

Oral epitel dokularda panoramik radyografinin genotoksik etkileri

Hülya Çakır Karabaş(0000-0001-9258-053X)^α, İlknur Özcan(0000-0001-9006-5630)^α, Semra Dölek Güler(0000-0003-4384-1865)^β

Selcuk Dent J, ODMFR 2019 Kongre Kitapçığı Özel Sayısı

Başvuru Tarihi: 20 Ocak 2019
Yayın Kabul Tarihi: 13 Şubat 2019

ÖZ

Oral epitel dokularda panoramik radyografinin genotoksik etkileri

Amaç: X ışınları gen mutasyonları ve kromozomal aberasyonlara sebep olabilen potansiyel mutajenik ajanlardan biridir. Bu çalışmada, panoramik radyografi alınan hastaların hücre çekirdeğinde oluşabilecek hasarı gözlemek için mikronükleus testi uygulanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda, dental tanı nedeni ile panoramik radyografi alınması gereken 30 gönüllü hastanın bukkal mukoza sürüntü hücreleri radyografi öncesi ve radyografiden 2 hafta sonra alınmıştır. Her bir sürüntüdeki 1000 hücrenin çekirdeğindeki değişiklikler ışık mikroskobu altında sayılarak kaydedilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda, X ışını maruziyeti sonrası bukkal mukoza hücrelerinde gözlenen mikronükleus sıklığındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Sitotoksositeye ilişkin hücre çekirdeğindeki diğer değişikliklerde ise, karyoreksis ve karyoliziste istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiş; ancak piknozisteki artış anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, dental tanı ve tedavi esnasında alınan panoramik radyografi oral mukozal hücrelerde sitotoksositeye sebep olmaktadır. Panoramik radyografi gerektiğinde uygun dozda uygulanmalıdır.

ANAHTAR KELİMELELER

Hücre Hasarı, Mikronükleus Testi, Panoramik Radyografi

ABSTRACT

Genotoxic effects of panoramic radiography on oral epithelial tissues

Background: X-rays are one of the potential mutagenic agents that can cause both the gene mutations and chromosomal aberrations. In this study, the micronucleus test was implemented in order to observe the damage that can occur in the cell nucleus of the patients who had taken panoramic radiographs.

Methods: In our study, buccal mucosa swabs were obtained just before the radiography and two weeks after the radiography from 30 volunteer patients who had to take radiography due to dental diagnosis. Changes in the nuclei of 1000 cells of each swab sample were counted under a light microscope and recorded.

Results: In our study, increase in the micronucleus frequency observed in buccal mucosa cells after X-ray exposure was found significant ($p < 0.001$). Regarding other changes in the cell nucleus related to cytotoxicity, statistically significant increase was observed concerning karyorrhexis and karyolysis; however, the increase in pyknosis was not statistically significant.

Conclusion: As a result, panoramic radiographs taken during dental diagnosis and treatment causes cytotoxicity in oral mucosal cells. Panoramic radiographs should be applied in appropriate doses if necessary.

KEYWORDS

Cell Injury, Micronucleus Test, Panoramic Radiography

GİRİŞ

X ışınları hem gen mutasyonlarına hem de kromozomal aberasyonlara sebep olabilen potansiyel mutajenik ajanlardan biridir. DNA molekülü ile doğrudan etkileşime girebildikleri gibi, dolaylı olarak da DNA molekülü ile etkileşime giren reaktif bileşikler oluşturarak DNA üzerinde etkili olurlar.¹ DNA hasarlarına örnek olarak çift ve tek zincir kırıkları, insersiyon ve delesyonlar ve DNA-protein arası çapraz bağ oluşturması gösterilebilir.² Oluşan hasarın çoğunu DNA onarım mekanizması onarmaktadır. Ancak hasar fazla veya onarım sistemleri yetersiz ise DNA hasarı sonucu hücre ölümüne kadar varmaktadır. DNA hasarının doku fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan hastalıkların (kanser, kardiyovasküler hastalıklar, bağışıklık sistemi hastalıkları, yaşlanma vb.) etiyolojisinde etken rol oynadığı düşünülmektedir.³ Mutajenik potensiyellerine rağmen ve iyonlaştırıcı bir radyasyon tipi olmasına karşın, X ışınları hastalıkların teşhisinde önemli bir araç olup medikal ve dental uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır. Kromozomal hasarı tespit etmek ve değerlendirmek için mikronükleus testi (MN) çok güvenilir bir analiz yöntemidir.¹

