



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ARSENİĞE MARUZ İŞÇİLERDE, OKSİDATİF  
STRESLE İLİŞKİLİ GENLERDEKİ  
POLİMORFİZMLERİN (MnSOD ve p22-phox) ve KAN  
ARSENİK DÜZEYLERİNİN, DNA HASARINA ETKİSİ**

**Esra BALCIOĞLU**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI  
ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Halit Sinan SÜZEN**

**ANKARA**

**2019**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARSENİĞE MARUZ İŞÇİLERDE, OKSİDATİF  
STRESLE İLİŞKİLİ GENLERDEKİ  
POLİMORFİZMLERİN (MnSOD ve p22-phox) ve KAN  
ARSENİK DÜZEYLERİNİN, DNA HASARINA ETKİSİ**

**Esra BALCIOĞLU**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI**  
**ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Halit Sinan SÜZEN**

**ANKARA**

**2019**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Arseniğe Maruz İşçilerde, Oksidatif Stresle İlişkili Genlerdeki Polimorfizmlerin (MnSOD ve p22-phox) ve Kan Arsenik Düzeylerinin, DNA Hasarına Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Esra BALCIOĞLU

Tarih: 13.06.2019

İmza.



Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı  
Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Doktora Programında

Esra BALCIOĞLU tarafından hazırlanan

“Arseniğe Maruz İşçilerde, Oksidatif Stres İlişkili Genlerdeki Polimorfizmlerin (MnSOD ve P22-phox) ve Kan Arsenik Düzeylerinin, DNA Hasarına Etkisi ” adlı tez çalışması  
aşağıdaki jüri tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak  
OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

11.06.2018

Prof.Dr. H.Şimşek SÜZEN  
Ankara Ü. Eczacılık Fakültesi  
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Tülay ÇOBAN  
Ankara Ü. Eczacılık Fakültesi  
Üye

Prof.Dr. Onur ERDEM  
Sağlık Bilimleri Ü. Gülhane Eğt. ve Arşt.Hast.  
Üye

Doç.Dr. Dilek AKYÜZLÜ  
Ankara Ü. Adli Bilimler Enstitüsü  
Üye

Doç.Dr. Emre DURMAZ  
Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi  
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet AKAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

|                                                                  |       |
|------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Etik Beyan</b>                                                | ii    |
| <b>Kabul ve Onay</b>                                             | iii   |
| <b>İçindekiler</b>                                               | iv    |
| <b>Önsöz</b>                                                     | vii   |
| <b>Simgeler ve Kısaltmalar</b>                                   | viii  |
| <b>Şekiller</b>                                                  | xviii |
| <b>Çizelgeler</b>                                                | xx    |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                  | 1     |
| 1.1. Arsenik                                                     | 2     |
| 1.1.1. Arsenik Kaynakları                                        | 3     |
| 1.1.2. Geçmişten Günümüze Arsenik Kullanımı                      | 5     |
| 1.1.3. Dünyada-Türkiye’de-Kütahya’da Arsenik Kirliliği           | 10    |
| 1.1.4. Arsenik Maruziyeti                                        | 15    |
| 1.1.5. Mesleksel Maruziyet                                       | 17    |
| 1.1.6. Arseniğin Toksikokinetiği                                 | 19    |
| 1.1.6.1. Absorpsiyon                                             | 20    |
| 1.1.6.2. Dağılım                                                 | 21    |
| 1.1.6.3. Metabolizma                                             | 22    |
| 1.1.6.4. Eliminasyon                                             | 26    |
| 1.1.7. Arsenik Maruziyetinde Kullanılan Biyolojik Materyaller    | 27    |
| 1.1.7.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi                       | 31    |
| 1.1.8. Arseniğin Toksik Etkileri                                 | 31    |
| 1.1.8.1. Akut Arsenik Toksisitesi                                | 32    |
| 1.1.8.2. Kronik Arsenik Toksisitesi                              | 34    |
| 1.1.8.3. Arsenik Zehirlenme Tedavisinde Yaklaşım                 | 35    |
| 1.1.8.4. Arseniğin Sistemik Toksisitesi (Epidemiyolojik Etkiler) | 36    |
| 1.1.8.5. Arseniğin Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri             | 48    |
| 1.2. Oksidatif Stres                                             | 55    |
| 1.2.1. Serbest Radikaller                                        | 55    |
| 1.2.1.1. Reaktif Oksijenler                                      | 57    |
| 1.2.2. Antioksidan Sistemler                                     | 61    |

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.2.3. Oksidatif Stres Oluşumu                                                                               | 65  |
| 1.2.4. Arsenik Kaynaklı Oksidatif Stres                                                                      | 66  |
| 1.3. DNA Hasarı                                                                                              | 70  |
| 1.3.1. DNA Hasar Etkenleri                                                                                   | 72  |
| 1.3.2. DNA Hasarları ve Onarım Mekanizmaları                                                                 | 74  |
| 1.3.3. As Kaynaklı DNA Hasarı                                                                                | 81  |
| 1.3.4. DNA Hasarının Belirlenmesi                                                                            | 87  |
| 1.3.4.1. Comet Assay Tekniği                                                                                 | 88  |
| 1.4. Genler ve Polimorfizmleri                                                                               | 89  |
| 1.4.1. MnSOD                                                                                                 | 89  |
| 1.4.1.1. MnSOD Gen Yapısı                                                                                    | 94  |
| 1.4.1.2. MnSOD Geni Val16Ala C/T Tek Nükleotit Polimorfizmi (rs4880)                                         | 96  |
| 1.4.1.3. MnSOD Geni Val16Ala C/T TNP ile İlişkilendirilen Hastalıklar                                        | 100 |
| 1.4.2. p22phox                                                                                               | 101 |
| 1.4.2.1. p22phox Gen Yapısı                                                                                  | 107 |
| 1.4.2.2. p22phox Geni C242T (His72Tyr) Tek Nükleotit Polimorfizmi                                            | 108 |
| 1.4.2.3. p22phox Geni C242T TNP ile İlişkilendirilen Hastalıklar                                             | 112 |
| 1.4.3. Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi                                                                   | 114 |
| 1.4.3.1. PCR Yöntemi                                                                                         | 115 |
| 1.4.3.2. RFLP Yöntemi                                                                                        | 115 |
| 1.5. Amaç                                                                                                    | 116 |
| <b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>                                                                                    | 117 |
| 2.1. Çalışma Grubu ve Biyolojik Materyallerin Belirlenmesi                                                   | 117 |
| 2.2. Comet-Assay ile DNA Hasarı'nın Belirlenmesi                                                             | 117 |
| 2.2.1. Comet Yönteminde Kullanılan Materyaller                                                               | 118 |
| 2.2.2. Comet Assay/ Tek Hücre Jel Elektroforezi (SCGE-Singel Cell Gel Electrophoresis) ile DNA Hasar Analizi | 119 |
| 2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Kan Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi                             | 121 |
| 2.3.1. Grafit Fırınlı AAS Yöntemi ile Kan Arsenik Analizinde Kullanılan Materyaller                          | 122 |
| 2.3.2. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Kandan As Analizi                                               | 122 |
| 2.4. Mn-SOD ve p22phox Gen Polimorfizmlerinin PCR ve RFLP ile Belirlenmesi                                   | 125 |
| 2.4.1. Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Materyaller                                         | 125 |

|                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.4.2. Kandan Nükleer DNA İzolasyonu                                                                        | 126 |
| 2.4.2.1. %0,5'lik Agaroz Jel Elektroforezi ile Genomik DNA'nın Kontrolü                                     | 127 |
| 2.4.3. PCR Yöntemi ile Hedeflenen DNA Bölgesinin Çoğaltılması                                               | 127 |
| 2.4.3.1. %2'lik Agaroz Jel Elektroforezinde PCR Ürünlerinin Kontrolü                                        | 130 |
| 2.4.4. RFLP Yöntemi ile PCR Ürünlerinin Kesilmesi                                                           | 131 |
| 2.4.4.1. RFLP ile Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezine Uygulanması ve Genotip Tayini                | 133 |
| 2.5. İstatistiksel Analiz                                                                                   | 134 |
| <b>3. BULGULAR</b>                                                                                          | 135 |
| 3.1. Arseniğe Maruz kalan bireylerin tanımlayıcı istatistikleri                                             | 135 |
| 3.2. Arsenik Düzeyleri, DNA Hasarı ve Maruziyet Süreleri arasındaki Korelasyon                              | 136 |
| 3.3. Sigara kullanımı ve DNA hasarı                                                                         | 136 |
| 3.4. Çalışılan Popülasyonun MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr genotiplerinin Hardy-Weinberg Dengesi        | 137 |
| 3.5. Çalışılan Popülasyonun MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr Polimorfizmlerin Genotip ve Alel Frekansları | 138 |
| 3.6. Arseniğe Maruzlarda MnSOD Val16Ala polimorfizmi ile DNA hasarı                                         | 139 |
| 3.7. Arseniğe Maruzlarda p22phox His72Tyr polimorfizmi ile DNA hasarı                                       | 141 |
| 3.8. Arseniğe Maruzlarda MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA hasarı                   | 142 |
| <b>4. TARTIŞMA</b>                                                                                          | 144 |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                                                                                 | 162 |
| <b>ÖZET</b>                                                                                                 | 166 |
| <b>SUMMARY</b>                                                                                              | 168 |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                                                                            | 170 |
| <b>EKLER</b>                                                                                                | 225 |
| Ek-1.Etik                                                                                                   | 225 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                                                                                             | 227 |

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada arsenik kirliliğinin yüksek olduğu ve maruziyetlerin gözlemlendiği Kütahya-Emet bölgesinde fabrikada çalışan işçilerin, oksidatif stres ilişkili MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr gen polimorfizmlerinin ve kan arsenik düzeylerinin belirlenerek, DNA hasarına etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla kan arsenik düzeyleri Grafit Fırınlı-Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi, DNA hasarları Comet Assay ve Gen Polimorfizmleri de PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmiştir. İşçilerdeki mesleksi metal maruziyetleri ve bireysel DNA hasar farklılıklarının belirlenmesi ve uygun önlemlerin alınması, işçi ve işveren açısından önem arz etmektedir.

Doktora eğitimim ve tezimin yazımı süresince kıymetli bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, bilimsel katkıları ve önerileriyle yol gösteren değerli tez danışman hocam Prof. Dr. H.Sinan Süzen'e,

Adli Kimya ve Toksikolojiyle tanışmama ve bu alana ilgi duymama yol açan, değerli bilgilerinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Tülin Söylemezoğlu'na,

Çalışmalarında kullandığım kanların teminindeki desteklerinden dolayı Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi doktor ve çalışanlarına,

Çalışmalarımın laboratuvar aşamalarında bana destek olan Doç.Dr. Dilek Kaya-Akyüzlü'ye, Dr. Bayram Yüksel'e ve Uzm. Bio. Fezile Özdemir'e,

Eğitim hayatımda ve bu tezde bana emeği geçen Adli Bilimler alanındaki tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca maddi manevi desteğini hiç esirgmeden fedakarlıkta bulunan annem Gülser Pehlivan'a, iyi ki varsın dediğim kardeşim Samet Pehlivan'a ve her daim desteğine ihtiyaç duyduğum ve duyacağım merhum sevgili babam Ömer Pehlivan'a,

Doktoramı bitirmemi büyük bir hevesle bekleyen ve çok sabreden canım kızım Azra Balcıoğlu'na,

Ve en çok da akademik hayatımda teşvik ve desteğini benden esirgemeyen, diğer yarım, hayatım Dr. Ercan Balcıoğlu'na,

Sonsuz teşekkürler...

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|                         |                                                                                           |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\mu\text{g}$           | Mikrogram                                                                                 |
| $\mu\text{m}$           | Mikrometre                                                                                |
| $\cdot\text{OH}$        | Hidroksil Radikali                                                                        |
| $^1\text{O}_2$          | Singlet Oksijen                                                                           |
| 8-OHdG                  | 8-hidroksi deoksiguanozin                                                                 |
| A                       | Adenin                                                                                    |
| A549                    | Adenokarsinom Alveoler Bazal Epitel Hücreleri                                             |
| AAS                     | Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi                                                         |
| ABD                     | Amerika Birleşik Devletleri                                                               |
| ADP                     | Adenozin difosfat                                                                         |
| AES                     | Atomik Emisyon Spektroskopisi                                                             |
| AIF                     | Apoptoz Tetikleyici Faktör                                                                |
| Ala                     | Alanin                                                                                    |
| AOs                     | Antioksidanlar                                                                            |
| AP                      | Apürinik bölgeler                                                                         |
| APE-1                   | Apürinik Endonükleaz 1 enzimi                                                             |
| APL                     | Akut Promiyelositik Lösemi                                                                |
| As                      | Arsenik                                                                                   |
| $\text{As}_2\text{O}_3$ | Arsenik trioksit                                                                          |
| $\text{As}_2\text{O}_5$ | Arsenik pentoksit                                                                         |
| $\text{As}_2\text{S}_3$ | Orpiment                                                                                  |
| $\text{As}_3\text{MT}$  | Arsenik Metil Transferaz                                                                  |
| $\text{As}_4\text{S}_4$ | Realgar                                                                                   |
| $\text{AsH}_3$          | Arsin                                                                                     |
| AsIII                   | Arsenit (Trivalan arsenik)                                                                |
| ASO                     | Alel Spesifik Oligonükleotid                                                              |
| AsV                     | Arsenat (Pentavalan arsenik)                                                              |
| ATP                     | Adenozin trifosfat                                                                        |
| ATSDR                   | Toksik Madde ve Hastalık Kaydı Ajansı (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry) |
| BAL                     | British Anti Lewisite                                                                     |

|                                                 |                                                           |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| BAs                                             | Kan Arsenik                                               |
| BER                                             | Baz Eksizyon Onarımı                                      |
| BIM                                             | Beden Kitle İndeksi                                       |
| bp                                              | Baz çifti                                                 |
| BRCA                                            | Breast Cancer Susceptibility                              |
| BsaW1                                           | Bacillus stearothermophilus W1718                         |
| C                                               | Sitozin                                                   |
| C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> AsClN            | Difenilamin kloroarsin (Adamsite)                         |
| C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> AsCl <sub>3</sub> | Dikloroarsin (Lewisite)                                   |
| (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> As•             | Dimetil Arsenik Radikali (Kakodil)                        |
| CA                                              | Kromozomal Anomali                                        |
| CAREX                                           | Carcinojen Exposure                                       |
| CAT                                             | Katalaz                                                   |
| CCL20                                           | C-C Motif Chemokine Ligand 20                             |
| Cl                                              | Klor                                                      |
| CL                                              | Komet uzunluğu                                            |
| CoA                                             | Ko enzim A                                                |
| CPD                                             | Siklobutan primidin dimerleri                             |
| Cr                                              | Krom                                                      |
| Cu                                              | Bakır                                                     |
| Cu,ZnSOD                                        | Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz                           |
| CV                                              | Kardiyo vasküler                                          |
| CYBA                                            | Sitokrom b-alfa                                           |
| CYBB                                            | Sitokrom b-beta                                           |
| DASH                                            | Dinamik Alel Spesifik Hibridizasyon                       |
| DBD-FISH                                        | DNA breakage detection-fluorescence in situ hybridization |
| DM                                              | Difenilamin kloroarsin Adamsit                            |
| DMA                                             | Dimetil arsinat                                           |
| DMA <sub>III</sub>                              | Dimetil arsinöz asit                                      |
| DMA <sub>sV</sub>                               | Dimetil arsinik asit                                      |
| DMA <sub>v</sub>                                | Dimetil arsinik asit                                      |
| DMPS                                            | Dimercaptopropansulfonik asit                             |
| DMSA                                            | Dimerkaptosüksinik asit                                   |
| DMSO                                            | Dimetil sülfoksit                                         |

|                |                                                      |
|----------------|------------------------------------------------------|
| DNA            | Deoksiribonükleik asit                               |
| DNA-PK         | DNA'ya bağlı protein kinaz                           |
| DNA-t          | DNA kuyruk                                           |
| DNTM           | DNA Metil Transferaz                                 |
| dNTP           | Deoksinükleozid trifosfat                            |
| dsDNA          | Çift Zincirli Deoksiribo Nükleik Asit                |
| DSMA           | Disodyum metanarsonat                                |
| Düz.           | Düzey                                                |
| e <sup>-</sup> | Elektron                                             |
| E.coli         | Escherichia Coli                                     |
| ECSOD          | Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz                   |
| EDTA           | Etilen diamin tetraasetik asit                       |
| EGFR           | Epidermal Büyüme Faktörü                             |
| EKG            | Elektro Kardiyograf                                  |
| ELISA          | Enzyme-Linked Immunosorbent Assay                    |
| EPA            | Çevre Koruma Ajansı                                  |
| ER             | Endoplazmik Retikulum                                |
| ERCC1          | Eksizyon tamir proteini                              |
| ERK            | Ekstrasellüler Sinyal Regüle Edici Proteinkinazlar   |
| EtBr           | Etidyum Bromür                                       |
| ETZ            | Elektron Transfer Zinciri                            |
| F primer       | Forward (ileri) Primer                               |
| FAAS           | Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi             |
| FDA            | Gıda ve İlaç İdaresi                                 |
| Fe             | Demir(Fe)                                            |
| FeAsS          | Arsenopirit                                          |
| Fe-SOD         | Demir Süperoksit Dismutaz                            |
| g              | Gram                                                 |
| G              | Guanin                                               |
| GFAAS          | Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektrometresi       |
| GİS            | Gastro intestinal sistem                             |
| GLC/ECD        | Gaz Sıvı Kromatografisi/ Elektron Yakalama Dedektörü |
| GM-CSF         | Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör            |
| GPx            | Glutasyon peroksidaz                                 |

|                                 |                                                                          |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| GR                              | Glutasyon redüktaz                                                       |
| GSH                             | Glutasyon                                                                |
| GSH-Px                          | Glutasyon peroksidaz                                                     |
| GSH-Rx                          | Glutasyon Redüktaz                                                       |
| GSH-Tx                          | Glutasyon transferaz                                                     |
| GSSG                            | Glutasyon disülfid                                                       |
| GST                             | Glutasyon S Transferaz                                                   |
| GSTO                            | Glutasyon-S-Transferaz Omega                                             |
| H <sub>2</sub>                  | Hidrojen                                                                 |
| H <sub>2</sub> O                | Su                                                                       |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | Hidrojen peroksit                                                        |
| H <sub>3</sub> AsO <sub>4</sub> | Arsenik asit                                                             |
| H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | Fosforik asit                                                            |
| HAP                             | Tehlikeli Hava Kirleticiler                                              |
| Hb                              | Hemoglobin                                                               |
| HCC                             | Hepatosellüler karsinoma                                                 |
| HGAAS                           | Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi                        |
| HG-HCT/GC-MID                   | Hidrit Sistemli-Heptancold Tuzağı /Gaz Kromatografisi-Çoklu İyon Tespiti |
| His                             | Histidin                                                                 |
| HMA                             | Yüksek Erimeli Agar                                                      |
| HNO <sub>3</sub>                | Nitrik asit                                                              |
| HO <sub>2</sub> ·               | Hidroperoksil                                                            |
| HOBr                            | Hipobromoz asit                                                          |
| HOCl                            | Hipokloroz asit                                                          |
| HPLC                            | Yüksek Performanslı Likit Kromatografi                                   |
| HPSF                            | High Performance Salt Free                                               |
| HRMS                            | Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrumları                                   |
| HRR                             | Homolog Rekombinasyonel Onarım                                           |
| IARC                            | Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı                                    |
| ICP-AES                         | İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi                   |
| IC-PCR                          | Immune-capture PCR                                                       |
| ICP-MS                          | İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi                            |
| IEC-HGAAS                       | İyon Değişimi Kromatografisi                                             |

|                                  |                                                                                    |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| IHC                              | immünohistokimya                                                                   |
| IL-6                             | İnter Lökin 6                                                                      |
| IPOB                             | İndefenol oksidaz B                                                                |
| IQ                               | Zeka Katsayısı                                                                     |
| IR                               | Kızıl ötesi                                                                        |
| iAs                              | İnorganik Arsenik                                                                  |
| iNOS                             | İndüklenebilir Nitrikoksit sentaz                                                  |
| JNK                              | c-Jun NH <sub>2</sub> Terminal kinaz                                               |
| KA                               | Kromozomal aberasyon                                                               |
| Kg                               | Kilogram                                                                           |
| KGH                              | Kronik Granülomatoz Hastalığı                                                      |
| KH                               | Karyorhektik                                                                       |
| KH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> | Potasyum dihidrojen arsenat                                                        |
| KK                               | Kondanse Kromatin                                                                  |
| KKD                              | Kardeş Kromatid Değişimi                                                           |
| KL                               | Karyolitik                                                                         |
| Kons.                            | Konsantrasyon                                                                      |
| L                                | Litre                                                                              |
| L·                               | Lipit radikali                                                                     |
| LAM-HTGTS                        | Linear amplification-mediated high-throughout genome-wide translocation sequencing |
| L-Arg                            | L-Arjinin                                                                          |
| LD <sub>50</sub>                 | Ölümcül Doz, alındığında test numunesinin %50'sini öldüren madde miktarı.          |
| LH                               | Lipit                                                                              |
| LMA                              | Düşük Erimeli Agaroz                                                               |
| LM-PCR                           | Ligasyon aracılı polimeraz zincir reaksiyonu                                       |
| LOO·                             | Lipit peroksi radikali                                                             |
| LOOH                             | Lipit peroksit                                                                     |
| m <sup>3</sup>                   | Metre küp                                                                          |
| Mak.                             | Maksimum                                                                           |
| MALDI-TOF-MS                     | Matrix Assisted Laser Desorption İonization-Time of Flight-Mass Spectrometry       |
| MAPK                             | Mitojen aktıveli proteinkinaz                                                      |
| Max                              | Maksimum                                                                           |

|                                                      |                                          |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| MCL                                                  | Maksimum kontaminasyon düzeyi            |
| MÇ                                                   | Mikro çekirdek                           |
| MDA                                                  | Malondialdehit                           |
| mg                                                   | Miligram                                 |
| MGMT                                                 | Metil guanin- metil transferaz           |
| Min.                                                 | Minimum                                  |
| miRNAs                                               | Mitokondriyal Ribonükleik Asit           |
| ml                                                   | Mililitre                                |
| mm                                                   | Milimetre                                |
| MMA                                                  | Monometil arsinat                        |
| MMA <sub>III</sub>                                   | Monometil Arsenoz asit                   |
| MMA <sub>V</sub>                                     | Monometil Arsonik asit                   |
| MMPs                                                 | Matriks Metalloproteinazları             |
| MMR                                                  | Yanlış Eşleşme Onarımı                   |
| Mn                                                   | Manganez                                 |
| MN                                                   | Mikro Nükleus                            |
| MnSOD                                                | Manganez Süperoksit Dismutaz             |
| MÖ                                                   | Milattan Önce                            |
| MPG                                                  | Metil Pürin Glikozilaz                   |
| MPO                                                  | Miyeloperoksidaz                         |
| MRC-5                                                | İnsan Akciğer Fibroblast Hücreleri       |
| mRNA                                                 | Mesajcı Ribonükleik asit                 |
| MS                                                   | Milattan Sonra                           |
| MSMA                                                 | Monosodyum metanarsonat                  |
| MSMA <sub>sv</sub>                                   | Monosodyum metanarsonat                  |
| MSS                                                  | Mitokondrial Sinyal Sekansı              |
| Mt ETC                                               | Mitokondriyal Elektron Taşıma Zinciri    |
| MTS                                                  | Mitokondriyal Hedef sekansı              |
| MVCD6                                                | Mikrovazküler komplikasyon Diyabet Tip-6 |
| N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                        | Dinitrojen trioksit                      |
| N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>                        | Dinitrojen tetroksit                     |
| Na <sub>2</sub> EDTA                                 | Disodyum Etilen Diamin Tetraasetik Asit  |
| Na <sub>3</sub> AsO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O | Dodekahidrat trisodyum arsenat           |
| NAA                                                  | Nötron Aktivasyon Analizi                |

|                 |                                              |
|-----------------|----------------------------------------------|
| NaCl            | Sodyum Klorür                                |
| NADH            | Nikotinamid dinükleotit                      |
| NADPH           | Nikotinamid dinükleotit fosfat               |
| NaOH            | Sodyum Hidroksit                             |
| NCF             | Nötrofil Sitozolik Faktör                    |
| NER             | Nükleotid Eksizyon Onarımı                   |
| NF- $\kappa$ B  | Nükleer Faktör Kappa Beta                    |
| ng              | Nanogram                                     |
| NHEJ            | Homolog Olmayan Rekombinasyonel Onarım       |
| NIOSH           | Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü  |
| Ni              | Nikel                                        |
| NO $\cdot$      | Nitrik oksit                                 |
| NO $_2\cdot$    | Nitrojen dioksit                             |
| NOX             | NADPH-oksidaz                                |
| NOX1            | NADPH-oksidaz 1 (CYBA)                       |
| NOX2            | NADPH-oksidaz 2 (CYBB)                       |
| NRC             | Ulusal Araştırma Konseyi                     |
| Nrf2            | Nuclear Factor Erythroid 2- related factor 2 |
| NT              | Nükleer Tomurcuk                             |
| O $_2\bullet^-$ | Süperoksit anyonu                            |
| O $_3$          | Ozon                                         |
| OGG1            | 8-okzoguanin DNA glikozilaz-I                |
| OH              | Hidroksil                                    |
| ONOO $^-$       | Peroksinitrit                                |
| Ort.            | Ortalama                                     |
| OSHA            | İş Güvenliği ve Sağlığı İdaresi              |
| PARP            | poly-ADP-riboz polimeraz                     |
| PBS             | Fosfat Buffer Salın                          |
| PCNA            | Proliferatif Hücre Nükleer antijeni          |
| PCR             | Polimer Zincir Reaksiyonu                    |
| PEL             | İzin Verilen Maruziyet Limiti                |
| Phox            | Fagosit oksidaz                              |
| PK              | Piknotik                                     |
| PML             | Promyelositik Lösemi                         |

|                   |                                                    |
|-------------------|----------------------------------------------------|
| PNP               | Pürin Nükleozid Fosforilaz                         |
| ppb               | Milyarda bir birim                                 |
| ppm               | Milyonda bir birim                                 |
| Protein XRCC1     | X ışını onarım çapraz tamamlayıcı 1                |
| PRx               | Peroksiredoksin                                    |
| PUFA              | Çoklu Doymamış Yağ asidi                           |
| PZR               | Polimer Zincir Reaksiyonu                          |
| R primer          | Reverse (Ters) primer                              |
| RFC               | Replikasyon Faktörü                                |
| RFLP              | Sınırlı Parça Uzunluk Polimorfizmi                 |
| RIA               | radyoimmünoassay                                   |
| RNOS              | Reaktif Nitrojen Oksit Türleri                     |
| RNT               | Reaktif Azot Türleri                               |
| RO·               | Alkoksil                                           |
| ROT               | Reaktif Oksijen Türleri                            |
| RPA               | Replikasyon Proteini A                             |
| rpm               | Dakikadaki devir sayısı                            |
| Rsa1              | Rhodopseudomonas sphaeroides (Restriksiyon Enzimi) |
| RSD               | Bağıl Standart Değişim                             |
| S                 | Kükürt, Sülfür                                     |
| S.S.              | Standart Sapma                                     |
| SAM               | S-Adenozil Metionin                                |
| SCE               | Kardeş Kromatid Değişimi                           |
| SCGE              | Tek Hücre Jel elektroforezi                        |
| SDS               | Sodyum Dodesil Sülfat                              |
| Se                | Selenyum                                           |
| SH                | Sülfidril, Tiyol                                   |
| SLS               | Sodyum Lauril Sülfat                               |
| SMSA              | Seçici makrofaj baskılayıcı ajan                   |
| SNP               | Tek Nükleotid Polimorfizm                          |
| SO <sub>2</sub> - | Sülfür dioksit                                     |
| SOD               | Süperoksit Dismutaz                                |
| SOD1              | Süperoksit Dismutaz 1                              |
| SOD2              | Süperoksit Dismutaz 2                              |

|              |                                                              |
|--------------|--------------------------------------------------------------|
| SODM         | Mitokondriyal Süperoksit Dismutaz                            |
| SPSS         | Sosyal Bilimler için İstatistik Programı                     |
| SSCP         | Tek İplik Konformasyon Polimorfizmi                          |
| ssDNA        | Tek Zincirli Deoksiribo Nükleik Asit                         |
| Std          | Standart                                                     |
| T            | Timin                                                        |
| T1/2         | Yarılanma ömrü                                               |
| Taq          | Thermus aquaticus                                            |
| TBE          | Trisborat EDTA                                               |
| TDP-PCR      | Terminal transferaz bağımlı polimeraz zincir reaksiyonu      |
| TE           | Tris EDTA                                                    |
| TFIIH        | İnsan Transkripsiyon Faktörü II                              |
| TGF $\alpha$ | Transforme edici büyüme faktörü                              |
| TGGE         | Sıcaklık Gradyan Jel Elektroforezi                           |
| TI           | Kuyruk Yoğunluğu                                             |
| TL           | Kuyruk Uzunluğu                                              |
| TLC          | İnce Tabakalı Kromatografi                                   |
| TM           | Kuyruk Momenti                                               |
| TMAO         | Trimetilarsin oksit                                          |
| TNF          | Tümör Nekroz Faktör                                          |
| TNF $\alpha$ | Tümör Nekroz Faktör alfa                                     |
| TNP          | Tek Nükleotid Polimorfizmi                                   |
| TRL1215      | Rat Karaciğer Hücre Kültürü                                  |
| TRx          | Tioredoksin Redüktaz                                         |
| TUNEL        | Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling |
| TWA          | Zaman Ağırlıklı Ortalama                                     |
| Tyr          | Trozin                                                       |
| UAs          | Üriner Arsenik                                               |
| UV           | Ultra viyole                                                 |
| UVR          | Ultra Viyole Radyasyon                                       |
| V            | Valin                                                        |
| Val          | Valin                                                        |
| WHO          | Dünya Sağlık Örgütü                                          |
| X Ray        | Röntgen ışını, X                                             |

|                                      |                                           |
|--------------------------------------|-------------------------------------------|
| X <sub>2</sub> As, X <sub>4</sub> As | Arsenik merkezli radikaller               |
| XO                                   | Ksantin Oksidaz                           |
| XPA                                  | Kseroderma pigmentosum A tamir proteini   |
| XPC                                  | Kseroderma pigmentosum C tamir proteini   |
| XPF                                  | DNA Tamir Endonükleaz                     |
| XPG                                  | Kseroderma pigmentosum G tamir proteini   |
| XRCC1                                | X-Işını(Ray) onarım çapraz tamamlayıcı 1  |
| XRCC4                                | X-Ray tamir çapraz tamamlayıcı proteini 4 |
| XRF                                  | X-Işını(Ray) Floresan                     |
| Y                                    | Ray Gamma Işını                           |
| Zn                                   | Çinko                                     |

## ŞEKİLLER

|             |                                                                               |    |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1.  | Arsenik                                                                       | 2  |
| Şekil 1.2.  | Doğadaki Bazı Arsenik Formları                                                | 4  |
| Şekil 1.3.  | Yeraltı Sularında 50 µg/L'den Daha Yüksek Seviyede Arsenik Bulunduran Ülkeler | 11 |
| Şekil 1.4.  | Genel Arsenik Metabolizması ve Proteinlerin -SH gruplarına Bağlanması         | 23 |
| Şekil 1.5.  | İnorganik As Metabolizması                                                    | 25 |
| Şekil 1.6.  | Ciltteki Arsenik Etkileri                                                     | 38 |
| Şekil 1.7.  | Raynaud Sendromu                                                              | 40 |
| Şekil 1.8.  | Nazal Septum Perforasyonu                                                     | 41 |
| Şekil 1.9.  | Arseniğe Maruz Kalanlarda Kansere Yolakları                                   | 45 |
| Şekil 1.10. | Arseniğe Maruz Kalanlarda Bowen Hastalığı                                     | 47 |
| Şekil 1.11. | As'nin Hücresel Toksikite Mekanizmaları                                       | 49 |
| Şekil 1.12. | Arsenik Genotoksik Etkileri                                                   | 52 |
| Şekil 1.13. | Oksidatif Stres                                                               | 55 |
| Şekil 1.14. | Mitokondride Elektron Transfer Zinciri                                        | 56 |
| Şekil 1.15. | Reaktif Oksijen Türleri ve Sentez Aşamaları                                   | 58 |
| Şekil 1.16. | Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonları                                           | 59 |
| Şekil 1.17. | CAT, SOD, Gpx ve ROT Etkileşimleri                                            | 60 |
| Şekil 1.18. | Hipokloroz Asitten Hidroksil Radikali oluşumu.                                | 60 |
| Şekil 1.19. | Reaktif Oksijen Oluşumu                                                       | 61 |
| Şekil 1.20. | ROT'lar ve Antioksidanlar                                                     | 62 |
| Şekil 1.21. | Serbest Radikaller ve Oksidatif stres                                         | 65 |
| Şekil 1.22. | As Maruziyetinde Serbest Radikaller, Antioksidan Savunma Sistemi              | 67 |
| Şekil 1.23. | Trivalan ve Pentavalan As'lerde Oksidatif Stres Oluşumu.                      | 68 |
| Şekil 1.24. | DNA Hasarları                                                                 | 75 |
| Şekil 1.25. | DNA Hasarlarına Hücresel Yanıtlar                                             | 77 |
| Şekil 1.26. | DNA Hasarları, Etkenleri ve Tamir Mekanizmaları                               | 78 |
| Şekil 1.27. | DNA Hasar Onarım Yolları                                                      | 79 |
| Şekil 1.28. | As ve DNA Hasarı                                                              | 82 |
| Şekil 1.29. | As Kaynaklı DNA Kırıkları                                                     | 83 |
| Şekil 1.30. | DNA Hasarları ve Belirleme Yolları                                            |    |
| Şekil 1.31. | SOD Aktivitesi                                                                | 90 |
| Şekil 1.32. | SOD Enzimleri                                                                 | 91 |
| Şekil 1.33. | SOD2 Gen Lokalizasyonu                                                        | 94 |

|                    |                                                                                                                                       |     |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 1.34.</b> | SOD2 Geni Ekzon ve İntronlar                                                                                                          | 95  |
| <b>Şekil 1.35.</b> | MnSOD Proteinin Sekonder Yapısı                                                                                                       | 95  |
| <b>Şekil 1.36.</b> | MnSOD Proteinin Tersiyer ve Kuaterner Yapısı                                                                                          | 95  |
| <b>Şekil 1.37.</b> | İnsan MnSOD Geninin Val16Ala Polimorfizmi ile İlişkili Olarak ROT Aracılı Olası Kanseri Risk Mekanizmaları                            | 99  |
| <b>Şekil 1.38.</b> | NADPH-Oksidaz Enzim Ailesi ve p22phox                                                                                                 | 101 |
| <b>Şekil 1.39.</b> | NADPH-Oksidaz Ailesi                                                                                                                  | 103 |
| <b>Şekil 1.40.</b> | NADPH-Oksidaz Altbirimlerinin Dinlenme ve Aktif Durumları                                                                             | 104 |
| <b>Şekil 1.41.</b> | NOX Aktivasyonu ve ROT Metabolizması                                                                                                  | 106 |
| <b>Şekil 1.42.</b> | NADPH-Oksidaz Aktivasyonu ve ROT Metabolizması                                                                                        | 106 |
| <b>Şekil 1.43.</b> | p22phox Gen Konumu                                                                                                                    | 107 |
| <b>Şekil 1.44.</b> | p22phox Geninin 4. Ekzonu                                                                                                             | 108 |
| <b>Şekil 1.45.</b> | p22hox Geni 4.Ekzonun 72.kodonunda “CAC” =Histidin Aminoasiti. p22phox His72                                                          | 108 |
| <b>Şekil 1.46.</b> | p22hox Geni 4.Ekzonun 72.kodonunda “TAC” =Tirozin aminoasiti. p22hox 72Tyr                                                            | 109 |
| <b>Şekil 1.47.</b> | p22phox Protein Omurgaları. His72 ve 72Tyr C242T-TNP                                                                                  | 109 |
| <b>Şekil 1.48.</b> | p22phox Proteinini Üstten Görünüm. His72 ve 72Tyr C242T-TNP                                                                           | 109 |
| <b>Şekil 1.49.</b> | Nox2 ile p22phox'un Etkileşimleri. His72 ve 72Tyr C242T                                                                               | 110 |
| <b>Şekil 1.50.</b> | Nox2 Proteinleri ile p22phox'un H Bağlarıyla Stabilizasyon Farkları                                                                   | 110 |
| <b>Şekil 2.1.</b>  | Comet Görüntüleri.                                                                                                                    | 121 |
| <b>Şekil 2.2.</b>  | Arsenik Kalibrasyon Grafiği.                                                                                                          | 123 |
| <b>Şekil 2.3.</b>  | MnSOD Geninin 6. Kromozomdaki Yerinin Şematik Gösterimi.                                                                              | 129 |
| <b>Şekil 2.4.</b>  | p22phox Geninin 16. Kromozom Üzerindeki Yerinin Şematik Gösterimi.                                                                    | 129 |
| <b>Şekil 2.5.</b>  | MnSOD Val16Ala Polimorfizmi Agaroz Jel Görüntüsü.                                                                                     | 132 |
| <b>Şekil 2.6.</b>  | p22phox His72Tyr Polimorfizmi Agaroz Jel Görüntüsü.                                                                                   | 133 |
| <b>Şekil 3.1.</b>  | Sigara Kullanımı ve DNA Hasarı Arasındaki İlişki.                                                                                     | 137 |
| <b>Şekil 3.2.</b>  | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik.                       | 140 |
| <b>Şekil 3.3.</b>  | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik.                     | 142 |
| <b>Şekil 3.4.</b>  | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik. | 143 |

## ÇİZELGELER

|               |                                                                                                                                                                                     |     |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Çizelge 1.1.  | Bazı As Bileşikleri ve Kullanım Alanları                                                                                                                                            | 10  |
| Çizelge 1.2.  | Bazı Ülkelerde Ölçülen Arsenik Konsantrasyonları                                                                                                                                    | 13  |
| Çizelge 1.3.  | Türkiye'de ve Kütahya'da Ölçülen Arsenik Konsantrasyonları                                                                                                                          | 14  |
| Çizelge 1.4.  | Genel Arsenik Toksikokinetiği                                                                                                                                                       | 19  |
| Çizelge 1.5.  | As Ölçümünde Kullanılan Materyaller ve Başlıca Analitik Cihazlar                                                                                                                    | 30  |
| Çizelge 1.6.  | As Zehirlenmelerinde Kullanılan Bazı Şelatlama Ajanları                                                                                                                             | 36  |
| Çizelge 1.7.  | As Maruziyetlerinde Bazı Genotoksik Etkiler                                                                                                                                         | 53  |
| Çizelge 1.8.  | Başlıca Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri                                                                                                                                         | 57  |
| Çizelge 1.9.  | Antioksidan Sistem Elemanları                                                                                                                                                       | 62  |
| Çizelge 1.10. | MnSOD Adlandırmaları                                                                                                                                                                | 96  |
| Çizelge 1.11. | MnSOD Genindeki Genel Alelik Varyasyon Dağılımı                                                                                                                                     | 99  |
| Çizelge 1.12. | NADPH Oksidaz Altbirimleri ve Özellikleri                                                                                                                                           | 104 |
| Çizelge 1.13. | p22phox Geni Adlandırmaları                                                                                                                                                         | 107 |
| Çizelge 1.14. | Etnik Gruplara Göre p22phox Frekansları                                                                                                                                             | 111 |
| Çizelge 1.15. | TNP Belirleme Yöntemleri                                                                                                                                                            | 114 |
| Çizelge 2.1.  | Comet Yöntemi'nde Kullanılan Materyaller                                                                                                                                            | 118 |
| Çizelge 2.2.  | AAS Analizinde Kullanılan Materyaller                                                                                                                                               | 122 |
| Çizelge 2.3.  | Kan As Analizinde Grafit Fırın Sıcaklık Programı                                                                                                                                    | 124 |
| Çizelge 2.4.  | Kan As Analizinde Varian AA240Z Zeeman AAS'de Uygulanan Prosedür                                                                                                                    | 124 |
| Çizelge 2.5.  | Gen Polimorfizminin Belirlenmesinde Kullanılan Materyaller.                                                                                                                         | 125 |
| Çizelge 2.6.  | PCR Bileşenleri ile Stoktaki ve Reaksiyondaki Konsantrasyonları                                                                                                                     | 128 |
| Çizelge 2.7.  | MnSOD Val16Ala Gen Polimorfizmi Analizi İçin Kullanılan F ve R Primerlerine Ait Özellikler                                                                                          | 128 |
| Çizelge 2.8.  | p22phox His72Tyr Gen Polimorfizmi Analizi İçin Kullanılan F ve R Primerlerine Ait Özellikler                                                                                        | 129 |
| Çizelge 2.9.  | MnSOD Val16Ala Gen Polimorfizmini Belirlemede Kullanılan PCR Programı                                                                                                               | 129 |
| Çizelge 2.10. | p22phox His72Tyr Gen Polimorfizmini Belirlemede Kullanılan PCR Programı                                                                                                             | 130 |
| Çizelge 2.11. | MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr Gen Polimorfizminlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Restriksiyon Enzimleri, Kesim Koşulları ve Kesim Sonucunda Oluşan Oligonükleotid Uzunlukları | 131 |

|                      |                                                                                                                                                   |     |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 3.1.</b>  | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerin Tanımlayıcı İstatistikleri: Yaş Ortalamaları, Çalışma Süreleri, Kan Örneklerindeki As Düzeyleri ile DNA Hasarları | 135 |
| <b>Çizelge 3.2.</b>  | DNA Hasarı, Kan As Düzeyleri ve Maruziyet Süreleri Arasındaki Korelasyon                                                                          | 136 |
| <b>Çizelge 3.3.</b>  | Sigara İçimi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki                                                                                                     | 136 |
| <b>Çizelge 3.4.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Genotipinin Hardy-Weinberg Dengesinde Olup Olmadığının Tespiti                                           | 137 |
| <b>Çizelge 3.5.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Genotipinin Hardy-Weinberg Dengesinde Olup Olmadığının Tespiti                                         | 138 |
| <b>Çizelge 3.6.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile Oluşan Genotip Frekansları                                                              | 138 |
| <b>Çizelge 3.7.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile Oluşan Alel Frekansları                                                                 | 138 |
| <b>Çizelge 3.8.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile Oluşan Genotip Frekansları                                                            | 139 |
| <b>Çizelge 3.9.</b>  | Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile Oluşan Alel Frekansları                                                               | 139 |
| <b>Çizelge 3.10.</b> | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki                                                      | 140 |
| <b>Çizelge 3.11.</b> | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki                                                    | 141 |
| <b>Çizelge 3.12.</b> | Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki                                | 142 |
| <b>Çizelge 4.1.</b>  | Popülasyonlara Göre Ortalama Kan Arsenik Düzeyleri                                                                                                | 148 |
| <b>Çizelge 4.2.</b>  | Popülasyonlara Göre As Maruziyetleri ve Genotoksik Etkileri                                                                                       | 151 |
| <b>Çizelge 4.3.</b>  | MnSOD Val16Ala (rs4880) Polimorfizminin Dünyada ve Türkiye'deki Genotip ve Alel Frekansları                                                       | 154 |
| <b>Çizelge 4.4.</b>  | p22phox His72Tyr (rs4673) Polimorfizminin Dünyada ve Türkiye'deki Genotip ve Alel Frekansları                                                     | 158 |

## 1. GİRİŞ

Çevremizde metallere maruziyet ve toksik etkileri oldukça yaygın olup ciddi sorunları da beraberinde getirmektedir. Metalloid özellik gösteren arsenik yerkabuğunda doğal olarak bulunmakta ve yeraltı sularıyla çözünerek çevreye dağılmaktadır. ABD, Kanada, Meksika, Arjantin, Polonya, Türkiye ve özellikle uzak doğu grubu olan Hindistan, Bangladeş, Çin, Tayvan ve Japonya'da toprak ve sularda arsenik düzeyleri yüksek bulunmuştur (Smedley ve Kinniburgh, 2002).

Başlıca deri ve iç organlar üzerine oldukça toksik etkiler gösteren arsenik, hücre enerji yollarında, DNA sentezi ve tamirinde görevli birçok enzimi inaktive edebilmektedir (Hu ve ark., 1998; Hughes ve ark., 2011). İnorganik arsenik maruziyeti oksidatif stresi tetikleyerek DNA hasarları başta olmak üzere, protein hasarlarına, lipid peroksidasyonlara ve hücre siklularında değişikliklere neden olabilmektedir (Hughes ve ark., 2011). Tüm bunlar hücre yapısında ciddi geri dönüşsüz hasarlara ve kronik maruziyette keratozlara ve kanserlere neden olabilmektedir (Hansen ve ark., 2004; Centeno ve ark., 2002).

Ülkemizde jeojen yapısı nedeniyle arsenik maruziyetinin görüldüğü Kütahya-Emet bölgesinde toksik etkileri gözlenmektedir (Doğan ve ark., 2005; Doğan ve Doğan, 2007; Sardaş, 2009; Gunduz ve ark., 2015; Arikan ve ark., 2015). Ciddi toksik etkilerin görülmeye başlanması maruziyetin boyutunu da ortaya koymaktadır. Ancak arsenik maruziyeti sonucu aynı ortamdaki farklı bireylerde farklı toksik etkiler görülebilmekte ve farklı arsenik düzeyleri tespit edilebilmektedir (Sardaş, 2009; Arikan ve ark., 2015).

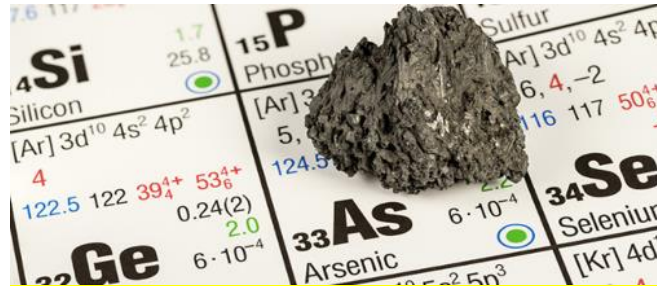
Yaptığımız çalışmada arseniğe maruz kalan işçilerde kan arsenik düzeylerinin ve oksidatif stresle ilişkili Mn-SOD ve p22phox gen polimorfizmlerinin DNA hasarına etkisi araştırılmaktadır. Aynı ortamdaki bireylerde farklı arsenik düzeylerinin tespiti kaza ya da kasıtlı/ihmal sonucu toksisiteler ile genetik faktörlerden ileri gelen toksisitelerin ayırımında Adli Toksikoloji'ye katkı sağlaması hedeflenmektedir. Kütahya-Emet bölgesinde bir fabrikada çalışan, 18 yaş ve üzeri deney grubumuzu oluşturan 175 erkek birey

belirlenmiştir. Çalışmamızda her gönüllü için yaş, cinsiyet, yaşadıkları bölge, sigara kullanımı-süresi ve sağlık sorunlarıyla ilgili bilgiler kaydedilmiştir.

### 1.1. Arsenik

Yerkabuğunun yapısında yaygın olarak bulunan metal ve metalloid yapılu bileşikler yeraltı suları ile çözünerek çevreye yayılarak ya da endüstriyel işlemler neticesinde toksik etkilere neden olabilmektedirler (Hughes ve ark., 2011). Metalloid özellik gösteren arsenik de bunlardan biridir. 1250’li yıllarda Albertus Magnus tarafından ilk defa izole edilmiş olsa da Antik Çin, Mısır ve Yunan uygarlıklarında kullanıldığı bilinmektedir (Jomova ve ark., 2011; Hughes, 2002).

Arsenik, Toksik Maddeler ve Hastalık Tescil Kurumu’nda (ATSDR, 2007-Agency for Toxic Substances and Diseases Registry) maddelerin toksik oluşuna, toksisitenin sıklığına, insan maruziyet potansiyeline göre sıralandığı, öncelikli tehlikeli maddeler listesinde ilk sırada yer almaktadır (Hughes ve ark., 2011).



**Şekil 1.1.** Arsenik (<https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/68190/arsenic-brain-cancer/>).

Arsenik periyodik tabloda 5A grubunda, 33 atom numarasına ve 74,91 atom ağırlığına sahip, metalloid yapıda bir elementtir (Şekil 1.1). “As” simgesiyle ifade edilmektedir. Gri, siyah, sarı renkte 3 allotropu olup, gri arsenik kararlı yapıya sahip metalik özellikte, ısı iletkenliği iyi ve süblimleşme özelliği varken, siyah arsenik amorf, sarı arsenik ise uçucu özelliktedir ve ametalik özellik göstermektedir (<http://www.rsc.org/periodic-table/element/33/arsenic>).

Arsenik, elemental, organik/inorganik bileşikler, farklı oksidasyon (-3, 0, +3, +5) durumları ve gaz formları halinde bulunmaktadır (IARC, 2012).

Elemental arsenik siyah renkte olup en saf halidir. Gastrointestinal olarak absorbe olmaz.

Organik arsenikler karbon içeren arsenik bileşikleridir, hayvan ve bitkilerde bulunurlar, Monometil Arsonik Asit ( $\text{MMA}_v$ ), Dimetil Arsinik Asit ( $\text{DMA}_v$ ), difenil klorarsin, betaklor vinilklor arsin ise organik formu bileşiklerdendir (ATSDR, 2013).

İnorganik arsenik toprak, kaya ve su gibi jeolojik materyallerde doğal olarak bulunur ve arsenik trioksit, kurşun arsenat, bakır aseto arsenit gibi arsenat ( $\text{As}^{+5}$ ) ve arsenitler ( $\text{As}^{+3}$ ) inorganik formullardır (ATSDR, 2013).

Arsenit, Arsenik trioksit, Monometilarsinöz asit ve Dimetilarsinöz asit başlıca üç değerlikli arsenik bileşikleridir. Arsenat, Arsenik pentoksit, Monometilarsonik asit, Dimetilarsinik asit, Trimetilarsin oksit, Arsanilik asit, Arsenobetain ise başlıca beş değerlikli As bileşiklerindendir. İnorganik arsenik bileşikleri organik bileşiklere göre daha toksiktirler (Vahter, 2002). İnorganik arseniklerin trivalan (3) formu da pentavalan (5) değerlikli olanlarından daha toksik etki gösterir. İnorganik formların vücuttaki hücrelerle reaksiyona girme, hücreden belirli elementleri ve/veya hücrenin işlevini değiştirme olasılıkları daha yüksektir. Organik arsenikler biyolojik sistemlerce inorganik formlarına dönüştürülmektedirler (Frith, 2013).

Arseniğin gaz formlarından  $\text{H}_2$ 'li bileşiklerinden olan Arsin ( $\text{AsH}_3$ ) gazı yüksek akut toksisiteye sahip olup, sarımsak kokuludur (ATSDR, 2007).

