklarından itibaren asbest solumaktadırlar.³

Asbest ve eriyonit maruziyetinin olduğu toplumlarda MPM, önemli bir sağlık sorunudur. Ülkemizin orta ve güneydoğu bölgelerinde yaşayan yaklaşık 16 milyon kişide asbest ve eriyonit lifleri ile çevresel maruziyetin meydana geldiği tahmin edilmektedir. Dicle Üniversitesi Hastanesi'nden elde edilen olgu kayıtlarına göre, çevresel asbest maruziyetinin sık olarak rastlandığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde 1990 ve 1999 yılları arasında bölgesel MPM insidansının 42.9/1.000.000 olarak tahmin edildiği bildirilmektedir.⁹

Asbest maruziyeti riski taşıyan coğrafi bölgelerde yaşayan veya sanayi kollarında çalışan kişilerde MPM sıklığı normal popülasyona göre 20 kat veya daha fazla artmaktadır. İnhalasyon süresinin

uzunluğu ve inhale edilen toz miktarı bu riski artırmaktadır.⁴ Asbeste bağlı hastalıklar, uzun bir latent periyot sonrasında ve tozun solunmasından 20-40 yıl sonra ortaya çıkabilmektedir. MPM'nin insidansı son yıllarda sürekli olarak artmakta ve 2020 yılına kadar bu eğilimin süreceği tahmin edilmektedir.¹

Asbest Liflerinin İnhalasyonu ve Birikimine Ait Özellikler

Kabul edilebilir toz yoğunluğu, krizotil için 0.5-2 lif/cm³, krokidolit için 0.2-1 lif/cm³'dir.² Otopsielerde akciğer kanseri %0.8-2.4 iken asbest işçilerinde bu oran %12-20 bulunmuştur.⁷ Asbeste maruz kalma riskiyle, akciğer dışı organ kanseri sıklığı da belirgin düzeyde artmaktadır. Bu artış gastrik kanserlerde 6 kat, kolon kanserinde ise 3 kat daha fazla saptanmıştır.¹⁰

Asbest liflerinin fiziksel özellikleri nedeniyle boyları 25 mikrondan büyük olanlar bile inhalasyonla hava yollarına takılmadan alveollere kadar ulaşabilirler.⁴

Asbest Maruziyeti Sonucu Gelişen Hücrel Olaylar

Asbest liflerinin düşük yoğunlukta inhalasyonu, bronkoalveoler lavaj (BAL)'da geçici inflamasyona ve lif yüklü alveoler makrofaj (AM)'ların fokal agregasyonuna neden olur. Akciğerde oluşan reversible inflamatuvar lezyonlara rağmen, normal akciğer yapısı korunmaktadır. Yüksek miktarda toz maruziyeti, BAL'da nötrofillerin daha büyük oranlarda birikimi sonucu daha yoğun ve uzamış bir inflamasyonla birlikte bronşiyal epitelyal hücrelerin, tip 2 alveoler hücrelerin ve interstisyel fibroblastların proliferasyonuna neden olmaktadır. Daha sonraki süreçte, artmış kollajen biyosentezinin bir indikatörü olan akciğer hidroksprolininde önemli artışlar ve pulmoner fibrozisin histopatolojik değişimleri meydana gelmektedir.^{11,12}

Asbestin Oluşturduğu İnflamasyon ve Fibrozisin Mediatörleri

Demirden zengin lifler, süperoksit (O₂⁻) ve hidroksil radikali (OH⁻) üreten oksidan türlerin

üretimine sebep olan çapraz reaksiyonları katalize edebilir.¹¹

Uzun fiberler reaktif oksijen türlerinin "reactive oxygen species (ROS)" kalıcı üretimine sebep olur ve muhtemelen kısa fiberlerden daha etkili bir şekilde hücre bölünmesi ve büyümesini etkilerler.¹ Asbest maruziyeti ile ilişkili akciğer hastalıklarının patogeneğinde en önemli reaktif metabolitler O₂⁻, hidrojen peroksit, OH⁻ ve nitrik oksittir.^{13,14} Asbest özellikle, maruziyetin ilk 10 dk.sı içinde inflamatuvar hücrelerde lipid peroksidasyonuna sebep olur.¹⁵

Asbest liflerinin fagositozuna yol açan tetikle-yici mekanizma açık olmayıp hücreye veya asbest tipine spesifik olabilir.