^α İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi Anabilim Dalı, İstanbul

^β İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı, İstanbul

Mikronükleuslar hücrenin mitotik bölünme aşamasında geride kalarak iğ iplikçiğine tutunmayı başaramayan ve yavru hücrelerin ana çekirdeğine dahil olmayan, sitoplazmada ana çekirdeğe benzer tam kromozom veya kromatit parçacıklarından oluşan yapılardır.¹ Bu nedenle, MN testi kromozom kırıkları ve kromozom kaybının her ikisini de ölçebilen, DNA hasarına ilişkin hassas bir indikatördür.⁴ Mikronükleus testi, insan periferik kan lenfositlerinde, kemik iliğinde ve bukkal mukoza hücresinde kimyasal ajanların genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde uygulanabilir.⁵ Mikronükleusa ilaveten apoptozis (karyoreksis, piknozis, ve yoğunlaşmış kromatin) ve nekrozisin (karyoreksis, karyolizis, piknozis ve yoğunlaşmış kromatin) göstergesi olan dejeneratif çekirdek değişikliklerinin kaydedilmesi ile mikronükleus testinin hassasiyeti arttırılır.¹

Panoramik radyografi diş hekimlerinin tanı ve tedavi sürecinde sık başvurduğu bir görüntüleme yöntemi olup panoramik radyografik görüntü maksiller ve mandibular dental arkların her ikisi ile bunları çevreleyen fasiyal yapıların farklı kalınlıklarda tomografik görüntüsünü alan kavisli kesitidir.⁶

Çalışmanın amacı panoramik dental radyografi esnasında X ışınlarının bukkal mukoza hücreleri üzerindeki genotoksik etkilerini MN testi kullanarak değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ağız Diş ve Çene Radyolojisi Kliniği'ne başvuran ve dental tedavileri kapsamında panoramik radyografi endikasyonu olan 30 gönüllü hastadan bukkal mukoza sürüntü hücreleri alınmıştır. Söz konusu hastalar tütün ve alkol tüketimi olmayan, düzenli oral antiseptik solüsyon kullanmayan, sistemik hastalıkları bulunmayan ve radyografiye (özellikle baş ve boyun görüntüleme) son bir yıl içinde maruz kalmamış hastalar arasından seçilmiştir. Görüntülemeye hemen önce ve iki hafta sonra olmak üzere hastalardan 2 kez sürüntü alınmıştır. Panoramik dental radyografiler Kodak 8000 Dijital Panoramik Sistem ile 66-74 kV, 5-8 mA, 13.1-13.9 s ayarlarıyla alınmıştır.