### **1.1.1. Arsenik Kaynakları**

Arsenik jeojenik (doğal), antropojenik (insan) ve biyojenik kaynaklı olarak sularda, toprakta ve havada bulunabilen metalloidlerdendir. Jeojenik As tektonik

hareketler, iklim değişimleri, volkanik olaylar gibi çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlerce ekosisteme dağılmaktadır (Mahimairaja ve ark., 2005).

Arsenik doğada Jeojenik olarak nadiren serbest halde karşımıza çıkar, büyük ölçüde sülfür, oksijen ve demirle beraber bulunur ve yerkabuğunda bulunan arsenik konsantrasyonu ortalama 2 ppm kadardır (Brewster, 1994; Chatterjee, 1994). Sülfür, klor ve oksijenle bileşikler oluşturmuş haldedir. Yerkabuğunda en yaygın formları Arsenik sülfürleri ve metal arsenat, metal arsenitleridir. İnorganik formları daha çok volkanik ve sedimanter kayalarda bulunmaktadır. Realgar/Kırmızı Arsenik ( $As_4S_4$ ), Arsenopirit/Gri Arsenik ( $FeAsS$ ), Orpiment/Sarı Arsenik ( $As_2S_3$ ) ve arsenik sülfürleri/Beyaz Arsenik ( $As_2O_3$ ) başlıcaları olmak üzere ikiyüzün üstünde arsenik mineralleri vardır (Özkul ve ark., 2011) (Şekil 1.2). Arsenikli minerallerden en yaygın olanı arsenoprit olup, bakır, gümüş, kurşun, antimon, nikel ve kobalt içeren madenlerde sülfür formunda bulunur (WHO, 2001). Arseniğin sülfürlü bileşiklerinden olan Realgar, Kırmızı Arsenik-Kızıl Zırnık olarak da bilinmektedir (Hughes ve ark., 2011).



Realgar ( $As_4S_4$ )



Arsenopirit ( $FeAsS$ )



Orpiment ( $As_2S_3$ )

Şekil 1.2. Doğadaki Bazı Arsenik Formları (Thegypsythread, 2016; Dakotamatrix, 2016; Geologyscience, 2016).

Yerkabuğundaki arsenik formları atmosfere çeşitli ısı işlemler neticesinde salınarak su, hava ve topraktaki partiküllerce tutulmaktadır. Bu nedenledir ki doğada en yaygın bulunanı arsenik trioksit formlarıdır (Chatterjee, 1994; ATSDR, 2007). Arseniğin doğada bulunan sudaki varlığı suyun, arsenik içeren kaya ve tortulardan geçmesi, arsenikli minerallerin ayrışması, kayaların çözünmesi, volkanik aktiviteler ve jeotermal olaylarca gerçekleşmekte ve bunlar arseniğin jeojen kaynaklarını teşkil etmektedir

(Smedley ve Kinniburgh, 2002). Arsenik toprakta, suda ve canlılarda ppb ( $\mu\text{g/L}$ )-ppm ( $\text{mg/L}$ )'e kadar çeşitli konsantrasyonlarda bulunabilmektedir (Jain ve Ali, 2000).

Arseniğin antropojenik kaynaklarını başta yerkabuğundaki arsenik konsantrasyonu, yüksek bölgelerdeki metal madenciligi (metallerin eritilmesi, işlenmesi, saflaştırılması, yakılması v.b), o bölgelere artezyen kuyuların kurulumu ve tarım alanlarının kurulması oluşturmaktadır (Wu ve ark., 2001). Bunların dışında tarımda As'li pestisit-insektisit kullanımı, fosil yakıtların kullanılması, As ve bileşiklerinin imalatı (bronz eldesi), tıp, teknoloji (yarı iletken, pirotekni -patlayıcı) gibi endüstride çeşitli alanlarda kullanılması da As'nin antropojenik kaynaklarını oluşturmaktadır (Wu ve ark., 2001).

Arseniğin bir diğer kaynağı biyogenik kaynaklar olup; deniz kaynaklı besinler (balıklar ve kabuklu deniz ürünleri-Arsenobetain), hububatlar (pirinç), kümes hayvanları, süt ürünleri arsenik formlarından içermektedir (ATSDR, 2007).

### **1.1.2. Geçmişten Günümüze Arsenik Kullanımı**

Arsenik ilk olarak 1250'lerde simyacı Albertus Magnus tarafından Orpiment'ten ( $\text{As}_2\text{S}_3$ -Arseniksülfid) element halinde izole edilmiştir (Hughes, 2002). Ancak ilk arsenik formları/bileşikleri M.Ö. 300'lerde Yunan filozof Theophrastus tarafından, sülfüre alternatif güçlü bir form olarak düşünülerek kullanılmış ve "Arsenikon" olarak adlandırılmıştır (Bowell ve ark., 2014). Bu adlandırmada Yunanca maddenin güçlü özelliklerine itafen güçlü-erkeksi manasına gelen arsenikon kelimesi kullanıldığı ifade edilmektedir. Bir başka ifade de ise arsenik kelimesinin temelini Farsça Sarı anlamındaki "Zarnikh" Zırnık kelimesinden türediği, sırasıyla Aramice'ye, Arapça'ya ve Yunanca'ya geçtiği ifade edilmektedir (<https://www.etymonline.com/word/arsenic>). Theophrastus'un orpiment ( $\text{As}_2\text{S}_3$ ) ve realgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) bileşiklerini kullandığı belirtilmiştir. Arseniğin antik Mısır'da kullanımı papiruslarında da rastanılmıştır. Özellikle metallerin altın kaplanmalarında, bakırı sertleştirmede, mumyalamada insektisit amaçlı, Nil nehri taşkınlarında ise içme suyuna dezenfektan amaçlı kullanmıştır. Geleneksel Çin tıbbında 3000 yıla yakındır Arsenik Trioksit, Orpiment,

Realgar kullanılmakta olup, arsenik trioksitin balgamlı öksürükte, astımda, sıtmada, tuberküloz tedavilerinde, hemoroidde ve tenya enfeksiyonlarının tedavilerinde kullanıldığı bilinmektedir (Doyle, 2009). Çin'li Ts'ao Kang-Mu'nın yazılarında ise arseniğin toksik etkilerinden ve pirinç tarımında pestisit amaçlı kullanımından bahsedilmiş, Hint tıbbında da uzun yıllardır kullanılan arsenik ateşin semptomatik tedavisinde kullanılmak için özellikle trioksit formu ithal edilerek kullanılmıştır (Cullen, 2008; Frith, 2013).

Medikal alanda arsenik kullanımında Hipokrat'ın (M.Ö. 469-377) ülser ve apse tedavisinde As'li macun kullandığı ve tonik olarak tavsiye ettiği; Aristoteles ve Paracelsus'unda yine tıbbi tedavide As'li ilaç kullandıkları belirtilmiştir (Hyson, 2007; Cullen, 2008). Yunan herbalistlerin arseniği reçineyle karıştırıp öksürük ve astımda iksir ve inhaler şeklinde kullandıkları bilinmektedir. İbni Sina (Avicenna)'nın (M.S. 980-1037) yazdığı “Kitap Al Kanun Fı't Tıbb” kitabında arsenik-trioksit'in özelliklerinden bahsetmiştir (Frith, 2013). Arseniğin medikal alanda esas kullanımı 1786 yılında keşfedilen Fowler Çözeltisi (Fowler'ın %1'lik Potasyum-Arsenit çözeltisi) ile olmuş; sıtma, sifiliz, astım, egzema ve sedef gibi hastalıkların tedavisinde rutin kullanıma girmiştir ve farmakopelerde geçmeye başlamıştır (Scheindlin, 2005; Hughes ve ark., 2011). Donowan çözeltisi (Arsenik-triiyodür) ve Valagin çözeltisi (Arsenik-trikloror) olarak arsenik bileşikleri çözelti, tablet, pastil ve enjekte formda piyasada kullanılmaya başlanmıştır (Scheindlin, 2005). Guatrda, pernisiyoz anemide, Hodgkins hastalığında, astımda, anemik-kusmada ve uçuk tedavisinde kullanılmıştır. 1940'a kadar arsenik bazlı Salvarsan isimli bir ilaç Sifiliz tedavisinde kullanılmış, ikinci dünya savaşında Frengi hastalığının tedavisinde yine arsenik (Arsphenamine) kullanılmıştır (Ratnaïke, 2003). Arsenik'li bir macunun cilt, meme v.b. kanser tedavilerinde kullanıldığı, Kronik Myeloid Lösemi tedavisinde Fowler çözeltisinin kullanıldığı gözlenmiştir. Fowler çözeltisi aynı zamanda vücuda destek amaçlı da verilmiştir. Fowler çözeltisinin uzun süre kullanımından kaynaklanan kronik arsenik zehirlenmesi, hemanjiosarkoma, karaciğer anjiosarkoma ve nazofarenks karsinomuna neden olmuştur (Ratnaïke, 2003). Zamanla Fowler çözeltisi kullanımı ile Arseniğin toksik etkilerinin gözlenmesi, As'nin kanser tedavisindeki kullanımı azaltmıştır. Ancak 1970'de Çin'de arsenik trioksitin saflaştırılarak, Akut Promyelositik

Lösemi tedavisindeki başarısı ve ABD'deki çalışmalar, neticesinde FDA'den arseniğin (Arsenik-Trioksit) tedavide kullanım onayı alınmıştır (Thomas ve Troncy, 2009; Hughes ve ark., 2011). Onkologlar günümüzde arseniğin trioksit formunu özellikle Kronik Miyelositik Lösemide, Akut Promiyelositik Lösemide, T-Hücre Lenfoması'nda ve Myelomada kullanmaktadırlar (Doyle, 2009). Arseniğin bazı izotopları (As-72/74/76) ise tıpta tanı yöntemlerinde kullanılmakta, akciğer kanseri (Lin ve ark., 2005), serviks kanseri (Kang ve ark., 2004), yumurtalık kanseri (Kong ve ark., 2005), pankreatik kanser, hepatosellüler kanser (Lin ve ark. 2006) gibi kanser türlerinde de As'li bileşiklerin tedavi süreçleri araştırılmakta ve yayınlar yapılmaktadır.

Arsenik 18. ve 19. yüzyıllarda kadınlar tarafından kozmetik amaçlı kullanılmıştır. Cilt ve saç beyazlatmada kullandıkları arseniğin güzellik ve tazelik verdiği düşünülmüştür. Ciltlerine Fowler çözeltisinden tonik ya da toz halde sürdükleri arsenik, yüzlerinde oluşan vazodilatasyon nedeniyle hafif kızarıklık ve dolgunluk oluşturduğu için kadınlarca tercih edilmiş, hatta eklem ağrılarının giderilmesi ve libido artırmak amacıyla yine kadınlarca kullanılmıştır (Frith, 2013). 19. yüzyılda Avusturya köylü erkeklerinin dağ tırmanışlarında daha rahat nefes almak için As yedikleri, ekmeklerine As sürdükleri hatta As ilave edilmiş sularda yıkandıkları belirlenmiş, idrar örneklerinde As tespit edilmiştir (Frith, 2013).

“Kralların Zehri” ya da “Zehirlerin Kralı” olarak da adlandırılan Arseniğin, zehir/toksik amaçlı kullanımında renksiz, kokusuz olması yiyecek-içeceklere eklendiğinde farkedilemeyişi ve toksik etkilerinin diğer hastalıklarla benzerliği etkili olmuştur (Cullen, 2008; Wharton, 2010). Zehirlemek amaçlı ilk olarak Roma'lı Nero'nun (M.S. 37-68) Britanicus'u (M.S. 55) öldürmede kullandığı belirtilmektedir (Doyle, 2009). Arsenik 8. yüzyılda Arap bir simyacı tarafından arsenik-oksit (beyaz) tozları haline getirilerek kullanıldığı bilinmektedir. Yasa dışı kullanımının erişimin kolay olması nedeniyle 14. yüzyıldan itibaren yasa dışı kırmızı arsenik satışı artmıştır. Borgia ve Lucretia aileleri profesyonel zehirleyiciler olarak anılmış (15. yüzyıl), As'li tozları zehirleyici olarak kullandıkları görülmüş ve arsenik 16. yüzyılda “Altın Dünya” olarak adlandırılarak fare zehiri olarak kullanılmaya başlanmıştır (Doyle, 2009; Frith, 2013). 17. yy.'da İtalyan Toffana ve kızı, ticari zehirlenme ajanı olarak As'li

kozmetiklerde çeşitli metotlar geliştirerek yüzlerce erkeğin ölümüne neden olmuşlar ve Roma'da infaz edilmişler, arsenik ise 19. yüzyıldan itibaren “Miras Tozu” olarak anılmaya ve kullanılmaya başlanmıştır (Frith, 2013). İngilizler tarafından sürgündeki Napolyon'un ölümünde, ölüm esnasındaki kaydedilen semptomlarından ve de postmortem incelemelerinden As'le zehirlendiği düşünülmektedir (Hughes ve ark., 2011). Arseniğin ulaşılabilirliği, öldürücü potansiyeli ve ucuz olması kasıtlı cinayetlerde popüler hale getirmiştir. Hollandalı Good Mary tanıdığı en az 102 kişiye önce hayat sigortası açtırmış ve sütlerine Arsenik-trioksit ekleyerek ikram etmiş ve 27'sinin ölümüne (ölenlerin 16'sı kendi akrabası), 45'inin nörolojik toksik etkiler göstermesine neden olmuştur (Vahidnia ve ark., 2007).

Tercihlerin artışı nedeniyle As ile ilgili yasalar çıkarılarak, gerekli görüldüğünde ancak doktorlar tarafından reçete edilmeye başlanmıştır. Tüm bu kısıtlamalara rağmen sigortadan para almak için kadınların eşlerini öldürmeye teşebbüs ettikleri durumlar da yaşanmıştır. As zehirlenmelerinde tırnak/saç örneklerine Marsh Testi (1836) uygulanarak As maruziyeti belirlenmeye başlanmıştır (Frith, 2013). Ancak Marsh testiyle zehirlenmelerin tespit edilmeye başlanması bir süre sonra kullanımını azaltmıştır. 20. yüzyıl başlarında bir Çin imparatoru As ile zehirlenerek öldürülmüştür. İkinci Dünya Savaşı'nda esir düşen eski Alman askerleri As'li ekmek yedirilerek intikam amaçlı zehirlenmiş ve As ikibinden fazla kişinin ölümüne neden olmuştur (Doyle, 2009).

Arseniğin solunum yolu irritanı olması, ciltte ve gözde tahrişe neden olması onu savaş gazı olarak tasarlanmasına neden olmuştur. 1. Dünya savaşında Klor, Fosgen ve Hardal gazlarının savaş gazları olarak kullanılması ile karşı savunma amaçlı Amerikan Ordusu tarafından Lewisit ve Adamsit gazları geliştirmiştir (Frith, 2013). Lewisit diğer adıyla dikloroarsin ( $C_2H_2AsCl_3$ ) bir solunum yolu, deri ve göz irritanı olup, absorbe edildiğinde ciddi toksikan olup, kokusu sardunya kokusunu andırmakta, deriden maruziyeti ile ciltte sıvı dolu, iri ve ağrılı kabarcıklar meydana getirmektedir (Cullen, 2008). İnhal edilmesiyle solunum yolu enfeksiyonları, nekroz ve akut pnömoniye neden olmakta, deriden absorbe edilmesiyle diyare, bulantı, kusma, hipotansiyon ve sistemik toksisite meydana getirir (Lewisit oksit oluşur) (Frith, 2013). Lewisit havada ve suda dağılabilir, uzun süreli maruziyeti ölüme neden olmaktadır.

Adamsit (DM ya da difenilaminkloroarsin -  $C_{12}H_9AsClN$ ), Lewisit kadar güçlü olmasa da solunum yolu ve göz irritanı olup, etkileri kısa sürelidir (Cullen, 2008). Kapalı alanlarda daha etkilidir, ölümcül olabilmektedir. Lewisit ve Adamsit savaş gazı olarak 1. Dünya Savaşı sırasında geliştirildi. Fosgen ve As'li bileşikler içeren kimyasalların 1. Dünya Savaşı'nda kullanılmasıyla 91 bin kişinin ölümüne ve 1,3 milyon kişinin yaralanmasına neden olunmuştur (Allen, 2002). 1997'de yapılan uluslararası kimyasal anlaşmalar nedeniyle, kullanımı ve depolanması yasaklanmış, imhası teşvik edilmiş, ancak büyük stoklara sahip Amerika ve Rusya gibi devletlerdeki kalan Lewisit ve Adamsit gazı stokları hala biyoterorizm ajanı olarak risk taşımaktadır (Frith, 2013).

Yerkabuğundaki arsenik özellikle altın ve bakır gibi metalik maden yataklarında magmatik ve hidrotermal süreçlerle yoğunlaşır ve özellikle altın, kalay, bakır ve tungsten (Cohen ve Howell, 2014) gibi metalik maden yataklarına ulaşımada kullanılmaktadır. Ayrıca antimon ve gümüş cevherleriyle birarada bileşik halde bulunabilmektedir. Ticari arsenikler bakır, kurşun, kobalt, altın cevherlerinin eritilmesiyle elde edilmektedirler. Özellikle arsenopirit ve arseniğin diğer metalik cevherleri oksijenli ortamda ısıtıldıklarında Arsenik Trioksit dediğimiz beyaz arseniği (saf) oluşturur. Ticari amaçlı As en çok trioksit formunda ya da bunun ısıtılmasıyla elde edilen metal formunda kullanılmaktadır (Hughes ve ark., 2011).

Arsenik 19.yüzyılda renk verici pigment olarak “Paris Yeşili” adı altında (Bakır-Asetoarsenit), duvar kağıtlarında, oyuncaklarda, mum ve kumaşlarda kullanılmış ve arsenik zehirlenmeleri ve hatta ölümler gözlenmiştir (Scheindlin, 2005). 19. yüzyılın ortalarından itibaren arsenikli paris yeşili pigmenti insektisit olarak da kullanılmış ve zamanla yerini Kurşun-Arsenat almıştır. Arsenik kullanımı pigment ürünlerindeki toksik etkilerine rağmen, cam ve yarı iletkenlerin (Galyum arsenite) üretiminde kullanılmaktadır (Choong ve ark., 2007). Pestisit olarak inorganiklere göre daha az toksik olan Monosodyum-metanarsonat ( $MSMA_sV$ ) ve Dimetil-arsinik ( $DMA_sV$ ) gibi organik arsenikler kullanılmaya başlanmıştır. Ahşap koruyucu olarak Kromlu-Bakır-Arsenat 19. yüzyılın ortalarından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (Frith, 2013). Halen ev dışı uygulamalarda ahşap koruyucu olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum ve kurşun arsenatlar matbaa mürekkebi, tekstil boyası olarak

kullanılmaktadır. Kurşun saçmalarının yuvarlaklığının verilmesinde, sinek kağıtlarında, seramik emayelerde, mumyalamada kullanılırken, organoarsenik bileşikler ise kümes hayvanlarının yemlerine eklenerek hastalık önleyici ve kilo arttırıcı olarak kullanılmaktadır.

Belli başlı arsenik bileşikleri ve kullanım alanları aşağıdaki Çizelge 1.1’de belirtilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Bazı As Bileşikleri ve Kullanım Alanları.

| <b>As Bileşikleri</b>                                         | <b>Kullanım Alanları</b>                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Arsenik-trioksit (inorganik)- ( $As_2O_3$ )                   | Rodentisit, Dişçilikte, Çok toksik                                                                              |
| Sodyum-Arsenit (inorganik)                                    | İnsektisit                                                                                                      |
| Bakır-Aseto-Arsenit (inorganik)- ( $Na_3AsO_4 \cdot 12H_2O$ ) | İnsektisit, matbaa mürekkebi, tekstil boyaları (Paris Yeşili) ve kalsiyum-kurşun arsenatların üretiminde        |
| Arsenik-triklorür (inorganik)                                 | İnsektisit                                                                                                      |
| Arsenik pentoksit (inorganik)- ( $As_2O_5$ )                  | İnsektisit                                                                                                      |
| Arsenik asit (inorganik)                                      | İnsektisit                                                                                                      |
| Kurşun arsenat (inorganik)                                    | İnsektisit                                                                                                      |
| Potasyum-dihidrojen-arsenat (inorganik) $KH_2AsO_4$           | İnsektisit, Deri ve Kağıt endüstrisinde                                                                         |
| Monometilarsonat (Organik)                                    | Herbisit                                                                                                        |
| Dimetilarsinat (Organik)                                      | Herbisit                                                                                                        |
| Arsenobetain (Organik)                                        |                                                                                                                 |
| Difenilklor arsin                                             | Kimyasal savaş gazı                                                                                             |
| Betaklorvinilklor arsin (Lewisit)                             | Kimyasal savaş gazı                                                                                             |
| Bakır Kromatlı Arsenik                                        | Ahşap koruyucu                                                                                                  |
| Galyum arsenit-GaAs                                           | Mikroelektronik endüstrisinde                                                                                   |
| Arsenik trioksitler                                           | Kronik Miyelositik Lösemide, Akut promiyelositik Lösemide, T-Hücre Lenfoması'nda ve Myelomada terapötik amaçlı. |

### 1.1.3. Dünyada-Türkiye’de-Kütahya'da Arsenik Kirliliği

As yer kabuğunun yapısında doğal halde bulunduğundan dünyada belirli bölgelerde daha çok olmak üzere yaygın bulunur. Arsenik yer kabuğundaki volkanik aktiviteler, orman yangınlarıyla ortama salınmakta kayalardaki çeşitli erozyonlarla yer altı sularına karışmaktadır. Çin (Lianfang ve ark., 1994), Hindistan, Bangladeş

(Chowdhury ve ark., 2000; Karim, 2000; Mukherjee ve Bhattacharya, 2001), Şili (Ferrecio ve ark., 2000), Japonya, Kore, Malezya, Tayvan (Chen ve ark., 1994), Vietnam (Berg ve ark., 2001), Nepal, Meksika, Amerika (Steinmaus ve ark., 2003), Arjantin (Smedley ve ark., 2005; Bundschuh ve ark., 2004), Brezilya, Kanada, Moğolistan, Romanya, Gana, Macaristan, Yunanistan, İzlanda, Avusturya gibi ülkelerde de sularındaki As seviyelerinin yüksek düzeyde ( $> 50 \mu\text{g/L}$ ) olduğu bildirilmiştir (Centeno ve ark., 2007) (Şekil 1.3). Bu ülkelerdeki yüksek As konsantrasyonu doğal jeolojik oluşumlardan ve endüstriyel amaçlar için maden işlerinden, insektisit ve pestisit kullanımları gibi antropojenik kaynakların katkısıyla olmaktadır (Chung ve ark., 2014). Yeraltı sularında inorganik As'nin trivalan ve pentavalan formları bulunmaktadır. Yeraltı sularındaki As, inorganik arsenik maruziyetinin temel kaynağıdır ve arsenik kontaminasyon riski genellikle yeraltı sularında yüzey suyundan daha yüksektir (Argos ve ark., 2012).



**Şekil 1.3.** Yeraltı Sularında  $50 \mu\text{g/L}$ 'den Daha Yüksek Seviyede Arsenik Bulunduran Ülkeler (Centeno ve ark., 2007).

Jeologlar da As'nin yer altı sularına sızdığı kaynakları ve As'nin hareket koşullarını araştırmaktadırlar. Dünya'da 200 milyona yakın insanın As maruziyet riski altında olduğu bildirilmiştir (NRC, 2001).

Bangladeş'te 1970'lerde çocuk ölümlerinin artması nedeniyle içme suyunun kalitesini artırmak için, Dünya Bankası ve Birleşmiş Milletler gibi büyük çaplı uluslararası kuruluşların teşviki ve desteğiyle içme suyu kuyuları açılmıştır. Suların kirlilik analizleri yapılırken As analizleri yapılmamış ve halk As'li sulara onlarca yıl maruz kalmıştır. Bu bölgelerde yapılan analizlerde maruziyeti 50 µg/L'nin üzerinde belirlenerek, tarihteki en büyük zehirlenme olarak kabul edilmektedir (Mazumder ve ark., 1998). As kontaminasyonlu yeraltı sularının aktif kullanımı ile Bangladeş (on milyon), Hindistan ve Batı Bengal'de (altı milyon) kitlesel sağlık sorunlarına neden olmuştur. Arsenik WHO'da içme sularındaki en toksik madde olarak tanımlanmış ve 50 µg/L olan maksimum As konsantrasyonunu 1993'ten sonra 10 µg/L'ye düşürülmüştür (WHO, 2000a). Göl sularında < 0,2-0,42 µg/L, deniz sularında (Pasifik/Atlantik) 1-1,8 µg/L, Batı Bengal yer altı sularında < 0,5-3 200 µg/L, Bangladeş'te < 0,5-2 500 µg/L, Wyoming (ABD) jeotermal sularda 160-10 000 µg/L ve Şili jeotermal sularında ise 45 000-50 000 µg/L konsantrasyonlarında As bulunmaktadır (Bowell ve ark., 2014). Arjantin Cordoba'da jeotermal sularda, sığ sularda ve yüzey sularında da As tespit edilmiş ve As konsantrasyonu 100 µg/L'den fazla ölçülmüş, Şili'de sularda As seviyeleri 800 µg/L düzeylerde ölçülmüştür (Centeno ve ark., 2007). Bu düzeyler dünya sularındaki As kirliliğinin hangi boyutlarda olabileceğini gözler önüne sermektedir.

Madencilikte (altın madenciliğinde) maden drenajlarında da yüksek düzeyde (850 mg/L) As konsantrasyonları ortaya çıkabilmektedir. En yüksek ölçüm Çek Cumhuriyeti'ndeki Jachymov madeninde 130 000 mg/L konsantrasyonda As tespit edilmiştir (Majzlan ve ark., 2014). Hidrotermal cevher yatakları, kömür-linyit yatakları da bulunmaktadır. Kömür yatakları As konsantrasyonu 0,3-35 000 mg/kg olabilmektedir (Smedley ve Kinniburgh, 2002). Daha çok altın ve bakır gibi sülfürlü mineral yatakları yoğun halde bulunur, pirit ve demiroksitlere affinitesi güçlüdür. Gana Altın yatakları As konsantrasyonu 2-35 600 mg/kg, Altın madeninde atık olarak Kaliforniya'da (Amerika) 10,1-15 300 mg/kg olarak ölçülmüştür (Bowell ve ark., 2014) (Çizelge 1.2).

Biyosferdeki As besin zincirinden aktarılmaktadır. Toprakta daha az biyoakümüle olur. En çok eğrelti otları (1000 mg/kg) ve pirinçlerde (160-400 mg/kg) akümüle olur ve bu bitkiler As açısından hiperakümülatördür (Srivastava ve ark., 2006; Zhu ve ark., 2014). Canlı organizmalarda AsIII daha baskın olmakla beraber AsV'te bulunur. Trivalan formlar Metillenmiş ya da Arsenoşekerler şeklinde bulunurlar, deniz canlılarında yaygın As formu Arsenobetain ve Arsenoşekerlerdir (Zhu ve ark., 2014).

**Çizelge 1.2.** Bazı Ülkelerde Ölçülen Arsenik Konsantrasyonları.

| Ülkeler               | Bulunduğu Yer         | As konsantrasyonu              | Kaynak                     |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Pasifik/Atlantik      | Deniz suları          | 1-1,8 µg/L                     | Bowell ve ark., 2014.      |
| Batı Bengal           | Yer altı suları       | < 0,5-3 200 µg/L               |                            |
| Bangladeş'te          | Yer altı suları       | < 0,5-2 500 µg/L               |                            |
| ABD (Wyoming)         | Jeotermal sular       | 160-10 000 µg/L                |                            |
| Şili                  | Jeotermal sular sular | 45 000-50 000 µg/L<br>800 µg/L |                            |
| Arjantin (Cordoba)    | Jeotermal sular       | > 100 µg/L                     | Centeno ve ark., 2007.     |
| Japonya               | Toprak                | 150 mg/kg                      | Teaf ve ark., 2010.        |
| Avustralya            | Toprak                | 100 mg/kg                      |                            |
| Hollanda              | Toprak                | 76 mg/kg                       |                            |
| Birleşik Krallık      | Toprak                | 32 mg/kg                       |                            |
| Çek Cumhuriyeti       | Maden                 | 130 000 mg/L                   | Majzlan ve ark., 2014.     |
| Gana                  | Altın Yatakları       | 2-35 600 mg/kg                 | Bowell ve ark., 2014.      |
| Amerika (Kaliforniya) | Altın Madeni atık     | 10,1-15 300 mg/kg              |                            |
| Latin Amerika         | İçme suları           | 2 000 µg/L                     | McClintock ve ark., 2012.  |
| Nikaragua             | Yer altı suları       | 1 320 µg/L                     | McClintock ve ark., 2012.  |
| Güney Brezilya        | Toprak                | 50-1 000 mg/kg                 | Matschullat ve ark., 2007. |
| İngiltere             | Maden havzası         | 50 000 µg/L                    | Mandal ve Suzuki, 2002.    |

Türkiye'deki As kirliliği daha çok jeojendir. Özellikle tektonik aktifliğe sahip, doğal jeolojik yapıları, maden yataklarının bulunuşu ve işleniş, jeotermal yataklarının varlığı nedeniyle Ege bölgesinde ve Orta Anadolu'daki toprak ve sularda As kirliliği tespit edilmiştir. Özellikle Kütahya ve çevresinde kronik As zehirlenmelerinin tespiti ile muhtemel As kaynakları önem kazanmıştır (Doğan ve ark., 2005). Kütahya'da 40 farklı içme suyunda yapılan bir analizde en yüksek ölçülen As düzeyi 10700 µg/L olarak tespit edilmiştir (Doğan ve Doğan, 2007). Bu düzey dünyadaki As kirliliği en yüksek olan ülkelerle yarışabilecek düzeyde yüksektir. Türkiye'de Bursa içme suyu kaynaklarında As düzeyleri 0,051-21 µg/L, Balıkesir-Bigadiç'te yer altı sularında 33-911 µg/L, Uşak-Eşme yeraltı suyunda 50 µg/L, İzmir-Göksu 59 µg/L, Sarıkız 32 µg/L, Menemen 10 µg/L, Halkapınar 13 µg/L kuyu sularında, İzmir- Balçova Ovası yer altı

suları 1-182 µg/L, Eskişehir-Kırka yeraltı suyunda 7-150 µg/L, Aksaray-6 farklı alandaki sulara > 50 µg/L, Sivas-Şarkışla şebeke suyunda > 100 µg/L- kaya örnekleri 2,1-155 mg/kg- yeraltı suyunda 0,5-345 µg/L olarak tespit edilmiştir (Erdol ve Ceylan, 1997; Gemici ve ark., 2008; Çamtepe, 2006; Çalışkan ve Pala, 2009; Öztürk, 2017; Aksoy ve ark., 2009; Yuce ve Yasin, 2012; Cicek ve ark., 2013; Şimşek, 2012; Altaş ve ark., 2011). Kütahya'ya bağlı Gediz, Simav, Tavşanlı, Emet, Yoncalı, Yeniköy, Muratdağı'nda yüzey ve yer altı sularında As düzeyleri yüksek bulunmuştur (Ünlü ve ark., 2011). Kütahya-Simav Ovası yeraltı sularında 0,5-562 µg/L, Kütahya-Hisarcık çeşme suyunda 38 0µg/L-kuyu suyunda 50 µg/L-yüzeyel sulara 510 µg/L-yeraltı sularında 10-3 000 µg/L, Kütahya-Emet-İğdeköy yüzeyel suyunda 10-20 µg/L-yer altı suyunda 10-77 µg/L, Kütahya-Emet-Dulkadir'de yeraltı suyunda 300-500 µg/L, Kütahya/Emet içme suyu kaynağında 448 µg/L olarak As düzeyleri tespit edilmiştir (Gunduz ve ark., 2010; Çöl ve Çöl, 2004; Colak ve ark., 2003; Doğan ve Doğan, 2007; Ozkul ve ark., 2015; Oruç, 2004) (Çizelge 1.3).

**Çizelge 1.3.** Türkiye'de ve Kütahya'da Ölçülen Arsenik Konsantrasyonları.

| Şehirler                                            | Bulunduğu Yer                                            | As konsantrasyonu                               | Kaynak                                                          |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Bursa                                               | İçme suyu kaynağı                                        | 0,051-21 µg/L                                   | Erdol ve Ceylan, 1997.                                          |
| Balıkesir/ Bigadiç                                  | Yeraltı suyu                                             | 33-911 µg/L                                     | Gemici ve ark., 2008.                                           |
| Uşak/ Eşme                                          | Yeraltı suyu                                             | 50 µg/L                                         | Çamtepe, 2006; Çalışkan ve Pala, 2009.                          |
| İzmir/<br>Göksu<br>Sarıköz<br>Menemen<br>Halkapınar | Kuyu suları                                              | 59 µg/L<br>32 µg/L<br>10 µg/L<br>13 µg/L        | Öztürk, 2017.                                                   |
| İzmir/<br>Balçova Ovası                             | Yeraltı suları                                           | 1-182 µg/L                                      | Aksoy ve ark., 2009.                                            |
| Eskişehir/Kırka                                     | Yeraltı suları                                           | 7-150 µg/L                                      | Yuce ve Yasin, 2012; Cicek ve ark., 2013.                       |
| Sivas/ Şarkışla                                     | Şebeke suyu<br>kaya örnekleri<br>yer altı suyu           | > 100 µg/L<br>2,1-155 mg/kg<br>0,5-345 µg/L     | Şimşek, 2012.                                                   |
| Aksaray                                             | 22 farklı su<br>6 farklı su                              | 10-50 µg/L<br>> 50 µg/L                         | Altaş ve ark., 2011.                                            |
| Kütahya/ Simav<br>Ovası                             | Yeraltı suları                                           | 0,5-562 µg/L                                    | Gunduz ve ark., 2010.                                           |
| Kütahya/<br>Hisarcık                                | Çeşme Suyu<br>Kuyu suyu<br>Yüzeyel su<br>Yer altı suları | 380 µg/L<br>50 µg/L<br>510 µg/L<br>10-3000 µg/L | Çöl ve Çöl, 2004.                                               |
| Kütahya/<br>Emet/İğdeköy                            | Yüzeyel su<br>Yer altı suyu                              | 10-20 µg/L<br>10-77 µg/L                        | Colak ve ark., 2003; Doğan ve Doğan, 2007; Ozkul ve ark., 2015. |
| Kütahya/<br>Emet/Dulkadir                           | Yer altı suyu                                            | 300-500 µg/L                                    |                                                                 |
| Kütahya/Emet                                        | İçme suyu kaynağı                                        | 448 µg/L                                        | Oruç, 2004.                                                     |
| Kütahya                                             | 40 farklı içme suyu                                      | 0-10 700 µg/L                                   | Doğan ve Doğan, 2007.                                           |

#### 1.1.4. Arsenik Maruziyeti

Arsenik, insanların besin, su, hava ve toprakta rutin olarak maruz kaldığı doğal bir çevre toksikandır. Arseniğin toksisite oluşturmada diğer bütün ksenobiyotiklerde olduğu üzere maruziyet yolu, maruziyet süresi-sıklığı ve maruziyetin dozu/limiti önemlidir.

Dünya genelinde arsenik daha çok oral yoldan alımla toksik etkilerini gösterirken, mesleki arsenik maruziyeti inhalasyonla Akciğer üzerinden olmaktadır. İnorganik arsenik ve organik arsenik bileşiklerinin çoğu beyaz/renksiz, buharlaşmayan toz partiküller haldedir. Çoğunun belirli koku ve tatlarının olmaması maruziyeti kolaylaştırmaktadır. Arsenik hem kasıtsız hem de kasıtlı bir toksikandır. Çevrede doğal olarak bulunması, ticari ürünlerde ve endüstride kullanılması insanların bilinçsizce As'ye maruziyetlerine neden olmaktadır (Hughes ve ark., 2011).

İçme suyundan maruziyet; yerkabuğundaki As doğal jeolojik kaynaklardan kontamine yeraltı sularının, As'li pestisitlerle-As'li atık sularla ve As'li maden/endüstriyel atıklarıyla kontamine olmuş yüzey sularının içme sularına karışmasıyla olmaktadır (Choong ve ark., 2007). Yer altı sularında daha çok Arsenit halinde, yüzey sularında daha çok Arsenat halinde bulunur (Bhattacharjee ve ark., 2013). Türkiye'de İç-Batı-Anadolu'nun jeolojik ve jeotermal yapıları bu bölgedeki toprak ve sularda ağır metal kirliliğinin ana sebeplerindendir (Doğan ve Doğan, 2007). Bu bölge yeraltı sularında yüksek As konsantrasyonları tespit edilmiştir (Doğan ve ark., 2005; Gunduz ve ark., 2015; Arikian ve ark., 2015).

Havadan inhalasyonla maruziyet; As'li pestisit-herbisit-fungusitlerin tarımda kullanılmasıyla (küçük partiküller halinde havada asılı kalır) solunması, madencilikte kullanım (cevher ayrıştırılmalarında), madeni yağların ve As toz partiküllerinin solunmasıyla, petrol-benzin-odun-kömür v.b. yanmasıyla oluşan dumanın solunması ve tütün (As'li pestisit içermekte) ürünlerinin içilmesiyle gerçekleşmektedir (Hughes ve ark., 2011).

Yiyeceklerle As maruziyeti; pirinç başta olmak üzere (sudaki As'ten daha fazla arsenik içerir), kabuklu/kabuksuz deniz ürünlerinin, ticari tavukların (Organik As) oral yoldan alınmasıyla olmaktadır(Sharma ve ark., 2014; Smedley ve Kinniburgh, 2002).

Diğer kasıtsız maruziyetler ise ahşap koruyucu, boya, kozmetik ve ilaçlardaki arseniklerin kullanımlarıyla ya da anneden plesanta yoluyla fetüse As geçişi gerçekleşmektedir (Jomova ve ark., 2011).

Kasıtlı maruziyette cinayet/intihar amaçlı kullanılan As, insanların yiyecek-içeceklerine karıştırılmakta, Arsin gazı olarak ya da savaş gazı (Lewisit) solunumuna maruz bırakılmalarıyla olmaktadır (Ratnaïke, 2003).

Arsenik maruziyeti akut veya kronik olabilmektedir. Akut maruziyetler genelde yüksek dozda olurken, kronik maruziyetler uzun süre daha düşük dozda As maruziyetini ifade etmektedir. Kronik maruziyetler daha çok dünya genelinde (Şili, Tayvan, Amerika, Bangladeş gibi ülkeler başta olmak üzere) yaygın olanı içme sularından maruziyetleri, tarım ürünlerinde-pestisitlerde yaygın kullanımı, fosil yakıtların yakılmasını ve mesleksel maruziyetleri kapsamaktadır.

Sağlık açısından Environmental Protection Agency (EPA-Çevre Koruma Ajansı) tarafından olası As maruziyetlerine doz limitleri getirilmiştir (EPA, 2016). İçme sularına EPA'ya göre üst limit getirilmiştir. Havada As konsantrasyonuna bir limit getirilmemiştir. Ancak kapalı iş yeri durumuna göre bir düzenleme getirilmiştir. Organik bitkilerin üretiminde As kullanımı ABD' de yasaklanmıştır. Şişe suları ve veterinerlikte kullanılan ilaçlarda ve bu ilaçların kullanıldığı hayvan ürünleri dışındaki gıdalarda As tolerans seviyeleri belirlenmemiştir.

İnsanların günlük maruz kaldıkları total As düzeyi 50 µg normal olarak kabul edilmekte ve içme suyu As konsantrasyonu MCL (Maximum Contaminant Level): 10 µg/L=10 ppb olarak EPA belirlemiştir (EPA, 2014). 2001 yılına kadar bu değer dünya genelinde 50 µg/L idi. Şişe içme suları As Konsantrasyonu MCL: 10 µg/L=10 ppb

olarak belirlenmiştir (FDA, 2016). Gıda As Konsantrasyonu: Meyve ve Turunçgil Organik As kalıntısı tolerans düzeyi 0,035 ppb'dir (EPA, 2014). 2016 'da FDA pirinçteki limiti 100 ppb olarak; yumurta, tavuk ve hindi etlerinin pişirilmeden tüketilebilen etlerinde 0,05 ppb; domuz ve diğer çiftlik hayvanların pişirilmeden yenilebilen ürünlerinde ve yan ürünlerinde 0,2 ppb olarak belirlemiştir (FDA, 2016). Parenteral As kullanımda intra venöz uygulamada (IV) < 0,1 mg/L olmalıdır (Bohrer ve ark., 2005).

### 1.1.5. Mesleksel Maruziyet

Arsenik maruziyeti çevresel ve/veya endüstriyel nedenlerle olabilmektedir (Rahman ve ark., 2009). As doğada en sık bulunan maddelerden 20. sırada gelmektedir. As'nin mesleksel maruziyeti As'li bileşiklerin üretilmesi, kullanımı, yan ürün oluşumu, atık oluşumu ve atıkların izolasyonu gibi durumlarla uğraşan kişilerde gözlenmektedir (Bhattacharjee ve ark., 2013). Pestisit üreten işçilerde-tarımda pestisit kullanan çiftçilerde-ağaç-ahşap/deri koruyuculuğu-cilalama işçilerinde; organik arsenik bileşiklerinin üretimlerini yapan işçilerde ve tarımda organik arsenik kullanan işçilerde, boya sanayi üreticilerinde- boya uygulayan işçilerde-matbaa işçilerinde, As'li pigment üretenlerde-kullanan işçilerde, As'li yarı iletken üreten işçilerde, özellikle bakır ve altın yataklarına ulaşmada kullanıldığından Bakır ve Altın madeni çalışanlarında, Bakır ve Kurşun alaşımı üretimi yapan işçilerde, Antimon ve Gümüş cevherleriyle bileşik halde bulunabildiğinden Gümüş ve Antimon çıkarıp işleyen tesislerdeki işçilerde, arsenik trioksit denilen As'nin en toksik formunun üretilmesinde çalışan işçiler ve As atıklarının temizlenmesinde çalışanlarda mesleksel maruziyet muhtemeldir. arsenik-trioksit bakır ve kurşun rafinasyonunda yan ürün olarak oluşabildiği gibi, arsenik metalinin üretilmesi için (zeytinyağı ile karıştırılıp ısıtılır) aynı zamanda hammaddedir. Bu madde ayrıca halojen, kükürt ve metallerle reaksiyona girebilme eğilimindedir. As mesleksel maruziyette Arsin gazının solunmasıyla da ortaya çıkmaktadır. Arsin ( $AsH_3$ ) gazı endüstride As kalıntıları içeren metallerin asidik işlemlerden geçmesi sırasında iş yeri ortamına yayılması ile olmaktadır. Hem normal insanlar hem de işçiler arseniğin çevrede yaygın bulunması,

ticari ürünlerde kullanım tercihleri ve tıbbi uygulamalarda da kullanılması nedeniyle As'ye sürekli maruz kaldıklarının farkında olamamaktadır.

İş yeri ortam havasındaki As önemli bir toksikandır. HAP (hazardous air pollutant-tehlikeli hava kirleticileri) listesinde yer almaktadır. As'nin ciddi maruziyeti hastalıkları artırmakta ve ölümlere neden olabilmektedir. Bakır işçilerinde maruziyetin ortam havasındaki arsenik tozlarının ve Arsenik Trioksit buharlarının inhalasyonu olduğu bildirilmiştir (Hughes ve ark., 2011). EPA ve OSHA (The Occupational Safety and Health Administration-İş sağlığı ve Güvenliği İdaresi) özellikle bakır üretim alanlarında, cam üretim alanlarında ve arsenik üretim alanlarında inorganik arsenikler için limit değerler belirlemişlerdir (ATSDR, 2013). İzin verilen Çalışma Ortamı Havası'ndaki As (İnorganik) maruziyet limiti (PEL-Permissible Exposure Limit) 10 µg/m<sup>3</sup>, iş yeri ortamındaki havada organik arsenik limiti ise 0,5 mg/m<sup>3</sup> olup, bu değerler OSHA'nın haftalık 40 saatlik çalışmanın günde 8 saatlik kısmının ortalama değeridir (ATSDR, 2013). As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'ün letal dozu (MLD) 100-200 mg/70kg aralığında, Arsin'in havada TLV (Eşik Sınır Değeri) 0,05 ppm'dir (Vural, 2005).

M.Ö. 370'lerde metal madeninde “Abdominal kolik”ten bahsedildiği, bu duruma civa ve arsenik maruziyetinin sebep olduğu ileri sürülmektedir (Frith, 2013). Yılda yaklaşık 60 000 ton As'nin işlendiği Amerika'da 900 000 civarı işçinin mesleksi maruziyete kaldığı bilinmektedir (ATSDR, 2013). Latin Amerika'da en çok As kirliliği Arjantin, Bolivya, Brezilya, Şili, Küba, Meksika, Ekvador ve Uruguay'da gözlenmiştir (Bundschuh ve ark., 2004). NIOSH (Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü) ve CAREX (Carcinogen Expoure) veritabanında yapılan araştırmalara göre 1981-1983 yılları arasında yapılan araştırmalarda 16 000'i kadın işçi olmak üzere toplam 70 000 işçinin iş yerinden As'ye mesleksi maruz kaldığı, Avrupa'da 1990-1993 yılları arasında 147 569 işçinin As ve bileşiklerine maruz kaldığı; Kanada'da ise 25 000 işçinin As maruzu olduğu belirlenmiştir (IARC, 2012). As üretimindeki maruziyetlerden dolayı üretimini yakın zamanda durduran Amerika şimdilerde dünyada en çok arsenik ithal eden ülke konumuna gelmiştir. İthalatın çoğunu Japonya ve Çin başta olmak üzere uzakdoğu ülkelerinden sağlamaktadır.

Mesleksel Arseniğe maruz kalan işçilerde ayrıca içme suyu ya da beslenme ile direkt ve indirekt yolla As maruziyeti olabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı işyeri maruziyeti minimum düzeye düşürülmelidir (Bhattacharjee ve ark., 2013).

#### 1.1.6. Arseniğin Toksikokinetiği

Ana kaynağı jeolojik yapılar olan arsenik 300'e yakın mineralde bulunmaktadır. Jeolojik, antropojenik ve biyolojik kaynaklardan çevreye yayılan arsenik doğada yirminci, deniz suyunda ondördüncü ve insanda onikinci sırada bulunmaktadır (Mandal ve Suzuki, 2002).

Canlılarda toksikanların etkileri Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma ve Atılım/Eliminasyon basamaklarını içeren Toksikokinetik araştırmalar neticesinde aydınlatılmaya çalışılmaktadır (Çizelge 1.4). Ayrıca organizmadaki toksisitenin şiddeti, toksik maddenin etki yerine (hedef organ) ulaşan madde miktarına bağlıdır. İnorganik arsenikler organik arseniklere oranla daha toksik etkilidirler.

**Çizelge 1.4.** Genel Arsenik Toksikokinetiği (Shakoor ve ark., 2017'den revize edilmiştir).

| Maruziyet         | Absorpsiyon                                          |                                                                         | Dağılım                                | Metabolizma                                     | Eliminasyon/<br>Atılım                                      | Total<br>Arsenik |
|-------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------|
|                   |                                                      |                                                                         |                                        |                                                 | İdrar: %90<br>Feçes: %10                                    |                  |
| Su (iAs)          | Gastroint./<br>Dermal                                | <b>İnorganik<br/>Arsenik</b><br>(%80-90)<br>İnce<br>barsak<br>AsIII-AsV | Karaciğer<br>Böbrek<br>Deri<br>Akciğer | <b>Oksidasyon<br/>Redüksiyon<br/>Metilasyon</b> | Organik As                                                  |                  |
| Yiyecek           | Gastrointestinal                                     |                                                                         |                                        | T1/2 (kan): 10 saat                             | (Metillenmiş)<br><b>MMaIII<br/>MMAV<br/>DMAIII<br/>DMAV</b> |                  |
| Hava              | Solunum                                              |                                                                         |                                        | İnorganik As→<br>Organik As                     |                                                             |                  |
| Diğer             | Parenteral                                           |                                                                         |                                        |                                                 |                                                             |                  |
|                   | Dermal                                               | İnorganik<br>As İnce<br>barsak<br>AsIII-AsV                             |                                        | Akciğer:<br>%60-90                              |                                                             |                  |
| Deniz<br>Ürünleri | Plesental                                            |                                                                         |                                        | İnorganik As                                    | İnorganik As<br><b>AsIII, AsV</b>                           |                  |
|                   | Gastrointestinal<br>Arsenoşekerler<br>Arsenolipitler | <b>Organik<br/>Arsenik</b>                                              |                                        | T1/2 (kan): 30 saat                             | Diğer<br>Metabolit.                                         |                  |
|                   | Arsenobetain                                         |                                                                         |                                        | Metabolize olmaz                                | Arsenobetain                                                |                  |

#### 1.1.6.1. Absorpsiyon

As'nin organizmaya en yaygın alım şekli diyetle. Diyetle (içme suyu ve yiyeceklerle) alınan arsenik gastrointestinal sistemce absorbe edilmektedir. İçme suyu ve yiyeceklerle (pirinç ve As'li sularla kirlenmiş su/toprakta yetişmiş sebzeler ya da pestisitlerle kirlenmiş sebzeler-patlıcan, patates, turp, patlıcan v.b) Arseniğin inorganik formları olan arsenit ve arsenat'lar alındığında gastrointestinal yolla büyük oranda absorbe olmaktadır (ATSDR, 2007). Arsenitler inorganik arseniklerin (iAs) trivalan (+3) formları olan arsenik-trioksit, sodyum-arsenit ve arsenik-triklorürlerdir. Arsenatlar ise inorganik arseniklerin pentavalan (+5) formları olan arsenik-pentoksit, arsenik-asit, kurşun-arsenat, kalsiyum-arsenatlardır (NRC, 1999; Vahter ve Concha, 2001). Yiyeceklerle alınan organik arsenikler ise metil-fenil As türleridir. Yiyeceklerle daha çok MMA (Monometil-Arsenik) ve tuzları (MSMA-Monosodyummetanarsonat ve DSMA-Disodyummetanarsonat); DMA (Dimetil-Arsenik)'ler ve bunun tuzları sodyumdimetil-arsenit (sodyum kakodilat) ve Roxarson şeklinde alınmaktadır (NRC, 1999). Balık ve diğer deniz ürünlerinin tüketilmesiyle Arsenobetain ve Arsenokolin gis yoluyla kolayca absorbe olmaktadır (Borak ve Hosgood, 2007).