Asbest lifleri, özellikle de krokidolit gibi demirden zengin şekiller, lif yüzeyinde oluşan çapraz reaksiyonlar ile doğrudan oksidanların oluşumunu sağlayabilir. ROS ve reaktif nitrojen türleri "reactive nitrogen species (RNS)" arasındaki güçlü çapraz reaksiyon, O₂⁻'den ve nitrik oksitten peroksinitritin oluşumunun saptanması yoluyla gösterilmiştir. Asbest liflerine AM'nin maruziyeti in vitro olarak indüklenebilir nitrik oksit sentetaz "inducible nitric oxide synthase (iNOS)"ın transkripsiyonel aktivasyonuna neden olur ve makrofajlarda kararlı denge düzeyindeki mRNA seviyesini artırır.^{16,17} Reaktif oksijen ve nitrojen türleri DNA'nın kırılmasına, hücre sinyal yolları içerisinde yer alan fosfatazları içeren hücrel proteinlerin modifikasyonuna, lipid peroksidasyonu ve tümör nekrozis faktör alfa "Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF-α)" gibi sitokinlerin serbest bırakılmasına sebep oldukları için, değişik hücrelerden radikal oluşumunun artışı ile pulmoner fibrozis ve inflamasyonun oluşumundaki hücrel olaylarda çeşitli rollere sahip olabilecekleri bildirilmiştir.^{18,19} İn vitro çalışmalarda krizotil ya da krokidolit asbeste maruziyeti takiben interlökin "Interleukin (IL)" türlerinden olan IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 gibi çeşitli sitokinlerle birlikte TNF'de artış saptanması, sitokinlerin asbest nedenli patolojilerin patogeneziyle (öncelikle akciğer fibrozisinde) ilişkili olduklarının kanıtları olarak gösterilmektedir.^{11,16}

Asbest Maruziyeti ile İlişkili Patolojik Değişimler

Asbestle ilişkili hastalıklar; neoplastik hastalıklar (sık olarak malign mezotelyoma, bronş kanseri gelişimi yanında gastrointestinal sistem, over, meme kaynaklı diğer ekstrapulmoner karsinomalar), asbestozis (akciğer fibrozisi ve kaplan sendromu), immünolojik değişiklikler, plevral reaksiyonlar (plevral efüzyon, plevral plaklar, plevral kalınlaşma) olarak sıralanabilir.^{4,7}

Malign mezotelyoma

Diffüz malign mezotelyoma vücut kavitesini örten mezotel hücrelerinden kaynaklanan, hızlı ilerleme (progresyon), geç metastaz ve kötü prognoz ile karakterize seyrek ve agresif bir tümördür.^{4,20} Vücut kavitesinin herhangi birinde oluşabilir. En sık plevrada (MPM) ve peritonda, daha az sıklıkla da perikart ve testisin tunika vaginalisinde oluşur. Mezotelyomada plevra, periton ve perikarddan 2-5 kez daha sık olarak tutulmaktadır.^{7,21}

MPM hastalarının büyük kısmında asbest maruziyeti önemlidir ve uzun süre asbestin yüksek dozlarına maruz kalan bireylerin %2-10'unda bu maligniteye rastlanmaktadır.⁴ Bu malignenside bir karsinojen olarak asbestin bulunması, ilk olarak Güney Afrika'da asbest minerallerinin çalışma sahalarında gösterilmiştir.¹ Bu patolojinin gelişiminde başta asbestin amfibol grubundan krokidolit, amozit ve tremolit olmak üzere bütün asbest türleri ve fibröz zeolit önemli etkenlerdir. Türkiye'de Doğu ve Güneydoğu Anadolu'nun asbestli bölgelerinde, daha çok tremolit türü lifsel mineralin maruziyeti söz konusudur. MPM'nin diğer muhtemel nedenleri, insan yapımı-sentetik mineral lifler, asbestiform mineraller, berilyum, platinyum, tüberkülozun klasik kollapsoterapisi ve kronik kalsifik plevral tüberkülozdur.⁷

Malign plevral mezotelyomada tedavi ve korunmada epidemiyolojik özellikler

Etkin bir tedavi şekli olmamakla birlikte kesin tanı, plevral doku örneklerinin patolojik incelenmesi ile konmaktadır.⁷ Malign mezotelyoma genel popülasyonda nadir bir hastalık olup, yaklaşık 1-2.2 olgu/milyon/yıl, sıklığında iken, endüstrileşmiş

toplumlarda sıklık 2-5 kat artmaktadır. ABD'de MPM sıklığı, erkeklerde 11.4, bayanlarda 1-2 olgu/milyon/yıl olarak bildirilmektedir. Asbest maruziyeti olmayan toplumlarda kadın erkek dağılımı eşittir. Asbest sanayinde çalışan işçilerde ve asbestli yerleşim alanları gibi çevresel asbest teması olan alanlarda yaşayanlarda ise malign mezotelyoma sıklığı 20 kat veya daha fazla artmaktadır. Asbest işçilerinin otopsislerinde mezotelyoma sıklığı genel popülasyondan 300 kat fazla olup, %3 civarındadır.^{2,7} Dünyada son 60 yılda insidans giderek artmaktadır.² MPM için kemoterapi ya da cerrahiye içeren konvansiyonel tedavilerin hastaların yaşam sürelerine katkıları oldukça azdır veya yoktur.²¹

Korunmada, hastalığın nedeni olan doğal lifsel minerallerin solunmasının önlenmesi esastır. Asbestin amfibol grubundan olan krokidolit, amozit ve tremolitin üretilmesi ve işlenmesi kesinlikle yasaklanmalıdır. Çalışanların ilk işe başlamalarında; klinik, radyolojik ve fizyolojik tarama yapılmalı ve bunlar periyodik olarak tekrarlanmalıdır. Sigara içenler bu sanayi dalında çalıştırılmamalıdır. İşçiler mutlaka maske kullanılmalı ve iş ortamındaki havada lif sayısı 1-2 lif/cm³ tutulmalı ve sık sık ölçümler yapılmalıdır. Çalışanlar işten sonra yıkanmalı ve iş elbiseleriyle evlerine gitmemelidir.⁷