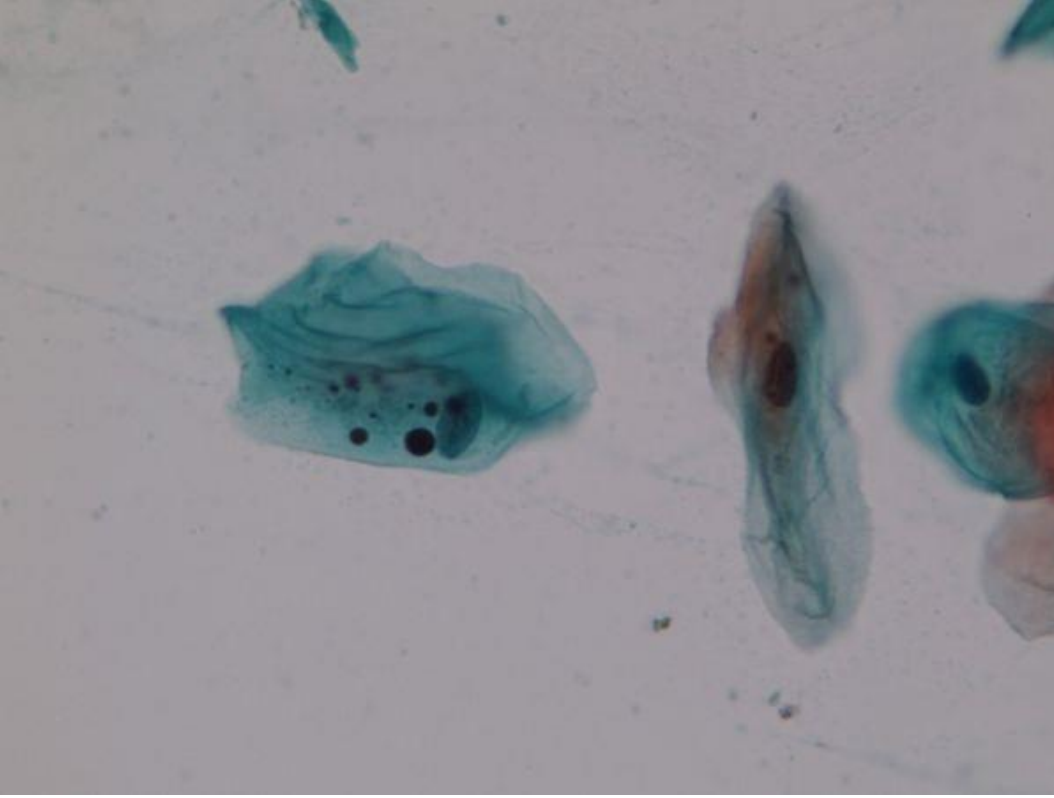
Örneklem alınması öncesinde hastaların ağızlarını çalkalaması istenmiş ve sonrasında bir cytobrush yardımı ile bukkal mukoza sürüntü hücreleri alınmıştır. Alınan hücre sürüntüleri temiz slaytlar üzerine hazırlanarak % 96 etil alkolde sabitlenmiştir. Sürüntü hücrelerine standart Papanicolaou Stain protokol metodu uygulanmıştır. Her bir örneklemdeki 1000 hücrenin çekirdeğindeki değişiklikler (piknozis, karyolizis, karyoreksis ve mikronükleus) ışık mikroskobu altında sayılarak kaydedilmiştir.

Ortalama, standart sapma, median, minimum, maksimum, yüzdelik ve skor gibi temel istatistiksel parametreler kullanılmıştır. İşlem öncesi ve sonrası değişkenlerin karşılaştırılması için Wilcoxon testi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı seviye $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