Solunum yoluyla maruziyeti daha çok mesleksel maruziyette görmekteyiz. Arsenik-trioksit partikülleri ve havadaki diğer As'li bileşikler (oksitli bileşikler-Sodyum arsenat/Sodyum arsenit v.b) kimyasal formlarına, partikül boyutlarına ve çözünürlüklerine bağlı oranda inhalasyon yolu ile absorbe olmaktadır (Bhattacharjee ve ark., 2013). Partiküllerin çaplarına göre birikme yerleri farklılık göstermekte ve inhale edilen As'nin %30-35'i (WHO, 2001) burulardan absorbe olmaktadır:

- ♣  $>10\ \mu\text{m}$  As partikülleri → Nazofarinks (üst solunum yolu),
- ♣  $5-10\ \mu\text{m}$  As partikülleri → Bronşlar,
- ♣  $<2\ \mu\text{m}$  As partikülleri → Alveollerde birikmektedir (WHO, 2001).

Pulmoner maruziyette tütün içiminde sigara başına 40-120 ng As tüketimi gerçekleşmekte, günlük ortalama 20 sigara tüketen biri 0,8-2,4  $\mu\text{g}$  As'ye maruz kalmaktadır (WHO, 2000b).

Organik As absorpsiyonunda pestisitlerin uygulama sırasında solunmasıyla olabilmektedir.

Dermal absorpsiyon daha çok Arsenik-triklorür ve Arsenik asit gibi As'li bileşiklerin üretimhanelerinde kazara cilt temasıyla gerçekleşmektedir. Dermal As absorpsiyonu çok düşüktür (WHO, 2001).

#### **1.1.6.2. Dağılım**

Arseniğin oral, inhalasyon, dermal v.b. yollarla organizma tarafından absorpsiyonu sonucu taşınmasında, kan dolaşımına geçiş önemlidir. Maruz kalınan tüm As türleri absorplanabildikleri kadarıyla kana geçerler. Arseniklerin sistemde dağılımını ve tutulmasını Arseniğin türü, doz seviyesi, metilasyon kapasitesi, değerlik formu, maruziyet yolu ve organizmanın genetik faktörleri belirlemektedir. Arsenit ( $As^{+3}$ ) ve Arsenat ( $As^{+5}$ ) serbest sülfidril grupları ile bağlanma eğilimindedir (Hughes ve ark., 2003; Ahsan ve ark., 2007). Trivalan (Arsenitler) formların sülfidril gruplarına affiniteleri pentavaların (arsenatlar) on katı katardır. Bu nedenle pentavaların arseniklerin hücresel tutulumu çok daha azdır (Vahter, 2000; Ahsan ve ark., 2007).

Kana geçen arsenik hızla hemoglobinin (Hb) globin kısmı ile birleşir ve bu nedenle kanda lokalize olur. Çok sayıda -SH (sülfidril-tiyol) grubu içeren proteinlerin ve glutatyon (GSH) ve sistein gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin varlığı, kandaki arsenik birikmesine katkıda bulunur. Arseniklerin kandaki tutulumu türler arasında değişmektedir. Farelerde eritrositlerde Hb-alfa zincirindeki sistein-13,  $DMA^{+3}$ 'ün bağlanma bölgesi olması ve burada birikmesi sebebiyle  $DMA^{+3}$ 'ün alımı ve  $DMA^{+5}$ 'in salınımı insandan daha yüksektir, As tutulumu daha uzundur (Hughes ve ark., 2003).

As kandan 24 saat içinde uzaklaştırılmaya başlar ve özellikle karaciğer, dalak ve akciğerlere dağılır. As'nin trivalan (+3) formu bu alanlarda pentavaların forma göre 2,5 kat daha yüksektir (Hughes ve ark., 2003). Uzun süreli ya da yüksek konsantrasyonlu dağılımlarda ise karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, barsaklar, deri,

kemik gibi dokulara dağılır. Kandaki fazla As, kümülasyon alanları olan tırnak, deri ve saçta birikebilir. Deri, saç, ağız mukozası ve tırnakta iAs (özellikle  $As^{+3}$ ) için bağlanma alanları olan tiyol (Sülfidril-SH) içeren ve sistein aminoasitlerince zengin keratin yapılar bulunmaktadır. Dokulardaki serbest -SH gruplarının varlığı arseniğin tutulma süresini ve metabolizmasını etkileyen önemli bir faktördür. iA'lar için tutulma süresi organlara göre farklılık göstermektedir. Oral absorpsiyonla alınan iAs için ağız mukozası, dil, özafagus, mide duvarı, epididimis, deri ve saç tutulumun en uzun olduğu dokulardır. Hughes ve ark. (2003) dişi farelere verdikleri radyoaktif işaretli As'nin en çok mesane, böbrek ve deride biriktiğini tespit etmişler ve dokulardan radyoaktif As en hızlı akciğerlerden, en yavaş deriden uzaklaşmıştır.

As'nin organlardaki dağılımına bakıldığında ise, mesane dışında tüm dokularda MMA (Monometil arsinat) saptanırken, mesane içinde en yüksek oranda DMA (Dimetil arsinat) saptanmıştır. iAs baskın olarak böbrekte gözlenirken, iAs ve DMA mesanede birikmiştir. Arseniğin kandan dokulara geçişinde, As kan-beyin bariyerini geçememekte, As'nin maruz anneden fetüse geçişi olmakta (en çok dimetillenmiş metabolitler) (Parajuli ve ark., 2013), çok düşük miktarda da anne sütüne geçebilmektedir (Hall ve ark., 2007).

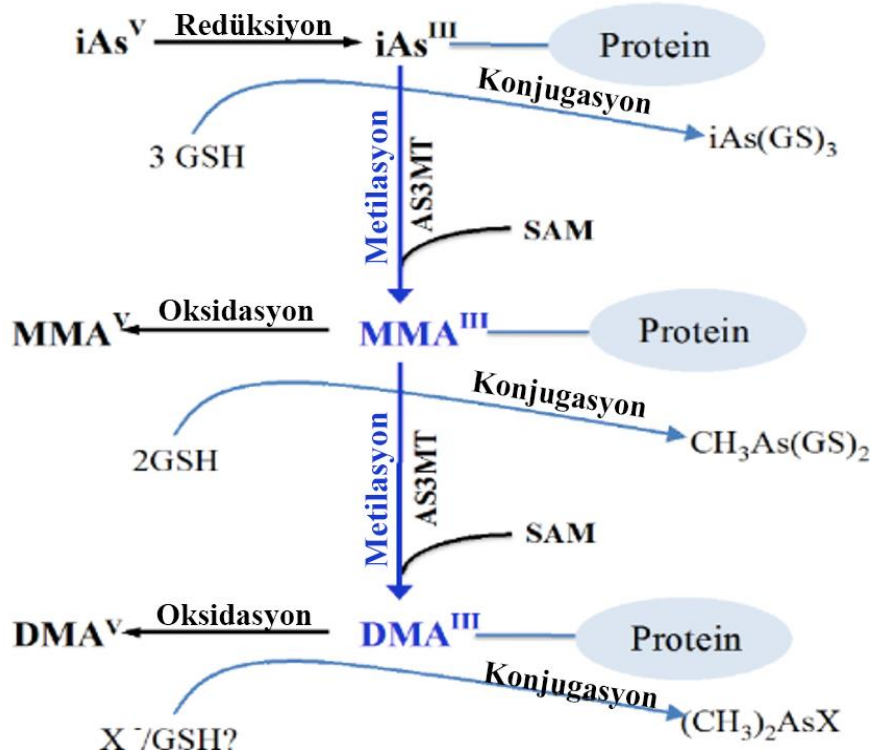
İnsanlarda kana dağılımı sonucunda normalde 0,5-2 ppb konsantrasyonu aralığında As bulunmaktadır (NRC, 1999). EPA'ya göre ise sigara içenlerde 2-10 ppb; mesleki maruziyetlerde ise ortalama 10 ppb kadardır (EPA, 2015).

#### **1.1.6.3. Metabolizma**

Toksik maddeler organizma tarafından zararsız hale getirilmek ve vücuttan uzaklaştırılmak için oksidasyon, redüksiyon, metilasyon gibi bir takım metabolik (Faz-I ve Faz-II) işlemlerden geçirilmektedir. Faz-I reaksiyonları oksidasyon-redüksiyon, Faz-II reaksiyonları ise konjugasyon ve metilasyon reaksiyonlarını ifade etmektedir. Karaciğer arsenik metilasyonun en önemli bölgesidir ancak başta böbrek olmak üzere diğer organ ve dokularda arsenik metilasyon aktivitesi gösterebilir (Vahter, 2002).

Arsenik içme sularında Arsenit ( $\text{As}^{\text{III}}$ ) ve Arsenat ( $\text{As}^{\text{V}}$ ) inorganik arseniği olarak bulunmaktadır. İnorganik arsenik metabolizması en çok karaciğerde gerçekleşmekte olup, arseniklerin +5 değerli formlarından +3 değerli formlarına (bazı durumlarda tekrar +5 formlarına), inorganik As'lerin organik arsenik formlarına dönüştürüldükleri, redüksiyon (indirgenme)-oksidasyon-metilasyon gibi metabolik basamaklardan geçtikleri bir detoksifikasyon sürecidir (Hughes, 2011; Bhattacharjee ve ark., 2013).

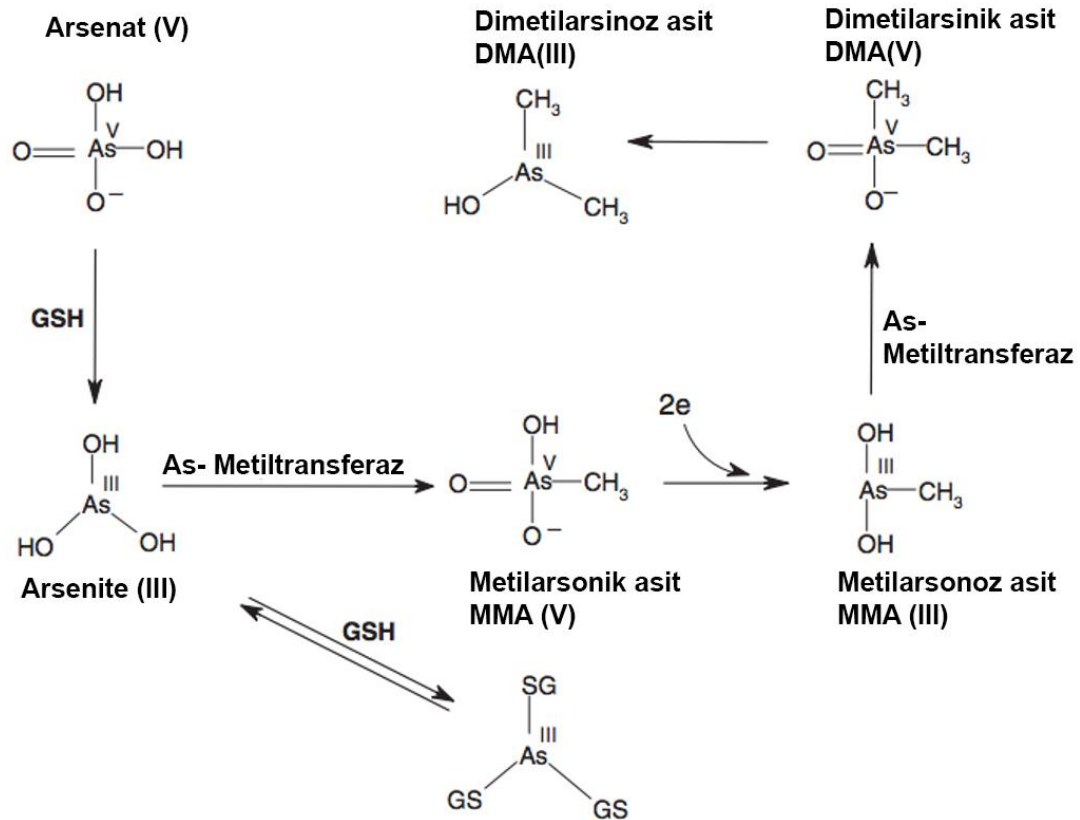
Organizmada Arsenat'lar ( $\text{As}^{\text{V}}$ ) fizyolojik pH'da iyonize halde olduğundan hücre zarından geçemez, ancak Arsenite ( $\text{As}^{\text{III}}$ ) dönüştüklerinde geçebilirler. Dokulara ve hücre sıvısına dağılan arsenitin ilk detoksifikasyon sürecinin proteinlerin -SH gruplarına bağlanmasıyla ve o alanlarda rezervasyonu ile olduğu, metilasyon enzimlerinin aktivasyonu ve metilasyonun başlamasıyla ikinci detoksifikasyon süreci başlamaktadır (Vahidnia ve ark., 2007). Metilasyon süreci başladığında rezervden düşük miktarlarda arsenik salınımı da olmaktadır.



Şekil 1.4. Genel Arsenik Metabolizması ve Proteinlerin -SH gruplarına Bağlanması (Khairul ve ark., 2017).

Arsenik metabolizmasında Faz-I (Oksidasyon, Redüksiyon) ve Faz-II (Konjugasyon, Metilasyon) aşamaları kademeli olarak gerçekleşmektedir. İlk aşama Redüksiyon (indirgenme) aşamasıdır: Bu aşamada pentavalan As'ler (Arsenat- $iAs_V$  ( $As_2O_5$ ) trivalan As (Arsenit- $iAs_{III}$  ( $As_2O_3$ ) formlarına indirgenir. İkinci aşama ise Oksidatif-Metilasyon aşaması'dır: Bu aşamada trivalan As'ler ( $As^{+3}$ ) monometil-As, dimetil-As ve trimetil-As'leri oluşturmak için oksidasyon ve metilasyona uğrarlar (Hughes, 2002). Glutasyon-STransferaz (GSTO1) diğer adıyla MMA redüktaz ve diğer tiyoller redüksiyonda kofaktörlerdir (Tanaka ve ark., 2003). Arsenik metil transferaz ( $As_3MT$ ) enzimi metilasyon enzimi olarak, S-Adenosil Metionin (SAM) ise metil donorü olarak kullanılmaktadır (Ahsan ve ark., 2007; Khairul ve ark., 2017) (Şekil 1.4).

$iAs^{+3}$ 'ün metilasyonu hepatiktir ve temeli folat bağımlı tek karbonlu metabolizmaya dayanmaktadır. Folat SAM oluşturulmasında kullanılan metil gruplarına katkıda bulunur (Chen ve ark, 2003; Huang ve ark., 2008). İlk olarak  $MMA_V$  (monometilarsonik asit) meydana gelir.  $MMA_V$ 'nin  $MMA_{III}$  (monometilarsonoz asit) indirgenmesi ve ikincil metilasyonla  $DMA_V$  (dimetilarsonik asit) meydana getirebilir (Vahter, 2002) (Şekil 1.5).  $DMA_{III}$  düzensiz bir araform olduğundan organizmada  $DMA_V$  'nin ne derece  $DMA_{III}$ 'e indirgeneceği belirsizdir (Hansen ve ark., 2004).  $iAs$  metilasyonu sonucu oluşan son metabolitler metilarsonik asit (MMA) ve dimetilarsonik asittir (DMA). MMA ve DMA idrarla kolayca atılabilmektedir. Bununla birlikte, reaktif ara maddeler oluşturulabilirler ( $MMA_{III}$ ,  $DMA_{III}$ ). Emilen Arsenat ( $As_V$ ) kanda  $As_{III}$ 'e oldukça hızlı bir şekilde indirgenir ve bu da artan toksisite anlamına gelir. Ayrıca, insan idrarında metile metabolitlerin,  $MMA_{III}$  ve  $DMA_{III}$ 'in indirgenmiş formları saptanmıştır. Özellikle  $MMA_{III}$  oldukça toksiktir.  $MMA_{III}$  ve  $DMA_{III}$ , inorganik arseniklere maruz kalmanın ardından gözlemlenen artmış toksisiteyi ortaya koymaktadır (Vahter, 2002).



**Şekil 1.5. İnorganik As Metabolizması (Jomova ve ark., 2011).**

As metabolizması en genel anlamda iki elektron azaltılması ve bir metil grubunun oksidatif eklenmesi (metil transferaz enzimi ile) temeline dayanır (Hughes, 2002; Thomas ve ark., 2007). Metilasyon çoğu memeli tarafından gerçekleştirilmektedir. Metilasyon oranları canlı türlerine, türler içinde maruziyet oranı, süresi, dozu, genetik ve fizyolojik şartlar gibi nedenlerle farklılıklar gösterebilmektedir (Vahter, 2002). Metil transferaz gibi enzimlerin polimorfizmi olan insanlarda yüksek akut arsenik maruziyetlerinde arsenik metilasyonu inhibe edilmektedir (Hughes, 2002). Kronik iAs maruziyetinde ise fazla metil kullanımı nedeniyle bir süre sonra metilasyon oranı azalır, DNA'da hipometilasyona ve dolayısıyla farklı genetik ifadelerle neden olabilmektedir.

MMA, DMA ve arsenobetain gibi organoarsenikler, hem laboratuvar hayvanlarında hem de insanlarda yapılan çalışmalarda, inorganik arseniklere göre daha az oranda metabolize olur ve daha hızlı bir şekilde elimine edilir. Organizmaya alınan MMA'nın büyük bir kısmı yine MMA şeklinde çok az bir kısmı da metabolize

olduğundan DMA şeklinde idrarda saptanması çok az da olsa metabolize olduğunu göstermektedir (Hughes ve ark., 2005).

#### 1.1.6.4. Eliminasyon

İnorganik As organizma tarafından absorbe olduktan sonra metabolize olarak büyük oranda böbreklerden (%62-75), az miktarda feçesle (%6-7), çok az miktarda deri döküntüsü ve ter yoluyla vücuttan atılmaktadır (Jain ve Ali, 2000; Shakoor ve ark., 2017; Vahter, 2000).

Üriner arsenik metabolitlerinin içeriği kişiden kişiye değişir ve arsenik metilasyonunun etkililiğini yansıtmaları için değerlendirilmektedir. As'lerin tipik üriner atılım formları yapılan çalışmalarla; %10-30 İnorganik As (%20-25'i metillenmez), %10-20 Monometil Arsonik Asit (MMA<sub>v</sub>), %60-80 Dimetil Arsinik Asit (DMA<sub>v</sub>) şeklinde, çok düşük bir miktarda Trimetil Arsonik Asit (TMAO) şeklinde arsenik metabolitleri olarak, daha az miktarlarda da inorganik ve/veya organik arseniklerin trivalan ve pentavalan ara formları şeklinde tespit edilmiştir (Vahter, 2000; Ahsan ve ark., 2007). Araştırmalara göre pentavalan arsenikler (iAs<sub>v</sub>, MMA<sub>v</sub>, DMA<sub>v</sub>) genelde idrarla, trivalan arsenikler (MMA<sub>III</sub>, DMA<sub>III</sub>) genelde safrayla ve MMA<sub>III</sub> yalnız safra yoluyla atılmakta, ancak başka çalışmalarda ise iAs<sub>III</sub> hem safra hem de idrar yoluyla atılmakta ve insanda idrarda MMA<sub>III</sub> atılımı da gözlenmektedir (Hughes, 2002). Popülasyonlarda idrarda farklı oranlarda ve farklı tipte arsenik metabolitleri atılabilmektedir. Kişiler arası arsenik metabolitlerinin çeşitliliğinin/ farklılığının sebebinin, maruziyetin biyolojik etkin doz ve diğer biyolojik süreçlerden kaynaklandığını ortaya koymaktadır (Chen ve ark., 2003; Vahidnia ve ark., 2007). Bu durum popülasyonlar arası As metabolize eden enzimleri düzenleyen genlerdeki genetik polimorfizmler sonucu As maruziyetindeki toksisite farklılıklarına da yol açabileceğini göstermektedir (Vahter, 2000). Ayrıca idrardaki MMA ve iAs türlerinin oranlarının artmasının arsenik metilasyon süreçleri ve yüksek kanser riski ile de ilgili olabileceğini düşündürmektedir (Chen ve ark., 2003; Huang ve ark., 2008). MMA, DMA ve Arsenobetain gibi organik arsenikler oral yoldan alındıklarında, MMA ve DMA bir miktar metabolize olmakta, ancak Arsenobetain metabolize olmadan idrarla atılmaktadır (Chen ve ark., 2003).

İnhalasyonla alınan As'nin %60-90'ı akciğerden atılmakta ve absorbe edilen As'nin %40-60'ı da yine metabolize olduktan sonra idrarla atılmakta arsenik-trioksit maruz maden işçilerinde As'nin %30-40'nın idrarla atıldığı gözlenmiştir (Shakoor ve ark., 2017).

Alınanın As'nin %25'i ilk 24 saatte, %75'i ilk haftada idrarla atılır (Hughes ve ark., 2011). İnsanlarda arsenik eliminasyonu 27-86 saat arasındadır. Ayrıca böbrek tübüllerinde arsenatlar (pentavalan) daha toksik form olan arsenitlere (trivalan) dönüşebilmektedir (WHO, 2001; Bhattacharjee ve ark., 2013).

Organizmadan elimine edilme sürecinde saç, tırnak, deri gibi bazı dokularda As kümülasyonu da eliminasyon yolu olarak kabul edilmektedir (WHO, 2001; Bhattacharjee ve ark., 2013). Arsenik -SH (Sülfidril/tiyol) gruplarıyla bağlanma eğilimindedir ve deri, saç ve tırnakta tiyol (Sülfidril-SH) içeren ve sistein aminoasitlerince zengin keratin yapılar bulunmaktadır (Ahsan ve ark., 2007; Jansen ve ark., 2016). As maruziyeti ile deride As kümülasyonu (birikmesiyle) hiperpigmentasyon/hiperkeratoza, tırnaklarda Mees çizgilerine neden olmaktadır (NRC, 1999; Hinwood ve ark., 2003). Saçta As maruziyetinde, son maruziyeti ense kıllarından, 6 ay-1 yıllık maruziyeti koltuk altı ve kasık kıllarından daha iyi tespit edilmektedir. Saçtaki kümüle As konsantrasyonu diğer dokulardan daha yüksektir.

Bazı insanlar günlük olarak tonik veya afrodizyak olarak tek bir dozda > 0,3 mg As almakta ve tolerans kazanarak As normal toksik dozundan etkilenmemektedirler. Bu tarz insanlara Arsenofajist denilmektedir (Vural, 2005).

#### **1.1.7. Arsenik Maruziyetinde Kullanılan Biyolojik Materyaller**

Arseniğe oral, solunum ve dermal yollardan herhangi birisiyle maruziyet sonrası As, organizmada yüksek oranda metabolize olup elimine edilmektedir. Ancak bir kısmı da dokularda kümüle olmaktadır. As maruziyetinin düzeyi, maruziyet yolu, maruziyet kaynağı ve hangi tür As'ye maruz kalındığı gibi süreçlerin aydınlatılmasında, arsenik biyobelirteçlerinden yararlanılmaktadır (Ahsan ve ark., 2007).

Kan, idrar, saç, tırnak ve dokular As maruziyetinde kullanılan biyolojik materyallerdir. Ancak bazen maruziyet yolu, türü, süresine göre hangi belirteçlerden yararlanılacağı farklılık göstermektedir (Hughes ve ark., 2011; Bhattacharjee ve ark., 2013).

As maruziyeti olmayan insanlarda kanda  $<1$  ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), idrarda  $<100$  ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), saçta 1 ppm ve tırnakta 1 ppm, en yüksek seviyeler tırnakta-0,089 ppb; saç-0,18 ppb; kemik-0,07-0,12 ppb; akciğer-0,03-0,05 ppb olarak tespit edilmiştir (EPA, 2015).

İnsan kanında normal As düzeyi 0,5-2  $\mu\text{g/L}$  kadardır (NRC, 1999). Vücuda bir şekilde alınmış olan As mutlaka kan dolaşımına geçmektedir. Ancak kanda fazla kalmaz ve 24 saat içerisinde, metabolize olacağı ve kümüle olacağı dokulara dağılır. Ayrıca As vücuttaki dokularda fosfatın yerini alabilir ve yarı ömrü uzayabilir. Bu nedenle kandaki yüksek As düzeyi, ya en yakın akut maruziyeti ya da halen devam eden kronik maruziyeti göstermektedir (WHO, 2001). Kandan total As ve As türleri belirlenebilmektedir.

İdrarda As'nin tüm metabolitleri gözlenebileceği için en çok kullanılan biyogöstergelerdendir. Normal idrar As düzeyi 5-50  $\mu\text{g/L}$  kadardır (NRC, 1999). Hem total As, As türleri ve As metabolitleri ölçülebilir. İdrarda iAs, MMA ve DMA ölçülebilir, As metabolizmasının izlenmesi ve toksisite düzeyi hakkında bilgi edinilmektedir (Ahsan ve ark., 2011; Bhattacharjee ve ark., 2013).

Saçta As tespiti uzun süreli ve kümülatif As maruziyetini ifade etmektedir. Ancak maruziyet dozu konusunda kesin bilgi verilemez. Daha çok Adli vakalarda saçtan As bakılmaktadır. Akut yüksek doz maruziyetlerde ense kıllarından, uzun kronik maruziyetlerde ise aksillar ve pubik kıllardan örnekler alınmalıdır. Ancak saçtaki As çevresel (As'li toprak, As'li su, şampuan v.b) maruziyeti de içerebileceğinden diğer belirteçlerle ve delillerle birlikte değerlendirilmelidir. Saçta normal As düzeyi  $< 1$   $\mu\text{g/g}$  'dır (Hindmarsh, 2002). Saçta iAs, MMA, DMA ve total As belirlenebilmektedir.

Bir diğerk biyobelirteç olan tırnak uzun dönem maruziyeti ifade eder. Tırnaktaki As normal değeri ise  $< 1,5- 7,7 \mu\text{g/g}$ 'dır (Hinwood ve ark., 2003). Tırnaklarda As'nin akümüle olduğu keratince zengin alanlardır. Tırnaklarda Mees Çizgileri As maruziyetinin tipik göstergesidir. Tırnaklardan As düzeyleri bakılabilmektedir, çevresel maruziyeti en aza indirmek için ayak tırnakları tercih edilmelidir. 2-12 aylık döneme ait maruziyeti gösterebilir ve total As ve As türleri belirlenebilir (Ahsan ve ark., 2007; Chatterjee ve ark., 2017).

Saç ve tırnaklarda daha önceki maruziyetler tespit edilebilirken, Kan ve idrarda son maruziyetin göstergeleri olan As'ler ve idrar As metabolitleri gözlenir. İdrarda inorganik arsenik metabolitlerinin konsantrasyonu genellikle  $5-20 \mu\text{g/L}$  arasında değişir, ancak  $1000 \mu\text{g/L}$ 'den fazla da olabilir (WHO, 2001). Ayrıca idrarda iAs maruziyeti izlenirken deniz ürünlerinin tüketimi ve metabolize olabilen Arsenoşekerlerin tüketimi idrar düzey ölçümlerini değiştirebileceği gözönüne alınmalıdır.

Mesleksel maruziyetle ve inhalasyonla alınan Arsenik-trioksitin zaman-ağırlıklı ortalama (TWA) değeri, bir vardiyadan hemen sonra veya bir sonraki vardiyadan hemen önce toplanan idrardaki iAs-metabolitleri ile önemli ölçüde ilişkilidir. Örneğin, havadaki As konsantrasyonu  $50 \mu\text{g/m}^3$  olan bir iş yeri ortamında, vardiya sonrası idrar örneğindeki üç inorganik arsenik metabolitin toplamından elde edilen ortalama As konsantrasyonu  $55 \mu\text{g/g}$  kreatinin olarak belirlenmiş, ancak mesleksel maruziyet olmayan kişilerde, idrardaki üç metabolitin konsantrasyonunun toplamı, genellikle  $< 10 \mu\text{g/g}$  kreatinin kadardır (WHO, 2000a). Vücuda absorblanan arsenik, ürin porfirin, eritrosit porfirin enzim aktivitelerini, heme oksijenaz indüklemesi, çeşitli dokulardaki proteinkinaz C gibi enzimlerin çalışmasını da etkilemektedir. Bu nedenle enzim aktiviteleriyle değerlendirmek daha uygun olacaktır.

Organizmadaki kan, idrar ve saçtan As analizinde Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) cihazı, HPLC ve ICP-MS gibi cihazlar ve bunların çeşitli kombinasyonları As türlerinin, metabolitlerin tespiti ve türevlendirmelerde kullanılmaktadır (Chatterjee ve ark., 2017) (Çizelge 1.5).

**Çizelge 1.5.** As Ölçümünde Kullanılan Materyaller ve Başlıca Analitik Cihazlar (Chatterjee ve ark., 2017).

| Biyobelirteçler   | Cihazlar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kan               | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>GLC/ECD (Gaz Sıvı Kromatografisi/ Elektron Yakalama Dedektörü)<br>HPLC/ICP-MS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Serum             | NAA (Nötron Aktivasyon Analizi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| İdrar             | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>NAA (Nötron Aktivasyon Analizi)<br>Kolorimetrik fotometri<br>XRF (X-Işını Floresan)<br>IEC-HGAAS (İyon Değişimi Kromatografisi-Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>AES (Atomik Emisyon Spektroskopisi)<br>HGAAS/TLC/ HRMS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi/ İnce Tabakalı Kromatografi/ Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrumları)<br>HPLC/ICP-MS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi) |
| Saç               | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Tırnak            | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Yumuşak doku/Doku | GFAAS (Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)<br>GLC/ECD (Gaz Sıvı Kromatografisi/ Elektron Yakalama Dedektörü)<br>HPLC/ICP-MS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Su                | HGAAS (Hidrit Sistemli-Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>NAA (Nötron Aktivasyon Analizi)<br>Kolorimetrik fotometri<br>HG-HCT/GC-MID (Hidrit Sistemli-Heptancold Tuzağı /Gaz Kromatografisi-Çoklu İyon Tespiti)<br>AAS (Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi)<br>ICP-AES/ ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometrisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                             |
| Hava              | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>GFAAS (Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)<br>ICP-AES/ ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometrisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Gıda              | HGAAS (Hidrit Sistemli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)<br>GFAAS (Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi)<br>HPLC/ICP-MS (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Toprak            | Kolorimetrik fotometri<br>XRF (X-Işını Floresan)<br>HG-HCT/GC-MID (Hidrit Sistemli -Heptancold Tuzağı /Gaz Kromatografisi-Çoklu İyon Tespiti)<br>AAS (Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi)<br>ICP-AES/ ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometrisi/ İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)                                                                                                                                                                                                                  |

#### **1.1.7.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi**

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS) ışığın, analizi edilecek maddenin gaz haline getirilmiş atomlarınca absorbe edilerek ölçülmesi prensibine dayanır. Temel düzeydeki element atomları, Lambert-Beer esasına göre UV-görünür bölgedeki monokromatik ışınları absorplar. İlk olarak 1955'te Avustralya'da Walsh tarafından oyuk katot lambasının icadıyla AAS analitik amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. 70 civarı metal ve geçiş metallerinin eser miktar analizinde kullanılmaktadır. Atomik absorpsiyon spektrofotometreleri de denen bu cihazlara madde konsantrasyon tayinlerinde ihtiyaç duyulmaktadır ve absorplanan ışık miktarı madde konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Absorplanan ışığın dalga boyu analiz edilecek elemente özgüdür. AAS temelde Işık kaynağı, Atomlaştırıcı, Monokromatör ve Detektör bileşenlerinden oluşmaktadır. Atomlaştırıcıları alevli olanlar Alevli AAS (FAAS), atomlaştırıcısı elektrotermal olanlar ise Grafit Fırınli AAS (GFAAS) olarak adlandırılmaktadır. GFAAS'lerle ppb düzeyinde daha hassas analiz yapılmakta ve 5-50µl gibi küçük hacimde örnekler yeterli olmaktadır. GFAAS çözeltilerden homojen süspansiyonların, emülsiyonların, plastiklerin, tırnak, saç, doku ve bitki örneklerinin analizlerine kadar geniş bir kullanım olanağı sağlamaktadır.

#### **1.1.8. Arseniğin Toksik Etkileri**

Arseniğin toksik etkilerini maruziyet dozu, maruziyet süresi, maruziyet yolu, maruz kalınan As'nin türü, genetik faktörler, yaş, genel sağlık durumu ve yaşam tarzı gibi birçok faktör belirlemektedir. Ancak Arseniğin genel toksisite oluşturma derecesine baktığımızda en toksik formunun gaz hali olduğu, daha sonra sırasıyla trivalan formları, pentavalan formları şeklinde olduğu ve en az toksik formunun ise elementel As olduğu belirtilmektedir. Ayrıca inorganik As formları da organik As'lere göre daha toksiktirler. İnorganik As ve metillenmiş metabolitleri organizmada sitotoksik etkiler gösterirken; tiyo-arsenikli formları da hem sitotoksik hem de genotoksik etki gösterirler (Bhattacharjee ve ark., 2013).

İnorganik As inhalasyonu ile boğaz ağrısı ve akciğerlerde tahriş görülmekteyken, yüksek düzeyde As yutulması ise ölümle sonuçlanabilmektedir. Düşük düzeyde As maruziyeti, mide bulantısı kusma, eritrosit ve lökosit üretiminde düşüş, kalpte ritim bozukluğu, kan damarlarında hasar, ayaklarda ve ellerde iğne batması hissine neden olmaktadır. Arsenik bileşikleri ani-şiddetli hipotansiyonla birlikte metabolik asidoz ve şiddetli ishallere; Arsin gazı ise şiddetli-ani hemolizi takiben, hematüri ve oligüriye neden olabilmektedir (Plantamura ve ark., 2011).

Hücreseel düzeyde ise As, hücreseel enerji yolaklarından DNA sentez ve tamir yolaklarına kadar bir çok enzimin (yaklaşık 200) inaktivasyonuna neden olmaktadır (Ratnaïke, 2003; Hughes ve ark., 2011). As metabolizması enzimleri ve bunları kodlayan genlerdeki polimorfizmler As'nin detoksifikasyon mekanizmalarını etkilemekte ve toksik etkilerini artırabilmektedir (Bhattacharjee ve ark., 2013).

#### **1.1.8.1. Akut Arsenik Toksisitesi**

Akut As zehirlenmeleri daha çok öldürmek/ölmek için kasten/kazara meydana gelmektedir. Bulantı, kusma, abdominal ağrı, diyare, periferel nöropati, ensefalopati, anemi, renal ve hepatik disfonksiyon, EKG'de anormallikler, ciltte pigmentasyon ve ciddi gastrointestinal etkiler arsenik toksisitesinin ilk belirtileridir (Ratnaïke, 2003; Hughes ve ark., 2011). Düşük dozda As zehirlenmelerinde hastalarda iyileşme görülebilmekte ancak sinirlerde iletim hızında yavaşlama ve aksonal dejenerasyon gibi nöropatik etkileri ileri yıllarda gözlenebilmektedir (Vahidnia ve ark., 2007).

Oral yolla As maruziyetinde ilk yarım saatte ağızda metalik tat, ağız kuruluğu, nefeste ve feçeste sarımsak kokusu ve yutma güçlüğü v.b. belirtiler görülmektedir. Yiyecekle alındığında bu belirtiler daha geç görülmektedir. Kaslarda ağrı, ciltte kızarıklık, bulantı, kusma ve şiddetli diyare, ellerde ve ayaklarda uyuşma, kas krampları, aşırı susama ile devam eden semptomlar, kılcal damarlarda hasar, vazodilatasyon, plazma sızıntısı ve vazojenik şoka neden olabilmektedir. Akut As intoksikasyonunu (oral alımlarda) takip eden haftalarda (2-4 hafta) keratin sülfidril

gruplarınca bağlaması neticesinde saçta, ciltte birikmeye başlar ve tırnaklarda “Mees Çizgileri” gözlenmektedir (Rodriguez ve ark., 2003).

Şiddetli arsenik zehirlenmelerinde soğuk ve nemli ciltle birlikte dolaşım bozukluğu-kardiyopati, böbreklerde nefropati, idrar çıkışında azalma, idrarda kan (hematüri), uyuşukluk, halusinasyonlar, paranoid sanrılar, psikoz gelişimi, şokla birlikte koma ve/veya ölüm meydana gelebilmektedir. Ölüm ilk yirmidört saat içerisinde ya da takip eden günlerde dolaşım, karaciğer ve böbrek yetmezliği sonucu gerçekleşmektedir.

As'ye mesleki maruziyet daha çok Arsin gazı şeklinde inhalasyonla meydana gelmektedir. Daha çok arsenik içeren cevher/metalin işlenmesi (asitle muamelesi) ile ortama salınan Arsin gazından kaynaklanmaktadır. Sarımsak kokusu ortamdaki en belirgin belirtisidir. Akut Arsin gazı toksisitesinin en belirgin fizyolojik belirtisi ani-şiddetli hemolizdir. Arsin gazı inhalasyonu sonucu kanda hemoglobindeki globinle birleşerek As metabolitleri oluşturmakta, eritrositleri parçalayarak hemolize neden olmaktadır. Şarap rengi idrarla karakterize Hemoglobinüri, deride bakır-bronz renginde kızarıklık ve şiddetli karın ağrısı, titreme, susuzluk, EKG'de farklılıklar ve akut böbrek yetmezliği sonucu ölüme kadar gidebilen bir tablo ortaya çıkabilmektedir.

Arsenik partiküllerinin inhalasyonu ise rinit, öksürük, göğüs ağrısı, dispne, larenjit ve farenjite neden olmakta ve partiküllerin akciğerden absorpsiyonu ve kana karışmasıyla diğer akut/kronik etkiler gözlenebilmektedir.

Akut As zehirlenmelerinde en çok vaka, pestisitlerin kazara yutulması ve daha az sıklıkta da intihar amaçlı kullanımı sonucu olmaktadır. İnorganik As'nin akut maruziyeti sonrası 24 saat-4 gün arasında ölüm gözlenebilmektedir (Ratnaike, 2003). Akut As zehirlenmesinde intihar amaçlı bir vakada çiçeklerde fungusit amaçlı kullanım için bulundurulmuş Disodyumhidrojen-Arsenat'ın intravenöz enjeksiyonla kullanımı sonucu vücuda giren pentavalan As, uygulamadan 3 saat kadar sonra gastro-intestinal semptomlara yol açmış, 12 saat içinde yoğun bakıma kaldırılmış ve multiorgan yetmezliğinden kişi ölmüştür (Ratnaike, 2003). Postmortem incelemelerde yüksek As konsantrasyonları ve As metabolitleri de, antemortem kan örneklerindeki pentavalan ve

trivalan As konsantrasyonlarıyla uyumlu MMA ve DMA şeklinde belirlenmiştir. Akut belirtiler oral yolla alınan belirtilerle benzer şekildedir ancak intravenöz alımda direkt kana verilen As ciddi kapiller hasara yol açarak vazodilatasyon, plazma transdüksiyonuna ve şoka neden olmuştur. Toksikolojik analizlerde, dokularda da As yüksek düzeyde tespit edilmiş ve histopatolojik incelemede miyokardit gözlenmiştir. Tournel ve ark. (2011) antemortem femoral kanda  $As_{III}=600 \mu\text{g/L}$ ,  $As_V=39 \mu\text{g/L}$ ; postmortem kardiyak kanda trivalan arsenik bulunmamış,  $As_V=43 \mu\text{g/L}$  DMA=586  $\mu\text{g/L}$ ; safrada  $As_V=43 \mu\text{g/L}$  DMA=1635  $\mu\text{g/L}$ ; gastrik içerikte de sadece 1319  $\mu\text{g/L}$  DMA tespit etmişlerdir. Post mortem incelemelerde dokularda karaciğerde 28 380  $\mu\text{g/L}$  DMA ve 9 870  $\mu\text{g/L}$   $As_V$ , akciğerde 2 780  $\mu\text{g/L}$  DMA; böbrekte 12 7000  $\mu\text{g/L}$  DMA bulunmuştur ve bu sonuçlar akut As toksisitesiyle (karaciğer total As: 8 900-202 000  $\mu\text{g/L}$ ; akciğer total As: 300-188 000  $\mu\text{g/L}$ ; böbrek total As: 4 400-239 000  $\mu\text{g/L}$ ) uyumlu çıkmıştır (Tournel ve ark., 2011).

Oral iAs ölümcül dozu 120-200 mg; akut toksik dozu 5-50 mg; Arsenik-trioksit ölümcül dozu 70-120 mg rapor edilmiş, iAs'nin toksik etkileri kandaki As konsantrasyonu  $> 100 \mu\text{g/L}$  olduğunda gözlenmeye başlamış ancak başka bir çalışmada normal kan As aralığı 2-23  $\mu\text{g/L}$  olarak tespit edilmiştir (Tournel ve ark., 2011). Elemental arseniğin fetal dozu ise 70-180 mg'dır. EPA'ya göre Arseniğin  $LD_{50}= 1-4 \text{ mg/kg}$  ve ratlarda  $LD_{50}=15-293 \text{ mg/kg}$  verilmiştir (EPA, 2015).

#### **1.1.8.2. Kronik Arsenik Toksisitesi**

As'nin kronik maruziyetindeki en büyük kaynak içme sularından maruziyettir. Endüstriyel As maruziyetinde de kronik As toksisitesi görülmektedir. Uzun dönem düşük dozlarda As maruziyetiyle bir miktar tolerans kazanılsa da ilerleyen dönemlerde etkileri ciddi boyutlara ulaşmaktadır.

Kronik As toksisitesinde farklı klinik tablolar ortaya çıkabilmektedir (Choong ve ark., 2007). Hastada sadece idrarda ve kanda As tespit edilebilir, başka ayırtedici ön belirtiler vermeyebilir. Diğer aşamada özellikle As'ye 5-10 yıl maruziyette avuç içlerinde ciltte melanozlar ve keratozlar; göğüs, sırt, bacak ve diş etlerinde koyu

renklenmeler; ekstremitelerde ödemler gözlenebilmektedir. Bir diğer aşamada ise karaciğer, böbrek ve dalakta büyüme, bronşit ve diyabetin görüldüğü artmış klinik semptomlar gözlenmektedir. Kronik toksisitenin en ağır aşamasında ise tümörler, kangrenler ve kanserlerin eşlik ettiği klinik tablolar gözlenir.

As'nin kronik toksisitesindeki en belirgin belirtiler deride, karaciğerde, akciğerde ve dolaşım sisteminde olmaktadır (3-7yıl). Derideki eritematozlar (kızarıklık) maruziyetin devamıyla melanozlar ve hiperkeratozlar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Diş etlerinde aşırı kanamalar ve çizgilenmeler görülmektedir. Derideki pigmentasyon “yağmur damlası” görüntüsüyle karakterizedir. Avuç içleri ve ayak tabanlarında deskuamasyon (soyulma ve dökülme), parmak uçlarında ise hiperkeratozlar, kırılğan tırnaklar, tırnaklarda belirgin “Mee’s Çizgileri”, prekarsinoz deri lezyonu olan “Bowen hastalığı”, düzensiz alopesi (saç dökülmesi), fasiyal ödem gözlenmektedir. Kronik As maruziyetinde hemoliz ve folat metabolizmasındaki değişikliklerle anemi, lökopeni, trombositopeni gözlenmektedir. Kronik As maruziyeti ayrıca kronik bronşit, akciğerde fibroz doku oluşumu gibi akciğer hastalıklarına, sindirim güçlüğü, diyabet, hepatomegali, siroz, sarılık gibi gastrointestinal hastalıklara ekstremitelerde his kaybı, işitme kaybı, denge kaybı, ensefelopati, periferik nöropati gibi nörolojik hastalıklara ve hipotansiyon, miyokardit ve “Blackfoot hastalığı” (Tayvan ve Çin'de yaygın-kangrene neden olmakta) gibi kardiyovasküler hastalıklara neden olmaktadır (Ratnaike, 2003; Vahidnia ve ark., 2007; Hughes ve ark., 2011; Chatterjee ve ark., 2017). Ayrıca uzun dönem As maruziyetlerinde hamilelerde As plasentadan geçebildiği için düşükle ve ölü bebekle sonuçlanan doğumlar meydana gelebilmektedir.

Yüksek dozda Arseniğe maruz kalınmasıyla tüm bu hastalıklara ilaveten çoklu sistem hastalıkları ve bu sistemlere ait dokularda kanserler görülebilmektedir.

#### **1.1.8.3. Arsenik Zehirlenme Tedavisinde Yaklaşım**

As bileşiğinin özelliğine, maruziyet yoluna, maruziyet dozuna ve epigenetik faktörlere bağlı olarak toksik doz ve öldürücü doz değişebilmektedir. Oral alımlarda As > 1 mg toksik etkiler göstermeye başlamakta; toksik dozu 10-50 mg; letal dozu

(LD<sub>50</sub>) ise 60-200 mg'dır (Dousova ve ark., 2003). iAs'nin > 100 mg'nin oral alımı; iş yerinde > 0,05 ppm Arsin maruziyeti toksik etkileri ortaya çıkarmaktadır. İlk olarak idrardaki As oranının belirlenmesi gerekmektedir. İdrarda 50-100 mg/L As konsantrasyonunda (son 24 saatte deniz ürünü tüketilmemesi kaydıyla) Akut As zehirlenme teşhisi konulmaktadır. Kronik zehirlenmelerden şüpheleniliyorsa kan, saç, tırnak örneklerinde As incelemesi yapılmalıdır. Öncelikle toksik etkiler nedeniyle oluşan dehidrasyon düzeltilmelidir. Akut As zehirlenmelerinde eliminasyonu önlemek için orogastrik lavaj yapılmalı ve hemodinamik stabilizasyon sağlanmalıdır. Hemodiyaliz yapılabilir. Gastro intestinal kanaldan emilimi önlemek için Polietilen-glikol uygulanmalı. Şelasyon ajanı olarak Dimercaprol (2,3-dimercapto-1-propanol, British anti-lewisite, BAL), Dimerkaptosüksinik asit (DMSA) ya da Penisillamin kullanılmaktadır (Vahidnia ve ark., 2007) (Çizelge 1.6).

**Çizelge 1.6.** As Zehirlenmelerinde Kullanılan Bazı Şelatlama Ajanları.

| Şelatlama Ajanı                                                                                     | Tedavide Kullanımı                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dithiol ve monothiol ajanları (BAL)                                                                 | Klinik bulguların giderilmesi için, vücutta arsenik depolanmasının azaltılmasıyla kanser riskini azaltır.   |
| Penicillamine SMSA (Selective Macrophage Supressing Agent) ve DMPS (Dimercaptopropanesulfonic Acid) |                                                                                                             |
| DMSA (Dimerkaptosüksinik asit)<br>DMPS                                                              | Kronik Arsenik Toksisite tedavisinde etkilidir.                                                             |
| BAL (British Antilewisite)                                                                          | Dokudan arsenik ekstraksiyonunda kullanılan şelatördür.<br>Ağır Arsenik zehirlenme tedavilerinde önemlidir. |
| Dimercaprol (2, 3-dimercaptopropanol)                                                               | Genel Şelatlama ajanıdır.                                                                                   |
| Penicillamine (monothiol ajanı)                                                                     | Başarılı bir şelatlama ajanı olup, oral uygulanabilir.                                                      |

#### 1.1.8.4. Arseniğin Sistemik Toksisitesi

Arsenik maruziyetinin toksik etkileri en çok iAs maruziyeti sonrası olmakta ve uzun süreli maruziyet neredeyse tüm organ sistemlerini etkilemektedir. Oral absorblanan iAs'nin insanlarda deri, akciğer, mesane, meme, prostat, böbrek ve karaciğerdeki hasarları dışında, bu organlarda kanser gelişme riskini de artırmaktadır (Hughes ve ark., 2011). Sistemik toksisitenin gelişimi Arseniğe maruziyet sonrası vücudun ne kadar absorbe ettiğine, maruziyetin süresine, konsantrasyonuna ve genetik faktörlere bağlıdır.

İnorganik arseniğe 0,05-0,1mg/kg/gün kronik oral maruziyetle, insanlarda nörolojik ve hematolojik toksik etkileri; 0,72-2,8 mg/kg/gün maruziyetle doz insanlarda oral/inhalasyonla karsinojen etkileri gözlenmektedir (EPA, 2014). 200 mg/L konsantrasyonunda As içeren içme suyu içenlerde hipertansiyon ve kalp hastalıkları, nefroz, nefrit ve prostat kanser riskinde artış gözlenmiştir. Ayrıca arsenik, oksidatif fosforilasyon sürecinde fosforun yerini alarak osteoblastlarda farklılaşma ve kemik yoğunluğunda azalma gibi kemik doku üzerinde toksik etkilerini göstermektedir (Hu ve ark., 2012).

### **Dermal Sistem Etkileri**

Arsenikten kaynaklanan cilt lezyonlarının oluşmasının, As'nin sülfidril gruplarına bağlanma, keratine zengin dokularda birikme eğilimleri; folat, selenyum, A, C, E vitamini gibi besin öğelerince düşük beslenme, sigara kullanımı ve vücut kütle indeksi gibi yaşam tarzını gösteren parametreler ve arsenik metabolizması ile ilgili genetik polimorfizm genleri ile ilgili olduğu tespit edilmiştir (Chen ve ark, 2009). 0,01-0,1 mg As/kg/gün veya daha fazla arsenik içeren içme suyu tüketen insanlarda birçok epidemiyolojik çalışmada dermal sistem etkileri tespit edilmiştir. Kronik maruziyette 3-7 yıl içinde hiperpigmentasyonlar yer yer hipopigmentasyonlar, ağız çevresinde herpetik lezyonlar, el ve ayaklarda hiperkeratoz v.b. etkiler gözlenir (Hansen ve ark., 2004; Centeno ve ark., 2002). Arjantin'de (Girdaba) içme suyundan yüksek As'ye maruz kalanlarda keratoderma, hiperhidrozis, gövdede 1-10 mm çaplı siyah lekeler gözlenmiştir. Bangladeş'te yapılan bir araştırmaya göre 10 µg/L veya daha az arsenik içeren içme suyuna maruz kalan 167 kişiden 36'sında melanoz ve keratozis gözlenmiştir (Ahsan ve ark., 2000). Bangladeş'te yapılan başka bir çalışmada ise 11746 kişinin 8,1-864 µg/L aralığında farklı konsantrasyonlarda As'ye içme suyundan maruz kaldığı, toksik etkilerinin pigmentasyon ile cilt kanserleri arasında çeşitlilik gösterebileceğini ortaya koymaktadır (Ahsan ve ark., 2006a). Bangladeş'te 40 milyon insanın As maruziyeti riski altında olduğu tespit edilmiştir. As'ye maruz kalan bireylerin %93,5'inde melanozlar, %68,3'ünde keratozlar, %37,6'sında hiperkeratozlar ve %39,1'inde lökomelanozlar yaygın bulunmuştur (Karim, 2000).

As maruziyetindeki hiperpigmentasyonlar “yağmur damlası” şeklinde diffüz koyu kahverengi lekelerle karakterizedir. Keratozlar tekdüze kalınlaşma ya da nodüler şekildedir. Keratince zengin el-ayak tırnaklarında As birikimi sonucu beyaz “Mee’s Çizgileri” gözlenir (Ratnaike, 2003). Tayvan’lı arseniğe maruz kalanların ayaklarında kararmayla karakterize “Black Foot” (kardiyo vasküler nedenli) hastalığı gözlenmektedir. İleri dönemlerde “Bowen hastalığı” (kanserde yer verilmiştir), bazal hücre karsinomu gibi cilt kanerlerine yol açmaktadır. Fowler solüsyonuna maruz kalan işçilerde yıllar sonra bazal hücre karsinomunun ortaya çıkmış olması, maruziyet sonrası latent döneme işaret etmektedir (Ratnaike, 2003). Ciltteki As etkileri Şekil 1.6’da verilmiştir.