Malign plevral mezotelyomada asbest maruziyetine bağlı onkogenezin mekanizmaları

Asbest lifleri yüzeyinde üretilen serbest radikallerin mutajenik özellikleri, liflerden zarar görmüş hücrelerden salınan O₂⁻ler ve hedef hücrelerle liflerin direkt fiziksel etkileşiminin, genetik değişiklikleri ve hücre proliferasyonunu uyararak mezotelyal hücreler üzerinde karsinojenik etkiler oluşturduğu kabul edilmektedir.^{4,15} Asbest liflerinin fagositozu esnasında AM³larca oksidan maddelerin aşırı üretimi, mezotelyal hücrelerdeki oksidatif zararı yansıtan ve mezotel hücrelerince üretilen ROS'nin da kalıcı üretimine yol açmaktadır.^{1,22} Asbest lifleri tarafından oluşturulan ROS ve RNS'nin p53 gibi TSG'lerin inaktivasyona neden olarak tümör oluşumu üzerinde etkili olabilecekleri de bildirilmektedir.¹⁵ İn vitro deneylerde kültürü yapılan insan mezotelyal hücreleri düşük konsan-

trasyonda asbest liflerine maruz bırakılırsa yaygın kromozomal yeniden yapılanmalar gelişebilmektedir.⁴ Asbestin, doku kültürlerinde mitotik aygıtla fiziksel olarak etkileşerek kromozomal zarara yol açtığı gösterilmiştir.²³

Asbest, reseptör aracılığı yolu ile gen transaktivasyonunun hücre içi sinyal yolunu başlatarak gen ekspresyonunu uyarabilmektedir.²⁴ Sinyal yolları hücresel proliferasyon ve inflamasyon gelişimi için önemli olan gen aktivitesine yol açabilmektedir.¹¹ Asbest, DNA sentezinin başlangıcında önemli değişik genleri aktive eden transkripsiyon faktörlerini kodlayan, c-fos ve c-jun protoonkogenlerini de aktive edebilir. Maruziyeti takiben bu transkripsiyon aktivatörlerinin kalıcı indüksiyonu hücresel proliferasyonu ve sonraki mutasyonlara yatkınlığı artırabilmektedir.¹ Ratlarda yapılan çalışmalarda asbest inhalasyonunu takiben c-jun ve ornitin dekarboksilaz “ornithine decarboxylase (odc)”ın mRNA seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.²⁵ Asbest maruziyetinde memeli DNA’sının bir tamir enzimi olan apürinik/apirimidinik “apurinic/apirimidinic (AP)” endonükleazın enzimatik aktivitesinin uyarıldığı gösterilmesi, asbestin oluşturduğu ROS’nın DNA hasarına neden olduğunu düşündüren önemli bir bulgudur.^{26,27} Ayrıca oksidatif stres bir antioksidan enzim olan manganez süperoksit dismutaz “manganase superoxide dismutase (MnSOD)”ı ya da DNA tamirinde rolü olan AP-endonükleazı düzenlemektedir. MnSOD’nın aşırı oluşması, trakeal epitelyal hücrelerde asbest aracılı toksisiteyi azaltmaktadır.^{15,28}

Mitojenin aktive ettiği protein kinaz “mitogen-activated protein kinase (MAPK)” yolu, hücre dışı sinyal aracılı kinazlar “extracellular signal-related kinases (ERK)”, c-jun NH₂-terminal kinazlar “c-jun NH₂-terminal kinases (JNK)”, ya da stresle aktive olan protein kinazlar “stres-activated protein kinases (SAPK)” ve p38 ile katalize edilen bir seri fosforilasyon olaylarıyla karakterize edilmektedir.¹¹ Bu MAPK yolları, AP-1 gibi gen ekspresyonuna aracı olan çok sayıda nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda rol oynayabilirler.^{11,29} Asbest lifleri, mezotelyal hücrelerde apoptozise ve/veya hücre proliferasyonuna yol açan ERK

fosforilasyonu ve aktivitesini selektif olarak teşvik etmektedir.²⁹ Asbest maruziyeti ile meydana gelen MAPK sinyal olayları, hastalığın fenotipik gidişi için sorumlu gen transkripsiyonunda belirleyici faktörler olabilir. Asbest inhalasyonu, nükleer faktör kappa beta “nuclear factor kappa beta (NF- κ B)”nın transkripsiyonel aktivasyon gücü için sorumlu alt birimi olan p65’in immünreaktivitesini arttırmaktadır.^{11,15}