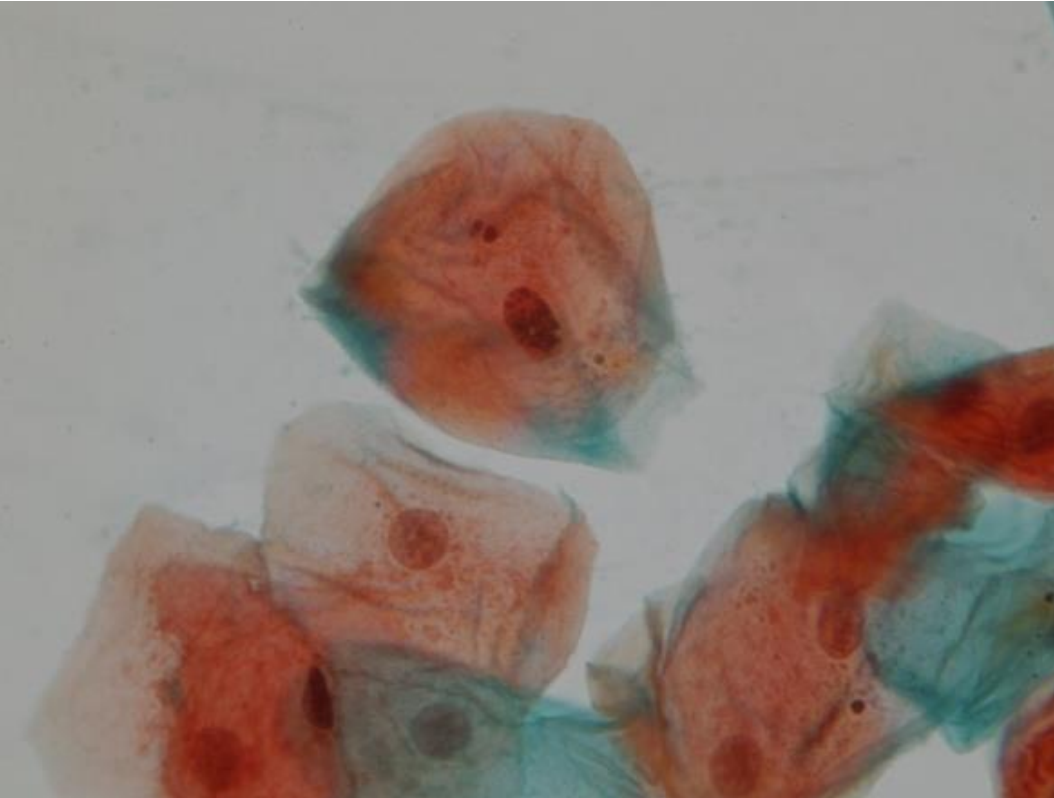
BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları istatistiksel olarak incelenmiş ve maksimum 46, minimum 20 ve ortalama 23 olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya 9 kadın (% 30) ve 21 erkek (% 70) dahil edilmiştir. Cinsiyete ilişkin istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Panoramik radyografi öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında değişkenlerin medyanları arasında mikronükleus açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Işık mikroskobundaki görüntüde hücrenin sitoplazmasında mikronükleus görüntüsü gözlenmektedir (Resim 1). Hücre çekirdeğindeki sitotoksiste ile ilgili diğer değişikliklerle ilgili olarak ise karyoreksis (Resim 2) ve karyolizis (Resim 3)