**Şekil 1.6.** Ciltteki Arsenik Etkileri.

- a- Tırnaklarda Mees Çizgileri ([https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(08\)61587-1/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(08)61587-1/fulltext))
- b- Hiperpigmentasyon-Keratozlar (<http://www.scind.org/1034/Health/cancer-caused-by-ground-water-arsenic-contamination.html>)
- c- Ayaklarda kararma (Black Foot Disease) (<https://www.youtube.com/watch?v=ACfEF0i3JoM>)
- d- Hiperpigmentasyonlar (Yağmur damlası) (<http://www.digitaljournal.com/image/341108>)

## Kardiyovasküler Etkiler

As maruziyetinin koroner kalp hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, periferik arteriyal hastalıklar, miyokardit ve perikardit gibi kardiyovasküler sistem üzerine ciddi etkileri olduğu ortaya çıkmıştır (Moon ve ark., 2012). As'nin oral maruziyetinin (su ve gıda) çocuklarda miyokart enfarktüsü ve arteriyal kalınlaşmaya neden olduğu bildirilmiştir (Zaldivar, 1977). Akut ve kronik As maruziyetlerinde miyokardiyal depolarizasyon ve kardiyak aritmiler tespit edilmiştir. Düşük düzeyde kronik As maruziyeti vasküler sistem hasarlarına yol açarak siyah görünümlü ayaklara yol açan “Black Foot Hastalığı” na neden olmaktadır (Tseng, 2005; Chen ve ark., 2009). Bu hastalık 0,17-0,8 ppm düzeyindeki (0,01-0,5 mg/kg/gün) As'li suların tüketilmesi sonucu Tayvan'da (Güney batı) gözlenen endemik bir vasküler sistem hastalığıdır (Tseng, 2005). As konsantrasyonu yüksek artezyen kuyulardan su tüketimiyle iAs maruziyetiyle ortaya çıkmıştır. Klinik semptomlar ve arter tıkanıklıkları daha çok alt ekstremitelerde görülse de nadir durumlarda üst ekstremitelerde de gözlenebilmektedir. Ekstremitelerde ülserasyonu takiben kangren ve spontan/cerrahi amputasyonla sonuçlanmaktadır (Tseng, 2005; Chen ve ark., 2009). Bu hastaların %70'inde aterosikleroz gözlenmiştir (Tseng, 2005). Son yıllarda musluk suyu içimiyle görülme oranı düşmüştür. Şili'de içme suyu ile 0,6- 0,8 mg/L arsenik alımında (0,02-0,06 mg As/kg/gün) ve inorganik As'ye inhalasyonla maruz İşveç’li bakır işçilerinde (çevresel ve mesleki maruziyet) parmaklarda anormal sistolik basınçla (kan damarı basıncı artmakta) ve soğuklukla (kan akım hızı azalmakta) karakterize ve ilerleyen dönemlerde siyanozlara ve kangrenlere neden olan “Raynaud Sendromu” gözlenmiştir (Lagerkvist ve ark., 1986; Yu ve ark., 2000; Xia ve Liu, 2004) (Şekil 1.7).



**Şekil 1.7.** Raynaud Sendromu (<https://tr.doctorforhelp.com/raynauds-phenomenon-18940>).

Uzun süre iAs'nin inhalasyonla maruziyeti kan damarlarına, kalbe hasar vermekte, hipertansiyonlara ve iskemik kalp hastalıklarına neden olmaktadır (Hsueh ve ark., 2005; Huang ve ark., 2007). Arsenik trioksitin kronik inhalasyonunun insanlarda kardiyovasküler hastalıktan ölüm riskini artırabildiği belirtilmiştir (Axelson ve ark., 1978; Wall, 1980; Lee-Feldstein, 1983). Tayvan'da 463 kişi üzerinde yapılan araştırmada As'ye maruz kalanlarda karotis Aterosikloz ile As maruziyeti arasında ilişki tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2002). Düşük ve orta düzey ( $<50$  ve  $50-300 \mu\text{g/L}$ ) As'ye maruz kalan 8 000' den fazla kişide yapılan çalışmada yüksek serebrovasküler hastalık riski tespit edilmiştir (Chiou ve ark., 2001).

### **Solunum Sistemi Etkileri**

Arseniğin solunum sistemi üzerine etkileri hem iAs'li kuyu sularından su tüketimi hem de mesleksel iAs inhalasyonu sonucu olmaktadır. As'nin partiküllerine, gaz formlarına ve dumanlarına (hem gaz hem ince partikül), özellikle metal eritme-öğütme endüstri işçilerinde ve pestisitlerin kullanımlarında tarım işçilerinde, mesleksel olarak maruz kalınmaktadır. Endüstride bakır eritmede Arsenik-trioksit yan ürün olarak oluşmaktadır. Bakır işçilerinde maruziyetin ortam havasındaki arsenik tozlarının ve Arsenik trioksit buharlarının inhalasyonu olduğu bildirilmiştir (Hughes ve ark., 2011). Solunum yoluyla maruziyette geçmeyen larenjit, bronşit, rinit, trakebronşit ve bronşit gibi solunum yolu iltihaplarıyla seyreden boğaz ağrısı, ses

kısıklığı ve kronik öksürük gözlenmektedir. Çok yüksek dozda endüstriyel inhalasyonla As maruziyetinde 1-3 hafta sonra “Nazal Septum Perforasyonu” (burunda delinmeler) gözlenebilmektedir (Şekil 1.8).



**Şekil 1.8.** Nazal Septum Perforasyonu (<http://clinicaljunior.com/entseptalperf.html>).

Arsenik-trioksit inhalasyonlarında alveolar hemoraji, pulmoner ödem yaygın görülürken; iAs'ye içme suyuyla oral maruziyette kronik astım-bronşit ve astım daha yaygın görülmektedir. As partiküllerinin solunumu ile akciğer bazallerinde fibroza neden olmaktadır. Hindistan, Batı Bengal ve Şili'deki As vakalarında kronik toksisiteye maruz kalan ve dermal lezyonları olan hastalarda solunum yolu hastalıkları daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Tayvan'daki Siyah Ayak Hastalığı olanlarda ise artmış bronşit insidansı tespit edilmiştir (Ratnaik, 2003).

### **Nörolojik Sistem Etkileri**

iAs'nin maruziyetinde en çok etkilenen sistemlerinden biri de Nörolojik Sistemin hem periferik hem de merkezi alanlarıdır. As'nin nörolojik etkileri, alımından birkaç saat içinde gelişebildiği gibi maruziyetten sonraki 2-8. hafta içinde de görülebilmektedir. 1 mg As/kg/gün üzeri akut As maruziyetlerinde baş ağrısı, uyuşukluk, zihinsel karışıklık, halüsinasyon, nöbet, koma ve ensefalopati görülebilmektedir. Kronik ensefalopatiyle kalıcı baş ağrısı, bellekte zayıflık, libido kaybı, idrara çıkışta artış, depresyon ve panik atak ortaya çıkmaktadır (Guo ve ark., 2007; Dang ve ark., 2008; Sen ve Sarathi, 2012). Akut maruziyetten 1-5 hafta sonra aksonal dejenerasyonla birlikte nöropati gözlenebilmektedir. Nöropatinin en belirgin klinik özellikleri ayak tabanlarında uyuşma, ağrı ve karıncalanma hissidir. As'nin toksik etkilerinin çoğu, hücrel enerji yollarındaki enzimlerin inaktivasyonu

sonucu olur; As'nin proteinlerin ve enzimlerin tiyol gruplarıyla reaksiyona girmesi ve onların katalitik aktivitelerini inhibe eder (Tyler ve Allan, 2014). Ayrıca As-kaynaklı nörotoksisitede, diğer pek çok nörodejeneratif hastalıkta olduğu gibi, hücre iskeleti proteinlerinin bileşiminde ve hiperfosforilasyonda değişikliklere neden olarak nörotoksik etkilerini göstermektedir (Vahidnia ve ark., 2007; Tyler ve Allan, 2014).

Son yirmi yılda yapılan çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda arsenik maruziyetinin çocuklarda bilişsel işlevi, özellikle öğrenme ve hafızayı etkileyebileceğini göstermiştir. Araştırmacılar arsenik maruziyetinin çocuklarda IQ'da 0,4'lük bir azalma ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (Tyler ve Allan, 2014). Meksika'daki As'ye maruz kalan çocuklarda (idrarda > 50 µg/L) görsel-uzamsal akıl yürütme, dil ve kelime, hafıza, zeka ve matematik becerilerini ölçen testlerde zayıf puanlar aldıkları (Rosado ve ark., 2007); Meksika'daki başka bir çalışmada çocuklarda artmış hiperaktivite ve artmış dikkat eksikliği (Roy ve ark., 2011); Hindistan'da çocukluk döneminde suda ortalama 147 µg/L Arseniğe maruz kalan çocuklarda kelime dağarcığında ve hafızada azalmaya ve matematik becerilerinde zayıflığa neden olduğu tespit edilmiştir (von Ehrenstein ve ark., 2007).

Mesleksen maruziyette bakır işçilerinin As inhalasyonu neticesinde işçilerde nörolojik etkiler gözlenmeye başlanmıştır (Hughes ve ark., 2011). iAs'nin inhalasyonu duyuusal-motor nöronların periferik nöropatilerine dolayısıyla refleksel uyusukluğa ve kas güçsüzlüğüne neden olabilmektedir. Arsenik-trioksit Akut Promiyelitik Lösemi tedavisinde kullanılmakta ve bu hastalarda geçici nörotoksik etkilere neden olabilmektedir (Vahidnia ve ark., 2007).

### **Gastrointestinal Sistem Etkileri**

Arseniğin akut maruziyetlerinde dudaklarda yanma, ağırlı yutma, susama, mide bulantısı ve abdominal kolik en yaygın etkilerdir. Anoreksiya, kilo kaybı, sarılık, hepatomegali, portal fibrozis ve siroz gelişimi gözlenmiştir. Hindistan'da iAs içme suyu (0,64 mg /L) ile kronik maruzlarda ölüm vakaları bildirilmiştir (Chakraborty ve Saha, 1987). Arsenik barsak hemostazisini etkileyerek bariyeri bozar ve inflamatuvar yanıtlara

neden olmakta, gıda bileşenleriyle etkileşimi, metabolizması sonucu daha toksik As türlerinin oluşmasına neden olabilmekte ve ayrıca bağırsak emilimini de bozarak toksik etkisini artırmaktadır (Hong ve ark., 2014). Arseniğe tekrarlanan maruziyette karaciğerde birikim olmaktadır. Hepatik tutulum aylar/yıllar boyunca belirti vermeksizin meydana gelmektedir. Kanamalar, özafagus varisleri, sarılık ve hepatomegaliyle belirtiler vermektedir. Kronik maruziyetlerde (0,02-0,01 mg As/kg/gün) kan analizlerinde yükselmiş karaciğer enzimleri gözlenebilmektedir. Fowler solusyonu gibi As içeren ilaçların oral alımında hepatik lezyonlar, karaciğerde yağlanma, portal fibrozis, hepatik yetmezlik, siroz ve koma ile ölüm gelişebilmektedir. Tayvan'da yapılan araştırmalarda 40 yaş ve üzeri obez bireylerde meydana gelen Tip-2 diyabetle iAs maruziyeti arasında bir ilişki olabileceğinden bahsedilmiş ve yüksek iAs'ye maruz kalanlarda maruz kalmayanlara göre diyabet insidansı 2-5 kat daha yüksek bulunmuştur (Hong ve ark., 2014). As'nin yüksek düzeyde inhalasyonla partikül ve dumanına maruz işçilerde bulantı, kusma ve diyare yaygındır.

### **Genito-Üriner Sistem**

Böbreklerde karaciğer gibi tekrarlayan maruziyetlerde As biriktiren bir organdır. As eliminasyonunun başlıca yapıldığı ve pentavalan As'nin trivalan As'ye dönüşüm yeridir. As maruziyeti sonucu, böbrek kılcalları, tübülleri ve glomerülüsleri hasara uğrar ve idrarda proteinüri ve albuminüri meydana gelir (Stehouwer ve ark., 2004). Proksimal tübüller hücrelerde mitokondriyal hasar belirgindir ve oligüri gözlenmektedir. Akut arsenik çok şiddetli ise böbrek yetmezliğiyle sonuçlanabilmektedir. Arsenik maruziyeti ve proteinüri arasındaki doz-cevap ilişkisi, düşük-orta arsenik düzeylerinin maruziyeti, kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek hastalığının ortak bir nedenselidir (Chen ve ark., 2009).

Inhalasyonla özellikle arsin gazına maruz kalınmış ise hemoliz meydana geleceğinden renal yetmezlik sonucu nekroz meydana gelebilmektedir (önlemek için hemodiyaliz uygulanır).

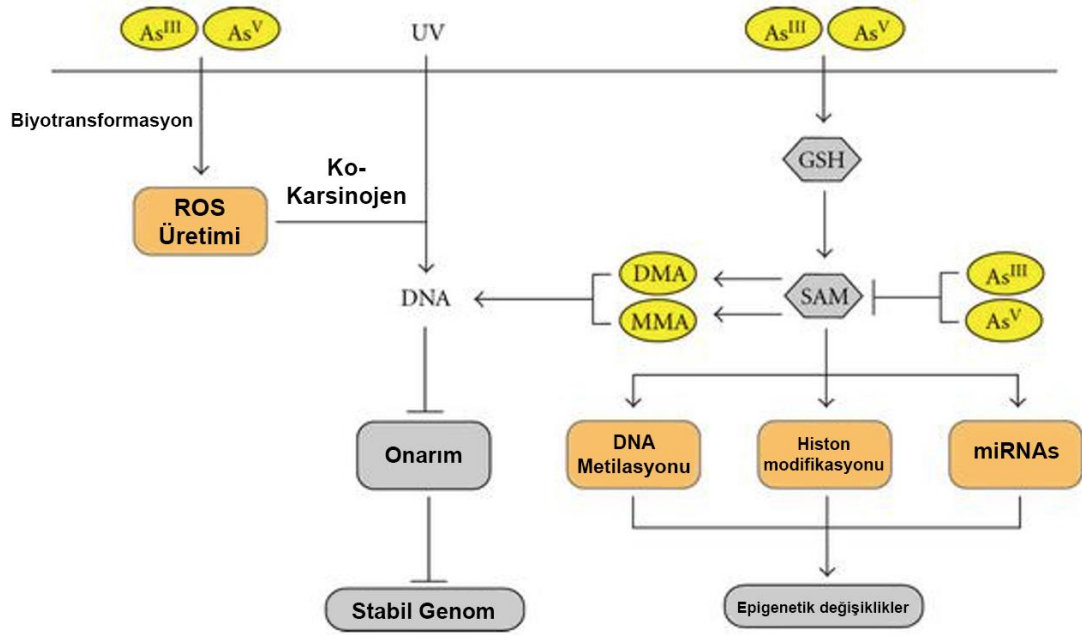
İnsanlarda mesleki As maruziyeti cinsel güçte azalmaya, testosteron düzeyinde azalmaya, sperm anomalilerine ve prostat kanserine neden olabilmektedir (Mathur ve ark., 2010; Yılmaz ve Dinç, 2013). 5,8 µg kan As düzeyinden yüksek kronik As maruzlarda sperm hareketliliğinde azalmalara neden olduğu bildirilmiştir (Pizent ve ark., 2012).

### **Hemapoetik Sistem Etkileri**

Akut ve kronik arsenik maruziyetlerinde hemapoetik sistem etkilenmekte ve şiddetli anemi ve lökopeni gözlenmektedir. Yüksek arsenik dozlarının insanlarda kemik iliği depresyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Arsin gazına inhalasyonla 10 ppm gibi yüksek düzeyde maruziyet eritrositlerde hemolize ve birkaç saat içerisinde ölüme neden olmakta ve 0,5-5 ppm düzeyinde arsin gazına maruziyette ise anemi ve hemolizler birkaç hafta içinde ortaya çıkmaktadır (EPA, 2014). Hemoliz sonrası nefronların tıkanmasıyla birlikte böbrek hasarı meydana gelir. Metillenmiş arsinler daha güçlüdürler ancak daha az hemolitik etki gösterirler.

### **Arsenik ve Kanser**

Arsenik maruziyetinde trivalan ve pentavalan formları hücrelere girerek reaktif oksijenler oluşturarak ya da epigenetik değişikliklere yol açarak hücrelerde hasara neden olurlar. Pentavalan As ( $As_v$ ) trivalan As'lere ( $As_{III}$ ) ve bunlar da metillenerek MMA ve DMA'ya dönüşmektedir. Bu metilasyon sırasında S-Adenozilmetionin (SAM) ve Glutasyon'un (GSH) tüketilmesiyle DNA metilasyonunda değişikliklere, histonlarda modifikasyonlara ve ekspresyonları değiştirilmiş mikroRNA'lara neden olurlar (Epigenetik Değişiklikler) (Martinez ve ark., 2011c) (Şekil 1.9).

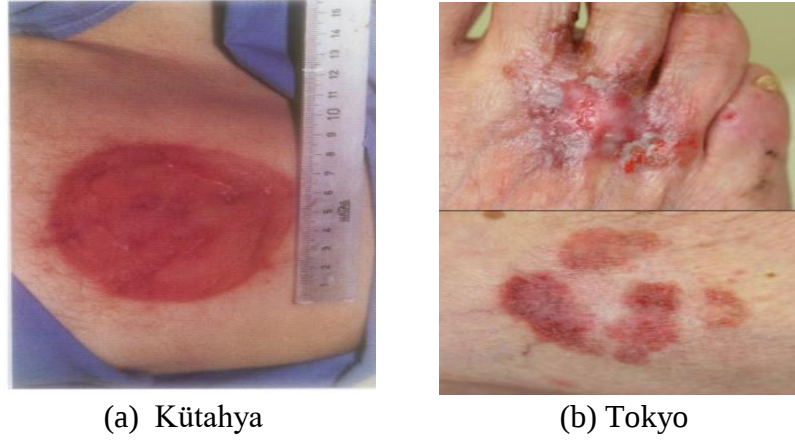


**Şekil 1.9.** Arseniğe Maruz Kalanlarda Kanser Yolakları (Martinez ve ark., 2011c).

Arsenik Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC-the International Agency for Research on Cancer) tarafından Grup I insan karsinojenleri sınıfına alınmıştır (Chen ve ark., 2009; Martinez ve ark., 2011c). Ancak arsenik-trioksit özellikle APL (Akut Promiyelositik Lösemi) hastaları için kemoterapötik ajan olarak da kullanılmaktadır (Wang ve Chen, 2008; Mathews ve ark., 2010). As oral alımla başta deri kanseri olmak üzere, mesane, böbrek, karaciğer, prostat ve akciğer kanserlerine neden olmaktadır (Marshall ve ark., 2007; Morales ve ark., 2000; Ferreccio ve ark., 2000). Arseniğe maruz kalanlarda en yaygın kanser deri kanserleri, ölüm riski en çok olan kanserleri ise akciğer kanserleridir (Mead, 2005). iAs bileşiklerinin metabolitleri olan ve herbisitlerde de bulunan MMA ve DMA insanlarda Grup 2 karsinojen, arsenobetain ve diğer organik As bileşikleri insanlarda metabolize olmadıkları için karsinojen olarak sınıflandırılmamaktadır (IARC, 2012).

Arsenik ve cilt kanserlerinin ilişkisi ilk olarak Fowler Solüsyonu (%1 potasyum-arsenit) kullananlarda tespit edilmiştir (Martinez ve ark., 2011c). Fowler çözeltisinin uzun süre kullanımıyla kronik As toksisitesi ve hemanjiosarkom, karaciğer anjiosarkomu ve nazofarenks karsinomu gözlenmiştir (Ratnaike, 2003). 150 µg/L ve üzerinde As maruziyetinde cilt kanseri sıklığında artış meydana gelmiştir.

Kronik As maruziyetlerinde ciltte Bazal Hücreli Karsinom (en yaygın) ve Skuamoz Hücreli Karsinomlar (Bowen hastalığı) daha sıklıkla gözlenmekte olup, daha düşük sıklıkta ise Merkel Hücreli Karsinomlar gözlenir (Wong ve Wang, 2010; Boonchai ve ark., 2000; Lien ve ark., 1999). Bu karsinomlar daha çok suda çözünebilen As nedeniyle oluşmaktadır. Macaristan, Romanya ve Slovakya'da yaşayanlar üzerinde içme suyundaki uzun süreli düşük arsenik konsantrasyonlarının ( $\leq 100\mu\text{g/L}$  iAs) karsinogenik riskini değerlendirmek için yapılan son epidemiyolojik bir çalışmada, bazal hücreli karsinom gelişme riski ile anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Leonardi ve ark., 2012). Cilt kanserleri sıklıkla 3-40 yıl aralığındaki maruziyetlerde Bowen hastalığı 10 yıl ve üzeri maruziyetlerde, skuamoz hücreli karsinomlar 20 yıllık maruziyetlerde, akciğer kanserleri ise 30 yıllık maruziyetlerde gözlenmiştir (Yoshida ve ark., 2004). Bowen hastalığı arsenik maruziyetinden 10 yıl sonra ortaya çıkmaktadır. Arjantin, Şili, Kanada ve Tayvan'daki epidemiyolojik çalışmalar Siyah Ayak Hastalığı, Bowen hastalığı ve cilt kanserinin, arsenik içeren içme suyu ile arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Bowen hastalığı skuamoz hücre karsinomu olarak da adlandırılmakta olan bir çeşit cilt kanseridir. Cildin epidermisinde anormal büyüme, bölünme ve hücre büyümesi sonucunda oluşur. Birkaç mm'den birkaç cm'ye değişen büyüklükte plak ya da papül görünümünde kırmızı oluşumlardır. Plaklarda çatlama sonucu kanamalar meydana gelebilmektedir. Kütahya'da Emet Hisarcık'ta boraks madeninde çalışan 35 yaşındaki As maruziyeti olan bir hastada endüstriyel maruziyet, çevresel maruziyet ve içme suyu As maruziyeti sonucu hiperkeratozlar ve Bowen Hastalığı teşhis edilmiştir (Çöl ve ark., 1999) (Şekil 1.10.a). Tokai Üniversitesi'ne 2006 yılında başvuran 81 yaşındaki bir hastada uzun yıllar iAs'ye içme suyu maruziyeti sonucu sırtında, alt bacaklarında ve skrotumunda kırmızı plaklar tespit edilmiş ve patolojik incelemeler neticesinde içme suyu (kuyu suyu) As maruziyetine bağlı Bowen hastalığı teşhisi konmuş (iş yeri maruziyeti tespit edilmemiş), daha önce 64 yaşında iken kolon kanseri, 74 yaşında da mide kanseri geçirmiş, babasını ve iki kardeşini mide kanserinden, bir kardeşini de akciğer kanserinden kaybetmiştir (Yamaoka ve ark., 2011) (Şekil 1.10.b).



**Şekil 1.10.** Arseniğe Maruz Kalanlarda Bowen Hastalığı (Çöl ve ark., 1999; Yamaoka ve ark., 2011).

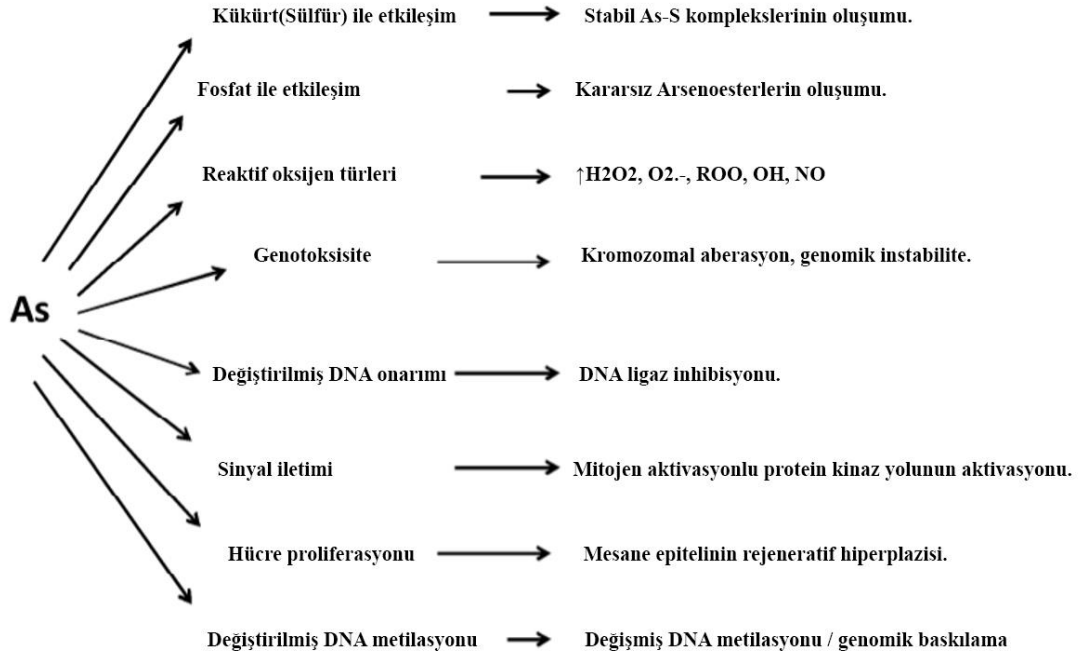
Solunum yolu ve akciğer kanserleri arsenik keratozları olan kişilerde ölümlere neden olmaktadır (Celik ve ark., 2008). Arseniğe maruz kalanlarda 300-400 µg/L düzeylerinde uzun süre arsenik etkilenimi sonucunda akciğer kanseri oluşumunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Xie ve ark., 2014). As'ye maruz kalanlarda ilk Akciğer kanserleri maden çalışanlarında tespit edilmiştir (IARC, 1980; Martinez ve ark., 2011c). Pestisitlerin kullanımı sırasındaki ve madencilikte (özellikle bakır eritme) endüstriyel maruziyetteki iAs'nin inhalasyonla alımlarında, maruziyet süresi uzadıkça solunum yolu kanserlerine bağlı ölümler olabilmektedir (Baetjer ve ark., 1975; Ding ve ark., 1987; Fishbein, 1987). İnorganik As'ye Tayvan, Şili, Bangladeş ve Latin Amerika'da içme suları ile maruziyette akciğer kanserlerinin görülme riski artmıştır (Kitchin ve Conolly, 2010; McClintock ve ark., 2012). Bu ülkelerde yüksek As maruziyetlerinin (11-335µg/L) azaltılmasına rağmen akciğer kanser riskleri hala yüksektir (Steinmaus ve ark., 2013). Arsenit (trivalan As) akciğer fibroblastlarına akciğer epitel hücrelerinden daha çok toksik etki gösterir. Akciğer fibroblastlarında kromozom aberasyonlarına neden olur. Akciğer fibroblastlarında tek iplik kırılmalarına, epitel hücrelerinde DNA hasarlarına (çift iplik kopmalarına) ve oksidatif stresin artmasına neden olur (Dong ve Luo, 1993; Mouron ve ark., 2001; Kitchin, 2001; Xie ve ark., 2014). Akciğer kanserleri açısından sigara içenlerde ve iAs'ye suyla maruz kalanlar arasında sinerjik etkiler gözlenmiştir (Ferreccio ve ark., 2000).

Böbrek, karaciğer, kolon kanserleri ise 400 µg/L ve üzerindeki uzun süreli As maruziyetlerinde gözlenmektedir. Sigara içilmesi, As'e bağlı olarak mesane kanserine

yakalanma riskini de artırmaktadır. Mesane kanserlerinde 100 µg/L'in üzerindeki As maruziyetleri mesane kanseri riskinde artışa, 300-400µg/L düzeylerindeki As maruziyetleri mesane kanserlerine neden olmaktadır (IARC, 2012). Böbreklerde renal hücreli ve ürotelyal hücreli karsinomlar şeklinde gözlenir. Böbrek ve mesane kanserleri sonrası mortaliteler görülmektedir.

#### **1.1.8.5. Arseniğin Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri**

Arsenik organizmada toksik etkilerini gösterirken ikiyüzden fazla enzimi inaktive eder. Trivalan As'ler tiyollerle (sülfidril-disülfidril gruplarına bağlanır-As-S kompleksleri oluşturur) etkileşime girerek tiyol grubu içeren enzimleri bloke eder (Hughes ve ark., 2011). Trivalan arsenikler tiyoredoksin redüktaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ve DNA tamir mekanizmalarındaki enzimlerdeki tiyollere bağlanarak onları inhibe etmektedir (Özbolat ve Tuli, 2016). Biyokimyasal reaksiyonlarda fosfor yerine geçebilen pentavalan arsenik ise ATP gibi bileşiklerdeki yüksek enerjili bağların (fosfat bağlarının kaybı) hidrolizine ve oksidatif fosforilasyonun azalmasına neden olur. Kararsız arsenoesterler oluşturabilir. Piruvat ve suksinat oksidasyon yollarını ve trikarboksilik asit döngüsünü inhibe ederek glukojenezi bozar. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türlerinin (ROT-RNT) üretiminde artışla DNA hasarı, protein hasarı ve lipid peroksidasyonuna, hücre sikluslarında değişimlere neden olmaktadır. Kromozomal aberasyonlara neden olarak genotoksik etki gösterebilir, DNA Ligazları inhibe edebilir, DNA tamir mekanizmalarını ve DNA metilasyonlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Hughes ve ark., 2011) (Şekil 1.11).



**Şekil 1.11.** As'nin Hücresel Toksisite Mekanizmaları (Hughes ve ark., 2011).

### Sülfür ile Etkileşimler

Trivalan As'lerin glutatyon ve lipoik asit gibi sülfidril gruplarına ve enzimlerin sistein kalıntılarına yüksek affiniteleri vardır (Aposhian ve Aposhian, 2006). Trivalan As-Sülfür bağlarının oluşumu ile glutatyon redüktaz-peroksidaz, tioredoksin redüktaz-peroksidaz ve piruvat dehidrogenaz gibi enzimleri inhibe etmektedir (Schuliga ve ark., 2002). DMA<sub>III</sub> sülfür açısından zengin proteinler ile kompleksler oluşturmakta ve toksik etkiler göstermektedir (Sharma ve Sohn, 2009).

### Fosfatla Etkileşimler

Arsenik ve fosfor, benzer fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Bunların protonlanmış formları olan arsenik asit ( $H_3AsO_4$ ) ve fosforik asit ( $H_3PO_4$ ) benzer yapıya sahiplerdir (Hughes ve ark., 2011). Bu nedenle bir çok biyokimyasal olayda Arsenat (pentavalan) fosforik asitin yerini alabilir ve -OH (hidroksil) gruplarıyla ester bağları oluştururlar (Dixon, 1997). Fosfordaki kararlı fosfor anyonunun daha az kararlı AsV anyon ile değiştirilmesi, ATP gibi bileşiklerde yüksek enerjili bağların hızlı

hidrolizine neden olur ve böylece kararsız Arsenat anhidritler oluşmaktadır. Arsenat oksidatif fosforilasyonda ADP ile bağlanabilir ve kararsız Arsenatlar nedeniyle ATP oluşumu azalır, hem ATP hem de plazma membranının bozulmasıyla eritrositlerin yıkımına neden olur, ancak arsenitlerde (trivalan) bu durum söz konusu değildir(Hughes ve ark., 2011).

### **Hücre Proliferasyonu**

Arsenik toksisitesinde en belirgin yapılaşma hiperkeratozlardır. Toksik etkiler ve dolayısıyla hücresel ölümler nedeniyle mitojenik uyarılma sonucu hücreler rejenerasyonla çoğalmaktadır. iAs'lerin yol açtığı deri neoplazilerinde (hücresinin aşırı çoğalmasıyla tümörsel yapılar oluşturması) büyüme faktörlerinin ekspresyonlarının aşırı uyarılmasıyla olduğu ortaya çıkmıştır. İnvitro Arsenite maruz kalan keratinositlerde, GM-CSF (granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör) ve TGF- $\alpha$  (transforme edici büyüme faktörü- $\alpha$ ) ve proinflamatuvar sitokin tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi büyüme faktörleri aşırı eksprese edilir (Hughes ve ark., 2011). Bu hücreler Arsenit varlığında da çoğalırlar. Yine in vitro çalışmalarda Arsenite maruz kalan hayvan epidermisinde hiperproliferasyon gözlenmiştir (Waalkes ve ark., 2008). İçme suyundan ya da diyetle 100 ppm DMA<sub>SV</sub>'ye 7 gün maruz bırakılan ratların mesane ürotelyumlarında sitotoksikite ve artmış hücre proliferasyonu tespit edilmiştir (Cohen ve ark., 2001).

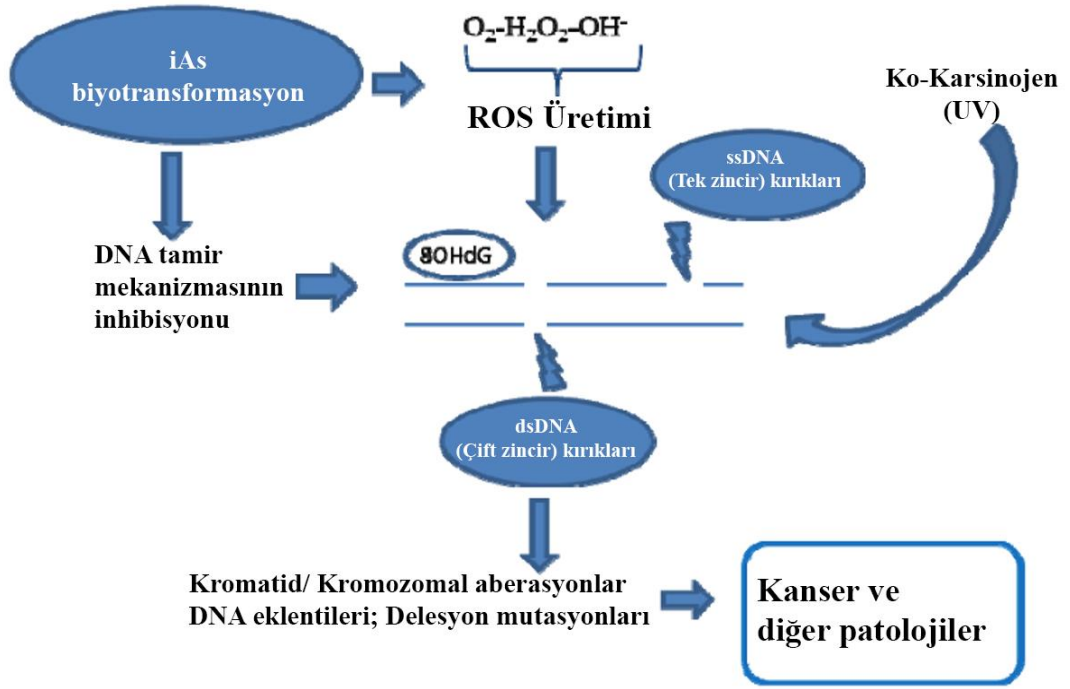
### **Sinyal iletimi**

Sinyal iletim yolları ekstraselüler sinyal ileticiler, intraselüler sinyal molekül dizileri (protein kinazlar gibi) ve gen ekspresyonunda değişiklikleri içerir. Proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücresel süreçler ya bu yollarla ya da kaskadlarca yönetilmektedir. Trivalan As metabolitleri pirüvatdehidrogenazı inhibe ederek hücrenin enerji akışına zarar verir, Apoptoz Tetikleyici Faktör'ün (AIF) salınımı da hücrenin ölmesine neden olabilmektedir. Apoptoz perinükleer kromatinin erken oluşumu DNA fragmentasyonu ve hücre ölümleriyle de ilişkilendirilmektedir. Arsenik, DNA'ya bağlanan ve gen transkripsiyonunu düzenleyen regülör

proteinlerin, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yol açan sinyal iletimlerini değiştirebilmektedir (Huang ve ark., 2004). Arsenik maruziyetlerinin insanda akciğerde EGFR (epidermal büyüme faktörü) yolağının sinyal transdüksiyonunu aktive ettiğini, bronşiyal epitelyal hücrelerde EGFR seviyelerini artırdığını ve EGFR fosforilasyonunu aktive ettiği tespit edilmiştir (Andrew ve ark., 2009). Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) kaskadındaki p38'in in vitro arsenit tarafından aktive edildiği gözlemlenmiştir. MAPK'ın diğer kinazları olan ERK'ler (hücre dışı düzenlenmiş protein kinazlar) ve JNK'lar (c-Jun N-terminal kinazlar) da arsenitler (trivalan) tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Hughes ve ark., 2011). Ayrıca transkripsiyon faktörlerinden NF- $\kappa$ B (Nükleer faktör-kappa beta) ve Nrf2 (Nükleer faktör eritroit-2) arsenik maruziyetiyle aktive olurlar, sitokinler ve büyüme faktörleri için gen ekspresyonlarını uyarırlar. Arsenit maruziyeti ROT üretimini artırarak da NF- $\kappa$ B'yi aktive ettiği bildirilmiştir (Hu ve ark., 2002). Arsenik, serbest radikal toplayıcı olan N-asetilsistein kinazların aktivasyonunu da inhibe ederek oksidatif stresin oluşmasına neden olmaktadır. Arsenik (arsenik-trioksit) APL (akut promyelositik lösemi) tedavisinde kullanılırken ROT üretimini sağlayarak lösemik hücreleri apoptoza uğratar ve kanserde gerileme başlar (Hu ve ark., 2002).

### **Genotoksik Etkiler**

As maruziyetiyle artan ROT oluşumları, DNA onarım inhibisyonları ve değiştirilmiş DNA metilasyonları genotoksik etkilere neden olmaktadır (Şekil 1.12). Arsenik, mutajenlerin etkilerini artırır ve daha çok genotoksik olup; Delesyon Mutasyonları, Oksidatif DNA hasarı, DNA Dizisi Kırıkları, Kardeş Kromatid Değişimleri, Kromozomal Aberasyonlar, Anöploidi ve Mikronükleusa neden olurlar. Ayrıca gen amplifikasyonlarına, transform aktivitelerini ve genomik instabilitelerini de etkilemektedir (Rossman, 2003; Pierce ve ark., 2012).



**Şekil 1.12.** Arsenik Genotoksik Etkileri (Faita ve ark., 2013).

As'ye maruz kalan deri lezyonlu vakaların lenfositleriyle, normal insanların lenfositlerinin karşılaştırıldığı Mikroarray bazlı gen ekspresyon analizinde, deri lezyonlarına sahip As'ye maruz kalanlarda süperoksit dismutaz 2 (SOD2) geni, Tümör Nekroz Faktörü (TNF) geni ve kemokin faktörü CCL20 geninde, regülasyonda düşüş gözlenmiştir. Deri lezyonlarının gelişmesinde öncü ya da deri lezyonlarının gelişimi sonucu oluşan inflamasyon, oksidatif stres ve kemokin yanıtlarının tutulumuyla olabilmektedir (Chen ve ark., 2009). Arsenik trioksite inhalasyonla maruz kalan metal döküm işçilerinin periferik lenfositlerinde kromozomal aberasyonların sıklığını arttırdığı gözlenmiştir (Beckman ve ark., 1977; Nordenson ve ark., 1978). Çin hamster V79 hücreleriyle yapılan çalışmada Arsenit (trivalan) maruziyetinde hücrelerin insizyon aşamasından sonra DNA onarım inhibisyonlarının DNA ligaz engellenmesi sonucu olduğu tespit edilmiştir (Li ve Rossman, 1989). DNA onarım inhibisyonlarıyla ilgili ilk çalışma farklı onarım fenotiplerine sahip E. coli suşlarında yapılmış ve hücreler Arsenit ve UV radyasyona maruz bırakıldıklarında, As'ye maruz kalan DNA onarım hedefli hücrelerde UV radyasyonun öldürücü etkisine daha yatkın oldukları tespit edilmiştir (Rossman, 2003). Trivalan ve pentavalan As'ler tarafından indüklenen kromozom aberasyon frekanslarına bakıldığında trivalan As'lerin pentavalanlara göre

daha çok genotoksik olduğu tespit edilmiştir (Nakamuro ve Sayato, 1981; Barrett ve ark., 1989; Kligerman ve ark., 2003). Arsenik maruziyetinde NER (Nükleotid Eksizyon Onarımı) ve BER'deki (Baz Eksizyon Onarımı) enzimler de inaktive olmaktadır (Rossman, 2003; Sykora ve Snow, 2008). iAs'ye içme suyundan maruz kalan bireylerin ayak tırnaklarındaki As seviyeleri ile 3 NER geninin ekspresyonu ters orantılı bulunmuştur (Andrew ve ark., 2003). Arsenitler, BER ve NER onarım proteinlerindeki inaktivasyonunu, ya çinkonun sisteinil kalıntılarına bağlanmasını engelleyerek ya da sistein sülfidril gruplarında oksidasyona neden olarak gerçekleştirir (Piatek ve ark., 2008). İçme suyu ve çevresel iAs maruz kalan bireylerde bazı çalışmalar ve genotoksik etkileri aşağıdaki Çizelge 1.7’de verilmiştir.

**Çizelge 1.7.** As Maruziyetlerinde Bazı Genotoksik Etkiler.

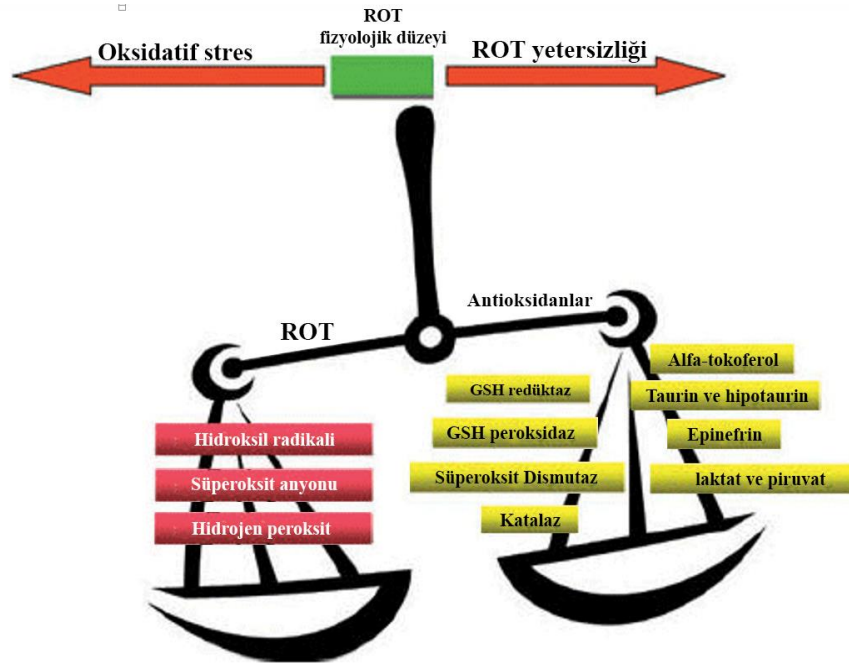
| <b>As Maruziyeti</b> |                                                                                                     | <b>Genotoksik Etkiler</b>                                                                                                | <b>Popülasyon</b> | <b>Kaynak</b>                  |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| <b>Kaynak</b>        | <b>Konsantrasyon</b>                                                                                |                                                                                                                          |                   |                                |
| İçme suyu            | 11 kişi 0,39 mg/L As<br>13 kişi 0,019–0,026 mg/L As                                                 | Kromozomal Aberasyonlar ve Kardeş Kromatid Değişimleri. Kompleks Aberasyonlar ın frekansı yüksek maruziyette daha büyük. | Meksika           | Ostrosky-Wegman ve ark., 1991. |
| İçme suyu            | 282 kişi 0,13mg/L As<br>155 kişi 0,02mg/L As                                                        | Yüksek maruzlarda kardeş Kromatid Değişimleri önemli derecede yüksek oranda.                                             | Arjantin          | Lerda, 1994.                   |
| İçme suyu            | 106 kişi 0,750mg/L As<br>111 kişi 0,002mg/L As                                                      | Yüksek maruzlarda ikiçekerdekl Mikronükleuslu hücrelerin sıklığı diğerlerine göre daha yüksek.                           | Şili              | Martinez ve ark., 2004.        |
| Çevresel Maruziyet   | 105 Metal Döküm İşçisi<br>52 Metal Döküm Yöneticisi<br>50 Bakır Maden İşçisi (Farklı işyeri)        | Gruplar arasında lenfositlerdeki mikronükleus frekanslarında anlamlı fark saptanmadı.                                    | Şili              | Paiva ve ark., 2008.           |
| İçme suyu            | 12'si cilt kanserli 19 kişi (As Endemik Alanda yaşayan)<br>44 sağlıklı kişi (Farklı alanda yaşayan) | Sirkülasyondaki lenfositlerde p53 ekspresyonu ve melanom dışı deri kanseri arasında açık bir bağlantı tespit edildi.     | Meksika           | Salazar ve ark., 2004.         |
| İçme suyu            | 51 kişi 4,8-33,3µg/L As                                                                             | Arsenikli içme suyu ile maruziyette üriner 8-OHdG ile ölçülen artmış DNA oksidasyonu ilişkili çıkmamıştır.               | Meksika           | Burgess ve ark., 2007.         |
| İçme suyu            | 16 kişi 32µg/L As<br>37 kişi 0,7µg/L As                                                             | Arsenik maruz kalanlarda DNA hasarı artmış ve Onarım kabiliyetleri azalmıştır.                                           | Meksika           | Andrew ve ark., 2006.          |

Gen transkripsiyonları DNA metilasyonları ile düzenlenmektedir. DNA'nın hiper/hipometilasyonları arsenik toksisitesini artırarak karsinojen etki gösterebilmektedir. Rat karaciğer hücreleri (TRL1215) 18 hafta boyunca Arsenit'e maruz bırakıldığında DNA'da hipometilasyon, anormal gen ekspresyonları ve malign hücreler tespit edilmiştir (Zhao ve ark., 1997). Arsenit'e kronik maruz kalan insan prostat epitelyal hücrelerinde de genomik DNA hipometilasyonu gözlemlenmiştir (Benbrahim-Tallaa ve ark., 2005). Hipometilasyon beslenme faktörlerinden ve DNA metiltransferaz inhibisyonundan da kaynaklanabilmektedir. Arsenit tedavisi uygulanan insan karaciğer adenokarsinom (A549) hücrelerinin p53 promotor bölgesindeki hipermetilasyon ile inhibisyona ve kansere yol açabilmektedir (Mass ve Wang, 1997). Arseniğe içme suyuyla kronik maruz kalan kişilerde de tam kan DNA'nın p53 promotoründe dozla orantılı oranda hipermetilasyon gözlenmiştir (Chanda ve ark., 2006). As'nin insanlardaki genotoksik etkileri karaciğer, cilt ve mesane kanserleri meydana getirmektedir. As'ye maruz kalanlarda dokulardaki kromozomal anomaliler, oksidatif stres ve büyüme faktörlerinin sürekliliği ve hücre proliferasyonu karsinojeniteyi tetiklemekte ve özellikle Arsenit ve Dimetil-arsinik asit DNA hasarına neden olmaktadır. As kaynaklı DNA hasarına karşı korumada süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimler görev almaktadır (Hughes ve ark., 2011).

Epidemiyolojik veriler aynı popülasyon içinde arsenik maruziyetinin toksik etkileri ve bireysel duyarlılıkları açısından farklılıklar olduğunu göstermekte ve bu farklı etkiler farklı As metabolizmasından kaynaklanabilmektedir (Hsieh ve ark., 2017). As metabolizmasında rol alan AS3MT (arsenik metil transferaz), GSTO (Glutasyon-S-Transferaz Omega) ve PNP (Pürin Nükleozid Fosforilaz) genlerindeki polimorfizmler enzim fonksiyonlarını ve idrardaki muhtemel As metabolit profilini değiştirebilir (Li ve ark., 2005a; Zakharyan ve ark., 2001; Radabaugh ve ark., 2002). İdrar As tür oranları As metilasyon kapasitesinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Hsieh ve ark., 2017). İdrar muhtemel As oranları %10-30 iAs (İnorganik As), %10-20 MMAV ve %60-80 DMAV şeklinde belirtilmiştir (Vahter ve Concha, 2001; Chiou ve ark., 1997). Üriner As atılım profilindeki değişiklikler ise cilt kanseri (Hsueh ve ark., 1997), ürotelyal karsinom (Pu ve ark., 2007) ve gelişimsel gecikmeyle ilişkili bulunmuştur (Hsieh ve ark., 2014).

## 1.2. Oksidatif Stres

Organizmada sürekli oluşan serbest radikaller ile onları düzenli olarak ortadan kaldıran antioksidan savunma mekanizmaları arasında bir denge söz konusudur. “Oksidatif Denge” adı verilen bu denge kurulduğu sürece organizma, serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmeyecektir. Ancak antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlar ya da serbest radikallerin oluşumundaki artış nedeniyle oksidatif denge bozularak “Oksidatif Stres”i meydana getirebilmektedir (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002) (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. Oksidatif Stres (Garrido ve ark., 2004).

### 1.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren, yüksek enerjili, kararsız, kısa ömürlü, düşük moleküler ağırlıklı, aktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller nötr, pozitif ya da negatif yüklü olabilmektedir.  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  ve  $\text{Fe}^{+3}$  gibi bazı elementler ise eşleşmemiş elektrona sahip olmalarına rağmen serbest radikal olarak değerlendirilmezler. Ancak serbest radikal oluşumuna neden olurlar.

Hücrelerde metabolizmanın doğal bir ürünü olarak endojen ve ekzojen kaynaklı serbest radikaller üretilmektedir. Mitokondride elektron transferi sırasında, nötrofil ve makrojaflarca hücre savunmasında-solunum patlamasında, lipid peroksidasyonunda, sitokrom p450 deki elektron kaçaklarında, prostaglandin sentezi sırasında ve organizmada stres durumlarında olduğu gibi endojen olarak serbest radikaller oluşabilmektedir. X-ray, UV-gamma-mikrodalga ışınları, alkol, sigara, egzoz dumanı, karbonmonoksit, formaldehit, kloroform, ozon, asbest, benzen ve ilaçlar gibi etkenler de ekzojen serbest radikal kaynaklarındandır.