Malign mezotelyomanın kalıtsal özelliği

Glutatyon-S-transferaz-M1 ve N-asetil transferaz-2-genlerindeki kalıtsal defektlerin, asbest ile ilişkili MPM gelişimine katkıda bulunan faktörler olduğu da ileri sürülmektedir.³⁰ MPM ve asbest ile ilişkili akciğer patolojilerinin gelişiminde, serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonunun onarımı için gereken glutatyon-S-transferaz-M1 kapasitesindeki azalma rol oynamaktadır.^{15,28} Aile hikayesinde kanser varlığı, MPM için bir risk faktörü olabilir.¹⁰ Ancak, MPM’de sadece birkaç ailesel olgunun bildirilmiş olması ve bunların hiçbirinin genetik düzeyde karakterize edilememiş olması bu faktörün değerini azaltmaktadır.^{5,30} Bununla birlikte, Hammady ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye’de çevresel asbest maruziyeti ve MPM’nin sık geliştiği Kapadokya bölgesindeki kırsal yerleşimlerde, 526 kişinin 6 kuşaklık pedigrilerinin incelenmesi sonucu MPM’nin genetik geçiş gösterdiği 6 aile belirlenmiştir.³¹ Bu geçişin ise muhtemel olarak otozomal dominant olduğu bildirilmiş olup, asbestin MPM için bir kofaktör olabileceği de ifade edilmiştir.^{31,32} Ailesel yatkınlığı destekleyen bir diğer bulgu da, 31 MPM hastasında HLA-B41, -B58 ve -DR16 antijenlerinin kontrollerden anlamlı düzeyde daha sık rastlandığının saptanmasıdır. Ayrıca, HLA-B27 antijeninin mezotelyomaya karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceği de belirtilmektedir.^{32,33}

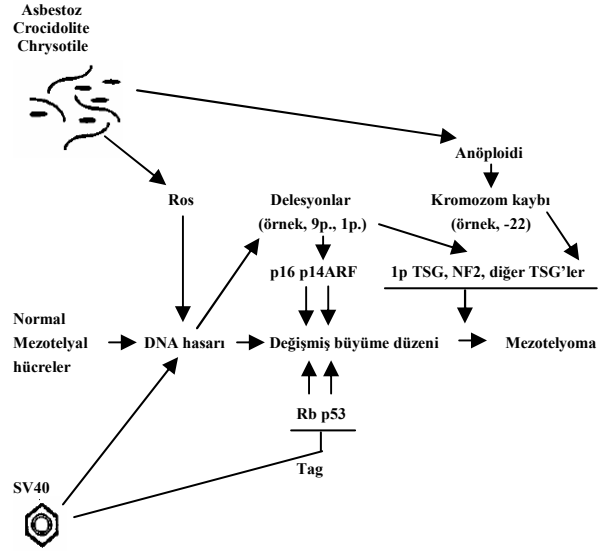
Asbestin mezotelyal ve epitelyal hücrelerde neden olduğu toksisitenin bir sonucu olarak gelişen oksidatif DNA hasarı, 8-hidroksi-2’ deoksi guanozinin (8-OHdG) oluşumuyla da gösterilebilmektedir.^{11,34}

İnsan mezotelyomalarında Simian Virus 40 (SV40)'ın onkogeneze etkileri

Asbestin sitotoksik etkisini, genotoksik hasarlı gen ekspresyonunu teşvik ederek hücre proliferasyonu ve kronik inflamasyonun uyarılması yoluyla oluşturduğu deneysel olarak gösterilmiştir.³⁵ Doğal tip p53 proteini, genomik stabilitenin sürdürülmesinde ve DNA hasarına cevapta hücre siklusunun durdurulmasında önemlidir.³⁶ p53 TSG'indeki mutasyonlar, kanserlerde rastlanılan en yaygın somatik genetik değişimlerden biridir. Kanserlerde p53 genindeki mutasyonlar, serumda mutant p53 proteinindeki artışla birlikte, tümör dokusunda mutant p53 proteininin birikimine de yol açmaktadır.^{12,37} Asbest maruziyetine bağlı akciğer tümörlerinde de p53 proteini birikimi olduğu bildirilmiştir.³⁵ MPM'li hastalarda kromozom 17p üzerindeki p53 TSG'inin inaktivasyonunun malignitenin invazyon-metastaz döneminde olduğu belirlenmiştir.⁵ Malign mezotelyomalarda ise, p53 geninin mutasyona uğramadığı; fakat SV40 "virus Large T antijen (SV40 Tag)" ile inaktive edilmiş olabildiği öne sürülmüştür.^{36,37} İnsan malign mezotelyomasının gelişiminde SV40 virüsü etkilerinin, direkt DNA hasarı ve/veya SV40 Tag bağımlı TSG inaktivasyonu yoluyla olduğuna inanılmaktadır.¹ Bu süreç SV40 içeren hücrelerde kolaylaşabilir. Çünkü asbest ile zarar görmüş hücrelerde p53'ün inhibisyonu, DNA tamiri ve apoptozisin bozulmasına neden olabilir.^{1,4} SV40 virüsünün insan mezotel hücrelerinin asbeste duyarlılığını artırması, asbeste bağlı lezyonlarda fenotipik değişimlere ve onkojenik transformasyona sebep olması yanında, az sayıdaki olguda da asbestle ilişkisi olmaksızın malign transformasyonla mezotel-yoma oluşturabileceği bildirilmektedir (Şekil 1).¹ Türkiye'de asbest veya eriyonit maruziyeti olan MPM'li 29 hastadan elde edilen doku örneklerinin hiçbirinde SV40 DNA'sı saptanmamıştır. Bu sonucun, Türkiye'de SV40 kontaminasyonu olan aşuların uygulanmamasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür.³²

Maligen plevral mezotelyomada saptanan kromozomal delesyonlar

Tüm MPM'ler tarafından paylaşılan spesifik bir kromozomal değişiklik olmamasına rağmen, MPM'deki en yaygın sitogenetik anormallikler