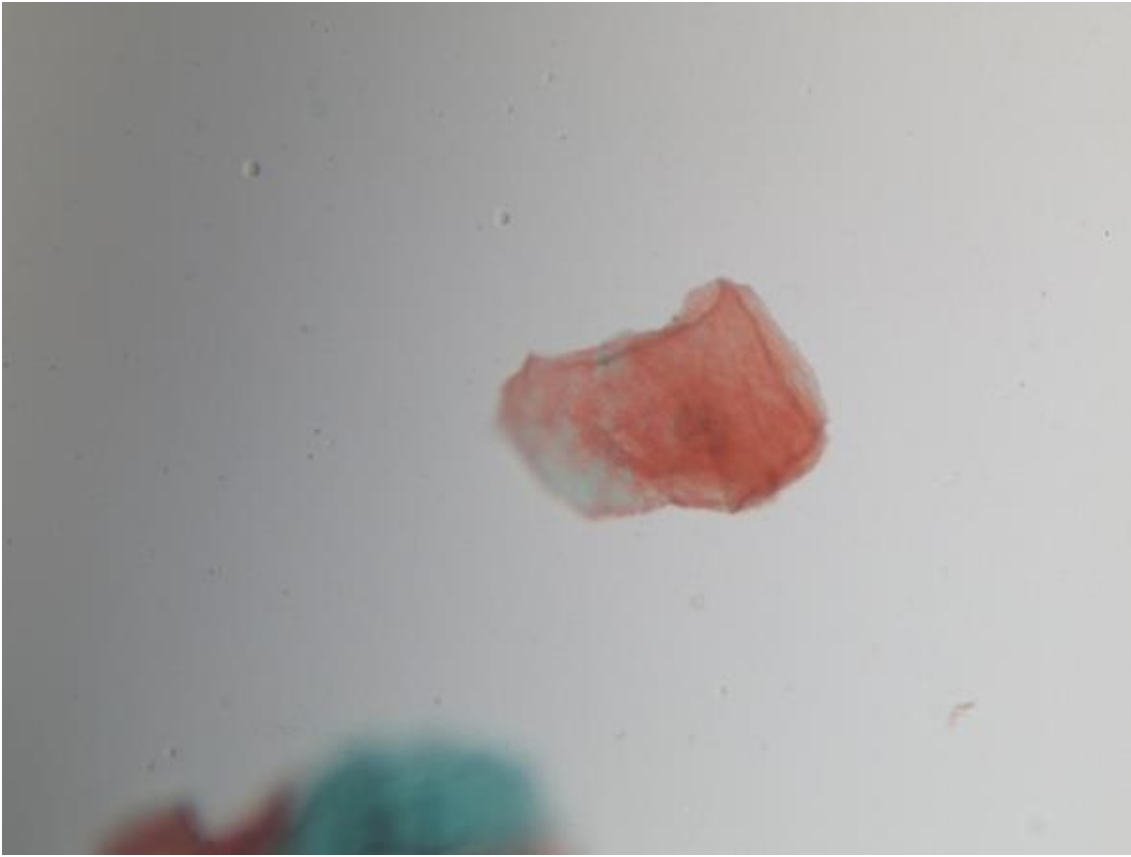
ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiş ($p < 0.001$); ancak, piknozisteki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0.765$) (Tablo 1).



Resim 1.



Resim 2.



Resim 3.

Tablo 1. X ışını maruziyeti öncesi ve sonrasında hücre nükleusundaki değişimlerin istatistiksel değerlendirmesi

	Öncesi		Sonrası		z	p
	Ortalama ± ss	Median (min-mak)	Ortalama ± ss	Median (min-mak)		
Mikronükleus	30.2 ± 18.12	24 (11-76)	57.53 ± 17.16	54 (34-104)	- 4.578	<0.001
Karyoreksis	34.07 ± 28.96	25 (12-152)	58.67 ± 19.87	54.5 (23-99)	- 3.662	<0.001
Karyolizis	48.47 ± 49.44	23.5 (10-207)	69.03 ± 49.14	55.5 (28-286)	- 3.376	<0.001
Piknozis	95.8 ± 41.96	92 (17-177)	100.13 ± 42.99	104.5 (25-210)	- 0.298	0.765

TARTIŞMA

Radyasyona maruziyetin güvenli bir düzeyi olmadığı, radyasyonun zamanla birikim yaparak biyolojik etki oluşturabileceği, sık ve düşük düzeyli maruziyetin kromozomal aberasyonların sıklığını arttırabileceği ve düşük dozlu medikal maruziyetin ise hem hastalar hem de çalışanlar üzerinde genotoksik etkilere sebep olabileceği dikkate alınmalıdır.⁷

Radyoterapi alan hastalar^{8,9}, düşük dozlarda ancak sık mesleki maruziyete uğrayan çalışanlar^{10,11} ve tek dental radyografi çekilen hastalar üzerinde yapılan literatür çalışmaları^{12,13} mikronükleus oluşumu ve hücre ölümünün radyasyon dozu ile birlikte arttığını ortaya koymaktadır. Örneğin bir çalışmada¹⁴ 2000 cGy (0.01Gy) maruziyet sonrası 1000 hücrede 68 mikronükleus tespit edilirken, bir başka çalışmada¹⁵ 1000 cGy maruziyet sonrası 1000 hücrede 16 mikronükleus sayılmıştır.