Moleküler oksijenle (O<sub>2</sub>) başlayan elektron transport zincirinde en son ürün su (H<sub>2</sub>O) olmalıdır. Ancak mitokondrial solunum zincirinde olduğu üzere elektronlar elektron transfer zincirinden (ETZ) ayrılarak moleküler oksijenle reaksiyona girerek süperoksit radikalini oluşturabilmektedir. Normal elektron sirkülasyonun %1-2'si mitokondride Şekil 1.14'teki gibi olmaktadır. Mitokondride üretilen süperoksit radikalleri sitoplazmaya geçmeye çalışır. Mitokondride bulunan süperoksit dismutazlardan MnSOD (SOD2) tarafından mitokondrial denge sağlanarak sitoplazmaya sadece hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) geçişine izin verilmektedir.

|                                       |                                       |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Mitokondride ETZ olması gereken       | ROT durumunda gerçekleşen (%1-2)      |
| $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$ | $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$ |

**Şekil 1.14.** Mitokondride Elektron Transfer Zinciri.

Serbest radikaller endoplazmik retikulumda (ER) endojen maddelerin ve ksenobiyotiklerin metabolizmaları sırasında oluşmaktadır. ER membranındaki elektronların en çok kaçak yaptığı yapı NADPH sitokrom P450 redüktazdır. Oksidazlardan sitokrom oksidaz, monoamin oksidaz, aminoasit oksidaz ve ksantin oksidaz serbest radikal kaynaklarındandır. Pürin katabolizmasını katalizleyen enzim olan ksantin oksidaz (XO) fazla miktarda süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) üretmektedir. Ksantin Oksidaz normal şartlarda ve hiperokside Oksijeni substrat olarak kullanırken, hipokside nitratı substrat olarak kullanmaktadır. Yani hipokside ksantin oksidaz, oksijen tüketimini nitrit tüketimine kaydırmaktadır. Nötrofillerin sitoplazma ve membranlarında NADPH oksidaz ve myeloperoksidaz enzimleri bulunmaktadır.

Bakteri, virus gibi yapıları, bu enzimlerle ürettikleri serbest radikalleri ve HOCl'i kullanarak yok ederler. Prostaglandinlerin sentezindeki ana metabolik yolların farklı basamaklarında reaktif oksijen türleri üretilmektedir. Antibiyotikler, flavinler, katekolaminler, hidrokinonlar ve tiyoller gibi moleküllerin oto-oksidasyonu da ROT oluşturmaktadır.

Serbest radikallerin oksijen kaynaklı olanlarına Reaktif Oksijen Türleri (ROT), nitrojen kaynaklı olanlarına Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) adı verilmektedir. Süperoksit, hidroksil, peroksil radikalleri oksijen kaynaklı Reaktif Oksijen Türlerinden; Nitrik oksit ve Nitrojen dioksit ise nitrojen kaynaklı Reaktif Nitrojen Türleri'ndendir (Çizelge 1.8).

**Çizelge 1.8.** Başlıca Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.

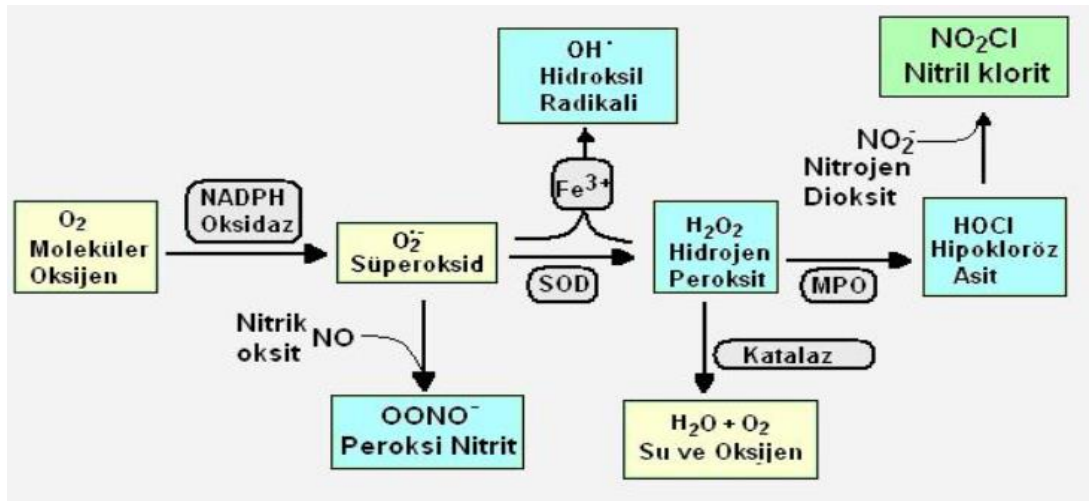
|                       | <b>Reaktif Oksijenler (ROT)</b> |                | <b>Reaktif Nitrojenler (RNT)</b> |                |
|-----------------------|---------------------------------|----------------|----------------------------------|----------------|
| <b>Radikaller</b>     | Süperoksit                      | $O_2^{\cdot-}$ | Nitrik oksit                     | $NO^{\cdot}$   |
|                       | Hidroksil                       | $OH^{\cdot}$   | Nitrojen dioksit                 | $NO_2^{\cdot}$ |
|                       | Peroksil                        | $ROO^{\cdot}$  |                                  |                |
|                       | Hidroperoksil                   | $HO_2^{\cdot}$ |                                  |                |
|                       | Lipidperoksil                   | $LOO^{\cdot}$  |                                  |                |
|                       | Alkoksil                        | $RO^{\cdot}$   |                                  |                |
| <b>Non-Radikaller</b> | Singlet Oksijen                 | $^1O_2$        | Nitrik asit                      | $HNO_2$        |
|                       | Hidrojen peroksit               | $H_2O_2$       | Nitroksil anyonu/katyonu         | $NO^- / NO^+$  |
|                       | Hipokloroz asit                 | $HOCl$         | Dinitrojen trioksit              | $N_2O_3$       |
|                       | Hipobromoz asit                 | $HOBr$         | Dinitrojen tetroksit             | $N_2O_4$       |
|                       | Ozon                            | $O_3$          | Peroksinitrit                    | $ONOO^-$       |

#### 1.2.1.1. Reaktif Oksijenler

Canlılar için vazgeçilmez olan moleküler oksijen ( $O_2$ ), yapısal olarak radikal olmaya çok elverişlidir. Serbest oksijen radikalleri literatürde daha çok reaktif oksijen türleri (ROT) olarak yer almaktadır. ROT'lar redoks, tümör oluşumu, otoimmünite, yaşlanmayla doku yenilenmesinin kaybı gibi durumlarda çeşitli sinyal yollarının düzenlenmesinde ve oksidatif stres oluşumunda hayati öneme sahiptirler. Mitokondrial elektron taşıma, mikrozomal sistem, plazma zarları, fagositoz, peroksizomlar,

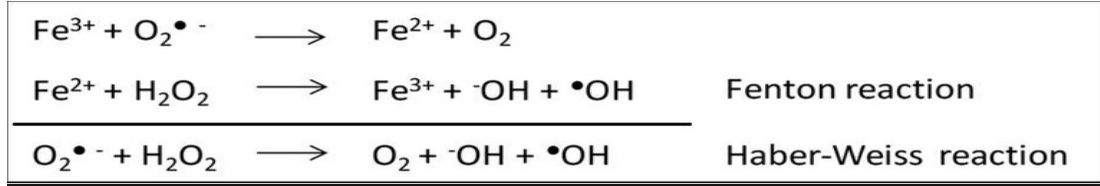
sitozolik enzimler başlıca Endojen ROT kaynaklarını oluştururken; antibiyotikler, anestetikler, antineoplastikler, hipoksi, inflamasyon, iskemi, sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon v.b. etkenler Ekzojen ROT kaynaklarını oluşturmaktadır. Reaktif oksijen türleri süperoksit, hidroksil, peroksil, hidroperoksil, lipidperoksil, alkoksil radikalleri ve singlet oksijen, hidrojen peroksit, hipokloroz asit, hidrobromoz asit ve ozon gibi radikal olmayan yapıları içermektedir.

Süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ) hem indirgeyici hem de oksitleyici özelliğe sahiptir. Hücrede moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşur. Yüksek oranda reaktiftir.  $Fe^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  gibi indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit radikalleri oluşturabilmektedir. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri (mt ETC), sitozolik ksantin ve ksantin oksidaz, nitrik oksit sentezi, zara bağlı NADPH kompleksi, eritrositlerdeki hemoglobin ve homosistein en bilinen süperoksit radikal kaynaklarındandır. Bu kaynaklarda oksijenin bir elektron indirgenmesi sırasında süperoksitler oluşur. Süperoksitler radikaller-non radikal ROT'lara dönüşebilirler. Hidroksil ve Hidroksiperoksil radikalleri oluşturmak için hidrojen peroksit ile enzimatik olmayan reaksiyonlara girmektedir (Haber-Weiss). Normal şartlarda oluşan süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz (SOD) adı verilen antioksidanlarca hızla elimine edilmekte ve  $H_2O_2$ 'ye (hidrojen peroksit) dönüştürülmektedir (Şekil 1.15).



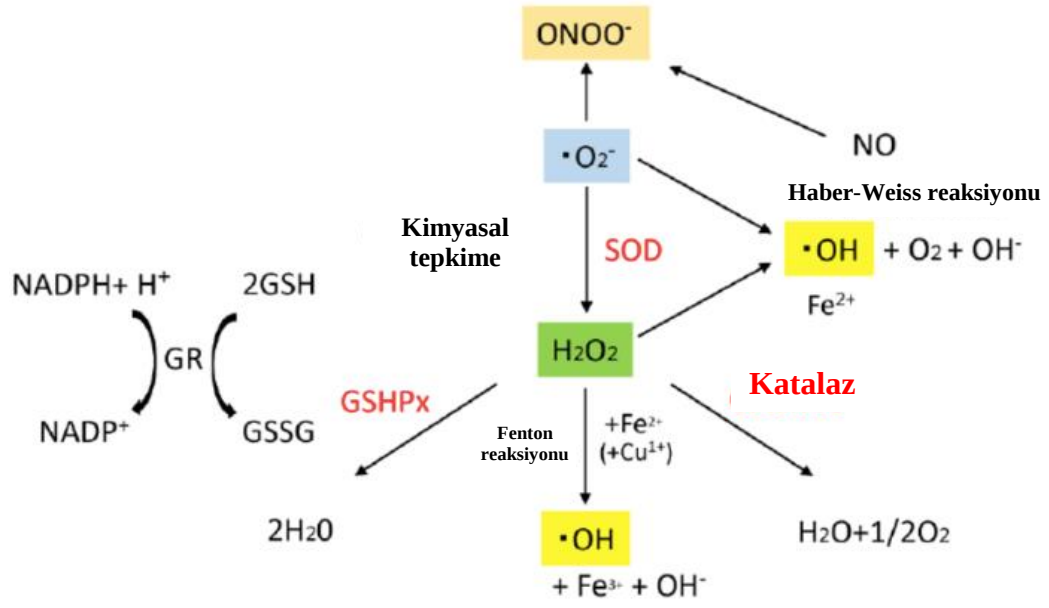
Şekil 1.15. Reaktif Oksijen Türleri ve Sentez Aşamaları (Babacan, 2011).

Hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) biyolojik moleküllere en çok atak yapma ve geçiş metalleriyle ( $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Zn}$ ,  $\text{Mn}$ ,  $\text{Ni}$ ,  $\text{Cr}$ ) reaksiyonlara girme eğilimi yüksek olması nedeniyle en reaktif ROT'lardandır. Fenton reaksiyonlarından ve Haber-Weiss reaksiyonlarından  $\text{OH}^\bullet$  radikalleri oluşmaktadır (Şekil 1.16). Hidroksil radikali hızlıca Lipit peroksidasyonun başlamasına neden olmaktadır (Şekil 1.19).



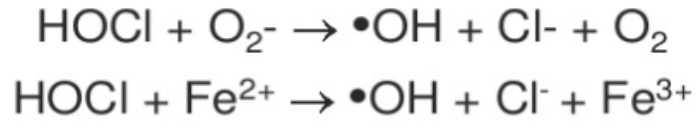
Şekil 1.16. Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonları.

Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), serbest radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türlerinden kabul edilmekte ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynamaktadır. Moleküler oksijenin ( $\text{O}_2$ ) etrafındaki moleküllerden 2 elektron alması ya da süperoksitin ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) çevresinden bir elektron almasıyla oluşan peroksitin 2 protonla birleşmesiyle oluşmaktadır. Hidrojen peroksit oluşumu canlı sistemlerde daha çok süperoksit'in ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) dismutasyonu sonucu oluşmaktadır. İki proton alan iki süperoksit molekülü, dismutasyon sonucu hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturmaktadır. Reaksiyon kendiliğinden ya da Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlendiğinden ve sonuçta radikal ürünler oluşmadığından "Dismutasyon reaksiyonu" olarak adlandırılmaktadır. Fenton reaksiyonu ile  $\text{Fe}^{+2}/\text{Cu}^{+2}$  gibi geçiş metalleriyle reaksiyonu sonucu oldukça reaktif olan  $\text{OH}^\bullet$  radikalini oluşturmakta ya da Katalaz (CAT) enzimiyle suya ( $\text{H}_2\text{O}$ ) dönüştürülmektedir (Şekil 1.17).  $\text{H}_2\text{O}_2$  miyeloperoksidazlarca (MPO) güçlü bir oksitleyici ajan olan Hipokloröz asit'e ( $\text{HOCl}$ ) dönüşmektedir (Şekil 1.15).



Şekil 1.17. CAT, SOD, Gpx ve ROT Etkileşimleri (Kayama ve ark., 2015).

Hipokloroz asit (HOCl), fagositoz sırasında solunum patlamasında nötrofillerde meydana gelir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit) varlığında Cl<sup>-</sup> iyonları ve myeloperoksidaz (MPO) enziminin üretilir (Şekil 1.15). Hipokloroz asit Fe<sup>2+</sup> varlığında veya süperoksit radikalleri varlığında daha toksik olan OH<sup>•</sup> radikali oluşturmaktadır (Şekil 1.18).

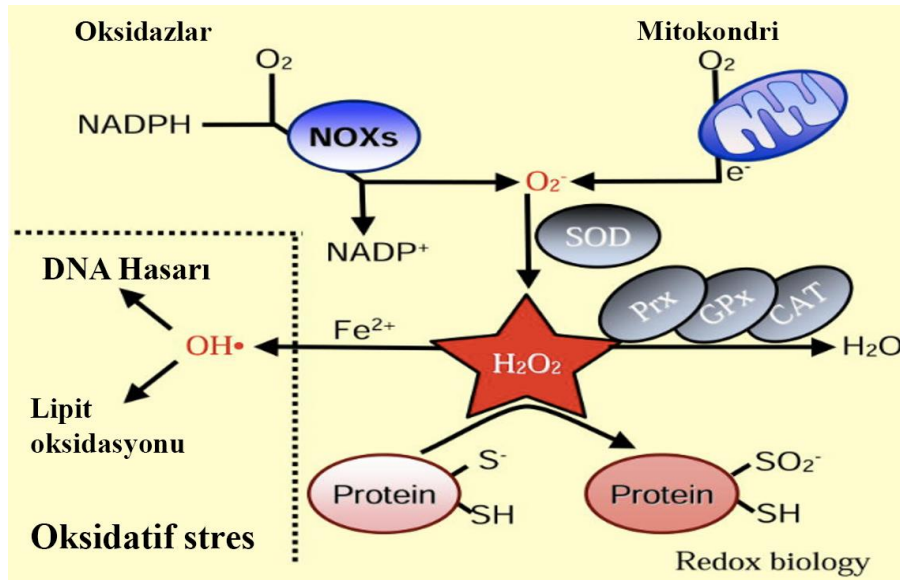


Şekil 1.18. Hipokloroz Asitten Hidroksil Radikali oluşumu.

Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), eşlenmemiş elektronu yoktur; organik konjuge çift bağlarla reaksiyonu sonucu endoperoksitler, hidroperoksitler ve dioksietanlar oluştururlar. Son derece reaktif türlerdir. UV absorpsiyonlarında oluşmaktadır.

Nitrik oksit (NO), nitrik asit sentetaz ile oluşurlar ve süperoksit veya diğer oksijenli radikallerle birleşerek peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>/ RNOS) oluştururlar (Şekil 1.15).

Hücredeki süperoksitler ( $O_2^-$ ) NADPH'ın NOX'larca (NADPH-oksidaz) oksidasyonu sonucu ve mitokondrideki aerobik solunumdaki elektron sızıntısından meydana gelmektedir (Schieber ve Chandel, 2014) (Şekil 1.19). Süperoksitler hızlıca süperoksit dismutazlar tarafından (SOD) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüştürülürler. Hidrojen peroksitler bir taraftan redoks sinyali başlatmak için proteinlerdeki sistein kalıntılarını oksitlerken, diğer taraftan da katalaz, peroksiredoksinler (PRx) ve glutatyon peroksidaz (Gpx) gibi hücresel antioksidanlarca suya ( $H_2O$ ) dönüştürülmektedirler. Hücrede artmış  $H_2O_2$  düzeyleri ve artmış serbest demir varlığında (hemokromatoz, hemolitik anemi, hemodiyaliz v.b. durumlarda)  $Fe^{+2}$  gibi metallerle reaksiyonu sonucu hidroksil radikalleri ( $OH^\bullet$ ) oluşmakta, bunlar da hücredeki makromoleküllerde hasarlara neden olmaktadır (Şekil 1.19).



Şekil 1.19. Reaktif Oksijen Oluşumu (Schieber ve Chandel, 2014).

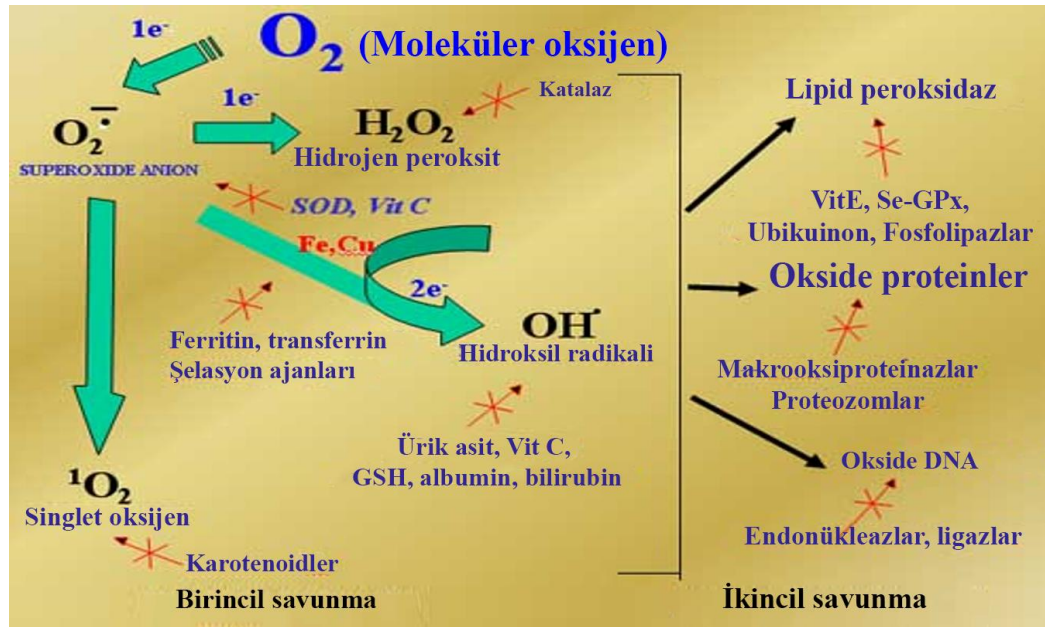
### 1.2.2. Antioksidan Sistemler

Organizmada, farklı nedenlerden dolayı oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu engellemek ve oksidatif dengeyi sağlamak için enzimatik ve enzimatik olmayan (non-enzimatik) “Antioksidan Sistemler” gelişmiştir (Çizelge 1.9). Antioksidan sistemler hücrelerdeki okside olma eğilimi olan protein, karbonhidrat, lipit ve DNA gibi yapıların oksidasyonunu erteler ya da engeller.

**Çizelge 1.9.** Antioksidan Sistem Elemanları.

| Antioksidan Enzimler          | Non-enzimatik Antioksidanlar<br>(Küçük moleküller) |                                                                                          |
|-------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Süperoksit Dismutaz (SOD)     | Vitamin C (askorbik asit)                          | Ürik asit                                                                                |
| Katalaz (CAT)                 | Vitamin E (tokoferol)                              | Melatonin                                                                                |
| Sitokrom oksidaz              | $\beta$ -karoten                                   | Albumin                                                                                  |
| Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) | Redükte glutasyon                                  | Glikoz                                                                                   |
| Glutasyon redüktaz (GSH-Rx)   | Flavanoidler                                       | Sistein                                                                                  |
| Glutasyon transferaz (GSH-Tx) | Tioller                                            | Bilürubin, ubikinon, flavanoidler, ferritin, transferin, haptoglobin, seruloplazmin v.b. |

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSH-Rx), glutasyon transferaz (GSH-Tx) v.b. olanlar enzimatik antioksidan grubundandır. Vitamin C (askorbik asit), vitamin E (tokoferol),  $\beta$ -karoten, redükte glutasyon, flavanoidler, tioller, ürik asit, melatonin, albumin, glikoz, sistein, bilürubin, ubikinon, flavanoidler, ferritin, transferin, haptoglobin v.b. olanlar ise enzimatik olmayan küçük molekül antioksidanlardır (Şekil 1.20).



**Şekil 1.20.** ROT'lar ve Antioksidanlar ([http://www.probiox.com/uk/html/body\\_stressoxydant.htm](http://www.probiox.com/uk/html/body_stressoxydant.htm)).

Antioksidanlar baskılayıcı, yok edici, tamir edici ve zincir kırıcı olmak üzere farklı etkiler oluşturmaktadır. Vitaminler, flavanoidler, mannitol baskılayıcı etkili;

mitokondri, sitoplazma ve ekstrasellüler yapıdaki enzimlerde glutatyon peroksidaz, katalaz yok edici etkili; fenoller, aromatik aminler zincir kırıcı etkili antioksidanlardır (Akyol, 2003).

Süperoksit dismutaz (SOD), hücrede oluşan serbest radikallerden süperoksitleri daha az toksik olan hidrojen peroksitlere dönüştüren ve peroksinitrit oluşumunu engelleyen, hücrede ilk aktifleşen antioksidan enzimlerdendir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Katalaz (CAT), hücrede SOD'lar tarafından süperoksitlerden dönüştürülen  $H_2O_2$ 'leri oksijen ve suya dönüştüren ve lipid peroksidasyona karşı hücre savunmasında yer alan antioksidan enzimlerdendir, Peroksizomal aktivitesi yüksek olan böbrek ve karaciğerde yüksek oranda bulunur (Gutteridge, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksitleri suya, lipid-hidroperoksitleri ise toksik olmayan alkollere indirgeyerek lipid peroksidasyona karşı hücre savunmasında yer alır (Kehrer, 1993). Hücre içinde sitoplazmada ve mitokondride bulunur ve peroksizomlar dışında üretilen  $H_2O_2$ 'lerin yok edilmesinde görevlidir. İki glutatyon molekülü, tek bir molekül olan glutatyon disülfid (GSSG) oluşturmak üzere oksitlenir. Sülfidril reaksiyonları ayrıca enzimatik olmayan zincir sonlandırma reaksiyonlarında organik radikallerle oksitlenir.

Glutatyon Reduktaz (GSH-Rx), okside glutatyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş forma (GSH) dönüştürür ve NADPH'tan GSSG'nin disülfid bağına elektron transferini katalizler.

E vitamini (alfa tokoferol), prooksidan aktivitesi de olan en etkili antioksidanlardandır. Özellikle lipid peroksidasyonuna karşı koruma görevindedir. Lipitte çözünür. GSH-PX'le birlikte serbest radikallere karşı güçlü savunma yaparlar.

C vitamini (askorbik asit), suda çözünür, kanda ve hücre dışı sıvıda bağlanmadan sirküle olur. Oksidasyon-redüksiyon olaylarında koenzim olarak görev

yapar. Serbest radikallere karşı savunmasında önemlidir. Oksidatif hasarın etkilerini azaltmada işe yarar. Azalmış E vitamininin yerine konmasında görev alarak dolaylı olarak lipid peroksidasyonu karşı savunmada görev alır (Kohen ve Nyska, 2002). Süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil ve peroksil radikalleriyle reaksiyona girer.

Beta karoten, singlet oksijen ve peroksil radikallerine karşı savunma yapar. Bitki ve hayvanlarca sentezlenir. Zincir kırıcı özellikteki antioksidanlardır.

Flavonoidler, kırmızı şarap, çikolata, yeşil çay v.b. bitkisel ürünlerde bulunur. Süperoksit ve lipid peroksitlere karşı savunmada görevlidir. Süperoksit anyon üreten enzimleri inhibe eder. Azalmış E vitaminini düzenler. Fenton reaksiyonunda  $Fe^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  için şelatlayıcı görevdedir (Quersetin  $Fe^{+2}$  şelasyonunda etkin).

Ürik asit, hidroksil radikallerinin, hemoglobin ve peroksi radikallerinin reaksiyonu sırasında oluşan oksihem oksidanların ve peroksit radikallerinin temizlenmesinde görevlidir.

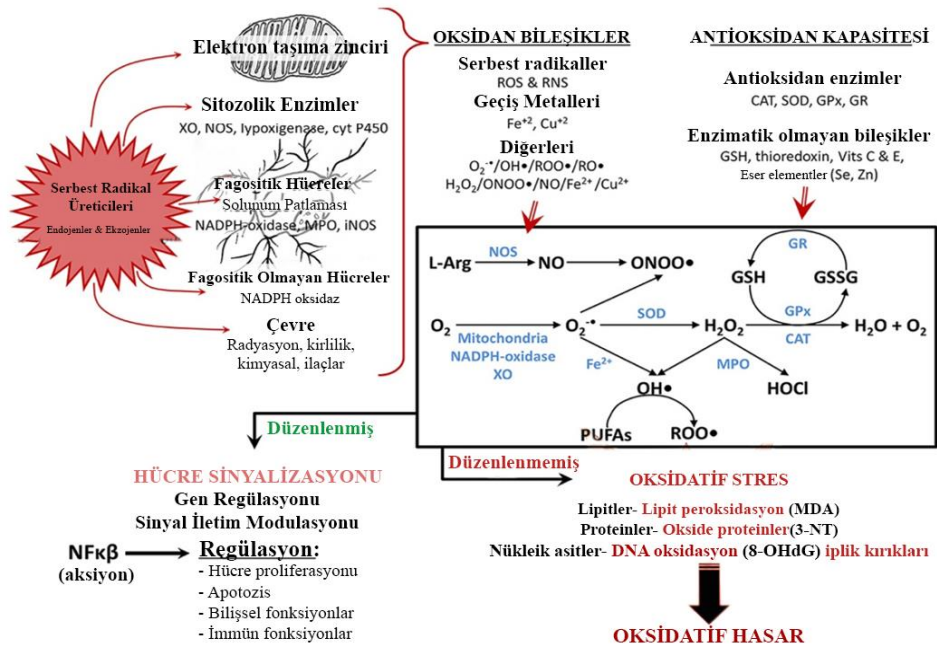
Melatonin, serbest radikallere elektron verip nötralize eder. ROT ve RNT'lerle reaksiyona girer. Güçlü bir antioksidandır. Kan-beyin bariyerini geçebilir.

Glutasyon (GSH), serbest radikallere ve oksidatif hasara karşı güçlü bir antioksidandır. Tripeptid (sistein, glutamik asit, glisin) yapıdadır ve hücre metabolizmasında görev alır (Kohen ve Nyska, 2002). Serbest radikallere direkt ya da dolaylı savunma etkisi gösterir. Pekçok koruyucu enzim için kofaktör olarak görev yapar. OH radikalleri ile singlet oksijenin temizlenmesinde, E ve C vitaminlerinin düzenlenmesinde, protein ve DNA sentezinde de etkilidir (Valko ve ark., 2007).

Ferritin ( $Fe^{+3}$  çekirdeğini çevreveler), transferrin ( $Fe^{+3}$ 'ü bağlar), seruloplazmin ( $Fe^{+2} \rightarrow Fe^{+3}$ ) ve albümin de ( $Cu^{+2}$  ve  $Fe^{+2}$  bağlar) metal bağlayıcı olarak görev alarak, bakır ve demirin Fenton reaksiyonlarına bağlanmasını engellerler. Böylece OH radikali oluşumu azalmış olur.

### 1.2.3. Oksidatif Stres Oluşumu

Serbest radikallerin artması, oksidatif stresi tetiklemektedir. Ancak az miktarda oluşan oksijen radikalleri nötrofiller tarafından bakterilere karşı savunma sisteminde kullanılmasında olduğu gibi organizmaya faydalı da olabilmektedir. Hücreler hafif oksidatif stresi tolere edebilseler de genel olarak antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Fakat, hücre içi savunma sistemlerinin yetersiz olduğu durumlarda, reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur ve “Oksidatif Stres” oluşmaktadır. Bu nedenle oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbohidratlar ve lipidler gibi makromoleküller zarar görür ve hücresel hasar meydana gelir (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002; Song, 2004). Hücresel hasarlar arasında lipid metabolizmasında değişiklikler, lipid peroksidasyonu sonucu zar yapılarının ve fonksiyonlarının bozulması, proteinlerin yapısındaki bozulmalarla zar proteinlerinin, taşıyıcı proteinlerin hasarı, enzim aktivitelerinde bozukluklar, DNA hasarı ve bunların sonucunda ateroskleroz, yaşlanma, katarakt, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, karaciğer hastalıkları ve kansere kadar pek çok patolojik durumda etken rol oynadığı düşünülmektedir (Koca ve Karadeniz, 2003; Fukuhara ve Kageyama, 2005; Harrison ve ark., 2003) (Şekil 1.21).



Şekil 1.21. Serbest Radikaller ve Oksidatif stres (von Bernhardt ve ark., 2015).

Lipit peroksidasyonu'na neden olur. Serbest radikallerin oto-oksidasyonları, lipid peroksidasyonunu aktive edici radikal oluşumları ya da direkt lipit peroksidasyonları membranlarda hasara neden olmaktadır. Hidroksil veya başka bir radikal tarafından çoklu doymamış lipitten (LH) bir H atomu çıkarılmasıyla lipit radikali (L) oluşmaktadır. Lipit radikalının O<sub>2</sub> ile zincirleme reaksiyonu sonrası lipit peroksi radikali (LOO) ve lipid peroksit (LOOH) oluşmaktadır. Yeniden düzenlenen tek elektron lipidin yapısını bozar ve malondialdehit (MDA) gibi kanda ve idrarda çözünen aldehit yapıları oluşur. Zincir reaksiyonu E vitamini ya da lipit çözücü antioksidanlarca verilen bir elektron neticesinde sonlandırılır. Lipitlerin yapılarını geri dönüşümsüz olarak değiştirmekte ve bozmaktadır. Peroksidasyon sonrası oluşan aldehitler proteinlerle çapraz bağlar oluşturabilir. Zar yapısındaki çift tabakalı lipit yapısının kararlılığını bozar ve mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulmasıyla serbest radikal üretimi artar.

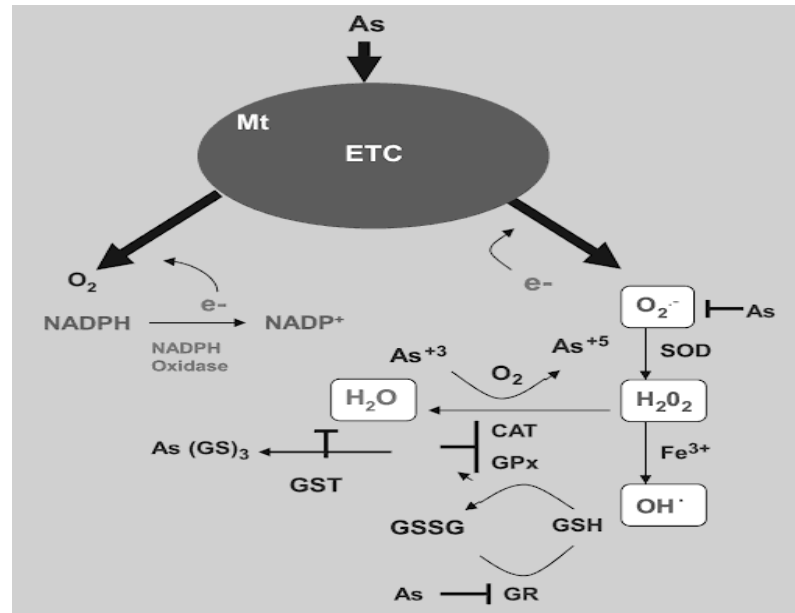
Protein ve peptidlerde oksidasyona neden olur. Sistein, prolin, arjinin, metionin ve histidin amino asitleri özellikle OH• radikallerine karşı oldukça duyarlı olduklarından oksidatif hasardan en çok etkilenenlerdir. Proteinlerin parçalanmasına ve ortaya çıkan kalıntıların çapraz bağlar oluşturmalarına neden olur. Sisteinin hasarı sonrası kalıntılarının çapraz bağlanmalarına ve bozunmayan yapılar oluşturmalarına neden olur. Ayrıca oksidatif hasar diğer protein yapılarının uyarılmasını sağlar ve proteolitik yıkıma duyarlılıklarını artırır. Serbest radikal atakları ve glutatyonunun sistein sülfidril kalıntılarının oksidasyonu hücrede oksidatif hasarı artırmaktadır.

DNA'nın oksidasyonu'na neden olur. Oksijenden türetilmiş serbest radikaller DNA hasarının ana kaynağıdır. Hidroksil radikallerinin fenton reaksiyonuyla oluşması Fe<sup>+2</sup>'nin DNA'ya bağlanmasını kolaylaştırmaktadır. Sonuçta DNA'da iplik kopmalarına (kırılmaları) ve baz değişimlerine neden olarak DNA'da hasara yol açar.

#### **1.2.4. Arsenik Kaynaklı Oksidatif Stres**

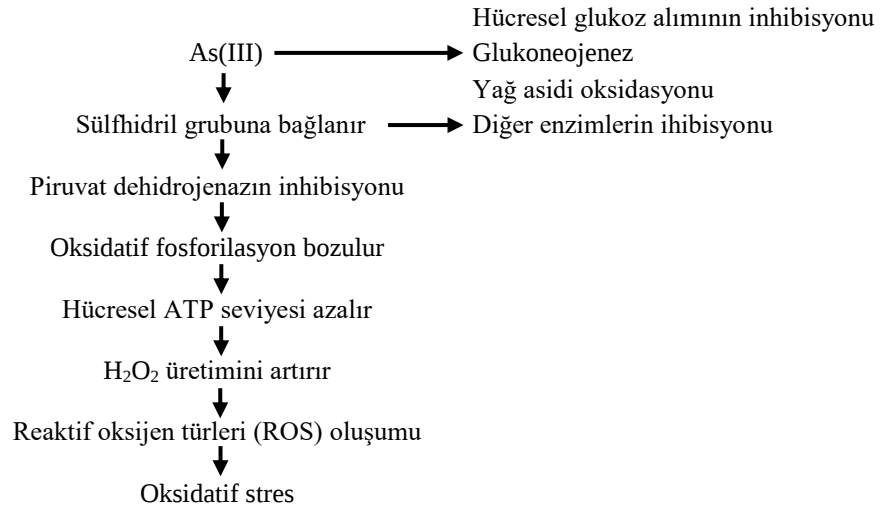
Arsenik toksisitesinin önemli etkilerinden biri de hedef organlarda, üreme organlarında ve gelişim sistemlerinde aşırı serbest radikaller oluşturarak ve/veya

antioksidan enzimlerin inhibisyonu ile oksidatif strese neden olmasıdır (Sharma ve ark., 2014; Flora ve ark., 2009). Arsenik maruziyetiyle Reaktif oksijen ve nitrojen türleri in vivo ve in vitro oluşmaktadır (Jomova ve ark., 2011). Arsenik tarafından oluşturulan reaktif türler süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil radikali ( $\bullet OH$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), reaktif azot türleri (RNT), dimetil arsenik radikali- ( $(CH_3)_2As\bullet$ ) gibi Aasenik merkezli radikalleri ( $X_2As$ ,  $X_4As$ ) ve arsenik peroksil radikallerdir (Kitchin, 2001; Shi ve ark., 2004; Flora ve ark., 2007). Bu radikallerin üretimi oksidatif DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna ve antioksidan savunmaların kaybına neden olmaktadır. Reaktif türler arsenitin arsenata oksidasyonu sırasında, arsenik metabolizmasında arsin oluşturulmasında, NADH veya NADPH oksidazın uyarılmasında, fenton reaksiyonu ile oluşan aktif oksijen ile arsenik tarafından ferritin demir salınımında, glutatyon redüktaz ve tioredoksin redüktaz gibi redoks enzimlerinin inhibisyonunda oluşarak arseniğin toksisitesine dolaylı katkı sağlarlar (Hughes ve ark., 2011). Organizmayı serbest radikallere karşı koruyan glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-s-transferaz (GSTs), tioredoksin redüktaz (TRx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerden oluşan antioksidan savunma mekanizmalarının/enzimlerinin, As maruziyetinde aktivitelerinin değişmesi, olası toksik etkileri artırmaktadır (Wirth ve Mijal, 2010; Agrawal ve ark., 2014; Jain ve ark., 2015) (Şekil 1.22).



Şekil 1.22. As Maruziyetinde Serbest Radikaller, Antioksidan Savunma Sistemi (Gupta, 2017).

Oksidatif stres oluşumunda pentavalan As'ler ADP'deki fosfatın yerini alarak, kararsız bağlar oluşturarak ATP oluşumunu inhibe etmektedirler. Trivalan As'ler ise proteinlerdeki sülfür gruplarıyla etkileşimleri sonucu piruvat dehidrogenazı, glutatyon redüktaz-peroksidazı, tioredoksin redüktaz-peroksidaz gibi enzimleri inhibe eder, glukozun hücrelere alınımı, glukoneojenezi, yağ asidi oksidasyonunu ve asetil CoA üretimini engeller, sitrik asit döngüsü aktivitesi azalır, oksidatif fosforilasyon bozulur ve hücrelerde ATP düzeyleri düşer, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi artar ve oksidatif stres meydana gelir (Şekil 1.23). Trivalan As'ler antioksidan enzim inhibisyonuyla glutatyon üretimini de engellerler.



**Şekil 1.23.** Trivalan ve Pentavalan As'lerde Oksidatif Stres Oluşumu.

As maruziyetlerinde mitokondride morfolojik ve mitokondri zarında değişiklikler olmakta ve süperoksit radikal odakları haline gelmektedirler (Valko ve ark., 2005). Süperoksitlerden oluşan serbest radikaller glutatyon tüketici ajanlarla etkileşimleri hücresel antioksidan savunmada düşüşe yol açar ve kaskad mekanizmaları sonucu arsenik toksisitesine karşı hücrelerin duyarlılığını artırır (Cohen ve ark., 2006; Jomova ve ark., 2011).

As'ye maruz kalanlarda serbest radikallerin artışı oksidatif strese dolayısıyla lipitlerde, proteinlerde ve DNA'da oksidasyona yol açarak hasara neden olmaktadır

(Flora, 2011). As kaynaklı oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunda, plazma lipid peroksidasyonu ile idrar ve doku örneklerindeki As düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir (Vizcaya-Ruiz ve ark., 2009; Flora ve ark., 2009; Wirtitsch ve ark., 2009). As'ye maruz kalanlarda artan ROT'lar doymamış C atomuna en yakın metilen grubundaki H atomuna saldırılmaktadır ve serbest radikaller çoklu doymamış yağ asitlerini peroksidize etme eğilimindedirler (Flora, 2011). Malondialdehit (MDA), akrolein ve izoprostanlar gibi peroksidize lipidler meydana gelmektedir (Cooper ve ark., 2009; Qian ve ark., 2005; Wirtitsch ve ark., 2009).

Metal iyon bağılı reaksiyonlar ve lipid ve/veya şekerlerin otooksidasyonu sırasındaki elektron sızmalarıyla serbest radikaller proteinlerde oksidasyona ve hasara neden olmaktadır. Proteinlerdeki oksidatif hasar en çok •OH (Hidroksil) ve O• (süperoksit) radikalleri gibi ROT'larca olmaktadır (Samuel ve ark., 2005). As maruziyeti ile protein oksidasyonları arasında korelasyon tespit edilmiştir (Flora, 2011). Arsenik kaynaklı protein hasarlarını tespit için iki boyutlu jel elektroforezi ve MALDI-TOF-MS gibi yöntem ve cihazlardan yararlanılmaktadır (Ahsan ve ark., 2010).

Arseniğe maruz kalanlarda ROT artışı ile DNA hasarı, mutajenez ve karsinogenez ilişkilendirilmektedir (Valko ve ark., 2005). Serbest radikallerin artışı ve/veya DNA onarım enzimlerinin inhisyonu DNA oksidasyonuna, DNA hasarına neden olmaktadır. Serbest radikaller DNA'daki pürin ve pirimidinlerdeki doymamış bağları hedef alır. DNA'daki guanin serbest radikallerden en çok etkilenendir ve oksidasyonundan sonra 8-hidroksiguanin, 8-hidroksiguanozin ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) gibi formlar oluşturur (Vizcaya-Ruiz ve ark., 2009; Bartsch ve Nair, 2004). DNA hasar işaretleyicisi ve DNA'dan 8-hidrodeoksiguanini uzaklaştırmada görevli olan 8-hidrodeoksiguanin-DNA glikozilazın ekspresyonu, 8-hidroksideoksiguaninin onarım kapasitesi, içme sularındaki As konsantrasyonları ve maruzların tınak As konsantrasyonlarıyla korole bulunmuştur (Smart ve ark., 2006; Mo ve ark., 2006). Ayrıca arsenik ya ligasyon ve insizyon basamaklarını inhibe etmekte ya da DNA tamir enzimlerinin regülasyonunu düşürerek DNA hasarını etkilemektedir (Vizcaya-Ruiz ve ark., 2009). DNA hasarları jel elektroforezleri ve Comet analizleriyle tespit

edilebilmektedir (Hwang ve Kim, 2007; Smart ve ark., 2006; Mo ve ark., 2006; Collins ve ark., 2008).

ROT üretimi ve oksidatif stres As kaynaklı karsinogenitenin en önemli öncüleridir (Kessel ve ark., 2002; Kitchin ve Ahmad., 2003; Shi ve ark., 2004; Lantz ve Hays., 2006). Ayrıca karsinogenitenin karakteristik belirtileri olan tek iplik-çift iplik kırıkları da, düşük konsantrasyondaki As maruziyetlerinde indüklendiği tespit edilmiştir (Ying ve ark., 2009; Kligerman ve ark., 2010). Kronik As maruziyetlerinde oluşan oksidatif stres As'nin sitotoksikite-genotoksikitesiyle bağlantılıdır. Oksidatif stresin As'ye maruz kalanlarda hiperkeratozunun gen transkripsiyon profillerini de modifiye ettiği bildirilmiş (Martinez ve ark., 2011c) ve yine oksidatif hasarın As'ye maruz kalanlardaki deri tümörleriyle ilişkileri tespit edilmiştir (An ve ark., 2004). ROT'lar gibi toksik ürünler As'ye maruz kalanlarda biyotransformasyon sırasında türetilmekte veya indüklenmekte olup, oksidatif stres yoluyla genomik aberasyonlara da neden olmaktadır (Martinez ve ark., 2011c).

As'ye maruz kalanlarda oksidatif hasarın boyutu, hangi safhada olduğu Antioksidan seviyelerinde değişimlere neden olmaktadır (Flora, 2011). Antioksidan enzimleri biyolojik moleküllerin korunmasında en etkin savunmalardan biridir. Antioksidan enzimlerden SOD (Süperoksit Dismutaz), CAT (Katalaz) ve Gpx (Glutasyon peroksidaz) enzimlerinin aktivitesi arsenik maruziyetinin dozu ve süresiyle ters orantılı olarak değişmektedir (Flora, 2011). GST'deki (Glutasyon-S-transferaz) değişim As'ye maruz kalanlarda pulmoner belirteçlere ek belirteç olarak kullanılabilir (Lantz ve ark., 2007). Antioksidanların ve radikal süpürücülerin diyetle eklenmesi arsenik kaynaklı ROT oluşumunun ve toksisitenin azaldığı tespit edilmiştir (Shi ve ark., 2004).

### **1.3. DNA Hasarı**

DNA hücrelerdeki genetik bilgi deposudur ve genomik bilginin korunması esastır. DNA'nın yapısı da durağan değildir. DNA'nın yapısı hücrede endojen ve ekzojen kaynaklı bir takım etkenlere maruz kalmakta ve değiştirilmektedir. DNA'daki

bu değişiklikler enzimler tarafından tespit edilebilir, tamir edilebilir ve normale döndürülebilir düzeyde ise “DNA Hasarı” olarak adlandırılmaktadır. Ancak DNA hasarları DNA'nın temel dizisinde geri döndürülemez tamir edilemez durumlara yol açmışsa bunlar DNA'da mutasyonlara neden olur.

UV radyasyon, ağır metaller, hava kirliliği, sigara, alkilleyici ajanlar, kemoterapötik ilaçlar v.b etkenler DNA'nın yapısında değişikliklere neden olan “Ekzojen faktörler” dir (Hoeijmakers, 2009; Ciccia ve Elledge, 2010; Jeppesen ve ark., 2011). “Endojen faktörler” ise hücresele metabolitler, ROT'lar, NOT'lar, lipid peroksidasyon ürünleri, endojen alkilleyici ajanlar v.b. hücresele olaylardan, oksidatif stres ve hasardan kaynaklanabildiği gibi DNA'da kendiliğinden de oluşabilmektedir (De Bont ve van Larebeke, 2004; Hoeijmakers, 2009; Iyama ve Wilson, 2013).

DNA'daki hasarlar tek baz değişimleri, çift baz değişimleri, zincir kırılmaları ve çapraz bağlanmalar şeklinde her gün defalarca olabilmektedir (Sancar ve ark., 2004; Hoeijmakers, 2009; Sherman ve ark., 2011). Oluşan DNA hasarları “DNA Onarım Mekanizmaları” tarafından onarılabilmekte, kontrol noktalarının aktivasyonu ile hücre döngüsü durdurabilmekte, gen transkripsiyon düzeyleri-transkripsiyonel cevap değiştirilebilmekte ya da apoptozla programlı hücre ölümleri yapılmaktadır (Norbury ve Hickson, 2001; Sancar ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007). Eğer bu tür değişimler kontrol edilemezse hücresele ölümlere, dejeneratif değişikliklere, organizma düzeyinde ise, yaşlanma, hastalıklar ve çeşitli kanserlere neden olmaktadır.

Sancar ve ark. (2015) ahududu NER proteinlerinin; enginar, zerdeçal, devedikenii, soya, yeşil çay MGMT(metilguanin metiltransferaz) enziminin; ayçekirdeği, yaban mersini ve kahve PARP'ın (tek iplik kırıklarında); havuç, kahve ve kızılılık MMR'nin; zeytin yağı ve çikolata tüketiminin de PARP gibi bazı DNA onarım proteinlerini ve enzimlerini artırdığını belirtmişlerdir.

### 1.3.1. DNA Hasar Etkenleri

DNA'nın yapısında değişikliklere ve hasara neden olan etkenler endojen ve ekzojen (UV ışınları, X-Ray Işınları, kimyasal) kaynaklı olabilirler. Bu etkenler basit baz değişiklikleri olabildiği gibi delesyonlar, füzyonlar, translokasyonlar ya da anöplidi gibi kompleks değişikliklere de neden olabilmektedir (Sancar ve ark., 2004).

#### DNA Hasarının Ekzojenik Etkenleri

UV Radyasyonu: DNA zincirindeki en yakın pirimidin bazları olan Timin ve Sitozin'in bağlanmasına yol açan kovalent bağlar oluşturur. Pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluşturur. Bu dimerler DNA'da bir bükölme oluşturarak, DNA polimerazın ilerlemesini engeller, replikasyonu ve transkripsiyonu bloke ederler.

X-Işınları ve Gama Işınları: Hücrede serbest radikaller ve ROT'lar oluşturarak DNA'da Tek-Çift iplik kırılmalarına neden olur. DNA'da DNA-DNA ve DNA-protein çapraz bağları oluşturur (Debeleş-Bütöner ve Kantarcı, 2006).

Kimyasallar: Alkilleyici maddeler (hardal gazı v.b.) bazlarla reaksiyona girerek N ve O'lerine etil/metil grupları ekler ve alkillenmiş bazlar degrade olurlar ve DNA'da bazsız bölgeler meydana gelir. Bu da DNA replikasyonunda “Yanlış Eşleşmelere” yol açar. Guanin'deki O6 bu duruma çok duyarlı olup, etil metansulfonat tarafından guanine etil eklenir ve oluşan 6-etil guanin, timinle (sitozin yerine) eşleşmektedir. Gıda katkı maddeleri (nitrit ve nitratlar-nitronyum iyonuna ve nitroz asite metabolize olurlar), kemoterapotik ilaçlar (5-bromo-urasil v.b)da baz analogları gibi davranırlar. Arakat ajanları (akridin boyaları-proflavin, etidyum bromur v.b) DNA'da bazlar arasına girerek DNA polimerazın baz eklemesine neden olur (çerçeve kayması) (Debeleş-Bütöner ve Kantarcı, 2006). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar-Benzo (a)piren, egzoz ve sigara dumanındaki) gibi prokarsinojenlerin oksidasyonları da karsinojen metabolitler oluşturarak DNA'ya eklenebilir ve DNA addact'ları (eklentileri) oluşturarak hasar vermektedir. Ağır metaller de hücrede

oldukça fazla serbest radikaller ve ROT'lar oluşturmakta ve DNA'da iplik kopmalarına ve baz değişimleri gibi DNA hasarlarına neden olmaktadır. OH radikalleri guaninle tepkimeye girerek 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) oluşturarak mutasyona neden olmaktadır (Balajee ve Bohr, 2000).

### **DNA Hasarının Endojenik Etkenleri**

Hücrelerde endojen metabolik süreçler ve biyokimyasal reaksiyonlar neticesinde doğal olarak ya da uyarılma neticesinde DNA hasarları oluşmaktadır (De Bont ve van Larebeke, 2004). Bunlar DNA'daki hidroliz, oksidasyon, alkilasyon ve bazların yanlış eşleşmeleriden kaynaklanmaktadır.

Yanlış baz eşleşmeleri: DNA'daki bazlarda araya yeni bazlar eklenmesiyle “İnserisyonlar”, bazlardan birinin çıkarılmasıyla “Delesyonlar” şeklinde değişimler meydana gelmektedir.