Şekil 1. SV40 ve asbestin mezotelyoma patogenezi üzerindeki rolleri.¹

SV40: Simian virüs 40, Tag: SV40 büyük T antijen, ROS: Reaktif oksijen türleri, Rb: Retinoblastoma, NF2: Nörofibromatozis tip 2, TSG: Tümör supressör gen, Crocidolite (Krocidolit) ve Chrysotile (Krizotil) asbest türleri.

farklı kromozom bölgelerini içeren delesyonlardır. Delesyona uğrayan kromozomlardaki TSG'lerin inaktivasyonunun mezotelyal hücrelerin neoplastik transformasyonundan sorumlu olabileceği tahmin edilmektedir.¹

MPM'de tüm kromozomlar, sıklıkla kazançlardan ziyade kayıplardan oluşan sayısal değişiklikleri gösterirler. Ayrıca, Y kromozomu hariç tüm kromozomlarda yapısal değişiklikler saptanmıştır.^{1,4} 1p21-22, 3p21, 6q15-21, 9p21-22, 13q, 14q23-24, 15q11-21, 17p13 ve 22q11 bölgelerinde çok yüksek sıklıkta delesyonlar tespit edilmiştir.^{4,38,39}

MPM'de sık tekrarlayan sitogenetik delesyonlar; bu tip tümörlerin gelişimi ve ilerlemesinde TSG'lerin inaktivasyonu ve/veya kaybının önemli olduğunu düşündürmektedir.^{5,6} Heterozigosite kaybı= "Loss of heterozygosity (LOH)" çalışmaları ile MPM olgularının yaklaşık %45'inde 1p36'dan allelik kayıp tespit edilmiştir. MPM'li hastalarda kromozom 3p'deki allelik kayıplar sıklıkla 3p21.3 (%69)'de ve 3p21.1 (%62)'de lokalizedir. 3p21 delesyonları, küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde de bildirilmiştir.⁴

MPM'de kromozom 6q'da allelik kayıpların sık olarak bildirildiği bölgeler, 6q14-21, 6q16.3-21, 6q21-23.2, 6q25 ve kromozom 9p'nin özellikle 9p21-p22'de yoğunlaşmıştır. Sonraki LOH çalışmaları, bu kromozomal bölgelerin her birinden allelik kayıpların yüksek sıklıkta oluştuğunu bildirmektedir. Pozisyonel aday gen yaklaşımı 9p21'de CDKN2/MTS1/p16 ve 22q12'de NF2 gibi iki TSG tanımlamıştır.^{4,6} Kromozom 6q'da lokalize 30 polimorfik belirleyici ile yapılan LOH analizi, bu kromozom kolundan allelik kaybın karmaşık bir şeklini ortaya koymuştur. Delesyonlar; her biri tüm delesyonların çakıştığı en kısa bölge "shortest region overlap (SRO)" olarak adlandırılan ve 6q14-q21 (SRO1), 6q16.3-q21 (SRO2), 6q21-q23.2 (SRO3) ve 6q25 (SRO4) lokalizasyonlarını içeren 4 ayrı bölgede saptanmıştır.^{1,4,6}

MPM'de delesyona uğrayan bölgelerin tümü, diğer insan kanserlerinde de sıklıkla tespit edilmiştir: Erkek germ hücre tümörlerinde 1p22, akciğer, böbrek, uterus tiroid ve meme tümörlerinde 3p21, meme kanseri, over kanseri ve non-Hodgkin lenfomada 6q ve prostat kanseri, over kanseri ve paratroid adenomasında 15q delesyonları gösterilmiştir.^{4,40,41} 6q'dan genomik kaybın 3 ya da 4 SRO bölgesi meme kanseri, over kanseri ve non-Hodgkin's lenfoma gibi diğer malignensi tiplerinde de tarif edilmiştir.^{1,4,40,41}

Önceki çalışmalarda MPM gelişen hastalarda 6q ve 9p'de bu malignitenin gelişiminde önemli etkisi olabilecek TSG kayıpları bildirilmekle birlikte MPM'nin erken evresinde 6q, ilerlemiş evresinde ise 9p'de TSG kayıpları olduğu vurgulanmaktadır.⁵

MPM biyopsi örnekleri, plevral sıvılar ve hücre hatlarının kromozom analizleri karmaşık bir karyotip göstermektedir. MPM'lerde çok çeşitli kromozomal anormalliklerine sık olarak rastlanılmaktadır.¹ Çoğu malignensiler, anöploid, gen amplifikasyonu ve kromozomal delesyon gibi değişik kromozomal kararsızlıklar ile birlikte.⁴²