Sigara içiminin DNA hasarını arttırabildiği, günde içilen sigara sayısı ve çiğneme, ters içme gibi sigara içim şekline bağlı olarak mikronükleus oluşumunu arttırdığı belirtilmektedir.¹ Ancak, sigara ve mikronükleus artışı arasında anlamlı ilişki bulmayan çalışmalar da mevcuttur.¹⁶ Aynı durum (pozitif ilişki bulan ve ilişki bulmayan çalışmalar) alkol-MN artışı ve düzenli oral antiseptik solüsyon kullanımı-MN artışı arasındaki ilişki için de geçerlidir.^{1,17,18} Bu nedenlerden dolayı, çalışmamıza sigara ve alkol alışkanlığı olan bireyler ve düzenli oral antiseptik solüsyon kullanan hastalar dahil edilmemiştir.

X ışınına maruziyet öncesi ve sonrası mikronükleus görülme sıklığı değişikliğine ilişkin yapılan çalışmalarda, mikronükleus görülme sıklığı ile bir ilişki tespit edilemeyen çalışmalar^{7,12} olmakla birlikte, birçok çalışma X ışını maruziyetinin -düşük dozlarda bile- genetik hasarı tetiklediğini ortaya koymaktadır.^{1,8} Panoramik radyografi çekilen hastalarda yapılan çalışmamızda, mikronükleus görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca, çalışmamızda karyolizis ve karyoreksis artışları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Bununla birlikte piknozis artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.765$). Bu göstergeler, radyasyonun sitotoksik etkisini ortaya koymaktadır.

Piknozis hem nekrozis hem de apoptozis göstergesi bir hücresel değişikliktir. Bu nedenden dolayı çalışmada elde edilen bu sonuç, hücreyi apoptozise götüren birden çok yolun olduğunu ve piknozisin tercihen apoptotik süreçte oluştuğunu ortaya koymaktadır.¹

DNA hasarını etkin bir şekilde tamir yeteneğine sahip hücre tiplerinin, hücrede daha düşük düzeylerde kalıcı hasara sebebiyet verdiği bilinmektedir.^{19,20} Bukkal hücrelerinin periferik kan lenfositlerine nispeten daha sınırlı DNA tamir kapasiteleri nedeniyle epitel dokularındaki genomik kararsızlık olaylarını daha doğru yansıttıkları belirtilmiştir.¹⁹ Bu hücreler panoramik radyografik muayenede doğrudan radyasyona maruz kalmakta olup radyasyon kaynaklı hasar için ana hedeftir. Ayrıca, söz konusu hücreler fırça ile kolayca ağız içerisinden elde edilebilirler.^{21,22} Bu sebeplerden dolayı, çalışmamızda bukkal hücreler kullanılmıştır.