Kimyasal değişiklikler: Endojen oluşan metabolitlerin biyokimyasal reaksiyonlarıyla ve bunlar neticesinde oluşan yüksek düzeydeki ROT'lar sonucu DNA'da “Deaminasyon” (amin gruplarının çıkarılması) ve “Metilasyon” gerçekleşir. DNA'da “AP bölgeleri” olarak adlandırılan apürinik ve apirimidinik alanların oluşması düzeltilmezse transkripsiyonu inhibe edebilmektedir. Deaminasyonda adenin, guanin ve sitozin halkalarından amin gruplarının kaybı ile hipoksantin, ksantin ve urasil meydana gelmektedir. DNA onarım enzimleri tarafından düzeltilmezse mutasyona neden olur. S-adenosil metionin (SAM) yüksek oranda reaktif bir metil grubu içerir. Hücredeki reaksiyonlar sırasında (bir çeşit alkilasyon) oluşan 5-metilsitozinde deaminasyon sonucu DNA metilasyonu gerçekleşir.

Baz kayıpları: Özellikle hidroliz reaksiyonları DNA'daki diziyi bölerek, Pürin bazlarının (adenin ve guanin) deoksiribozil fosfatla yaptıkları kovalent bağları bozarak “Depurinasyon”a (pürin bazlarının kaybı) neden olmaktadır. DNA dizilerinden daha

az oranda gerçekleşen primidinlerin (T ve C) çıkarılmasıyla da “Deprimidinasyon” (primidin bazlarının kaybı) gerçekleşmektedir.

Oksidatif hasar: DNA'nın ROT ve NOT'lar tarafından oksidatif hasar neticesinde oksitlenmesi gerçekleşir. DNA'daki belirli bazların oksidasyonunu ifade eder. Guaninin oksitlenmesiyle 8-oxo-7,8-dihidroguanin ve nükleotidde 8-oxo-deoksiguanozin (8-oxo-dG) oluşur ancak deoksisistidin yerine deoksiadenozin ile eşleşme yapar. Özellikle 8-hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG) oksidatif DNA hasarı tespitinde önemli belirleyicilerdendir. Bazların oksitlenmesiyle oluşan hasarlar RNA'da da oksidatif hasar oluşturabilmektedir. ROT'lar DNA'da depürinasyon, deprimidinasyon, “Tek-Çift İplik Kırılmaları”na yol açar.

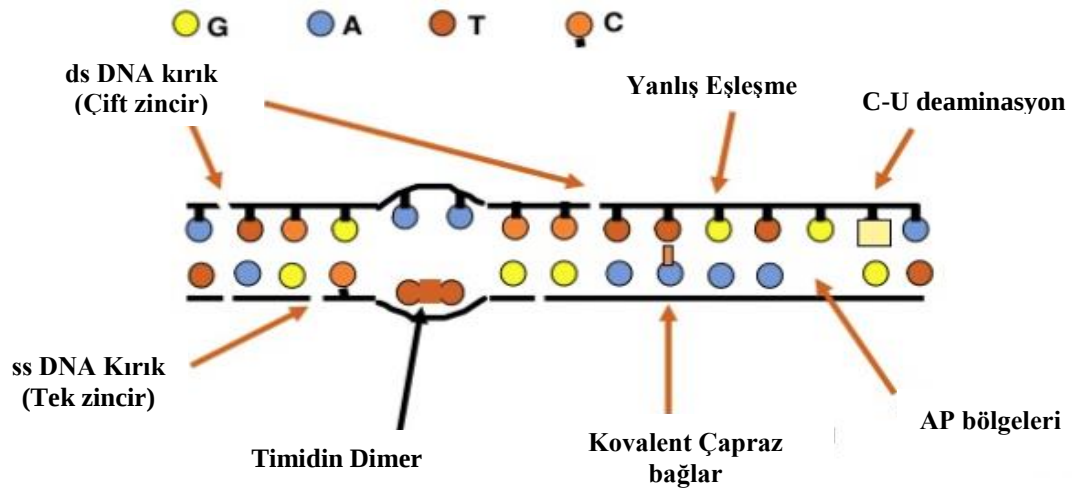
### **1.3.2. DNA Hasarları ve Onarım Mekanizmaları**

DNA'daki hasarlar tek baz modifikasyonları, çift baz modifikasyonları, zincir kırılmaları ve çapraz bağlanmalar şeklinde sınıflandırılmaktadır:

#### **DNA'daki Tek Baz Modifikasyonları**

Depürinasyon, deaminasyon, alkilasyon, DNA baz analogları ve yanlış baz eşleşmeleri sonucu olmaktadır. Depürinasyonlar, kendiliğinden olabildiği gibi östrojen benzeri kimyasallar, alkilleyici ajanlar, serbest radikaller ve UV sonucu pürin bazlarının deoksiribozil-fosfatla yaptıkları kovalent bağların bozulmasıyla pürin kayıpları şeklindedir. Deaminasyonlar, kendiliğinden (5-metilsitozin deamine olur ve Timin oluşturur) ya da indükleyici bir kimyasal etken (nitrik asit oto-oksidasyonu ile oluşan nitrozanhidrit aminlerle reaksiyona girer) sonucu oluşur. Hidrolitik olarak bir amin grubu uzaklaştırılarak oluşur. Alkilasyonla metil, etil, propil gibi alkil gruplarının eklenmesiyle, şeker-baz arasında değişken bağlar, apürinik bölgeler-AP alanları (Şekil 1.24) ve DNA'da çapraz bağlanmalar oluşturur. Baz analogları, DNA zincirine replikasyon sırasında DNA'daki bazların analoglarının (5-bromourasil Timin analogu) eklenmesiyle olur. Nitrojen-mustard, psoralen, mitomisin C, sisplatin gibi

kemoterapötik ilaçlar da DNA'ya baz eklentisi yaparlar ve kanser hücrelerinde tamir mekanizmalarına ya da hasar sensörlerine yakalanmazlar (Sancar ve ark., 2004). Yanlış eşleşmeler ise DNA'da zayıf okuma (proofreading) sonucu benzeyen (G-A) farklı bir bazın ilave edilmesiyle olur (Şekil 1.24).



Şekil 1.24. DNA Hasarları (<https://www.slideshare.net/dhantz1/dna-repair-39272527>).

### DNA'daki Çift Baz Modifikasyonları

Daha çok UV (280-315nm) etkisiyle DNA'daki birbirine yakın pürinlerin ya da pirimidinlerin kendi aralarında dimerler oluşturmalarıyla meydana gelirler. Siklobutan pirimidin dimerleri (CPD), primidin-primidon (6-4PP) dimerleri (foto-ürünler) ve timidin dimerleri (Şekil 1.24) en çok görülen dimerlerdir. Polimerazları inhibe ederek replikasyona engel olurlar.

### DNA'daki Zincir Kırılmaları

DNA'nın tek ipliğinde ya da iki ipliğinde birden meydana gelebilmektedir. Tek iplik kırılmaları (Şekil 1.24) en çok iyonize radyasyonlar, serbest radikaller, ROT'lar ve oksidatif stresten kaynaklanır. Oksidatif stres kaynaklı kopmalarda kopan yerde şeker kalıntıları bulunur. Kırılmalar direkt tek zincir kırıkları şeklinde, ya da zincirdeki boşlukların ve de tek zincir kırıklarının baz-eksizyon onarımları sırasında oluşmaktadır (Sancar ve ark., 2004). Çift iplikli kırılmaları (Şekil 1.24) ise doğrudan

ışınlamalar, UV kaynaklı DNA lezyonlarının yenilenmemesi, tek iplik kopmalarındaki onarımlar sırasında, serbest radikaller ve ROT'lardan (OH radikali ve fenton reaksiyonları) kaynaklanır. DNA hasarlarındaki en ağır zararlardan biri çift zincir kırılmalarıdır. Çift ip kırıkları rekombinasyonda gerekli işlemlerdendir. DNA'da zincir kırılmaları sonucu bazlar serbest kalır ve AP bölgeleri oluşturur. Depürinasyonlar ve normal DNA metabolik işlemleri sırasında da tek-çift zincir kırılmaları meydana gelir.

### **DNA'daki Çapraz Bağlar**

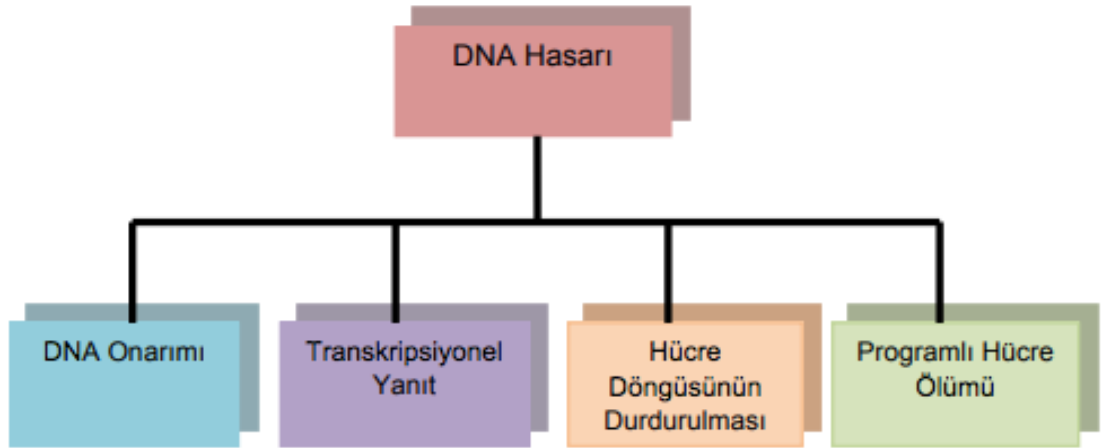
UV, X ve gamma ışınları, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller sonucu oksidatif strese ve proteinlerin peroksidasyonlarına ve oksidasyon sonucu oluşan protein-hidroperoksitleri DNA-protein çapraz bağları yapar. Sisplatin, nitrojen mustard, mitomisin D ve psoralen gibi ajanlar ise DNA-protein çapraz bağları ve DNA-DNA çapraz bağları oluşturur (Sancar ve ark., 2004) (Şekil 1.24).

DNA'daki hasarlar ilk olarak “Hasar Sensörleri”nce tanınıp tespit edilmelidir. Dört farklı hasar tanıma sistemi vardır: Doğrudan hasar tanıma, çok adımlı hasar tanıma, proksi ile tanıma, DNA ara ürünlerinin tanınması (Sancar ve ark., 2004).

- ✧ Doğrudan Hasar Tanıma, DNA hasarı ve aynı yapıdaki protein arasındaki uyum nedeniyle tanıma gerçekleşir (DNA-glikozilazın uygun olmayan bazı tanınması v.b).
- ✧ Çok Adımlı Hasar Tanıma, Moleküler eşleştiriciler (DNA Replikasyon Faktörü-RFC ve Nükleotid Ekzisyon Onarımındaki XPC) yoluyla ya da Kombinasyonel Tanımayla (Nükleotid Ekzisyon Onarımında XPC-XPA ve RPA birlikte bağlanır) gerçekleşir.
- ✧ Proksi ile Tanıma, doğrudan onarımla ilişkisi olmayan ancak hasarın farkedilmesini sağlayan yapılarla tanımadır (Transkripsiyon Çifti Onarımı).
- ✧ DNA Ara Ürünlerinin Tanınması, DNA onarımları için üretilmiş tek iplik çentikleri, dizi boşlukları, çift iplik kırıkları ve ek moleküllerin tanınmasıyla

olur. Bu yapılar başka onarım mekanizmalarında kullanılır. Nükleotid ekzizyon onarımı için oluşturulan boşluk, homolog rekombinasyonu başlatmak için ya da DNA hasar kontrol noktasında hücre döngüsünü durdurmak için kullanılabilir.

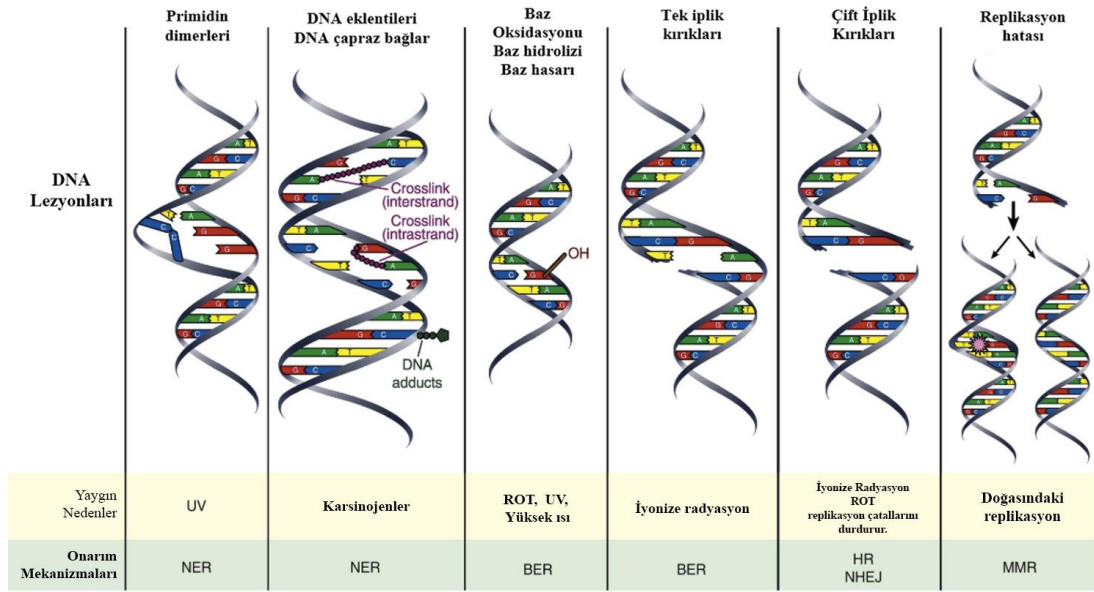
Hasar sensörleri tarafından tespit edilen DNA hasarlarına hücrede farklı yanıtlar verilmektedir: “DNA Onarım Mekanizmaları” tarafından tamir edilebilir, transkripsiyonel yanıt oluşturabilir, hücre döngüsü durdurulabilir ya da apoptoza (programlı hücre ölümleri) gidilebilir (Şekil 1.25). Bu yanıtlar hasarın durumuna göre birbirlerinden bağımsız işlev görürler. Arsenik, kadmiyum, nikel, safra asiti, gama ışınları, benzo (a)piren, lipid peroksidasyon bileşikleri gibi bir çok karsinojen çeşitli DNA onarım mekanizmasındaki proteinleri baskılamakta ve DNA onarımları engellenmektedir (Sancar ve ark., 2004).



Şekil 1.25. DNA Hasarlarına Hücresel Yanıtlar (Sancar ve ark., 2004).

### Onarım Mekanizmaları;

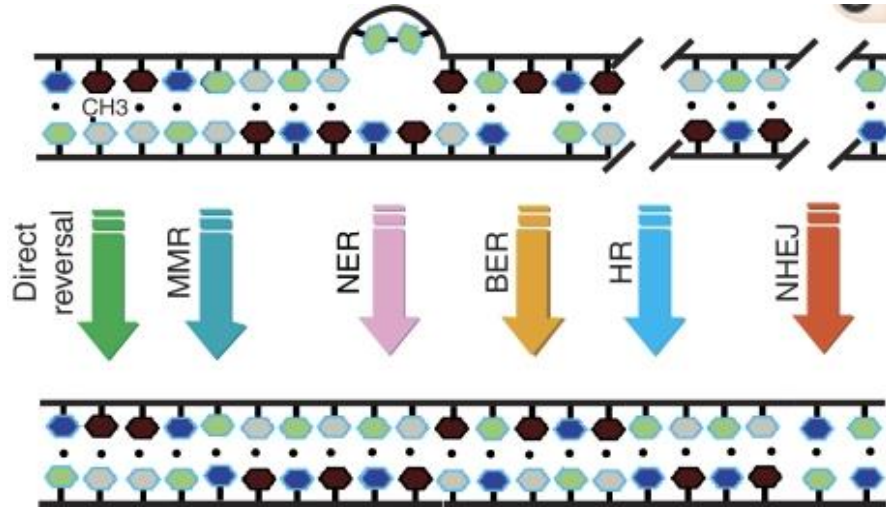
DNA onarım mekanizmaları Direkt Onarım, Baz Eksizyon Onarımı (BER), Nükleotit Eksizyon Onarımı (NER), Homolog Olmayan Rekombinasyonel Onarım (NHEJ) ve Yanlış Eşleşme Onarımı (MMR), Homolog Rekombinasyonel Onarım (HR) (Şekil 1.26).



Şekil 1.26. DNA Hasarları, Etkenleri ve Tamir Mekanizmaları (Weeden ve Asselin-Labat, 2018).

### DNA Hasarının Direkt Onarımı

Alkilleyici ajanlar tarafından ya da DNA bazında oluşan metil, etil v.b. DNA-eklentilerinin çıkarılmasıyla hasarın geri döndürülmesidir (Şekil 1.27). Bu işlem sırasında DNA'daki bazlar kesilip çıkarılmaz. Alkilleyici ajanlar tarafından guaninin metillenmesiyle sonuçlanan DNA hasarında O6-metilguanin'deki metil (CH<sub>3</sub>) grubu DNA-alkil transferaz/MGMT (metilguanin-metiltransferaz) enzimi tarafından kendindeki sistein kalıntısına transfer edilerek DNA'dan uzaklaştırılır. Böylece DNA hasarı sonucu sisteinle eşleşen yapı eski haline dönerek timinle eşleşebilir ve alkilenen MGMT inaktif olur ve proteozomal degradasyona yol açarak hasar onarılmış olur (Hakem, 2008). MGMT homozigot inaktif farelerle yapılan bir çalışmada dimetilnitrozamin kaynaklı yüksek oranda karaciğer ve akciğer tümörleri tespit edilmiştir (Iwakuma ve ark., 1997). Sistein ve glutatyon artırıcı ilaçlar ve antioksidanlar kullanımında MGMT ekspresyonunda artış tespit edilmiştir (Niture ve ark., 2007).



Şekil 1.27. DNA Hasar Onarım Yolları (Hakem, 2008).

### Nükleotid Eksizyon Onarımı-NER (Nucleotid Excision Repair)

En az 2 bazın neden olduğu DNA'nın yapısal bükülmesine (distorsiyonuna) (Şekil 1.27) yol açan DNA-DNA çapraz bağlarının, UV radyasyon kaynaklı oluşan pirimidin dimerlerinin ve büyük DNA-adduct-eklentileri gibi ekzojen kaynaklı zincir kırıklarının onarılmasında işlevseldir (Balajee ve Bohr, 2000; Hanawalt, 2002; Sugasawa, 2008; Shuck ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2009). Oksidatif hasarın onarımında da bu yol kullanılır (Gros ve ark., 2002). NER'de XPA, XPC, RPA (replikasyon protein A), Transkripsiyon faktörü TFIIH, XPB ve XPD DNA helikazlar, ERCC1-XPF, XPG, PCNA ve replikasyon faktörü C gibi 20'den fazla protein görev alır (You ve ark., 2003). Onarım işleminde protein kompleksleri DNA'daki hasarlı bölgeye bağlanır. Hasarın her iki yanından zincir kesilerek hasar uzaklaştırılır ve zincirde oluşan boşluk DNA polimerazlar tarafından tamamlanır ve DNA ligazlar tarafından işlem sonlandırılır. ERCC1 geninin aşırı ekspresyonu sisplatine dirençli küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücreleriyle ve gelişmiş DNA onarım kapasitesiyle ilişkili bulunmuştur (Rosell ve ark., 2003; Vogel ve ark., 2000). NER onarımından sorumlu proteinlerdeki mutasyonlar Trikotiyodistrofi, Kseroderma pigmentozum ve Kokayne Sendromu gibi hastalıklara neden olmaktadır (Zhang ve ark., 2009). Bu mutasyonlar sonucu kişilerde erken yaşlanma, nöropatiler ve cilt kanserlerine yatkınlık (UV-etkili) gözlenmektedir.

### **Baz Eksizyon Onarımı-BER (Base Excision Repair)**

Endojen oksidasyonlar ve hidroliz olayları sonucu oluşan DNA hasarlarındaki bazların kesip çıkarılmasıyla onarım gerçekleşir (Şekil 1.27). Bu onarım mekanizmasında hasar tipine göre pek çok enzim görev almaktadır. DNA glikozilazlar, AP-endonükleazlar, DNA-polimeraz1 ve DNA-ligazlar en başlıcalarıdır. DNA glikozilazlar hasarlı baz ile riboz arasındaki bazı keserek uzaklaştırır ancak zincire zarar vermez. Sonuçta AP bölgesiyle zincir sonuçlanır. AP-endonükleaz-1 (APE-1) enzimi de depürinasyon ve depirimidinasyon sonucu oluşan AP bölgelerini onarır. APE1 fosfodiester zincirini 5 'AP bölgesinde keser. DNA ipliği daha sonra bir 3'-hidroksil grubu ve 5'-abazık deoksiriboz fosfat içerir. DNA polimeraz-1 hasarlı zincirin bir kısmını çıkarır (AP-liyaz aktivitesi aracılığıyla deoksiriboz fosfatı çıkarır) ve hasarsız doğru nükleotidi ekler ve 3'OH'den onarımı başlatır. 8-okzoguanin DNA glikozilaz-I (OGG1) ROT kaynaklı oluşan hasarlı baz 7,8-dihidro-8-okzoguanin'i (8-okzoG) çıkarıp onarım sağlar. OGG1'deki polimorfizm pankreas, prostat gibi kanserlerle ilişkilendirilmiştir (Hua ve ark, 2016). Urasil-DNA glikozilaz sitozin deaminasyonu sonucu oluşan urasili çıkarır. N-Metil pürin DNA glikozilaz (MPG) modifiye pürin bazlarını çıkarır.

### **Homolog Rekombinasyonel Onarım- HRR (homolog recombinational repair)**

Memelilerde çift zincir kırıklarının %10'u ve DNA'daki çapraz bağlar HRR onarım mekanizması tarafından tamir edilir (Şekil 1.27). Sentez aşaması olduğundan uygun/homolog şablon varlığında homolog DNA rekombinasyonla onarım sağlanarak genetik bilgi korunmuş olur. Homolog rekombinasyonel defektler sonucu immün yetmezlikler, nörolojik defektler, lenfoma-tümör gelişimleri ve kansere yatkınlık gözlenmekte ve onarımda görev alan BRCA1-2 genlerindeki anomaliler kanserle ilişkili bulunmuştur (Hakem, 2008; Onur ve ark., 2009).

### **Homolog Olmayan Rekombinasyonel Onarım-NHEJ (Non homolog end-joining repair)**

Memelilerdeki çift zincir kırıklarının %90'ı NHEJ onarım mekanizması tarafından tamir edilmektedir (Şekil 1.27). X-ışınları, peroksit v.b. nedenlerle oluşan, DNA ligazlar tarafından onarılamamış düzgün olmayan DNA uçlarının bağlanmasında ve HRR'den yararlanılamayan durumlarda (sentezin olmadığı zamanlarda-uygun şablon yoksa) devreye girererek kırıkları birleştirir. Bu onarımda DNA Ligaz-IV, XRCC4 ve DNA'ya bağlı protein kinaz (DNA-PK) v.b. enzimler görevlidir (Wang ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2009). DNA-PK aktive olur ve diğer enzim/proteinlerin hasarlı bölgeye gelmelerini ve kompleks oluşturmalarını sağlar. Oluşan kompleks DNA Ligaz-IV ve XRCC4'ün aktive olup kırık uçları bağlamasıyla onarım sağlanmış olur. Onarılamayan uçlar genetik bilgi de kayba neden olarak IR duyarlılığını artırmakta ve immün yetersizliğe neden olabilmektedir. NHEJ onarım yolağındaki bozukluklar kanserlere kadar giden translokasyonlara neden olmaktadır (Onur ve ark., 2009). HRR ve NHEJ onarım yollarının inaktivasyonları hücre ölümlerinde artış, telomerlerde disfonksiyon, genomik instabilite, mayoz hasarları, immün yetersizlik, kanser v.b. patolojilerle ilişkilendirilmektedir (Sung ve Klein, 2006).

### **Yanlış Eşleşme Onarımı-MMR (Miss-Match repair)**

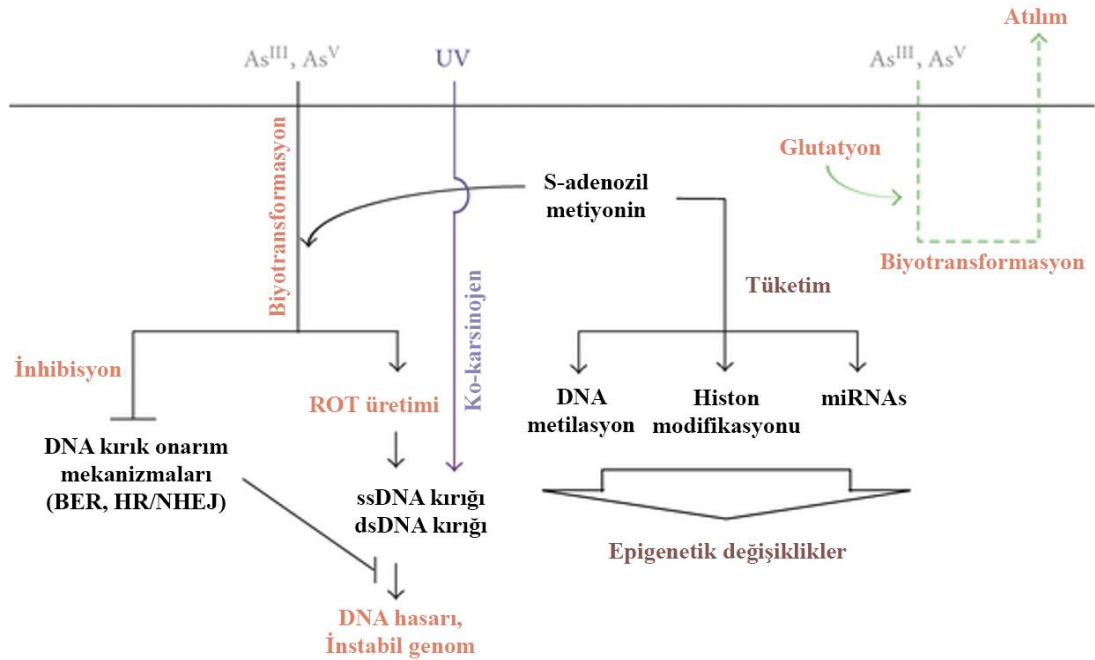
DNA'da replikasyon sırasında bazların yanlış eşleşmelerinin ve küçük DNA looplarının düzeltilmesi için yapılan eksizyon ve yeniden sentez aşamalarından oluşan onarımlardır (Şekil 1.27). DNA oksidasyonu ve alkilasyonundan kaynaklanan O6-metil guanin, 8-okso guanin, karsinojen ve sisplatin eklentileri içeren modifiye baz çiftleri anomalilerinden kaynaklı yanlış eşleşme, insersiyon ve delesyon onarımından sorumludurlar (Sancar ve ark., 2015). İnsanlardaki MSH ve MLH gibi MMR enzimlerindeki mutasyonlar polipsiz kolorektal kanserle ilişkili bulunmuştur (Schofield ve Hsieh, 2003; Christmann ve ark., 2003; Stojic ve ark., 2004).

### **1.3.3. As Kaynaklı DNA Hasarı**

As maruziyetiyle hücrelerde artan ROT ve RNT'ler oksidatif strese ve dolayısıyla DNA hasarlarına, lipid peroksidasyonlarına, redoks enzim aktivitelerinde ve antioksidan savunma düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (Martinez ve ark., 2011a; Martinez ve ark., 2011b).

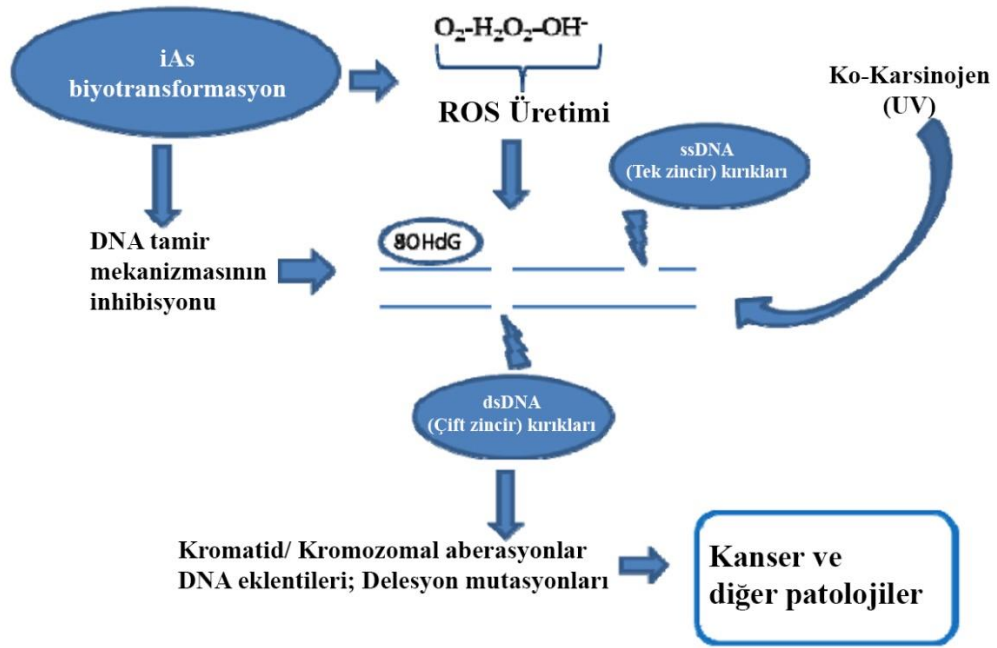
### Arsenik DNA Hasar Mekanizması:

- ⤴ Arsenik biyotransformasyon sürecinde glutatyonla konjuge olup atılabilir. Ancak As süperoksit anyonları, hidrojen peroksitler ve hidroksil radikalleri gibi ROT oluşumunu artırarak oksidatif hasarı tetikler ve tek-çift zincir DNA kırıklarına yol açabilir.
- ⤴ Ayrıca tek zincir kırıklarının onarımından sorumlu Baz Eksizyon Onarım-BER, çift zincir kırıklarının onarımlarından sorumlu Homolog olmayan Rekombinasyon-NHEJ ve Homolog rekombinasyon-HRR onarım mekanizmalarını inhibe edebilmektedir (Martinez ve ark., 2011a).
- ⤴ Bu süreçte üretilen ROT'lar kokarsinojen olarak görev yapabilir, örneğin UV'nin hasar etkisini artırabilir.
- ⤴ Biyotransformasyondaki S-adenozil metioninin (SAM) gerekliliği, DNA metilasyonu için substrat olan SAM'ın tükenmesine ve dolayısıyla DNA metilasyonunda değişikliklere, histon modifikasyonlarına ve mikro-RNA'lara (miRNA) yol açabilir (Martinez ve ark., 2011b) (Şekil 1.28).



Şekil 1.28. As ve DNA Hasarı (Martinez ve ark., 2011b).

As'nin genotoksisitesinin esasını biyotransformasyonu sırasında oluşan ROT'ların neden olduğu düşünülmektedir (Kessel ve ark., 2002; Nesnow ve ark., 2002; Jomova ve ark., 2011). ROT üretimi DNA eklentileri (adduct), DNA iplikçiği kırıkları, çapraz bağlar ve kromozomal aberasyonlar oluşturabilmektedir (Kitchin ve Wallace, 2008; Bau ve ark., 2002; Hwang ve Kim, 2007). Arsenik tarafından başlatılan genetik hasarın ana mekanizması oksidatif mekanizmadır (Şekil 1.29).



Şekil 1.29. As Kaynaklı DNA Kırıkları (Faith ve ark., 2013).

As indüklü DNA dizi kırıklarının büyük bir kısmı oksidatif DNA eklentilerinin ve DNA protein çapraz bağlarının eksizyonundan ve ROT'lardan kaynaklanmaktadır (Wang ve ark., 2001a). DNA tek zincir kırıkları, hücre ölümleri ve ATP'nin tüketilmesiyle NAD'da azalmayla meydana gelen poly-ADP-riboz polimeraz (PARP)'ın aktivasyonunda zorunlu bir tetikleyicidir. PARP DNA replikasyonunda, DNA onarımında, gen ekspresyonunda ve karsinogenezde de görev alır (Boulikas, 1991). DNA kırıkları kromozomal yeniden düzenlemelere de neden olabilmektedir (Faith ve ark., 2013).

Ayrıca, iA'lar düşük konsantrasyonlarda bile DNA iplik kopmalarını indükleyebilir (Martinez ve ark., 2011b). Arsenik kaynaklı tek iplikli kopmaları, ya

doğrudan DNA bazında ROT ya da dolaylı olarak baz eksizyon onarımı (BER) mekanizması sırasında oluşur (Kligerman ve ark., 2010). DNA'ya oksidatif hasarın başlıca etkilerinden biri DNA baz modifikasyonudur. Özellikle 8-hidroksideoksiganin (8-OHdG) en sık oluşturulan DNA nükleobaz modifikasyonlarından biridir ve sıklıkla epidemiyolojik çalışmalarda oksidatif stres için bir belirteç olarak kullanılır (Cooke ve ark., 2003; Ziech ve ark., 2010). 8-hidroksi deoksiganin, G: C'den T: A' ya transversiyon mutasyonlarına yol açabilen oldukça mutajenik bir yanlış kodlama lezyonudur (Grollman ve Moriya; 1993). Arsenik maruziyeti üzerine 8-OHdG oksidatif DNA eklentileri (adduct) varlığı birkaç dokuda belgelenmiştir (Chung ve ark., 2008; Vizcaya-Ruiz ve ark., 2009). İA'lara maruz kalan insan fibroblast hücrelerinin ssDNA kırılmaları ve DNA-protein katkısı ile kromatit değişimi sergiledikleri gözlenmiştir (Mouron ve ark., 2006).

Süperoksit temizleyicileri ve diğer antioksidanlarla yapılan bir tedavinin, aort hücrelerinde arsenik kaynaklı DNA iplik kopuşlarını azalttığı ve bu süreçte ROT üretiminin rolünü de doğrulamaktadır (Liu ve Jan, 2000). SOD, katalaz, difenil iodyum, DMSO, d-mannitol ve piruvat As kaynaklı DNA kırılmalarını etkili bir şekilde azaltmıştır (Shi ve ark., 2004) 1 µM iA'ların, ssDNA ve dsDNA kırılmalarında önemli role sahip bir protein olan poly-adenosin difosfat-riboz polimeraz 1 (PARP-1) aktivitesine müdahale ederek UVR aracılı DNA iplik kopuşlarını arttırdığı da gözlenmiştir (Qin ve ark., 2008; Faita ve ark., 2013).

Arsenit, MRC-5 hücrelerinde DNA göçünü ve kuyruklu hücrelerin yüzdesini artırmıştır (Mouron ve ark., 2001). DNA migrasyonu hızındaki azalma, organik arseniklerle DNA çapraz bağlarının indüklenmesinin bir sonucu olabilmektedir (Faita ve ark., 2013). Arsenik kaynaklı DNA hasarı, DNA iplik kopması ve DNA oksidasyonunda özellikle gözlenmiştir.

iAs genotoksitesinin ana mekanizmalarından biri de DNA Onarım sistemlerinin inhibisyonudur (Faita ve ark., 2013). Arseniğe maruz kalmanın neden olduğu genetik hasarın kısmen DNA onarımının inhibisyonuna bağlı olabileceği de öne sürülmüştür (Hartwig ve ark., 1997; Wang, 1994; Lynn ve ark., 1997; Chen ve

ark., 1993; Li ve Rossman, 1989). NER ve BER prosesleri As maruziyeti sonrası DNA baz hasarı onarımında görevlidirler. NER DNA çift sarmalda büyük bozulmaların onarımında ana yol olup, BER ise ROT tarafından uyarılan tek iplik kırılmalarında ana yoldur (Lai ve ark., 2011). Hücre kültürü çalışmalarında insan fibroblastlarında iAs maruziyet sonrası DNA onarım kapasitesinde azalma gözlenmiştir (Hartwig ve ark., 1997; Curnow ve ark., 2001). Ayrıca önceki çalışmalarda da iAs maruziyetlerinde NER işleminin inhibe edildiği ortaya çıkmıştır (Hartwig ve ark., 1997; Andrew ve ark., 2003; Schwerdtle ve ark., 2003). iAs'lerin BER prosesini inhibe ettiği belirtilmektedir (Lai ve ark., 2011; Ebert ve ark., 2011). 1 µM üzerindeki AsIII doz maruziyetlerinde BER prosesinde yer alan pol-beta (DNA polimeraz) ve APE1 (apürinik/primidinik endonükleaz) gibi genlerin mRNA'larında doza bağlı aşağı regülasyon gözlenmiştir (Sykora ve Snow, 2008). As'ye maruz kalan pol-beta eksikliği olan hücrelerde DNA hasar tamirlerinde önemli gecikme ve DNA hasar düzeylerinde artış gözlenmiştir (Lai ve ark., 2011).

### **As Etkili DNA-Metilasyon Değişiklikleri**

Değiştirilmiş DNA metilasyonları (hipometilasyon-hipermetilasyon) bir çok hastalığın gelişmesine yol açmaktadır (Robertson, 2005). As maruziyetinde SAM yetersizliğinde ve/veya DNTM gen ekspresyonunun azalması sonucu genomik DNA hipometilasyonları gözlenmektedir (Reichard ve ark., 2007). Genomik DNA hipometilasyonlarının Arsenik maruziyetlerinde indüklendiği hem in vitro hemde in vivo çalışmalar bildirilmiştir: AsIII'e maruz kalan ratlarda (Uthus ve Davis, 2005) ve farelerde (Chen ve ark., 2004) hepatik DNA hipometilasyonu, hücre kültürlerinde (Benbrahim-Tallaa ve ark., 2005; Coppin ve ark., 2008) ise global genomik DNA hipometilasyonu gözlenmiştir (Ren ve ark., 2011). Ancak bunun aksine Majumdar ve ark. (2010)'nın Arseniğe içme suyundan (250-500µg/L) maruz kalan bireylerde yaptıkları çalışmada, bireylerde global DNA hipermetilasyonu gözlenmiştir. Pilsner ve ark.'nın (2007) 294 kişilik çalışmasında ise idrar arsenikleri ile DNA hipermetilasyonları arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Arsenik maruziyetinde DNMT'lerle (DNA Metil Transferaz) etkileşime girmesi DNA hipermetilasyonuna ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonuna neden olabilmektedir (Shi ve ark., 2004).

## **As Etkili Histon Modifikasyonları**

Histonlar içerdikleri aminoasitlerin sayısına ve içerdikleri kovalent modifikasyonlara göre yapı ve işlevsel açıdan farklılık göstermektedirler (Ren ve ark., 2011). Histon zincirlerinin uçlarındaki modifikasyonlar asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, deaminasyon ve prolin izomerizasyonu gibi bir çok biyolojik olayı etkilemektedir (Kouzarides, 2007). Histon asetilasyonları daha çok lizin kuyruğundaki kalıntılarda meydana gelmektedir (Martin ve Zhang, 2005). As'ye maruz kalan *Drosophila* hücrelerinde büyük oranda histon asetilasyonunun azaldığı gözlenmiştir (Arrigo, 1983). İnsan mesane epitel hücrelerinde in vitro AsIII ve MMAIII ile indüklemesi sonucu malign tansformasyonu ile bağlantılı bulunmuştur (Jensen ve ark., 2008). Farklı bir çalışmada ise AsIII maruziyeti sonucu apoptozda yer alan genlerde artmış histon asetilasyonunu indüklediği gözlenmiştir (Li ve ark., 2002). Histon metilasyonları hem lizin hem de arjinin kalıntılarında meydana gelmektedir (Wysocka ve ark., 2006). As'ye maruz kalan *Drosophila* hücrelerinde histon metilasyonları tamamen ortadan kalkmıştır (Arrigo, 1983). İnsan akciğer karsinomu A549 hücrelerinde 1 µM Arsenit maruziyeti sonucu H3K4me3 (H3 lysine 4 trimethylation)'ü önemli ölçüde artırmıştır (Zhou ve ark., 2008). Histonlar posttranslasyonel olarak siklin bağımlı kinazlarca fosforilasyonla modifiye edilebilmektedir (Swank ve ark., 1997). Arsenik trioksit histon fosforilasyonunu artırarak apoptozu indüklemektedir (Zykova ve ark., 2006). Ayrıca Arsenik maruziyetiyle indüklenen H3 fosforilasyonu onkogenlerin upregülasyonuna, proapoptotik faktörün ve kaspazların uyarılmasına neden olabileceği belirtilmektedir (Li ve ark., 2002).

## **As Etkili Mikro-RNA'lar**

Mikro-RNA'lar temelde genomun protein kodlayıcı olmayan bölgelerinden kopyalanan protein kodlayıcı olmayan küçük RNA'lardır ve biyolojik düzenleyici olaylarda görev alırlar (Bartel, 2004; He ve Hannon, 2004). miRNA'lar, tamamlanmamış baz eşleşmesi ile mRNA'nın 3'-untranslated bölgesine bağlanmasını sağlayarak gen ekspresyonunu devre dışı bırakır (Wightman ve ark., 1993).

miRNA'lar gen ekspresyonları üzerindeki baskılayıcı etkisi nedeniyle onkogenleri hedef alan miRNA'ların azaltılması/ortadan kaldırılması sonucu onkoproteinlerin uygunsuz ekspresyonuna neden olabilmektedir (Ren ve ark., 2011). Zhou ve ark. (2005) Akut Promyelositik Lösemi (APL) tedavisinde kullanılan arsenik trioksitin, PML (Promyelositik Lösemi) proteinin yer değiştirmesine ve parçalanmasına yol açtığını ve APL hücrelerinde PML-retinoik asit reseptörünün bozulmasını uyardığını belirtmiştir. Ancak tedavi süreciyle As'ye maruz kalanlardaki miRNA'ların ekspresyonunu kalıcı olarak değiştirmek için bireylerin kronik maruz kalmasının gerekli olabileceği ifade edilmektedir (Marsit ve ark., 2006).

Arsenik biyotransformasyonu ile meydana gelen tüm bu DNA hasarları kromozomal anormalliklere/aberasyon (KA-CA), kardeş kromatid değişimlerine (KKD-SCE), DNA-eklentilerine ve delesyon mutasyonlarına neden olarak kanser süreçlerini de başlatabilmektedir (Shi ve ark., 2004; Martinez ve ark., 2011b; Faita ve ark., 2013). Karsinogenik etkenlerin risk değerlendirmelerinde yaygın kullanılan mikroçekirdek (MÇ-MN-Mikronükleus) oluşumu, kardeş kromatid değişimleri ve kromozomal aberasyonlar gibi sitogenetik biyogöstergeler arsenik maruziyetlerinde de tercih edilmektedir. Düşük düzeyde iAsIII maruziyetinde ROT üretimi, apoptoz ve nekroz oluşumu indüklenerek telomeraz ekspresyonu ve telomerin uzunluğu azalmaktadır (Li ve ark., 2012). Mikroçekirdek sıklığı kanser risk çalışmalarında ve daha çok kronik karsinogen maruziyetlerinde epidemiyolojik çalışmalarda daha çok kullanılmaktadır (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). Bunların dışında nükleer tomurcuk-NT, piknotik-PK, karyolitik-KL, karyohektik ve kondanse kromatin gibi çekirdek anomalileri nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma ve kanser oluşumu risk artışlarıyla ilişkilendirilmektedir (Thomas ve ark., 2009).

#### **1.3.4. DNA Hasarının Belirlenmesi**

DNA hasarlarının tespiti ve analizi için DNA'da oluşan hasarlara özgü yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Tek zincir kırıkları ve baz değişimlerinde COMET assay (Tek Hücreli Jel elektroforezi), HALO Assay, TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling), HPLC-MS (Yüksek

performanslı sıvı kromatografi-kütle spektrometresi), DBD-FISH (DNA breakage detection-fluorescence in situ hybridization), GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrometresi), Protein XRCC1(X ışını onarım çapraz tamamlayıcı 1) ve elektrokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. O<sup>6</sup> alkil guanin eklentilerinde HPLC-MS, GC-MS ve IHC (immünohistokimya) yöntemleri tercih edilmektedir. Pirimidin dimerlerinde TDP-PCR (terminal transferaz bağımlı polimeraz zincir reaksiyonu), LM-PCR(ligasyon aracılı polimeraz zincir reaksiyonu), IC-PCR (immune-capture PCR), HPLC-MS, GC-MS, RIA (radyoimmünoassay), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ve elektrokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Delesyonlarda GC-MS kullanılırken, çift zincir DNA kırıklarında ise COMET, TUNEL, DBD-FISH, LAM-HTGTS (linear amplification-mediated high-throughout genome-wide translocation sequencing), protein Ku ve protein H2AX testleri kullanılmaktadır (Figuerola-Gonzalez ve Perez-Plasencia, 2017). Aşağıda DNA hasarlarına ve onarımlarına göre DNA hasar yöntemleri sıralanmıştır (Şekil 1.30).

| DNA Lesion              | Single-strand break<br>Altered base                                           | O <sup>6</sup> alkyl<br>guanine<br>Bulky adduct | Pyrimidine dimers<br>6,4-photoproduct                             | Deletion | Double strand<br>break                                                         | Stalled<br>replication fork |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Repair<br>Pathway       | BER                                                                           | NER                                             | DDR                                                               | MMR      | NHEJ<br>HR<br>SSA                                                              | TLS<br>BIR                  |
| Detection<br>Strategies | COMET<br>HALO<br>TUNEL<br>HPLC-MS<br>DBD-FISH<br>GC-MS<br>Protein XRCC1<br>EM | HPLC-MS<br>GC-MS<br>IHC                         | TDPCR<br>LMPCR<br>ICPCR<br>HPLC-MS<br>GC-MS<br>RIA<br>ELISA<br>EM | GC-MS    | COMET<br>TUNEL<br>LAM-HTGTS<br>DBD-FISH<br>Protein Ku<br>Protein $\gamma$ H2AX | PCR                         |

Şekil 1.30. DNA Hasarları ve Belirleme Yolları (Figuerola-Gonzalez ve Perez-Plasencia, 2017).

#### 1.3.4.1. Comet Assay Tekniği

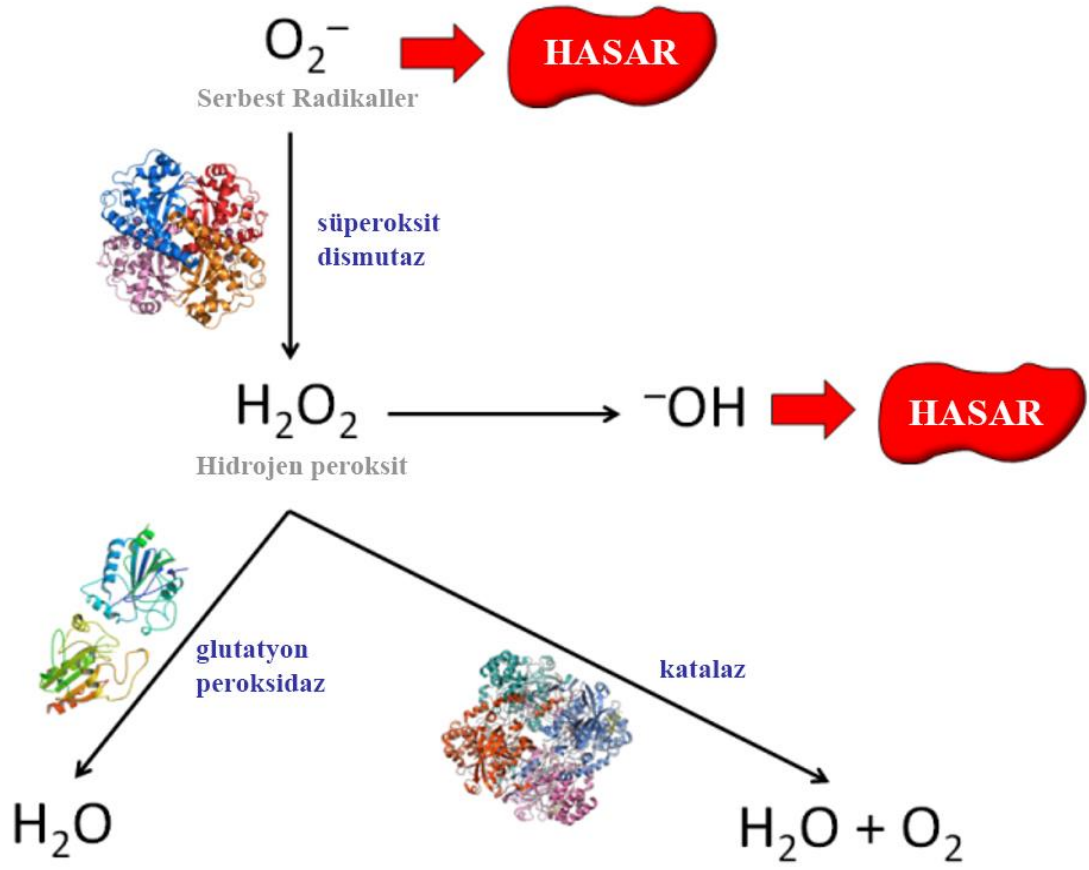
Comet Assay tekniği diğer adıyla tek hücreli jel elektroforezi (SCGE) ökaryotik hücrelerde DNA hasarlarından DNA'nın tek iplik kırılmaları (ssDNA Break) ve çift iplik kırılmalarının (dsDNA breaks) tespitinde kullanılan floresans tekniklerindendir (Collins, 2004, 2014). İplik kırıklarının dışında UV kaynaklı pirimidin dimerlerinin, okside bazların ve alkilasyon hasarlarının belirlenmesinde,

DNA onarım araştırmalarında, antioksidan çalışmalarında, kansere duyarlılıkların tespitinde, kanser tedavilerin takibinde de kullanılmaktadır (Figuerola-Gonzalez ve Perez-Plasencia, 2017; Dinçer ve Kankaya, 2010). Hasar görmüş DNA bu yöntemde görüntülenirken comet (kuyruklu yıldız) şeklinde olmasından dolayı yöntem “Comet Assay” adını almıştır. Hasarsız DNA kuyruklu yıldızın başını oluşturmakta hasarlı DNA parçaları ise Comet’in kuyruk kısmını oluşturmaktadır. DNA’daki bu comet görüntüsü için hücreler agaroz jel içine sabitlenir, bir takım litik işlemlerden geçirilir ve floresans boyama yapılır (Figuerola-Gonzalez ve Perez-Plasencia, 2017). Comet assay yöntemi hassas ve güvenli bir yöntem olup, farklı hücrelerde kullanım olanağı sunmakadır (Singh ve ark., 1988; McKelvey-Martin, 1993; Zalata ve ark., 2007).