Asbest, mezotelyum gibi yenilenen dokularda hücre proliferasyonunu stimüle eder. Kemirgenlerle yapılan çalışmalarda, asbest bir karsinojenle birleşerek, bir tümör promotörü gibi davranmaktadır.¹ Asbest maruziyetine bağlı MPM, bir

epigenetik mekanizma yoluyla ve kök hücre proliferasyonu ile başlayabilir. Birkaç dekadan beri sürmekte olan, asbestin neden olduğu kromozomların yanlış ayırımı (missegregation) ve spontan oluşan mutasyonlarda ilerleyici bir birikim izlenmektedir.⁴³ İnsan MPM'sinde tüm kromozomlarda kayıp gözlenmekle birlikte, özellikle 22. kromozom kaybı yaygındır. Böylece, MPM'de bir TSG'in kopyası (kromozom 22'de lokalize olan, NF2) mutasyona uğramakta ve kromozomal missegregasyonla da 2. kayıp meydana gelmektedir. İn vitro deneyler, insan mezotelyal hücrelerinin düşük düzeyde asbest liflerine maruziyetinden sonra, büyük sayısal ve yapısal anormallikler kazandığını göstermiştir. Asbest maruziyetine bağlı MPM'li hastalarda, normal mezotelyal hücrelerde aynı kromozomal lokalizasyonlarda tekrarlayıcı ve yapısal olarak yeniden düzenlenen kırık noktaların olduğu gözlenmiştir.^{5,38}

MPM'de sık rastlanılan TSG değişimleri

a. MPM'de P16/CDKN2A'nın değişimi

Kromozom 9p21, p16(INK4a) ve p14(ARF) TSG'lerini içeren bir lokustur. MPM'li hastaların tümör hücre hatlarında bir ya da daha fazla lokusta (%43) homozigot ya da hemizigot delesyonlara rastlanmıştır.^{30,44} İnsan MPM'lerinde şimdiye kadar bulunan en sık genom değişikliği, p16(INK4a) ve NF2 TSG'lerinde delesyonlar ve nokta mutasyonlarıdır.^{1,45} MPM'de p53 ve RB genleri değişmemektedir. p16(INK4a) ve p14(ARF) gibi bu yolun ilave komponentleri inaktive olmaya eğilimlidir. MPM'de p14(ARF) gen değişimleri nadirken, p16(INK4a) gen değişimleri nispeten daha yaygındır.^{45,46} p16 ile kodlanan protein, CDK4'e bağlanarak CDK4/siklin D enzimlerinin katalitik aktivitesini inhibe etmektedir.^{1,4}

CDK4 ökaryotik hücrelerin hücre bölünmesini düzenleyen proteinlerden CDK ailesinin bir üyesidir. Tüm CDK'lar, spesifik siklinlerle aktive edilir ve CDK4 ve D-tip siklin ile oluşturulan kompleks G1 faz esnasında hücre siklusu kontrolünde harcanır. p16'nın homozigot delesyonları birçok tümör tipinden türetilen hücre kuşaklarında yüksek sıklıkta tespit edilmiştir.⁴ p14ARF ürünü, Ras gibi onkogenlerin etkinliğine cevapta p53'ün aktivas-

yonu için gerekli iken MPM'de asbest gibi ajanların oluşturduğu DNA hasarına cevapta p53'ün aktivasyonunda gerekli olmamaktadır. Bu veriler, MPM'de 9p21 delesyonlarıyla p16/CDKN2A'nın bu bölgede önemli bir TSG olduğunu desteklemektedir.¹ Ras onkoprotein, erionite bağlı MPM olgularının %25'inde ve asbeste bağlı MPM olgularının %6'sında aktif olduğu gösterilmiştir.⁴⁷ DNA analizlerinde, 9p21-p22'deki interferon lokusunun delesyonları; akut lenfoblastik lösemi, glioma, melanom, akciğer kanseri ve mesane kanseri gibi çeşitli tümör tiplerinde de sıklıkla saptanmıştır.⁴

b. NF2 değişimleri

NF2 TSG, herediter nörofibromatozis tip 2 hastalığından sorumlu gendir. Genetik linkaj analizleri ile NF2 geninin kromozom 22 üzerinde olduğu belirlenmiştir.^{4,38} MPM'de kromozom 22'nin kaybı, en sık sayısal sitogenetik anormalliktir. Kromozom 22'de delesyonun bölgesi tarif edilmemiştir, çünkü kromozom 22'nin tümünün bir ya da her iki kopyasının kaybedildiği birçok olguda gözlenmiştir.¹ Ayrıca, 22q11'de kırık ile kromozom 22'nin derivatif yeniden düzenlenmesi birkaç olguda gözlenmiştir. Delesyonun önemli bölgesi 22q11'in distal kısmıdır. Yirmi beş MPM hastasında LOH analizi ile kromozom 22q12'de NF2 lokusunun etrafında lokalize olan 2 mikrosatellit belirleyici kullanılarak test edilen hücre serilerinin 18 (%72)'inde her iki lokusta ya da birinde kayıplar belirlenmiştir. Bu sonucun, MPM'de NF2'nin inaktivasyonunun bir çift vuruş mekanizması yoluyla olduğunu desteklediği vurgulanmıştır.^{1,4,38}

Sonuç ve Tartışma

MPM'li hastalarda ortak, spesifik tek bir sitogenetik değişiklik yoktur. Sitogenetik ve moleküler genetik çalışmalardan elde edilen verilerde MPM'nin karakteristik somatik genetik değişikliklerinin kompleks profili, bu malignensideki tümörigenezisin çok yönlü-çok adımlı bir süreç olduğunu göstermektedir. MPM'de tüm kromozomlar, sıklıkla kazançlardan ziyade kayıplardan oluşan sayısal değişiklikleri göstermektedir. Y kromozomu hariç tüm kromozomlarda yapısal değişiklikler saptanmıştır. Ayrıca sınırlı sayıdaki bazı çalışmalarda,

birkaç olguda MPM'nin gelişiminde genetik-ailesel yatkınlık veya SV 40 virüsünün kofaktör olabileceği yönünde görüşler de vardır.