SONUÇ

Özetlemek gerekirse, dental tanı ve tedavi aşamasında alınan panoramik radyografi oral mukoza hücrelerinde sitoksisiteye sebep olmaktadır. Fakat yine de panoramik radyografi gerektiğinde uygun dozlarda ve tekrardan kaçınılması için kullanılmalıdır. Panoramik radyografinin yerine yeterli olduğu durumlarda (tek diş veya çenenin sadece bir bölümünü kapsayan tedavilerde) periapikal radyografinin tercih edilmesi tavsiye edilmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Cerqueira EM, Meireles JR, Lopes MA, Junqueira VC, Gomes-Filho IS, Trindade S, ve ark. Genotoxic effects of X-rays on keratinized mucosa cells during panoramic dental radiography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2008; 37(7): 398-403.
2. Onur E, Tuğrul B, Bozyiğit F. DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2009; 7(2): 61-70
3. Fidan AF. DNA Hasar Tespitinde Tek Hücre Jel Elektroforezi. *AKÜ-Fen Bilimleri Dergisi* 2009; 8(1): 41-52
4. Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The Human Micronucleus Project-An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res.* 1999; 428 (1-2): 271-83.
5. Üstüner D. Kromozom Kırıkları ve Mikronükleus-Apoptoz Bağlantısı. *TÜBAV Bilim* 2011; 4(1): 64-69.
6. White SC, Pharoah MJ. *Oral Radiology Principles and Interpretation.* 6th Ed. Mosby Elsevier; 2009
7. Cerqueira EM, Gomes-Filho IS, Trindade S, Lopes MA, Passos JS, Machado-Santelli GM. Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X-rays during panoramic dental radiographies. *Mutat Res.* 2004; 562: 111-7.
8. Jagetia GC, Jayakrishnan A, Fernandes D, Vidyasagar MS. Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment. *Mutat Res.* 2001; 491(1-2): 9-16.
9. Minicucci EM, Kowalski LP, Maia MA, Pereira A, Ribeiro LR, de Camargo JL ve ark. Cytogenetic damage in circulating lymphocytes and buccal mucosa cells of head-and-neck cancer patients undergoing radiotherapy. *J Radiat Res.* 2005; 46(2): 135-42.
10. Şahin A, Tatar A, Öztas S, Seven B, Varoglu E, Yesilyurt A ve ark. Evaluation of the genotoxic effects of chronic low-dose ionizing radiation exposure on nuclear medicine workers. *Nucl Med Biol.* 2009; 36(5):575-8.
11. Sari-Minodier I, Orsière T, Bellon L, Pompili J, Sapin C, Botta A. Cytogenetic monitoring of industrial radiographers using the micronucleus assay. *Mutat Res.* 2002; 521(1-2): 37-46
12. Popova L, Kishkilova D, Hadjidekova VB, Hristova RP, Atanasova P, Hadjidekova VV ve ark. Micronucleus test in buccal epithelium cells from patients subjected to panoramic radiography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2007; 36(3): 168-71.
13. Ribeiro DA, de Oliveira G, de Castro G, Angelieri F. Cytogenetic biomonitoring in patients exposed to dental X-rays: comparison between adults and children. *Dentomaxillofac Radiol.* 2008; 37(7): 404-7
14. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazzotti D, Tomanin R, Levis AG. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis.* 1987; 2(1): 11-7.

15. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am J Epidemiol.* 1991; 134(8): 840-50.
16. Maluf SW. Monitoring DNA damage following radiation exposure using cytokinesis-block micronucleus method and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Clin Chim Acta.* 2004; 347(1-2): 15-24.
17. Ghose UR , Parida BB . Cytological study of exfoliated buccal mucosa cells of tribes in Orissa State (India) with high risk for oral cancer. *Indian J Cancer* 1995; 32: 95–99.
18. Stich HF, Curtis JR, Parida BB. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *Int J Cancer.* 1982; 30(5): 553-9.
19. Carlin V, Artioli AJ, Matsumoto MA, Filho HN, Borgo E, Oshima CT ve ark. Biomonitoring of DNA damage and cytotoxicity in individuals exposed to cone beam computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2010; 39(5): 295-9.
20. Visvardis EE , Tassiou AM , Piperakis SM . Study of DNA damage induction and repair capacity of fresh and cryopreserved lymphocytes exposed to H₂O₂ and gamma-irradiation with the alkaline comet assay. *Mutat Res* 1997; 383: 71–80.
21. Ribeiro DA. Cytogenetic biomonitoring in oral mucosa cells following dental X-ray. *Dentomaxillofac Radiol.* 2012; 41(3): 181-4.
22. Lorenzoni DC, Cuzzuol Fracalossi AC, Carlin V, Araki Ribeiro D, Sant' Anna EF. Cytogenetic biomonitoring in children submitting to a complete set of radiographs for orthodontic planning. *Angle Orthod.* 2012; 82(4): 585-90.