#### **1.4. Genler ve Polimorfizmleri**

##### **1.4.1. MnSOD**

MnSOD, süperoksit dismutaz (SOD) ailesine ait antioksidan enzimlerden biridir. Süperoksit dismutazlar J. McCord ve I. Fridovich tarafından 1969’da keşfedilmişlerdir. Süperoksit dismutaz ailesi hücre dışı kaynaklardan türetilen ya da mitokondriyal matrikste, elektron transfer zinciriyle (ETZ) oksijen metabolizmasının yan ürünü olan süperoksit radikallerinin dismutasyonundan sorumludur (AF, 2012). Toksik olan süperoksitlerin ( $O_2^{\bullet-}$ ) daha az toksik olan hidrojen peroksite ( $H_2O_2$ ) dönüşümünü katalizlemektedir (şekil 1.31). Amaçları, oksijen kullanan hücreleri, normal metabolizma sırasında üretilen reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerinden korumaktır (Möllsten ve ark., 2007).



Şekil 1.31. SOD Aktivitesi (<http://pubs.sciepub.com/ajssm/1/1/2/index.html#Figure1>).

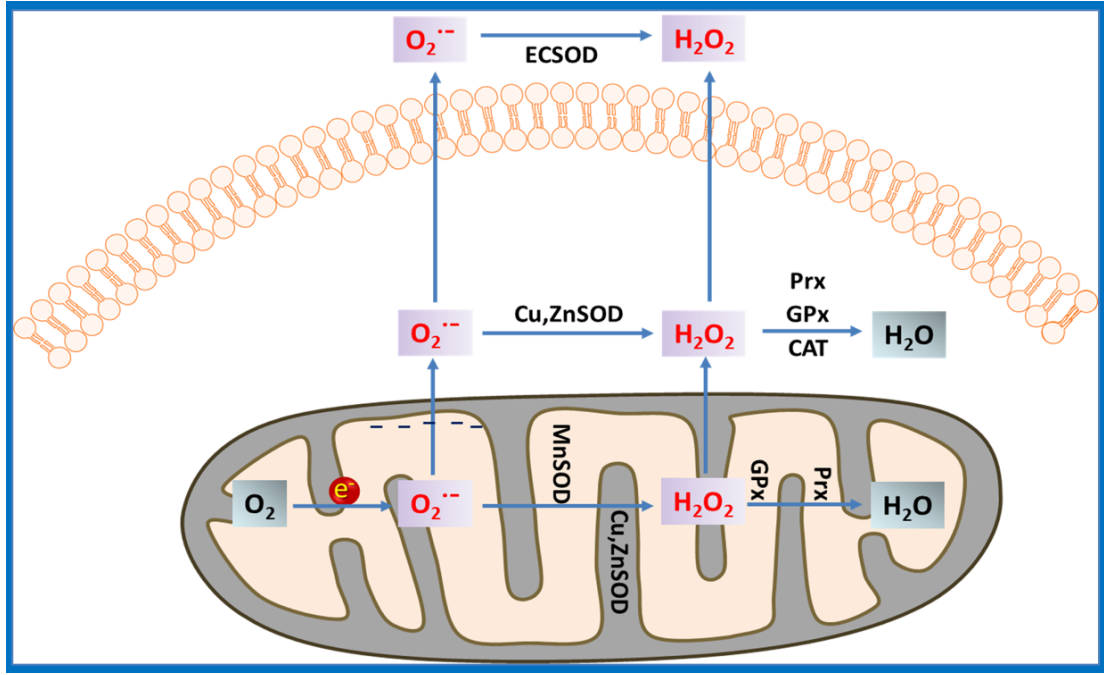
Prokaryotlarda SOD'un iki üyesi bulunmaktadır:

- ♣ Demir içerikli SOD (FeSOD)
- ♣ Mangan içerikli SOD (MnSOD)

Ökaryotlarda ise SOD ailesinin üç üyesi tespit edilmiştir:

- ♣ Bakır-Çinko içerikli SOD (CuZnSOD/ SOD1)
- ♣ Mangan içerikli SOD (MnSOD (SOD2))
- ♣ Ekstrasellüler SOD (ECSOD3)

Ökaryotlarda SOD enziminin üç adet izoenzimi vardır. Bunlar taşıdıkları prostetik grup olan metallere ve lokalizasyonlarına göre şu şekildedir; Bakır-Çinko SOD (Cu,Zn-SOD) çekirdekte ve sitoplazmada; Mangan SOD (Mn-SOD) mitokondride bulunurken, ekstrasellüler Cu,Zn-SOD (EC-SOD) ekstrasellüler alanda bulunur (Şekil 1.32). Demir SOD (Fe-SOD) ise yalnızca prokaryotlarda bulunmaktadır.



Şekil 1.32. SOD Enzimleri (<https://www.aimsoci.com/ros/html/wp-content/uploads/2016/03/f7-2.png>).

Hücresel süperoksit oluşumunun ana kaynağı Mitokondriyal Elektron Taşıma Zinciri (METZ)'dir. Mitokondriyal matrikste glutatyon peroksidaz (Gpx) ya da peroksiredoksin (Prx) ile  $H_2O$ 'ya dönüştürülen  $H_2O_2$ 'i oluşturmak için, MnSOD tarafından dismutasyona uğramaktadır. Mitokondriyal iç zarı geçebilen süperoksitler Cu,ZnSOD tarafından dismutasyona uğrayarak  $H_2O_2$  oluşturmakta ve sitozolde oluşan ya da mitokondriden kaçan  $H_2O_2$  glutatyon peroksidaz (GPx), peroksiredoksin (Prx) ve katalaz (CAT) gibi enzimler tarafından sitoplazmada suya dönüştürülmektedir (Hopkins, 2016). Mitokondriyal membranda bulunan Cu,ZnSOD membran içi boşlukta bulunan süperoksitin dismutasyonunu katalizlemektedir. Hücre dışı süperoksit dismutasyonundan ise ECSOD sorumludur.

SOD1 olarak da adlandırılan Cu,ZnSOD enziminin geni insanlarda 21. kromozomda 21q22 bölgesinde yerleşimli olup, 32 kDa moleköl ağırlığına sahiptir (Hopkins, 2016). Her birinin aktif merkezinde Cu ve Zn atomları bulunan iki alt üniteden oluşmaktadır. Daha çok hücre sitoplazmasında bulunmasına rağmen nükleusta, mitokondrial membranlar arasında ve lizozomlarda da bulunabilmektedir.

SOD2 olarak ifade edilen Mangan Süperoksit (MnSOD) geni ise insanlarda 6. kromozomun uzun kolunda 6q25.3 bölgesinde yerleşimli olup, mitokondride enzim aktivitesi göstermektedir.

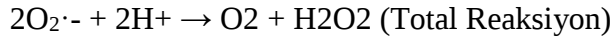
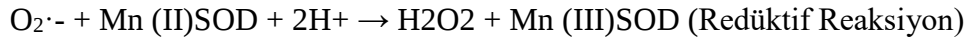
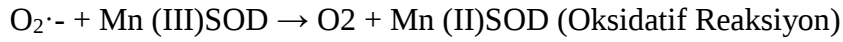
SOD3 olarak adlandırılan Cu,Zn içerikli ECSOD enziminin geni ise insanlarda 4. kromozomda 4p-q21 bölgesinde yerleşimlidir ve ekstra sellüler sıvıda bulunur.

MnSOD herbir alt birimi 222 aminoasitten oluşan homotetramerik yapıda olup, her alt ünitesinde Manganeyz iyonu içeren bir metalloenzimdir (Kinnula ve Crapo, 2003). MnSOD ancak mitokondride enzim aktivitesini gösterebilir. Bu nedenle nükleustaki sorumlu gen tarafından kodlanan MnSOD proteini translasyon sonrası mitokondriye geçmesi gerekmektedir (Wispe ve ark., 1989; Zejnilović, 2007).

MnSOD ökaryotik hücrelerde nükleer kromatin tarafından kodlanır ve MnSOD mRNA sitozole geçer. Ribozomda MnSOD' un öncü mRNA formu 222 amino asit uzunluğunda yapılır ve öncü MnSOD modifiye olur. Sitoplazmadan mitokondriyal hedef sekansı MTS-MSS (mitokondriyal sinyal sekansı) ile mitokondriyal matriks içine taşınır (Bresciani ve ark., 2013). Mitokondriyal hedef dizisi, çoğu ökaryotlarda ve insandaki olgun protein olarak bir proteaz tarafından enerjiye bağımlı bir şekilde kesilir ve homotetramer olarak biraraya getirilerek MTS'nin ayrılması ile olgun-aktif enzim haline dönüşmektedir (Yüce ve ark., 2007). Ökaryotik MnSOD mitokondriyal matrikste bulunduğu bilinen tek antioksidan enzimdir (Möllsten ve ark., 2007; Bresciani ve ark., 2013). MnSOD hücre ölümlerinin düzenlenmesinde kilit rol oynayan eşsiz bir tümör supresör olarak da görev yapmaktadır.

Süperoksit, mitokondri ara membran boşluğuna geçer. Çünkü burası protonca zengin alandır. Burada süperoksit radikalleri protonlanarak hidroperoksit radikali oluşturur. Bunlar mitokondri matriksine difüzlenebilir. SOD2, süperoksitin mitokondriyel matrikste ana temizleyicisidir (Clair ve ark., 2005).

Süperoksit dismutazlar serbest radikalleri substrat olarak kullanmaktadır. SOD'lar manganın durumuna göre oksidatif ya da redüktif reaksiyon yolağına girmektedir. Oksidatif reaksiyonda substrat olarak süperoksit anyonu Mn (III)SOD varlığında oksijen molekülüne dönüşmektedir. Redüktif reaksiyonda süperoksit anyonundan ve protonlardan Mn (II)SOD hidrojen peroksit oluşmaktadır. Sonuçta süperoksit anyonundan ve protonlardan hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşmaktadır (Jasmina, 2007).

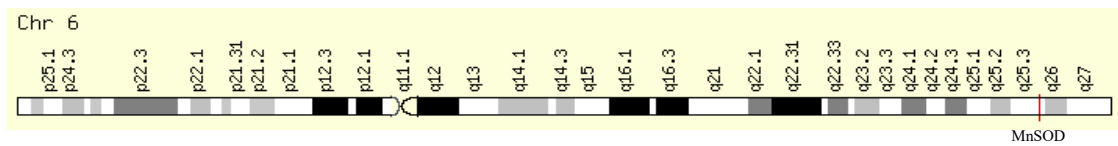


MnSOD aktivitesi yüksek olduğunda fazlaca H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşacaktır. Eğer hidrojen peroksiti uzaklaştırmakla görevli Gpx (glutatyon peroksidaz) ya da CAT (katalaz) düzeyi yeterli değilse MnSOD aktivitesinin yüksekliği hücrede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikmesi sonucu hasara yol açacaktır (Valdivia ve ark., 2009; Bresciani ve ark., 2013). MnSOD'un aşırı ekspresyonu ROT'ların birikmesine, oksidatif strese, çeşitli hastalık ve tümörlerin gelişmesine neden olmaktadır. MnSOD'un mitokondriyal matriskteki fazlalığı, kanser hücrelerinde ROT/sitokinler artışa neden olmaktadır (Janssen ve ark., 2000). Matrikste artmış süperoksit anyonlar, azalmış SOD2 aktivitesine, bu da mitokondri hasarına neden olmaktadır. Matrikste artmış süperoksit anyonlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi diğer ROT'ları artırır ve fazla ROT'lar mitokondri membranını geçerek nükleusta oksidatif hasara neden olabilmektedir.

MnSOD'un mitokondriyal matrisdeki azlığı (MnSOD geninde mutasyon/polimorfizm sonucunda) MnSOD aktivitesinde azalma ile DNA'da oksidatif hasara yol açmakta ve insanlarda kanser riskini artırabilmektedir (Remmen ve ark., 2003). MnSOD' un düşük düzeyde olması, süperoksitlerin en yoğun üretildiği akciğer dokusunda hasara dolayısıyla akciğer hastalıklarına ve akciğer kanserine neden olabilmektedir (Kinnula ve Crapo, 2003). Remmen ve ark. (2003) yaptığı çalışmalarda MnSOD (+/-) olan MnSOD aktivitesi düşük farelerde DNA hasarı, tümör ve kanser görülme sıklığı artmıştır. Heterozigot MnSOD farelerin (SOD2+/-) homozigot MnSOD farelere oranla SOD2 aktivitesi dokular bazında %50 ölçülmüştür (Muller ve ark., 2007; Remmen ve ark., 2003). Yaşamlarını stres durumları hariç yine de normal sürdürebilmektedirler (Clair ve ark., 2005). MnSOD enzim yokluğu (SOD2 -/-) olan farelerde ilk 24 gün içinde ölüm gerçekleştiği tespit edilmiş ve bu farelerin hiperoksiye hassasiyetleri artmış ve oksidatif DNA hasarında da 4 kata kadar artış gözlenmiştir (Remmen ve ark., 2003).

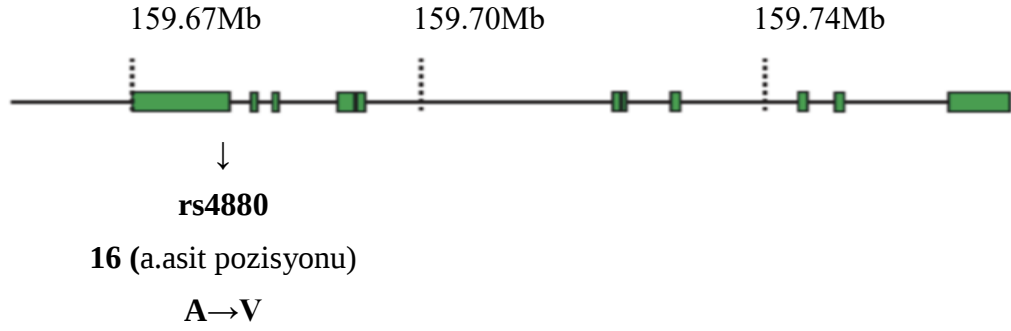
#### 1.4.1.1. MnSOD Gen Yapısı

İnsan karaciğerinde ilk MnSOD 1984'te her altbiriminde 196 amino asit olarak keşfedilmiştir. MnSOD geni 6. kromozomun uzun kolunda 6q25.3 pozisyonunda lokalize olmuştur (Şekil 1.33).



**Şekil 1.33.** SOD2 Gen Lokalizasyonu (<http://genecardsdata.blob.core.windows.net/genomic-location-v460/SOD2-gene.png>).

Kromozom 6'da yer alan insan SOD2 geninde; ekzonlar yeşil dikdörtgenlerle ifade edilirken, intronlar çizgi olarak gösterilmiştir (Şekil 1.34). MnSOD geni 11 ekzon ve 10 intron içermektedir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6648>). Gen, 10 farklı protein kodlayıcı transkript üretebilmektedir (<https://www.ensembl.org>). rs4880 MnSOD Val16Ala TNP'sinde amino asit değişimi de gösterilmektedir (Şekil 1.34).

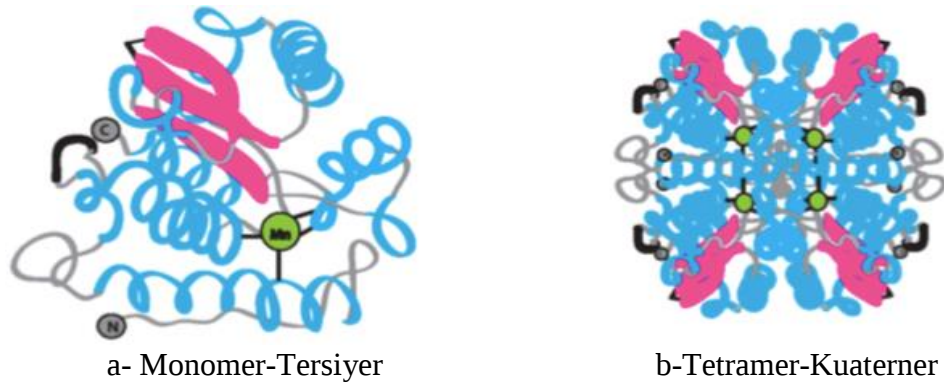


Şekil 1.34. SOD2 Geni Ekzon ve İntronlar (Mayo ve ark., 2018).

Proteinin sekonder yapısında; mitokondriyal sinyal peptidi (turuncu), enzim son dizisi (gri) ve ikincil yapılar; alfa-sarmal (mavi) ve  $\beta$ -tabakalı (pembe) şeklinde, Manganez (Mn) bağlanma noktaları yeşil renkle gösterilmiştir (Şekil 1.35). MnSOD'un monomer ve tetramer durumları da aşağıda gösterilmiştir (Şekil 1.36) (Mayo ve ark., 2018).



Şekil 1.35. MnSOD Proteinin Sekonder Yapısı (Mayo ve ark., 2018).



Şekil 1.36. MnSOD Proteinin Tersiyer ve Kuaterner Yapısı (Mayo ve ark., 2018).

SOD2 geni promoterın transkripsiyon başlatma bölgesinin 708 bp'si içinde TATA ve CAAT kutuları bulunmamakta ve onun yerine 400 bp'si içinde GC bakımından zengin (%78) bölgeler içermektedir. Bu bölgelerde spesifik protein 1 (Sp1), 3 kopya aktivatör protein 2 (AP2) (transkripsiyon faktörleri bağlanma bölgeleri)

içerir (Mayo ve ark., 2018; Akyol, 2003). Sp1 insan SOD2 geninin bazal ekspresyonu için önemli bir regülatör gibi görünmektedir (Xu ve ark., 2002). AP-2 proteinleri promoter aktiviteyi baskılayıcı rol alırken, SP-1 ise transkripsiyonu destekleyici görevde olup zıt etkilidirler (Rogers ve ark., 2000). İnterferon- $\gamma$ , lipopolisakkarit, TNF- $\alpha$  ve interlökin-1,4,6 ve antineoplastikler gibi protein C kinazı uyaranlar MnSOD ekspresyonu artırmaktadır. MnSOD geninin intron bölgelerindeki metilasyonun çeşitli kanserlerde ekspresyonu azalttığı, meme kanserli hastalarda Mn iyon konsantrasyonu yüksek hücrelerde MnSOD ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir (Akyol, 2003).

Oksidatif stresi artırdığı bilinen X-ışını, TNF (tümör nekrozis faktör), paraquat, hiperoksi ve dinitrofenolün ökaryotlarda MnSOD geninin indüklendiği, bu nedenle iyi bir antioksidan rolü olduğu kabul edilmektedir (Akyol, 2003).

MnSOD geninin farklı adlandırılmaları bulunmaktadır (Çizelge 1.10) (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SOD2>).

**Çizelge 1.10.** MnSOD Adlandırmaları

|                                                 |               |
|-------------------------------------------------|---------------|
| Indophenoloxidase B                             | IPOB/ IPO-B   |
| Mangan Süperoksidad                             | MNSOD/ Mn-SOD |
| Microvascular complications of diyabetes type 6 | MVCD6         |
| Superoxide dismutase 2                          | SOD2          |
| Mitochondrial Superoxide dismutase              | SODM          |

#### **1.4.1.2. MnSOD Geni Val16Ala T/C Tek Nükleotit Polimorfizmi (rs4880)**

İnsanlarda araştırılan en yaygın genetik mutasyon “Tek Nükleotid polimorfizmi”dir (TNP-SNP). TNP'ler tekli bazlar değiştirildiğinde veya silindiğinde ortaya çıkarak, belirli pozisyonlarda amino asitlerin modifiye edilmesine neden olur. Böylece TNP değişmiş fenotipleri meydana getirebilmektedir (Crawford ve ark., 2012).

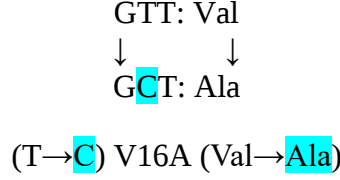
İnsanlarda Cu / ZnSOD için en az 111 TNP, ECSOD için 100 TNP ve MnSOD için ise 190 TNP tespit edilmiştir (Crawford ve ark., 2012). MnSOD, ROT'ların uzaklaştırılmasında görev aldığından, MnSOD kodlayan genin yapısal/fonksiyonel TNP'leri ROT'ların hücre seviyelerinin korunmasında büyük önem taşımaktadır.

Literatürde MnSOD'un ifadesini etkileyebilen 60., 58. ve 9. pozisyonda başlıca 3 TNP'si tanımlanmıştır. 60. pozisyonundaki mutasyon sonucunda lösin aminoasiti yerine fenilalanin aminoasiti ifade edilmekte ve redoks regülasyonundaki protein hassasiyetindeki azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Karlin ve ark., 2016). Ile58Thr TNP, amino asit sekansının 58. pozisyonundaki mutasyon sonucu Treonin (Thr) yerine İzolösin (Ile) aminoasitinin ifadesi ile karakterize olup, termal dengeyi ve enzimatik aktiviteyi düşürebilmektedir (Zhang ve ark., 1999; Borgstahl ve ark., 1996). MnSOD Ile58 formu, insan göğüs kanseri hücrelerinde Thr58 formuna kıyasla daha iyi bir tümör baskılayıcıdır (Zhang ve ark., 1999).

Literatürde en çok çalışılan MnSOD TNP'si 9. pozisyonundaki 2. Ekzonda, bir Timin (T) yerine bir Sitozin (C) ile ifade edilen yapısal mutasyon ile karakterize edilen Val16Ala'dır (Bag ve Bag, 2008). (GTT) ile ifade edilen Valin, Alanin'e (GCT) (Val16Ala) çevrilerek kodon 16'yı etkiler. Bu değişimin sonucu MnSOD'un mitokondriye geçişi etkilenebilmektedir. MnSOD'da rs4880 kodlu T/C (T→C) ve V16A (Val→Ala) olarak da ifade edilen tek nükleotid polimorfizmi 16. aminoasitte gerçekleşmektedir. MnSOD'un ilk sentezlendiğindeki sinyal peptidli prekürsörünün 9. pozisyonundaki Valin'i ifade eden GTT dizilimindeki birinci T nükleotidinin yerine C nükleotidinin geçmesiyle, GCT dizimli Alanin aminoasitinin ifade edilmesiyle tek nükleotit polimorfizmi gerçekleşmekte ve bu polimorfizm A-9V MnSOD polimorfizmi olarak da isimlendirilmektedir (Shimoda-Matsubayashi ve ark., 1996).

MnSOD'un mitokondriyal sinyal sekans (MSS) gen bölgesinde enzimin aktivitesini değiştiren bu dimorfik bölge 16. kodonda yer alır ve enzimin MSS'ında Alanin/Valin dönüşümüne yol açar. Alanin içeren MSS, primer hali  $\alpha$ -heliks yapısında olup, mitokondri içerisine engelsiz girebilir. Fakat eğer MnSOD geninde rs4880 TNP'si gerçekleşirse, Timin yerine Sitozin gelerek (GTT→GCT), MSS'nin 16. pozisyonunda Valin (V) yerine Alanin (A) geçer. Böylece enzimin sekonder yapısı değişir (Rosenblum ve ark., 1996; Shimoda-Matsubayashi ve ark., 1996). Enzimin Valin izoformunu ifade eden  $\beta$ -tabakalı yapı mitokondri içine rahat geçemez ve mitokondri iç membranınca durdurulur. MnSOD proteinin mitokondriye transportunu azalmasına, aktif enzim miktarında azalmaya, süperoksit radikallere etkin savunma yapılamayacak

olmasına (Wang ve ark., 2001b) ve mitokondriyal DNA mutasyonları görülebilmesine yol açmaktadır (Ambrosone ve ark., 1999).



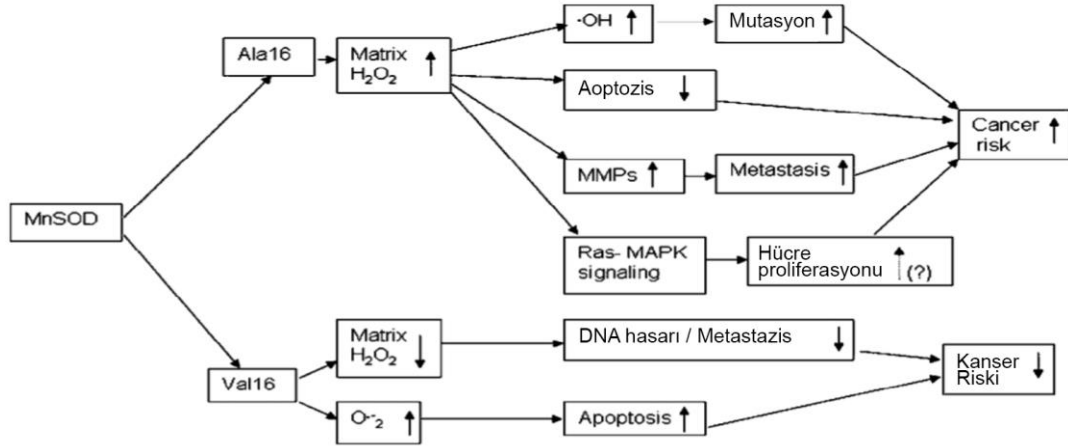
MnSOD Val16Ala' da C aleli ve T aleli ile ilişkili durumlar aşağıda verilmiştir:

**C (Ala) aleli ile ilişkili durumlar:** Genel olarak enzim aktivitesini düşürmektedir (Srivastava ve ark., 2010). Ala içeren öncünün  $\alpha$ -heliks yapısı MnSOD transportunu artırdığından mitokondride yüksek miktarda olur, Ala-MnSOD (SOD2 C (Ala), Val-MnSOD (SOD2 T (Val))'a göre mitokondriyal matrikse %30-40 daha etkin geçerek homotetramer oluşturmaktadır (Wang ve ark., 2001b; Sutton ve ark., 2003; Bresciani ve ark., 2013; Choi ve ark., 2007; Köse, 2011). Hücrel çalışmalarda CT ve TT' ye kıyasla CC'de daha düşük MnSOD bulunmaktadır (Bastaki ve ark., 2006). Ala-MnSOD mitokondri zarından düzgün bir şekilde taşınmaktadır. Kırmızı kan hücreleri ve karaciğer hücrelerinde CC'lerde %39 daha düşük MnSOD aktivitesi tespit edilmiştir (Bastaki ve ark., 2006; Martin ve ark., 2009). CC'li bireylerde ortalama katalaz aktivitesi TT'ye göre daha yüksek düzeydedir (Bastaki ve ark., 2006). Ala-MnSOD süperoksit radikallerinin dismutasyonunu artırmaktadır. Ala-MnSOD ifadesince Süperoksit anyonunun ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) uzaklaştırılması muhtemel DNA hasarını engelleyeceğinden, Ala-MnSOD'la ifade eden “C” aleli kanser riskini azaltır şeklinde ifade edilebilmektedir (Köse, 2011). Ancak reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) de toksik olup, onun uzaklaştırılmaması da kanser riskini artıracığından, Ala-MnSOD “C” kanser riskini artırıyor da denilebilmektedir (Choi ve ark., 2007).

**T (Val) aleli ile ilişkili durumlar:** T alelli Tip1-diyabetli bireylerde artmış böbrek problemleri gözlenmektedir (Mohammedi ve ark., 2014). Val öncülerinin  $\beta$ -tabakalı olması MnSOD transportunda azalmaya neden olur ve süperoksitleri uzaklaştıramazlar (Wang ve ark., 2001b). Val-MnSOD mitokondri zarından taşınırken

bir kısmı mitokondri membranında tutulur. Val-MnSOD'da mitokondride ROT savunmasında azalma olur.

MnSOD Val16Ala polimorfizminde Ala ve Val alel durumlarında olası muhtemel ROT yolakları ve sonuçları Şekil 1.37’de ifade edilmektedir (Bag ve Bag, 2008).



**Şekil 1.37.** İnsan MnSOD Geninin Val16Ala Polimorfizmi ile İlişkili Olarak ROT Aracılı Olası Kanser Risk Mekanizmaları (Bag ve Bag, 2008).

Etnik köken genetik polimorfizmlerin önemli bir belirleyicisidir. MnSOD için gendeki alellik varyasyonlarının dağılımı dünyada çeşitli etnik gruplarda çalışılmıştır (Çizelge 1.11) (<https://www.selfdecode.com/snp/rs4880>).

**Çizelge 1.11.** MnSOD Genindeki Genel Alelik Varyasyon Dağılımı.

|            | CC (%) | CT (%) | TT (%) |
|------------|--------|--------|--------|
| Avrupa     | 22,7   | 47,9   | 29,4   |
| Doğu Asya  | 34,6   | 47,6   | 17,9   |
| Güney Asya | 1,4    | 22,2   | 76,4   |
| Afrika     | 26,2   | 49,3   | 24,5   |
| Amerika    | 18     | 48,7   | 33,3   |
| Genel      | 19,5   | 43,2   | 37,3   |

#### 1.4.1.3. MnSOD Geni Val16Ala T/C TNP ile İlişkilendirilen Hastalıklar

Birçok çalışma, MnSOD'un nörotoksik koşullara, bazı tümörlere, kardiyovasküler hastalıklara ve diyabetik nedenli anormalliklere karşı koruma sağlayabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, O<sub>2</sub> metabolizmasındaki dikkat çekici rolü dikkate alındığında, MnSOD Val16Ala TNP'nin insan hastalıklarıyla olan ilişkisini ortaya çıkarmak için pekçok çalışma yapılmıştır. MnSOD gen polimorfizminin farklı toplumlarda kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi çalışılmıştır: Bu polimorfizmle kan basıncı/hipertansiyon (Zalba ve ark., 2001; Gongora ve ark., 2006; Song ve ark., 2004; Hsueh ve ark., 2005), ateroskleroz (Kardia ve ark., 2008; Tedgui ve Mallat, 2006; Ballinger ve ark., 2002; Dikalova ve ark., 2010), kardiyomiyopati (Valenti ve ark., 2004), LDL düzeyleri (Gottlieb ve ark., 2005; Kakko ve ark., 2003), miyokard enfarktüs (Fujimoto ve ark., 2008) arasında ilişki araştırılmıştır. Alkol intoksikasyonu, hemokromatoz ve kronik hepatit gibi karaciğer hastalıkları ve MnSOD geni ile ilişkiler farklı toplumlarda çalışılmıştır (Kukielka ve Cederbaum, 1989; Kukielka ve ark., 1994; Parola ve Robino, 2001; Bomford, 2002). Bunlardan hepatosit apoptozu ve karaciğer hasarına (Mauriz ve ark., 2003; El-Koofy ve ark., 2011) Alkol kaynaklı oksidatif stres (Stewart ve ark., 2002), hemokromatozlu ve kronik hepatit C'li (Stickel ve ark., 2005), alkol etkili sirozda hepatosellüler karsinoma (HCC) (Sutton ve ark., 2006) ile MnSOD polimorfizmi arasında ilişki araştırılmıştır. MnSOD gen polimorfizmi ile diyabet arasındaki ilişki farklı toplumlarda çalışılmıştır: Bu polimorfizmle diyabetik retinopati (Hovnik ve ark., 2009; Kangas-Kontio ve ark., 2009), son dönem böbrek yetmezliğine yol açan diyabetik nefropati (Nomiya ve ark., 2003; Möllsten ve ark., 2007; Möllsten ve ark., 2009) ve diyabetik nöropati (Strokov ve ark., 2003), diyabet komplikasyonları (Giacco ve Brownlee, 2010; Rains ve Jain, 2011), glikoz intoleransı (Nakanishi ve ark., 2008) arasında ilişki araştırılmıştır. Kanser ve MnSOD polimorfizmleri üzerine farklı toplumlarda çalışmalar yapılmıştır. MnSOD polimorfizmi ile göğüs (Bica ve ark., 2009; Bica ve ark., 2010; Ambrosone ve ark., 1999), prostat (Bica ve ark., 2009; Kang ve ark., 2007), mesane (Kucukgergin ve ark., 2012), pankreatik kanser (Wheatley-Price ve ark., 2008), akciğer kanseri (Zejnilovic ve ark., 2009; Liu ve ark., 2004; Slanger ve ark., 2006), akut miyeloid lösemi (Koistinen ve ark., 2006), meme kanseri ve hepatosellüler kanser arasında ilişkiler araştırılmıştır. MnSOD ile diğer hastalıklar arasında ilişkiler

araştırılmıştır: Bunlardan obezite (Montano ve ark., 2009), açık kalp cerrahisinde IL-6 üretimi (İsbir ve ark., 2008), proinflatuar sitokinleri tetiklenmesi (Montano ve ark., 2012) ile MnSOD polimorfizmi arasındaki ilişki olup olmadığı gibi çalışmalar yapılmıştır. Hsueh ve ark.'nın (2005) Tayvan'da yaptıkları çalışmada As'ye maruz kalanlarda oksidatif stresin indüklenmesi nedeniyle SOD2 TNP'si ve hipertansiyon arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

#### 1.4.2. p22phox

p22phox proteini membrana bağlı fagosit NADPH oksidaz enziminin temel bileşenlerinden biri olup, ilk olarak nötrofiller gibi fagositik hücrelerde tanımlandığı için “insan nötrofil sitokrom b-245 alfa zinciri” olarak da bilinmektedir (Şekil 1.38) (Dinauer ve ark., 1990). Phox eki ise fagosit oksidaz anlamında kullanılmaktadır (Segal ve ark., 2011). Sitokrom b-245 alfa zincir proteinini yapmak için CYBA genince talimat verilir. Bu protein, bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan NADPH oksidaz adı verilen bir enzim kompleksi oluşturan protein grubunun parçasıdır (Köker ve Avcılar, 2012).



Şekil 1.38. NADPH-Oksidaz Enzim Ailesi ve p22phox (Köker ve Avcılar, 2012).

Memelilerde NADPH oksidaz plazma membranına bağlı çok kompleks bir heteroprotein olup NOX ailesi olarak da adlandırılmaktadırlar. NADPH oksidazlar çok hücreli ökaryotik canlılarda bulunan, önemli biyolojik fonksiyonlara sahip ROT üretimine neden olan redoks enzimlerindendir (Nauseef, 2008). İmmün sistemde önemli rol oynayan NADPH oksidaz (NOX) ailesi ilk olarak fagositlerde

tanımlandığından tamamen savunmada işlevsel olduğu düşünülmüştür. NADPH oksidaz fagositlerde ROT'un ana kaynağı olarak bilinmektedir. NADPH oksidazlar fagositler olarak adlandırılan bağışıklık sistemi hücrelerinde aktiftir (Smirnov ve ark., 2014). NADPH oksidazlar nötrofiller, eozinofiller, monositler, makrofajlar ve mast hücreleri gibi fagositik hücrelerde üretilirler ve serbest radikallerle antimikrobiyal savunmada görev alırlar (Bernard ve ark., 2014). Bu hücreler bakteri ve mantar gibi yabancı istilacıları yakalar ve yok eder. NADPH oksidazın nötrofiller olarak adlandırılan bağışıklık hücrelerinin aktivitesini de düzenlediği düşünülmektedir. Ayrıca fagositik NADPH oksidaz pH ve iyon akışı değişimlerini üreten endositoz tarafından oluşturulan vakuolün içindeki ve dışındaki iyonları da yönlendirmektedir (Segal, 2008). Bu hücreler iyileşmeyi en iyi hale getirmek ve vücudun yaralanmasını azaltmak için iltihaplanma tepkisinin ayarlanmasında rol oynar.

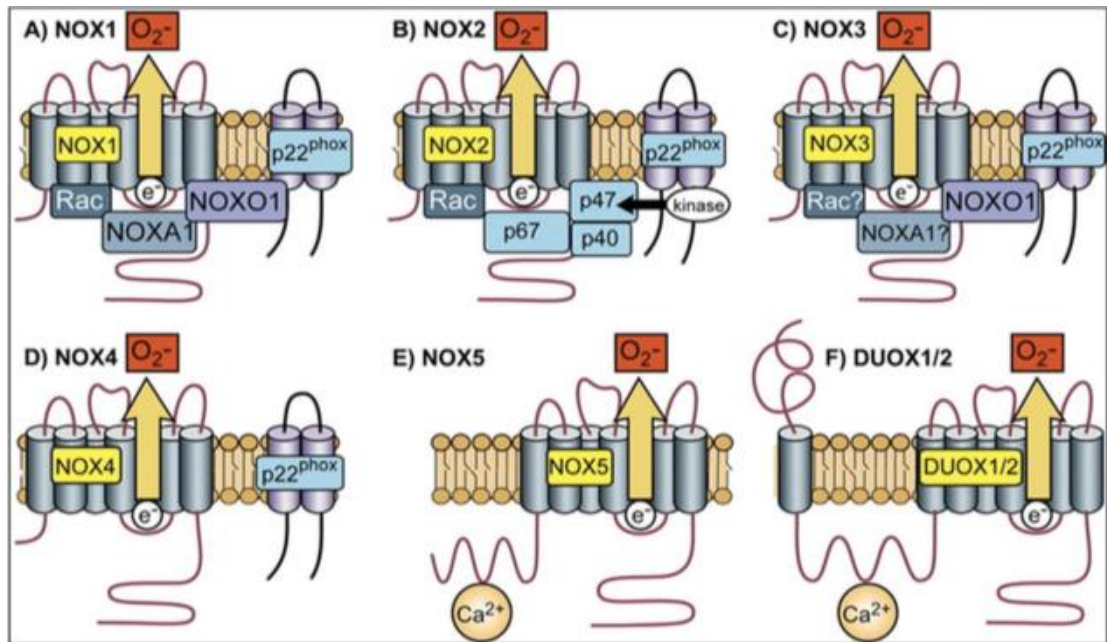
Yabancı işgalcilerin varlığı, fagositleri uyarır ve NADPH oksidazın toplanmasını tetikler. Fagositik NADPH oksidaz uyarılarak aktifleşerek süperoksit anyonları üretmektedir (Holland, 2010). Fagositoz ile fagozomlarda proteolitik yıkım sonrası süperoksit ve reaktif oksijen ara ürünleri oluşmaktadır (Stasia ve Li, 2008). ROT lardan biri olan süperoksit anyon fagositik hücrelerin antimikrobiyal aktivitesi için önem teşkil etmektedir. Bu enzim, oksijeni oldukça toksik olan süperoksite ( $O_2^{\cdot-}$ ) dönüştüren bir kimyasal reaksiyona katılır. Mitokondri harici oksijen tüketiminin artmasıyla solunum patlaması meydana gelir ve uyarıcı (bakteri) ortadan kaldırılır. Fagositoz sırasında 20 kata kadar oksijen alımları olmakta ve mitokondrilerdeki kullanılmayan oksijen fazlası, solunum patlamasına neden olmaktadır. NADPH oksidaz enzimi solunum patlamasından sorumlu enzimdir ve hidrojen peroksit, süperoksit anyonu ve hidroksil radikalleri oluşumuna neden olmaktadır. Süperoksit, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hipokloröz asit ( $HOCl$ ) de dahil olmak üzere birkaç farklı bileşik üretmek için kullanılır. Bu oldukça reaktif toksik maddeler, reaktif oksijen türleri olarak bilinirler. Fagositler, bu maddeleri, yabancı işgalcileri öldürmek için kullanır ve böylece vücutta üremesini ve hastalık oluşmasını önler.

Ancak güncel çalışmalar NADPH oksidazların fagositik hücrelerde bulunduğu gibi non-fagositik hücrelerde ve dokularda da bulunduğunu göstermiştir (Brandes ve Kreuzer, 2005; Bedard ve Krause, 2007). Bunların fagositik olanlara göre işlevsel

farklılıkları bulunmaktadır (Zhang ve ark., 2016). Non-fagositik NADPH oksidazlar temelde aktif enzimler olup, yavaş ve sürekli hücre içi süperoksit anyonu üretirler ve transkripsiyon faktörleri, inflamasyon ve hücre büyümesindeki molekülleri etkileyen sinyal molekülü gibi davranmaktadırlar (Cosentino ve ark., 2008). NADPH oksidazlar çekirdek, endoplazmik retikulum, endozomlar, fagozomlar, mitokondri ve hücre dışı boşluklarda eksprese edilmektedir (Lassègue ve Griendling, 2010). Fagositik olmayan NADPH oksidazlar hemen hemen her vücut organında sinyal iletimi, hücre proliferasyonu-farklılaşması, proteinlerin posttranslasyonel işlenmesinde fizyolojik olarak görev almaktadırlar (Amanso ve Griendling, 2012; Lassègue ve ark., 2012).

NADPH oksidaz kompleksleri NADPH'tan moleküler oksijene 1 elektron transfer ederek, reaktif oksijen ve nitrojen türleri için öncül olan süperoksit anyon oluşturmaktadır. Fibroblastlarda, osteoklastlarda, düz kas hücreleri ve nörositler gibi pek çok hücrede bu şekilde ifade edilip fonksiyoneldir.

ROT'lar, NOX proteini vasıtasıyla NADPH oksidaz tarafından üretilir. Böylece diğer oksidazlardan farklılaşırlar. NOX ailesi ekstrasellüler dış yüzeyde 7 homolog yapıdan oluşmaktadır: NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5 ve ikili oksidaz olan Duox1, Duox2 (Şekil 1.39) (Lassègue ve ark., 2012; Sumimoto, 2008).

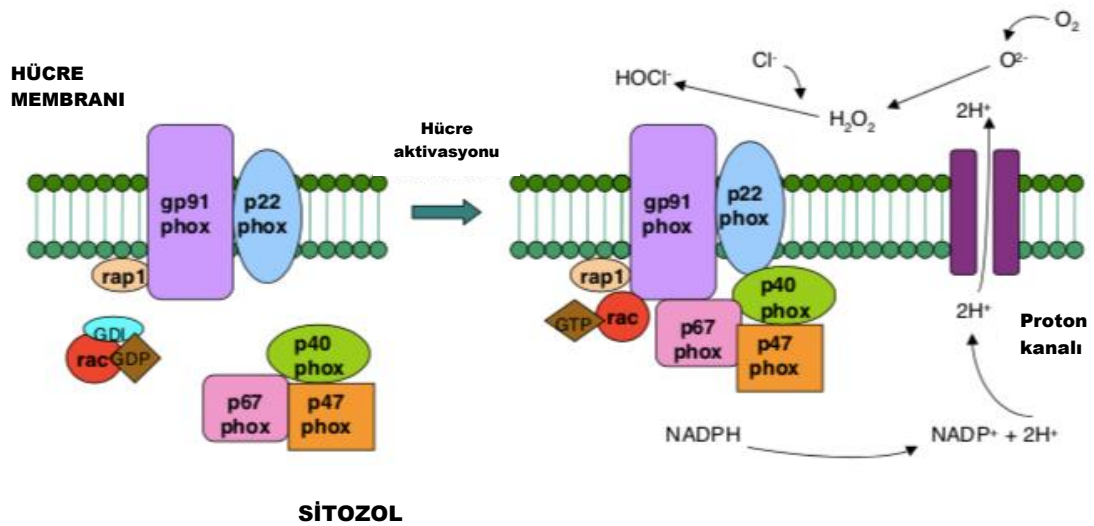


Şekil 1.39. NADPH-Oksidaz Ailesi (Morry ve ark., 2017).

NOX'ların katalitik alt birimleri p67phox, p40phox, p47phox, p22phox, p91phox ve Duox1-2'dir. Bu altbirimlerden membran bağlantılı olanlar gp91phox ve p22phox iken, sitozol bağlantılılar p47phox, p67phox, p40phox ve Rac1/2 alt birimleridir. NOX'ların bazıları membran proteinleri olup, katalitik fonksiyonları varken; bazıları ise sitozolik yerleşimli olup, düzenleyici fonksiyonlara sahiptirler (Çizelge 1.12) (Panday ve ark., 2015). Bu alt birimler normalde hücrede dağılmış halde bulunurlar, ancak uyarıldıklarında sitozolik altbirimler biraraya gelirler ve fagozom ya da plazma membranında integral membran proteinleriyle enzim kompleksi oluştururlar (Şekil 1.40) (Cross ve Segal, 2004).

**Çizelge 1.12.** NADPH Oksidaz Altbirimleri ve Özellikleri (Köker ve Avcılar, 2012).

|           | Gen  | Kromozom | Lokalizasyon | Ekzon | A.a. uzunluğu | Bp     | Genotip | İnsidans |
|-----------|------|----------|--------------|-------|---------------|--------|---------|----------|
| gp91-phox | CYBB | Xp21.1   | Membran      | 13    | 570           | 30kb   | X91,X-R | %60      |
| p22-phox  | CYBA | 16q24.2  | Membran      | 7     | 195           | 8,5kb  | A22,OR  | %5       |
| p47-phox  | NCF1 | 7q11.23  | Sitozol      | 11    | 390           | 15,3kb | A47,OR  | %30      |
| p67-phox  | NCF2 | 1q25     | Sitozol      | 16    | 526           | 40kb   | A67,OR  | %5       |



**Şekil 1.40.** NADPH-Oksidaz Altbirimlerinin Dinlenme ve Aktif Durumları (Assari, 2006).

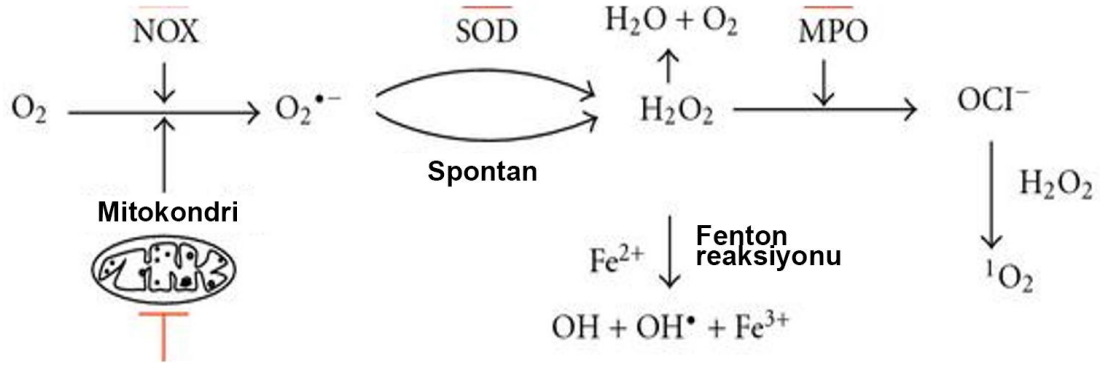
NOX 1, NOX 2, NOX 3 ve NOX 4'ün katalitik altbirimleri, ortak bir enzim aktive edici alt birim olan p22phox ( $\alpha$ -alt birim) ile makromoleküler kompleks oluşturmaktadır. NOX1 aktivitesi için p22phox, NOXO1 ve NOXA1 ve küçük GTPase

Rac gerektirir (Şekil 1.39.A) (Ambasta ve ark., 2004; Hanna ve ark., 2004; Kawahara ve ark., 2005). NOX2 için p22phox, p47phox, p67phox ve Rac gerekmektedir (Şekil 1.39.B). NOX3 için p22phox ve NOXO1 gerekmektedir (Şekil 1.39.C). NOX4 için ise p22phox gerekir, diğer sitozolik alt birimlere gerek kalmadan yapısal olarak aktiftir (Şekil 1.39.D). NOX5, Duox1 ve Duox2 p22phox'dan bağımsız izoformlardır.  $Ca^{2+}$  tarafından aktive edilir ve alt birimler gerektirmez (Şekil 1.39.E. ve 1.39.F). Duox1 ve Duox2 peroksidaz alanlarına sahiptir. Bu alanlar süperoksit anyonların hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen peroksidazlarla homologilerinden dolayı bu şekilde adlandırılmışlardır (Segal, 2008). Bu nedenle, bu izoformların her biri, NADPH-oksidadaz (NOX) olarak adlandırılan çekirdek bir katalitik altbirim, iki çift oksidadaz altbirimi (Duox) ve 5 düzenleyici altbirimden oluşmaktadır.

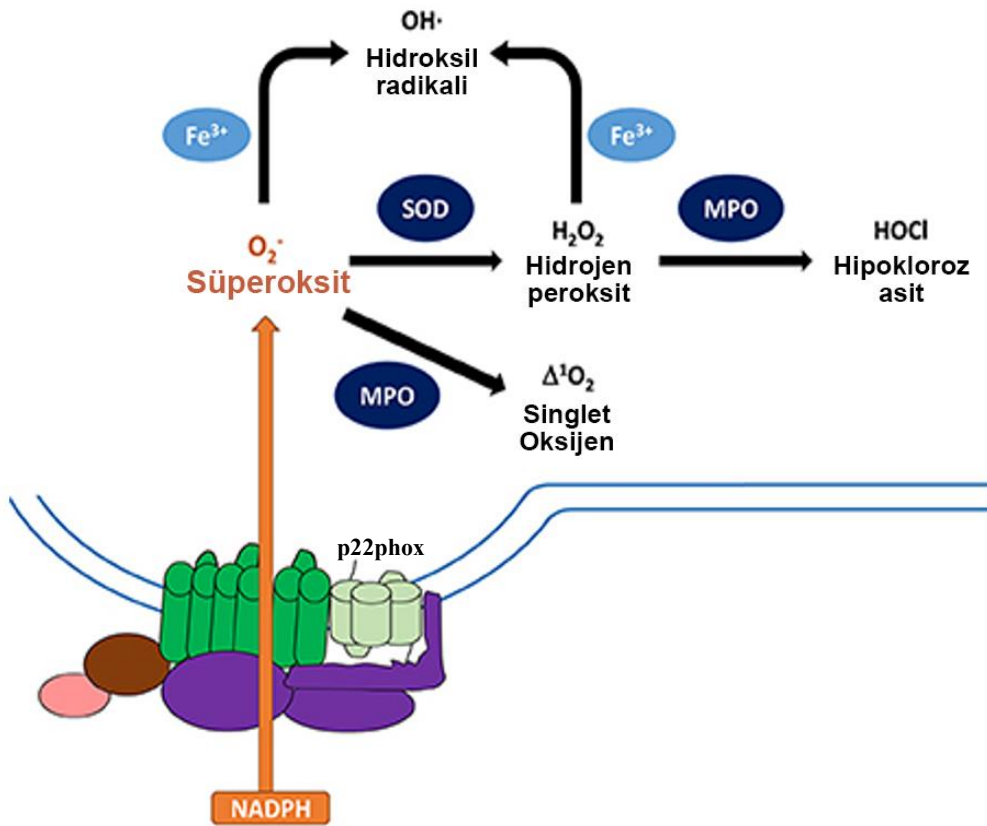
NOX'lar normal fizyolojik sistem için gereklidirler. NADPH oksidadazlar memeli dokularında yaygın eksprese edilmektedirler. NOX enzimleri diğer ROT üreten sistemlerle dolaylı da olsa redoks sinyalleme başlatıcıları ve toplayıcıları olarak görev yapmaktadır. NOX'ların lokalizasyonları, ekspresyon patternleri, katalitik alt birimlerin yapısı, enzim aktivasyon mekanizmaları ve ROT üreten katalitik mekanizmaları ile ayrımı yapılmaktadır (Nauseef, 2008; Schram ve ark., 2012; Takac ve ark., 2012; Rodiño-Janciro ve ark., 2013).