MPM'de sık tekrarlayan sitogenetik delesyonlar, bu tip tümörlerin gelişimi ve ilerlemesinde birçok TSG'in inaktivasyonu ve/veya kaybının önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle 1p21-22, 3p21, 6q15-21, 9p21-22, 13q, 14q23-24, 15q11-21, 17p13 ve 22q11 bölgelerinde çok yüksek sıklıkta delesyonlar tespit edilmiştir. MPM'de gelişen moleküler-genetik değişimlere yönelik gelecekte yapılacak daha özgün çalışmalar hastalığın patogenezi, prognoz, tanı ve tedavisine ciddi katkılar sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Murthy SS, Testa JR. Asbestos, chromosomal deletions, and tumor suppressor gene alterations in human malignant mesothelioma. *J Cell Physiol* 1999;180:150-7.
2. Light RW. Malignant and benign mesotheliomas. *Pleural Diseases*. 3rd ed. USA: A Walery Company; 1995. p.117-28.
3. Kılıçaslan Z. Mesleki ve çevresel akciğer hastalıkları. In: Arseven O, ed. *Akciğer Hastalıkları*. İstanbul: Alemdar Ofset; 2002. p. 371-405.
4. Lee WC, Testa JR. Somatic genetic alteration in human malignant mesothelioma. *Int J Oncol* 1999;14:181-8.
5. Ribotta M, Roseo F, Salvio M, et al. Recurrent chromosome 6 abnormalities in malignant mesothelioma. *Monaldi Arch Chest Dis* 1998;53:228-35.
6. Bell DW, Jhanwar SC, Testa JR. Multiple region of allelic loss from chromosome arm 6q in malignant mesothelioma. *Cancer Res* 1997;57:4057-62.
7. Barış Yİ. Asbestos and Erionite Related Chest Diseases. Ankara: Semih Ofset; 1987. p.36-102.
8. Çöplü L, Dumortier P, Demir AU, et al. An epidemiological study in an anatolian village in Turkey environmentally exposed to tremolite asbestos. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1996;15:177-82.
9. Senyigit A, Babayigit C, Gokirmak M, et al. Incidence of malignant pleural mesothelioma due to environmental asbestos fiber exposure in Southeast of Turkey. *Respiration* 2000; 67: 610-4.
10. Billings CG, Howard P. Asbestos exposure, lung cancer and asbestosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 2000;55:151-6.
11. Robledo R, Mossman B. Cellular and molecular mechanisms of asbestos-induced fibrosis. *J of Cel Physiol* 1999;180:158-66.
12. Vaslet CA, Messier NJ, Kane AB. Accelerated progression of asbestos-induced mesotheliomas in heterozygous p53+/- mice. *Toxicol Sci* 2002;68:331-8.
13. Otero Arean C, Barcelo F, Fenoglio I, Fubini B, Llabres i Xamena FX, Tomatis M. Free radical activity of natural and heat treated amphibole asbestos. *J Inorg Biochem* 2001;83:211-6.
14. Park SH, Aust AE. Regulation of nitric synthase induction by iron and glutathione in asbestos-treated human lung epithelial cells. *Arch Biochem Biophys* 1998;360:47-52.

15. Kinnula VL. Oxidant and antioxidant mechanisms of lung disease caused by asbestos fibres. *Eur Respir J* 1999;14:706-16.
16. Porta C, Rizzo V, Zimatore M, Sartore-Bianchi A, Danova M, Muti L. Intrapleural interleukin-2 induces nitric oxide production in pleural effusions from malignant mesothelioma: A possible mechanism of interleukin-2-mediated cytotoxicity. *Lung Cancer* 2002;38:159-62.
17. Quinlan TR, Hacker MP, Taatjes D, et al. Mechanisms of asbestos-induced nitric oxide production by rat alveolar macrophages in inhalation and in vitro models. *Free Radic Biol Med* 1998;24:778-88.
18. Choe N, Tanaka S, Xia W, Hemenway DR, Roggli VL, Kagan E. Pleural macrophage recruitment and activation in asbestos-induced pleural injury. *Environ Health Perspect* 1997;105:1257-60.
19. Gossart S, Cambon C, Orfila C, et al. Reactive oxygen intermediates as regulators of TNF-alpha production in rat lung inflammation induced by silica. *J Immunol* 1996;156:1540-8.
20. Xia C, Xu Z, Yuan X, et al. Induction of apoptosis in mesothelioma cells by antisurvivin oligonucleotides. *Mol Cancer Ther* 2002;1:687-94.
21. Masood R, Kundra A, Zhu S, et al. Malignant mesothelioma growth inhibition by agents that target the VEGF and VEGF-C autocrine loops. *Int J Cancer* 2003;104:603-10.
22. Zhu S, Manuel M, Tanaka S, Choe N, Kagan E, Matalon S. Contribution of reactive oxygen and nitrogen species to particulate-induced lung injury. *Environ Health Perspect* 1998;106:1157-61.
23. Ault JG, Cole RW, Jensen CG, Jensen LC, Bachert LA, Rieder CL. Behavior of crocidolite asbestos during mitosis in living vertebrate lung epithelial cells. *Cancer Res* 1995;55:792-8.
24. Mossman BT, Faux S, Janssen Y, et al. Cell signaling pathways elicited by asbestos. *Environ Health Perspect* 1997;105:1121-5.
25. Quinlan TR, Berube KA, Marsh JP, et al. Patterns of inflammation, cell proliferation, and related gene expression in lung after inhalation of chrysotile asbestos. *Am J Pathol* 1995;147:728-39.
26. Chao CC, Park SH, Aust AE. Participation of nitric oxide and iron in the oxidation of DNA in asbestos-treated human lung epithelial cells. *Arch Biochem Biophys* 1996;326:152-7.
27. Fung H, Kow YW, Van Houten B, et al. Asbestos increases mammalian AP-endonuclease gene expression, protein levels, and enzyme activity in mesothelial cells. *Cancer Res* 1998;58:189-94.
28. Hirvonen A, Tuimala J, Ollikainen T, Linnainmaa K, Kinnula V. Manganese superoxide dismutase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *Cancer Lett* 2002;178:71-4.
29. Zanella CL, Posada J, Triton TR, Mossman BT. Asbestos causes stimulation of the extracellular signal-related kinase 1 mitogen-activated protein kinase cascade after phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. *Cancer Res* 1996;56:5334-8.
30. Ascoli V, Aalto Y, Carnovale-Scalzo C, et al. DNA copy number changes in familial malignant mesothelioma. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2001;127:80-2.
31. Hammady IR, Siegel J, Emri S, Testa JR, Carbone M. Genetic susceptibility factor and malignant mesothelioma in the Cappadocian region of Turkey. *Lancet* 2001;357:444-5.
32. Emri S, Demir A, Dogan M, et al. Lung diseases due to environmental exposures to erionite and asbestos in Turkey. *Toxicol Lett* 2002;127:251-7.
33. Karakoca Y, Emri S, Bağcı T, Erdem Y, Baris E, Sahin AA. Environmentally induced malignant pleural mesothelioma and HLA distribution in Turkey. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:1017-22.
34. Fung H, Kow YW, Van Houten B, Mossman BT. Patterns of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in DNA and indications of oxidative stress in rat and human pleural mesothelial cells after exposure to crocidolite asbestos. *Carcinogenesis* 1997;18:825-32.
35. Husgafvel-Pursiainen K, Kannio A, Oksa P, et al. Mutations, tissue accumulations, and serum levels of p53 in patients with occupational cancers from asbestos and silica exposure. *Environ and Mol Mutagen* 1997;30:224-30.
36. Bocchetta M, Miele L, Pass HI, Carbone M. Notch-1 induction, a novel activity of SV 40 required for growth of SV40-transformed human mesothelial cells. *Oncogene* 2003;22:81-9.
37. Vivo C, Lecomte C, Levy F, et al. Cell cycle checkpoint status in human malignant mesothelioma cell lines: Response to gamma radiation. *Br J Cancer* 2003;88:388-95.
38. Baslara BR, Bell DW, Sonoda G, et al. Comparative genomic hybridization and loss of heterozygosity analyses identify a common region of deletion at 15q11.1-15 in human malignant mesothelioma. *Cancer Res* 1999;59:450-4.
39. De Rienzo A, Testa JR. Recent advances in the molecular analysis of human malignant mesothelioma. *Clin Ter* 2000;151:433-8.
40. Orphanos V, McGrown G, Hey Y, et al. Allelic imbalance of chromosome 6q in ovarian tumors. *Br J Cancer* 1995;71:666-9.
41. Sheng ZM, Marchetti A, Buttitta F, et al. Multiple regions of chromosome 6q affected by loss of heterozygosity in primary human breast carcinomas. *Br J Cancer* 1996;73:144-7.
42. Brandt BH. Molecular diagnostics of solid malignant tumors. *Clin Lab* 2002;48:605-15.
43. Knudson A. Asbestos and mesothelioma: Genetic lessons from a tragedy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10819-20.
44. Wong L, Zhou J, Anderson D, Kratzke RA. Inactivation of p16(INK4a) expression malignant mesothelioma by methylation. *Lung Cancer* 2002;38:131-6.
45. Dopp E, Poser I, Papp T. Interphase fish analysis of cell cycle genes in asbestos-treated human mesothelial cells (HMC), SV40-transformed HMC (MeT-5A) and mesothelioma cells (COLO). *Cell Mol Biol* 2002;48:Online Pub:OL271-7.
46. Hirao T, Bueno R, Chen CJ, Gordon GJ, Heilig E, Kelsey KT. Alteration of the p16(INK4) locus in human malignant mesothelial tumors. *Carcinogenesis* 2002;23:1127-30.
47. Olut A, Firat P, Ertuğrul D, Güngen Y, Emri S. Ras oncoprotein expression in erionite and asbestos induced Turkish malignant pleural mesothelioma patients a pilot study. *Respir Med* 2001;95:697-8.