NOX izoformları dokular ve türler arasında farklı dağılım göstermektedirler. NOX proteinleri; hücre büyümesi, farklılaşma, apoptozis ve sitoskeletal biçimlendirmesi gibi süreçlerde görev almaktadır. Genel olarak NOX2 konak savunması (Rada ve ark., 2008), NOX3 kulakta kulak kristallerinin formasyonunda, Duox2 tiroit hormonunun iyotlanması ve NOX2 vasküler tonusu kontrolü gibi çeşitli görevlerde yer almaktadır. Kronik granulomatoz hastalığı (KGH) olan ve p22phox eksikliği bulunan bireylerde Nox2 proteinlerinin saptanamaması sonucu p22phox geninin NADPH-Oksidadaz için önemi anlaşılmıştır.

NOX'lar bir elektronun bir oksijen molekülüne aktarılmasıyla ROT üreten transmembran flavoproteinlerdir, süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet -}$ ) ile sonuçlanır, bu da kendiliğinden (düşük pH ile) veya katalitik olarak (SOD ile)  $H_2O_2$ 'ye dönüştürülmektedir (Şekil 1.41, 1.42) (Morry ve ark., 2017).



Şekil 1.41. NOX Aktivasyonu ve ROT Metabolizması



Şekil 1.42. NADPH-Oksidaz Aktivasyonu ve ROT Metabolizması (Nguyen ve ark., 2017).

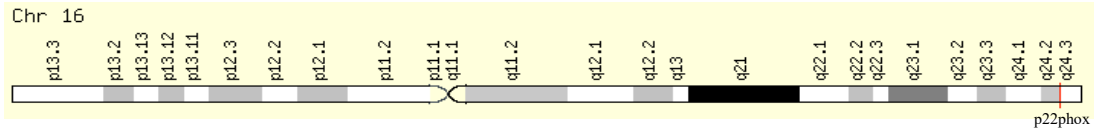
Hücrede SOD varlığında, NOX ile üretilen  $O_2^{\bullet-}$ 'den ya da NOX4 durumunda, enzimden süperoksitin serbest bırakılmasından önce hızlıca  $H_2O_2$  oluşmaktadır (Dikalov ve ark., 2008).

p22phox küçük alt birim NOX (NADPH oksidaz) sisteminin membran boyunca elektron transportunda görev almaktadır. p22phox enzimi, oksijenden bir elektron

indirgenip süperoksit anyonu üretmek için NADH ya da NADPH yi elektron donörü olarak kullanmaktadır (Şekil 1.40) (Xu ve ark., 2014). p22phox, NADPH-oksidad alt birimlerin etkileşiminde önemli rol oynar ve aminoasit kalıplarındaki herhangi bir fark, yeni aminoasitin elektroforetik karakteristiğinde ve dolayısıyla diğer altbirimlerde kompleks oluşturarak proteinin globuler formasyonunu değiştirebilmektedir. p22phox gen ekspresyonunun artması, genin fonksiyonlarını doğrudan etkilemektedir ve p22phox geninin fonksiyonlarındaki değişiklik, NADPH oksidad sistemini ve oluşan serbest oksijen radikal miktarını etkileyebilmektedir (Ding ve ark., 2007).

#### 1.4.2.1. p22phox Gen Yapısı

Membran bağımlı bir komponent olan p22phox CYBA (sitokrom b  $\alpha$ -subunit) geninde kodlanmaktadır (Roos ve ark., 1996). p22phox, kromozom 16q24.2’de lokalize olan 195 aminoasitlik bir proteini kodlamaktadır (Şekil 1.43) (Homo sapiens Annotation Release 108, GRCh38.p7, NCBI). p22phox geni 7 ekzondan oluşmaktadır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1535>). Prolince zengin alanlar ihtiva edip, yaklaşık 8,5 kb uzunluğundadır (Dinauer ve ark., 1990; Köker ve ark., 2009).



Şekil 1.43. p22phox Gen Konumu (<http://www.genecards.org/cdn/genomic-location/CYBA-gene.png>).

p22phox geninin farklı adlandırılmaları bulunmaktadır (Çizelge 1.13).

Çizelge 1.13. p22phox Geni Adlandırmaları (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYBA#synonyms>).

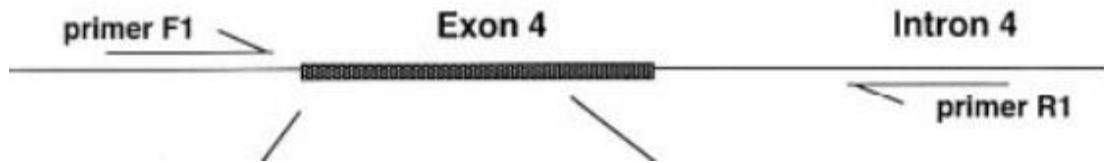
|                                            |                                                         |                                         |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>CYBA</b>                                | cytochrome b-245 light chain                            | cytochrome b light chain                |
| p22phox                                    | cytochrome b-245, alpha polypeptide                     | cytochrome b (558) alpha chain          |
| cytochrome b, alpha polypeptide            | cytochrome b558 subunit alpha                           | flavocytochrome b-558 alpha polypeptide |
| neutrophil cytochrome b 22 kDa polypeptide | superoxide-generating NADPH oxidase light chain subunit | CY24A_HUMAN                             |

p22phox geninin promoter ve ekzonik kısımlarında önemli sayıda genetik polimorfizimler tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları gen ekspresyonunu ve NADPH oksidaz aktivasyonunu etkileme yetenekleri sayesinde kişiler arasındaki oksidatif strese belirgin fonksiyonel varyasyonlara yol açmaktadır (Fang ve ark., 2010; Genius ve ark., 2008; Santos ve ark., 2005).

#### 1.4.2.2. p22phox Geni C242T (His72Tyr) Tek Nükleotit Polimorfizmi

p22phox geninde C242T, A640G, C549T, A930G, A675T, C852G, C536T gibi çeşitli TNP'ler tanımlanmıştır (San Jose ve ark., 2008; Mehranpour ve ark., 2009; Fearheller ve ark., 2009; Xu ve ark., 2014; Meijles ve ark., 2016). 65 mutant alele sahip p22phox geninde 19 farklı missense mutasyon gözlemlendiği bildirilmiştir (Köker ve Avcılar, 2012).

p22phox'ta en çok çalışılan TNP'lerden biri de C242T polimorfizmidir. C242T tek nükleotit polimorfizmi p22phox geninin 4. ekzonun (Şekil 1.44) 72. kodonunda Sitozin (C) bazı yerine Timin (T) bazının gelmesiyle; Histidin (Şekil 1.45) aminoasitinin yerine Tirozin (Şekil 1.46) aminoasiti oluşumuyla gerçekleşmektedir (Dinauer ve ark., 1990; Roos ve ark., 1996). Bu TNP, p22phox His72Tyr (H72Y), p22phox C242T ifadeleriyle ve rs4673 koduyla adlandırılmaktadır.



Şekil 1.44. p22phox Geninin 4. Ekzonu

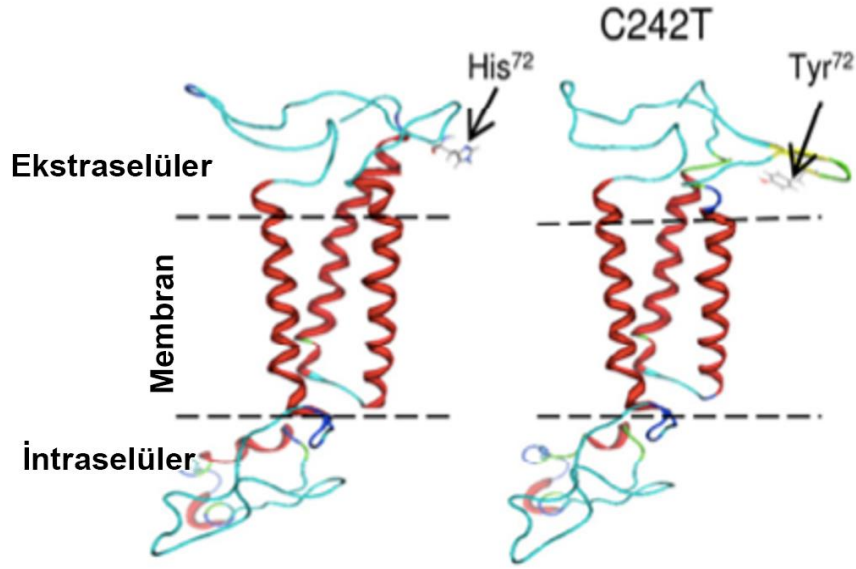
— ctccctccccagGGGACAGAAGCACATGA —

Şekil 1.45. p22phox Geni 4.Ekzonun 72.kodonunda “CAC” =Histidin Aminoasiti. p22phox His72

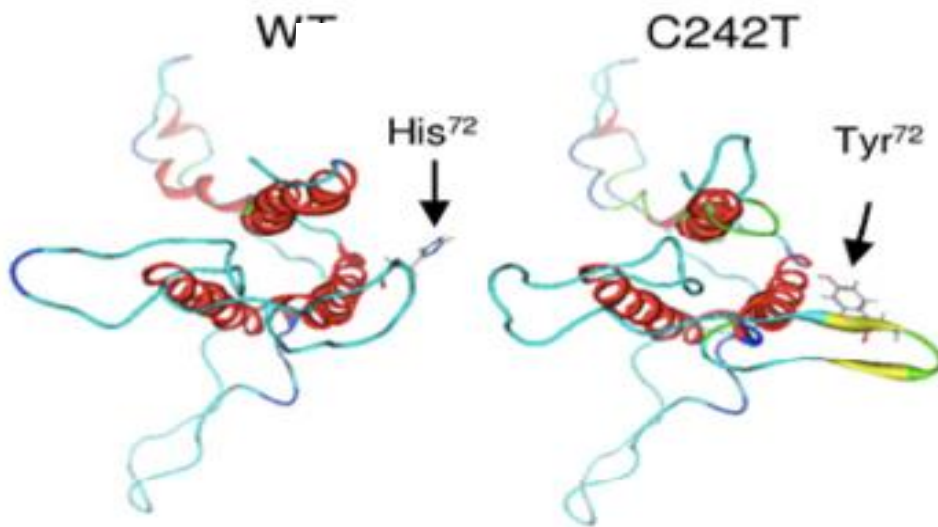


**Şekil 1.46.** p22hox Geni 4.Ekzonun 72.kodonunda “TAC” =Tirozin aminoasiti. p22hox 72Tyr

Aşağıdaki şekillerde p22phox geni ve bu genin C242T TNP'sinin (p22phox His72Tyr Polimorfizmi) omurga yapısal farklılıkları karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Şekil 1.47, 1.48).

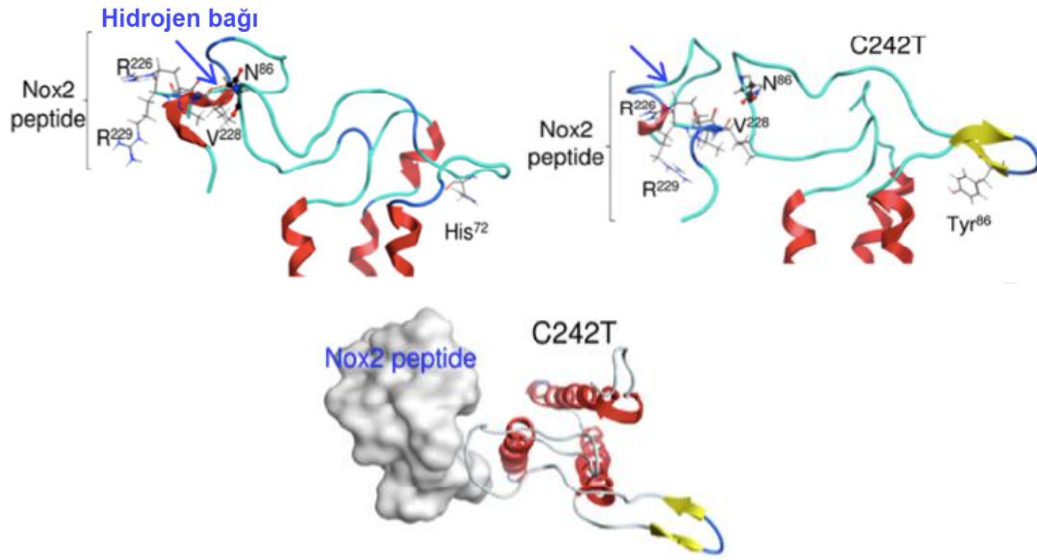


**Şekil 1.47.** p22phox Protein Omurgaları. His72 ve 72Tyr C242T-TNP (Meijles ve ark., 2016).

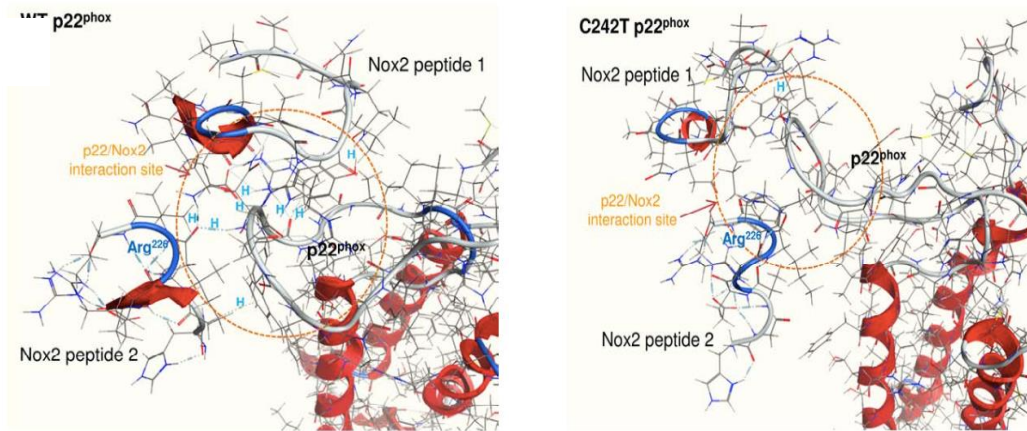


**Şekil 1.48.** p22phox Proteini Üstten Görünüm. His72 ve 72Tyr C242T-TNP (Meijles ve ark., 2016).

Meijles ve arkadaşları (2016) bilgisayarlı modelleme kullanarak yaptıkları çalışmada C242T TNP'sinde yapısal farklılıklar tespit etmişlerdir (Şekil 1.49). p22phox His72 NOX2 peptitleri ile hidrojen bağları oluşturmaktadır. Arg226 bu bağların stabilizasyonu için çok önemlidir. Ancak polimorfik (C242T/72Tyr) p22phox'taki yapısal değişiklikler NOX2 ile önemli hidrojen bağları oluşturmamasını engellemektedir (Şekil 1.50). Oluşan kararsız bir bağlanma, daha az stabilizasyona neden olmaktadır. Böylece Nox2 proteinin kolay yıkımına yol açabilir. Nox2 ve p22phox arasındaki etkileşimin inhibisyonu endotelial hücrelerde Nox2 aktivasyonunu azaltabilmektedir (Meijles ve ark., 2016). Bu da TT (72Tyr) bireylerde düşük NOX2 seviyelerini açıklamaktadır.



Şekil 1.49. Nox2 ile p22phox'un Etkileşimleri. His72 ve 72Tyr C242T (Meijles ve ark., 2016).



Şekil 1.50. Nox2 Proteinleri ile p22phox'un H Bağlarıyla Stabilizasyon Farkları (Meijles ve ark., 2016).

p22phox'un heme bağlanmasını etkileyerek, C242T polimorfizmi CV hastalıklarının gelişme riskinin değişimi ve farklı düzeylerde ROT üretimi ile ilişkili olarak NADPH oksidazın varyantları üretilebilmektedir (Wyche ve ark., 2004; Guzik ve ark., 2000).

p22phox His72Tyr (C242T)'de T aleli ve C aleli ile ilişkili durumlar aşağıda verilmiştir (<https://www.selfdecode.com/snp/rs4673/>):

**T Aleli ile ilişkili durumlar;** Genel popülasyonda %34'le ifade edilmektedir. Çalışmalarda kardiyovasküler hastalıklarla ve koroner arter hastalıklarıyla (Cahilly ve ark., 2000) ilişkili alel olarak ifade edilmektedir. Serebral iskemide TT genotipine sahip bireyler, diğer TC ve CC genotipli bireylere oranla 3,9 kat daha riskli bulunmuşlardır (Genius ve ark., 2008). T aleli varlığı NADPH-oksidadz aktivitesini azalmaktadır. Bu da oksidatif stresi artırmaktadır. Ancak Asya popülasyonlarındaki çalışmalarda T aleli koroner arter hastalıklarındaki riskte azalmayla kendini göstermektedir (Fang ve ark., 2010).

**C Aleli ile ilişkili durumlar;** Genel popülasyonda %66 ile ifade edilmektedir. CC genotipli bireylerde NADPH-oksidadz enzim düzeyleri daha yüksektir. Uyku apnesinde CC genotipli bireylerde artmış nörobilişsel eksiklikler ortaya çıkmıştır (Gozal ve ark., 2012).

Etnik köken genetik polimorfizmlerin önemli bir belirleyicisidir. p22phox için gendeki alellik varyasyonlarının dağılımı dünyada (Çizelge 1.14) çeşitli etnik gruplarda çalışılmıştır (Castejon ve ark., 2006; Nasti ve ark., 2002; Inoue ve ark., 1998; Li ve ark., 1999; <https://www.selfdecode.com/snp/rs4673/>).

**Çizelge 1.14.** Etnik Gruplara Göre p22phox Frekansları(<https://www.selfdecode.com/snp/rs4673/>).

|              | TT (%)      | TC (%)      | CC (%)      |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Avrupa       | 10,5        | 47,3        | 42,1        |
| Doğu Asya    | 0,8         | 15,3        | 83,9        |
| Güney Asya   | 15,7        | 43,6        | 40,7        |
| Afrika       | 24,8        | 52,1        | 23,1        |
| Amerika      | 10,1        | 41,2        | 48,7        |
| <b>Genel</b> | <b>13,3</b> | <b>40,5</b> | <b>46,2</b> |

#### 1.4.2.3. p22phox Geni C242T TNP ile İlişkilendirilen Hastalıklar

p22phox geni NADPH-oksidaz enzim sisteminde membran boyunca elektron transportundan sorumlu olup, NADPH-oksidaz'ın diğer alt birimleri olan p40phox, p47phox, p67phox ve p91phox'la birlikte fagositozda hücre savunmasında da görev almaktadır (Cross ve Segal, 2004). p22phox genindeki polimorfizmler NADPH-oksidaz sisteminde enzim aktivitesini değiştirebilmekte, p22phox'un heme bağlanmasını etkilemekte ve serbest oksijen radikallerinden süperoksit radikallerin oluşumunu da artırabilmektedir (Santos ve ark., 2005; Fang ve ark., 2010). Organizmada çeşitli nedenlerle reaktif oksijen türlerinin artmasıyla oksidatif stres artmakta ve hücre, doku, organ ve sistem bazında hasarlar meydana gelmektedir. NADPH-oksidaz enzim sisteminin elektron transportunda görevli alt birimlerden olan p22phox genindeki C242T polimorfizmi NADPH-oksidazın diğer altbirimleri olan p40phox, p47phox, p67phox ve p91phox'un enzim kompleksi oluşturmasını etkileyerek, farklı düzeylerde ROT üreten NADPH-oksidaz varyantlarına neden olmaktadır (Rafiq ve ark., 2014). Alt birimler biraraya gelemediği için enzim aktivitesini de değiştirmektedir (Inoue, 1998; Wolin MS, 2000). p22phox His72Tyr polimorfizmi sonucu proteinde gerçekleşen yapısal ve işlevsel değişiklikler kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon ve endotel fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (Cahilly ve ark., 2000; Gardemann ve ark.,1999; Guzik ve ark., 2000; Inoue ve ark.,1998; Moreno ve ark., 2006).

p22phox C242T (His72Tyr) TNP'nin insan hastalıklarıyla ilişkisini araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. p22phox genindeki C242T polimorfizmi NADPH oksidaz enzim aktivitesini etkileyerek vaskülatürdeki ROT üretimini düzenlediği için (Guzik ve ark., 2000; Castejon ve ark., 2006; Nasti ve ark., 2002), bu genetik polimorfizmin varlığı başlıca hipertansiyonlu hastalarda, vasküler disfonksiyonun önemli bir belirleyicisi olabileceği ifade edilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada bu polimorfizmin CC genotipini taşıyan hipertansif bireylerin, NADPH oksidaz aracılı oksidatif stres ve endotel hasarının özelliklerini sergilediği gözlenmiştir (Moreno ve ark., 2006).

p22phox geni His72Tyr polimorfizmi ile farklı toplumlarda hipertansiyon-kan basıncı (Ji ve Pan, 2003; Wyche ve ark., 2004; Pang, 2004; Hsueh ve ark., 2005; Moreno

ve ark., 2006; Wang, 2007; Kuznetsova ve ark., 2008; Fearheller ve ark., 2009; Schreiber ve ark., 2011, 2012, 2013; Petrovic, 2014; Rafiq ve ark., 2014) arasındaki ilişki araştırılmıştır. Koroner arter hastalıkları (Inoue ve ark., 1998; Zafari ve ark., 2002; Murase ve ark., 2004; Fortuna ve ark., 2005; Fang ve ark., 2010; Najafi ve ark., 2012; Xu ve ark., 2014); ateroskleroz (Guzik ve ark., 2000), serebrovasküler hastalıklar (Shimo-Nakanishi ve ark., 2004; Genius ve ark., 2008; Li ve ark., 2013) ve kardiyovasküler hastalıklar (Ito ve ark., 2000; He ve ark., 2007; Katakami ve ark., 2010; Hu ve ark., 2015) ile p22phox His72Tyr polimorfizmi arasında ilişkiler araştırılmıştır. p22phox His72Tyr polimorfizmi ile nefropati ve diyabetik nefropati (Hodgkinson ve ark., 2003; Santos ve ark., 2005; Lim ve ark., 2006; Liu ve ark., 2006; Yang ve ark., 2006; Li ve ark., 2017) arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Astım (Izakovicova ve ark., 2009) ve His72Tyr polimorfizmi arasında ilişkiler araştırılmıştır. His72Tyr polimorfizmi ve uyku apnesi (Pierola ve ark., 2011; Gozal ve ark., 2012) arasında ilişkiler araştırılmıştır (Satsangi ve ark., 1998; Santos ve ark., 2005; Genius ve ark., 2008). Kronik Granülomatoz Hastalık (CGD) (Segal ve ark., 2009; Babacan, 2011; Filiz ve ark., 2013) ve His72Tyr polimorfizmi arasında ilişki araştırılmıştır. His72Tyr polimorfizmi ve lösemi (Gonçalves ve ark., 2015) çalışmaları yapılmıştır. Yaşlanma (Kayaaltı ve ark., 2013) ve His72Tyr polimorfizmi çalışmaları yapılmıştır. NOX'lar ve çalışılan hastalıklar, NOX2 kronik granülomatoz hastalıklarda (Segal ve ark., 2009); NOX kaynaklı ROT'lar Alzaymır hastalığında (Block, 2008) NOX proteinleri Romatoid artrit ve diyabette; NOX1-NOX2 kaynaklı gastrointestinal inflamasyon (H.Pilori kaynaklı) (Rokutan ve ark., 2008), ve hipertansiyon (Dikalova ve ark., 2005); NOX5 kaynaklı ateroskleroz (Guzik ve ark., 2008) ve kanser (Brar ve ark., 2003; Kamiguti ve ark., 2005); Duox1-2 tiroid bozuklukları (Pfarr ve ark., 2006) ve kistik fibrozda (Pongnimitprasert ve ark., 2008) çalışılmıştır.

Hsueh ve arkadaşları (2005) Tayvan'da As'ye maruz kalan 79 hipertansif ve 213 kontrol (normotansif) bireylerde oksidatif stresin indüklenmesi, vasküler yapının korunmasında ve endojen savunmadaki NADPH oksidaz için gerekli p22phox ve hipertansiyon arasındaki ilişkiyi araştırmak için çalışmalar yapmışlardır. p22phox Tyr aleliyle hipertansiyon arasında ilişki tespit edilmiş ancak daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

### 1.4.3. Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

Gen polimorfizmleri bireyler, gruplar ya da popülasyonlarda genetik varyantlara (çeşitliliğe) neden olmaktadır. Genetik polimorfizm en az iki varyantı ifade eder. Popülasyondaki frekansı ise en az %1 olmalıdır. Tek nükleotid polimorfizmleri insan genomundaki en yaygın genetik polimorfizmler olup tek nükleotid değişimi sonucu oluşan varyasyonlardır. TNP'ler insan genomunda ortalama 300 bp'de bir görülmekte ve DNA'daki polimorfizmlerin %90'ını oluşturmaktadır (Kalyanasundaram ve ark., 2013).

TNP'ler DNA'nın farklı bölümlerinde bulunabilirler. İfade edilmeyen kısımlarda bulunduklarında hiçbir etkileri görülmeyeceği gibi, genin içinde-düzenleyici bölgesinde bulunarak, proteinin ifade edilmesini, fonksiyonunu, stabilitesini etkileyebilmektedirler. Bu nedenle popülasyondaki bireylerin hastalıklara yatkınlıkta, tedavide kullanılan ilaçlara verdikleri yanıtlarda, toksik maddelere verdikleri tepkilerin araştırılmasında, ailede hastalık genlerinin kalıtımı gibi durumlarda TNP'lerden biyobelirteç olarak yararlanılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan yöntemler aşağıdaki Çizelge 1.15'te verilmiştir.

**Çizelge 1.15.** TNP Belirleme Yöntemleri.

| TNP Belirleme Yöntemleri                              |                                                   |                                                                      |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Hibridizasyon Yöntemleri                              | Enzim Yöntemleri                                  | DNA'nın Fiziksel Özelliklerine Dayanan Post-Amplifikasyon Yöntemleri |
| DASH Yöntemi<br>(Dinamik Alel Spesifik Hibridizasyon) | RFLP<br>(Restriksiyon Parça Uzunluk polimorfizmi) | SSCP<br>(Tek iplikli konformasyon polimorfizmi)                      |
| Moleküler İşaretleme                                  | PCR Temelli Yöntemler                             | TGGE<br>(Sıcaklık gradyan jel elektroforezi)                         |
| TNP- Mikroarray                                       | Flap Endonükleaz                                  | Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin denatüre edilmesi         |
|                                                       | Primer Extension                                  | High-Resolution Melting of the entire amplicon                       |
|                                                       | 5'-Nükleaz                                        | SNPlex TNP Genotipleme                                               |
|                                                       | Oligonükleotid Ligaz Assay                        |                                                                      |

Biyolojik materyallerden yapılan genotiplemede PCR, DNA dizi analizi, ASO-probları, DNA-mikroarray/boncuklara hibridizasyon yöntemleri kullanılmaktadır.

#### **1.4.3.1. PCR Yöntemi**

Genomik DNA'daki belirli bir DNA bölgesinin in vitro koşullarda çoğaltılmasını sağlayan bu teknik, eser miktardaki biyolojik örneklerde dahi çalışılmasına olanak sağladığı için spesifik, hassas, ucuz ve uygulanabilirliği kolay olduğundan moleküler araştırmalarda büyük bir öneme sahiptir. PCR'la istenilen genin büyük miktarda kopyaları elde edilebilmektedir. PCR'ın başlıca bileşenleri; kalıp DNA, sentetik oligonükleotid primerler, dNTP'ler (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), tampon çözelti ve Taq DNA polimeraz'dır (Kalyanasundaram ve ark., 2013). PCR Denatürasyon, Annealing (Bağlanma) ve Extension (Elongation- Uzama) olmak üzere başlıca üç aşamadan oluşmaktadır. DNA denatürasyon aşamasında çift iplikten yüksek ısı nedeniyle tek ipli hale geçer ve Annealingde primerler DNA'daki komplementer bölgelere gelerek primere göre ayarlanan belirli Tm değerinde H bağlarıyla bağlanırlar. Uzama aşamasında ise Taq DNA polimeraz devreye girerek zincir uzamaya başlar. Taq DNA polimeraz uygun tampon (Mg içeren) ve sıcaklıkta serbest dNTP'leri bağlamaktadır. Başlangıç DNA molekülü sayısına göre döngü sayısı ayarlanmakta ve düşük miktarlar için 30-45, yüksek miktarlar için 20-30 döngü belirlenmektedir. Her döngüde bir önceki, kalıp olarak kullanılarak miktar 2 katına çıkmaktadır. PCR çalışma ortamında kontaminasyonu engellemek için steril şartlarda çalışılmalıdır. DNA dizi analizi ve DNA haritalamasında, genetik hastalıkların teşhisinde, doku transplantasyon çalışmalarında, adli tıpta numunelerin genetik tiplendirmesinde-babalık tespitinde, DNA parmak analizinde, evrim araştırmalarında ve genom proje araştırmalarında PCR analizinden yararlanılmaktadır (Kalyanasundaram ve ark., 2013).

#### **1.4.3.2. RFLP Yöntemi**

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimleri yardımıyla farklı büyüklüklerde fragmentlere

ayrılıp, bu fargmentlerin jel elektroforez yöntemiyle görüntülenmesi esasına dayanır. RFLP’de en önemli etken uygun restriksiyon enzimlerinin kullanılmasıdır. Araştırılmak istenen bölgenin baz dizilimi enzim programlarında kontrol edilerek en uygun Restriksiyon enzimi belirlenerek hata payı düşürülür. RFLP sonucunda farklı uzunluklarda DNA parçaları oluşmakta ve jel elektroforezi uygulandığında oluşan parçalar jelde farklı konumlanmış olarak UV’de görüntülenir. RFLP yöntemi genelde tek nokta mutasyonları sonucu oluşan genetik hastalıkların teşhisinde, genom haritalamada, adli vakalarda, paternity (babalık) testinde tercih edilmektedir.

### **1.5. Amaç**

Çalışmamızda arsenik kirliliğinin yüksek olduğu ve çevresel maruziyetlerin gözlemlendiği Kütahya-Emet bölgesinde bir metal fabrikasında çalışan işçilerin As düzeyleri ölçülerek mesleksi maruziyetlerinin izlenmesi; kişilerdeki genotoksik hasarın belirlenmesi ve bireylerarası genotoksik hasar farklarının araştırılıp ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda 175 işçinin yakın ve stabil maruziyeti göstermesi amacıyla kan örneklerinin alınarak Grafit Fırınlı AAS’de kan As düzeylerinin ölçülmesi, maruzlarda kan örneklerinde Comet Assay Yöntemi’yle DNA hasarlarının ölçülmesi, oksidatif stresle ilişkili genlerdeki MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr polimorfizmlerinin PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmesi, bu polimorfizmlerin ve kan arsenik düzeylerinin DNA hasarına etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. İşçilerdeki mesleksi maruziyetler ve bireysel DNA hasar farklılıkları çalışan ve işveren açısından önem arz etmektedir.

## **2. GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2.1. Çalışma Grubu ve Biyolojik Materyallerin Belirlenmesi**

Kütahya-Emet bölgesinde gümüş fabrikasında çalışan ve Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne sağlık kontrolüne gelenlerden, 18 yaş ve üzeri deney grubumuzu oluşturan 175 erkek birey belirlenmiştir. Çalışmamızda her gönüllü için yaş, cinsiyet, yaşadıkları bölge, sigara kullanımı-süresi ve sağlık sorunlarıyla ilgili bilgiler kaydedilmiştir. İşçilerden kan örnekleri heparinli vakumlu tüplere ve EDTA'lı tüplere olmak üzere ikişer ikişer alınmıştır. Heparinli vakumlu tüplere alınan kan örneklerinde Comet-assay analizleri bekletilmeden hemen yapılmıştır. Kanda arsenik analizi ile Mn-SOD ve p22phox genlerinin genetik polimorfizm çalışması için kişilerden kan örnekleri K<sub>2</sub>EDTA içeren mor kapaklı vakumlu tüplere alınmıştır. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri ise daha sonra As analizi ve polimorfizm çalışmaları için kullanılmak üzere +4 °C'de inkübe edilmiştir. Bu kanlar polietilen tüplere aktararak çalışma zamanına kadar -20°C de saklanmıştır.

Yaptığımız çalışmanın ilk bölümünde deney grubunu oluşturan bireylerin kanlarında DNA hasarının belirlenmesi amacıyla Comet-Assay analizi yapılmıştır. İkinci bölümde bireylerdeki As düzeyleri Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile belirlenmiştir. Üçüncü bölümde ise Mn-SOD ve p22phox gen polimorfizmlerini belirlemek amacıyla DNA izolasyonu, PCR ve RFLP çalışmaları yapılmıştır.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 08.04.2013 tarih ve 06-242-13 sayılı izni ile yürütülmüştür. Metal analizleri, DNA hasar çalışmaları ve genetik çalışmalar Ankara Üniversitesi Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### **2.2. Comet-Assay ile DNA Hasarının Belirlenmesi**

Comet Assay tekniği için kandan izole edilen lenfosit hücreleri agaroz jelle kaplanmış lamlara gömülerek, tuz ve deterjan içeren lizis tamponunda inkübe edilmiş, hücre membranlarının parçalanması sağlanmıştır. DNA'lar uygulanan elektroforezle

zincir kırıkları varlığına göre farklı molekül ağırlıkları/elektrik yüklerine göre çeşitli hızlarda göçetmişlerdir. DNA'lar etidyum bromürle muamele edilerek floresan boyama yapılmıştır. Floresan mikroskopta kırığı olmayan DNA'lar daha yuvarlak gözlenirken, kırıkları olan DNA'lar kuyruklu yıldız (comet) şeklinde gözlenmiştir. Floresan mikroskopunda DNA kırıklarının varlığı ve/veya yoğunluğuna göre comet oluşturup/oluşturmadığına göre oluşan ışımlar ölçülerek hesaplamalar yapılmıştır.

### 2.2.1. Comet Yönteminde Kullanılan Materyaller

DNA hasarlarının belirlenmesi için yapılan Comet Assay'de kullanılan materyaller Çizelge 2.1 'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Comet Yöntemi'nde Kullanılan Materyaller.

|                    | Malzemeler               | Kimyasal Maddeler                                        | Çözeltiler                      | Cihazlar                                        |
|--------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>Comet-Assay</b> | Heparinli vakumlu tüpler | PBS.....Sigma-Aldrich (phosphate buffered saline)        | PBS Çözeltisi                   | Vorteks                                         |
|                    | Mikropipetler            | Histopaque.....Sigma-Aldrich (lenfosit ayırma çözeltisi) | Yüksek Erime Noktalı Agar (HMA) | Santrifüj                                       |
|                    | Rodajlı Lamalar          | DMSO.....Merck (Dimethyl sulfoxide)                      | Düşük Erime Noktalı Agar (LMA)  | Mikrodalga Fırın-Arçelik                        |
|                    | Steril ependorf tüpler   | Etanol.....Sigma-Aldrich                                 | Elektroforez Çözeltisi          | Elektroforez Cihazı-Scie-Plas                   |
|                    | Lameller                 | LMA.....Prona                                            | Lizis Çözeltisi                 | Floresan Mikroskobu-Olympus BX50                |
|                    | Alüminyum folyo          | HMA.....Sigma-Aldrich                                    | Nötralizasyon Tamponu           | BAB Bs Otomatik Analiz Sistemi                  |
|                    |                          | Triton X                                                 | Etidyum Bromür Çözeltisi        | Manyetik Karıştırıcı-Mirak                      |
|                    |                          | Sodyum Lauril Sarkosinat (SLS)                           | NaOH çözeltisi                  | Ph Metre-Seven Multi Mettler Toledo             |
|                    |                          | NaCl.....Merck                                           | Na <sub>2</sub> EDTA çözeltisi  | Su Pürifikasyon Sistemi- Human UP900 Scholar-UV |
|                    |                          | Tris.....Merck                                           |                                 | Hassas Terazi-Mettler Toledo 4 Digit            |
|                    |                          |                                                          |                                 | Elektrikli Hassas Terazi-Schimadzu Libror       |

%1'lik PBS (Phosphate Buffered Saline): 140 mM NaCl + 10mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 1 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karıştırılarak hazırlanmıştır.

Yüksek Erime Dereceli Agaroz (HMA): PBS ile çözülerek %1'lik hazırlanmıştır (50 ml PBS çöz. için 500 mg PBS).

Düşük Erime Dereceli Agaroz (LMA): PBS ile çözülerek %0,63'lük çözeltisi hazırlandı (50 ml PBS çöz. için 315 mg PBS).

Lizis Çözeltisi: 2,5 M NaCl+10 mM Tris+1 mM Na<sub>2</sub>EDTA distile su ile hazırlanarak pH'sı 10'a ayarlandı. %1'lik SLS ilave edilir ve karıştırılarak oda sıcaklığında saklanır (Kullanım sırasında %1 Triton+%10 DMSO eklenerek +4°C'de soğutulmuş olmalıdır).

Elektroforez Çözeltisi: 300 mM NaOH+1 mM Na<sub>2</sub>EDTA+ distile su ile hazırlanarak pH>13 olarak ayarlanarak +4°C'de inkübe edildi.

Nötralizasyon Tamponu: 0,4 M Tris+ distile su ile ve pH=7,5 olacak şekilde hazırlanarak +4°C'de inkübe edildi.

Etidyum Bromür Çözeltisi: Stok çözeltiden 200 mg/ml olacak şekilde 100 ml hazırlanarak karanlıkta oda sıcaklığında inkübe edildi (Boyama işlemi sırasında 1:10 olacak şekilde seyreltilmiştir).

NaOH Çözeltisi: NaOH+ distile suyla çözülerek hazırlanmıştır.

Na<sub>2</sub>EDTA Çözeltisi: EDTA+ distile suyla çözülerek hazırlandı.

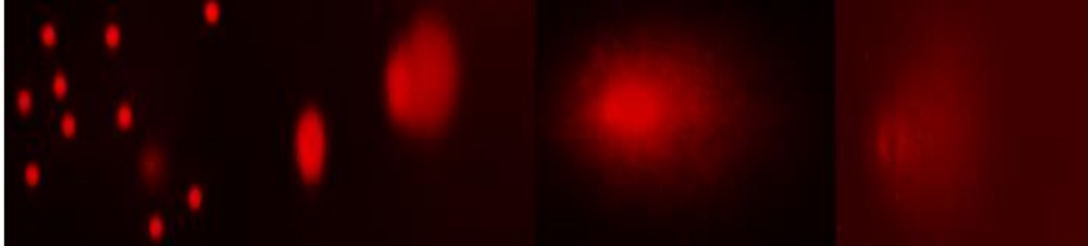
### **2.2.2. Comet Assay/Tek Hücre Jel Elektroforezi (SCGE-Singel Cell Gel Electrophoresis) ile DNA Hasar Analizi**

Comet analizlerinde taze kandan çalışılacağı için öncelikle kanlar alınmadan bir gün önce rodajlı lamaların ön yüzünün agarozla ön kaplamasının yapılması gerekmektedir. Ön kaplama işlemi için Yüksek Erime Noktalı Agaroz (HMA) %1'lik PBS çözeltisiyle

hazırlanmış ve mikrodalgada iyice çözünerek homojenize olması sağlanmıştır. Rodajlı lamaların üzeri tamamen ön kaplama yapılarak kurumaya bırakılmıştır (1 gece/oda sıcaklığı). Analiz günü kandan hücre (lenfosit) izolasyonu, preparatların hazırlanması, lizis, alkalizasyon, elektroforez, nötralizasyon, fiksasyon, lamaların (DNA'ların) boyanması ve sayımı aşamalarını içeren Comet prosedürüne geçilmiştir:

Heparinli vakumlu tüplere alınan kanların herbirinden 100 µl alınarak, her birine 1ml PBS konulan steril ependorflara ilave edilerek yavaşça vortekslenmiştir. Üzerlerine herbirine 100 µl Histopak ilave edilerek 1500 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiş, hücrelerin ependorflarda tabakalanması sağlanmış ve mikropipet yardımıyla bulundukları fazlardan (pembemsi kısmın üst tabakasından) herbirinden 50 µl olacak şekilde lenfositler çekilerek steril ependorfların içlerine koyduğumuz 100µl'lik LMA'ların üzerine ilave edilmiştir. Dikkatle homojenizasyonu sağlandıktan sonra HMA ile kaplamış olduğumuz rodajlı lamalarımızın üzerine mikropipetlerle damlatılarak üzerleri lamelle kapatılmıştır. Preparatlar buzun üzerinde bekletilerek katılaştığından emin olduktan sonra üzerindeki lameller kaldırılmıştır. %1'lik Triton X 100 + %10 DMSO (nükleustan membran partikülleri ve hücre içeriği uzaklaştırılarak, eritrosit hemolizi-demir kaynaklı ROT menşeli DNA hasarını engellemek için) lizis çözeltisine eklenerek kullanıma hazır hale getirildikten sonra +4 °C'de 1 saat 20 dakika bekletilerek DNA'nın histonsuz olarak süperkoil yapıda kalması hedeflenmiştir. Hücresel atıklar, deterjan ve tuz vb. yapıları uzaklaştırmak için ise PBS ile yıkanmıştır. Elektroforez tankına elektroforez tamponumuz eklenmiş ve preparatlarımız elektroforez tamponunda (pH>13) folyo ile üzeri kapatılarak 20 dakika akım verilmeden inkübasyonu sağlanarak DNA'ların çift sarmal yapıları ve olası zincir kırıklarının açılımı hedeflenmiştir. Daha sonra tankın 25V-300mA-20 dak. ayarlamaları yapılarak elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroforez tankından çıkarılan lamalar nötralizasyon tamponuna alınarak tuz, deterjan atıklarını uzaklaştırmak ve işlemi sabitlemek için üçer defa yıkanmıştır. Etanolde (sırasıyla %50, %75, %100) 5'er dakika bekletilerek fiksasyonu sağlanmıştır. Kuruması beklenen ve sağlanan lamalar görüntüleneceği zaman etidyum bromürle boyanmıştır (1:10 seyreltilerek, her lam için 60 µL).

Preparatlar Floresan Mikroskobu (Olympus BX50) ile incelenerek görüntüler değerlendirilmiştir. Görüntülemeye DNA'da hasar ya da kırıklar yoksa spot (nokta) görüntü gözlenirken, DNA hasarı/kırıklarında ise “Kuyruklu Yıldız-Comet” şeklinde fragman görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Comet Görüntüleri.

### Comet sayımı ve DNA hasarının belirlenmesi

Kan lefositlerindeki DNA hasarlarını BAB Bs Otomatik Analiz Sisteminde değerlendirilmek üzere 100 comet örneği rastgele seçilmiştir. Hasarlar değerlendirilirken Comet-Uzunluğu (CL-Comet Length), Kuyruk Uzunluğu (TL-Tail Length), DNA kuyruğu (DNA-t-DNA Tail), Kuyruk Momenti (TM-Tail Moment) ve Kuyruk Yoğunluğu (TI-Tail Intensity) parametrelerine göre DNA hasarlarının dereceleri BAB Bs sistemi ile otomatik olarak değerlendirilmiştir. Programlar comet başını kuyruktan ayırt edebilecek ve kuyruk uzunluğu, baş ve kuyruktaki floresans yüzdesi, kuyruk momenti gibi çeşitli parametreleri belirleyebilecek şekilde tasarlanmıştır (Green ve ark., 1996). Kuyruktaki % DNA floresansı, DNA zincir kırığı sıklığı ile doğru orantılıdır (McKelvey-Martin ve ark., 1993; Collins, 2004). Bu nedenle ölçümlerimizde DNA hasarı ölçüsü olarak DNA tail baz alınmıştır.

### 2.3. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ile Kan Arsenik Düzeylerinin Belirlenmesi

Metal maruziyetleri düşünülen işçilerin kanları EDTA'lı mor kapaklı tüplere alınarak kanda As düzeylerini belirlemek için kan örnekleri mikrodalga fırında

yıkılmış ve Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazında As ölçümleri yapılmıştır.

### 2.3.1. Grafit Fırınlı AAS Yöntemi ile Kan Arsenik Analizinde Kullanılan Materyaller

Kan arsenik analizinde kullanılan materyaller Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. AAS Analizinde Kullanılan Materyaller.

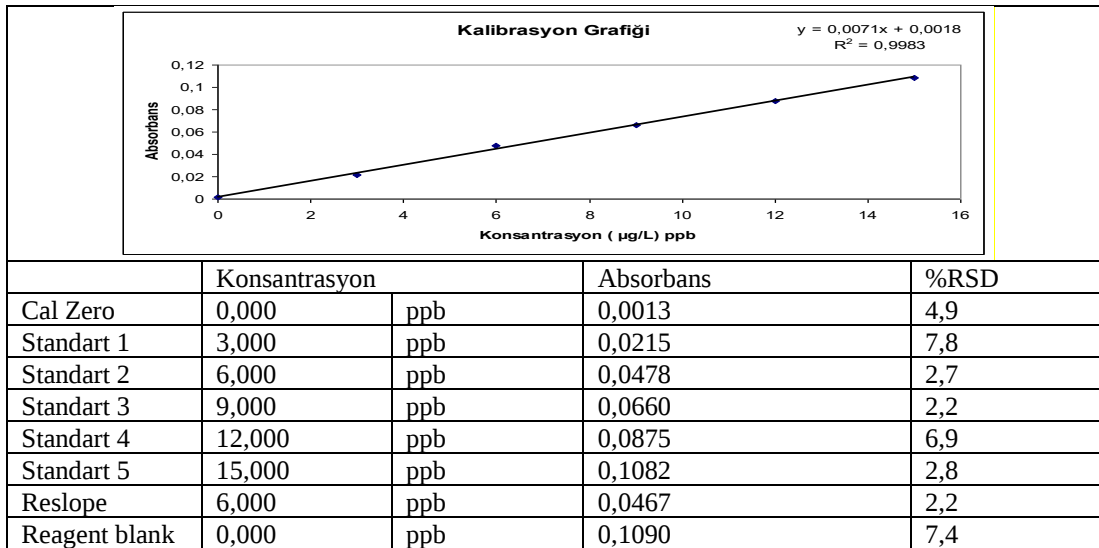
| Arsenik Analizi | Malzemeler                           | Kimyasal Maddeler                                              | Cihazlar                                          |
|-----------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|                 | EDTA’lı vakumlu tüpler               | Nitrik Asit (Merck)                                            | AAS Cihazı<br>(Varian AA240Z Zeeman)              |
|                 | Grafit Komponent Tüpler (Varian GTA) | Arsenik Standart Çözeltileri<br>(AA Standart Ethanol Pour-SCP) | Grafit Tüp Atomlaştırıcı<br>(Varian GTA 120)      |
|                 | Sample Cup Vial<br>(Pothtech Elkay)  | Argon gazı Tüpü                                                | As Oyuk Katod Lambası<br>(Varian Spectra AA Lamp) |
|                 | Mikrodalga teflon tüpler             |                                                                | Mikrowave System<br>(Mars Xpress)                 |
|                 | Polipropilen tüpler                  |                                                                | Saf Su sistemi<br>(Human UP 900 Scholar-UV)       |
|                 | Pipetler                             |                                                                |                                                   |
|                 |                                      |                                                                |                                                   |
|                 |                                      |                                                                |                                                   |

### 2.3.2. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Kandan Arsenik Analizi

Kütahya-Emet bölgesindeki bir fabrikadaki işçilerin kan arsenik düzeylerinin analizinde Grafit Fırınlı Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı kullanılmıştır. Kanda arsenik analiz işlemi için bireylerden 10’ar ml kadar kan EDTA’lı mor kapaklı tüplere alınarak analiz zamanına kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir. AAS’de As analizi için kan örneklerinden ekstraksiyon işlemi yapılmalıdır. Bunun için her bireyin EDTA’lı tüpünden 1 ml kan alınarak teflon tüplere konulmuş ve üzerlerine 5 ml Nitrik asit (%65’lik HNO<sub>3</sub>) eklenmiştir. Mars Xpress mikrodalga fırına yerleştirilen teflon tüplerdeki numuneler 1600 Watt/200°C’de 20 dakika yakılmıştır. Numuneler polipropilen tüplere aktararak 10 ml’ye deiyonize su ile tamamlanmış ve analizi yapılacak kanlar Grafit Fırınlı Atomik Absorpsiyon Spektrometresi için hazır hale getirilmiştir.

Cihazda ışık kaynağı olarak As oyuk katot lambası (ideal pikler-yoğun ışık), taşıyıcı gaz olarak argon gazı, elektrotermal atomlaştırıcı olarak grafit fırın-tüp (As'nin uçuculuğunda da etken) kullanılmış ve dalga boyu 193,7 nm'ye ayarlanmıştır. AAS'nin çalışma prensibi Lambert-Beer esasına göre olup, buna göre kimyasal tarafından absorbe edilen ışık, kimyasalın konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Atomlarca absorblanan ışığın dalga boyu elemente özgüdür. Bundan dolayı cihazda ölçümü yapılacak maddeye özgü lamba aktif hale getirilir. AAS Grafit Fırın Yönteminde atomizasyon; kurutma, küllendirme ve atomlaştırma aşamalarından oluşmaktadır. Grafit fırında atomizasyon elektriksel olarak gerçekleşmektedir. Kurutma sıcaklığı elektriksel olarak kademeli olarak yükseltilerek numunenin çözücüsü uçurularak kurutma sağlanır. Küllendirme işlemi ile de numune matriksi elimine edilir, organik ve inorganik maddeler ayrıştırılır. Atomlaştırma aşamasında ise ölçmek istediğimiz element serbest atomlarına ayrılmaktadır. Bu aşamada absorpsiyon piki oluşmaktadır. Element miktarına bağlı olarak pik alanı/ yüksekliği değişmektedir. Sonuçlar ppb biriminde elde edilir. Monokromatörden grafit tüpe gelen ışık ölçeceğimiz elementin atomlarınca absorbe edilir ve dedektör tarafından ölçülür.

Kan örneklerinden As ölçümü yapılmadan önce As kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Arsenik stok çözeltisinden (1000 ppm (mg/L)) %2'lik HNO<sub>3</sub> çözeltisiyle beş farklı konsantrasyonda (3, 6, 9, 12 ve 15 ppb (µg/L)) seyreltilerek standartlar hazırlanmış ve bilinen konsantrasyona karşı absorbans ölçülerek As-kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Arsenik Kalibrasyon Grafiği.

Standartlar ve numuneler üçer kez ölçülmüştür. Her elli örnekte kalibrasyon yapılmıştır. Kalibrasyon için konsantrasyona göre ölçüm yapılırken, kan numunelerinin ölçümü ise pik yüksekliğine göre yapılmıştır. İlk absorbans verisi 2450°C’de alınmıştır. Kan As analizinde grafit fırın sıcaklık programı Çizelge 2.3’te, Varian AA240Z Zeeman AAS’de uygulanan prosedür ise Çizelge 2.4’te verilmiştir.

**Çizelge 2.3.** Kan As Analizinde Grafit Fırın Sıcaklık Programı.

| Aşama | Sıcaklık (°C) | Zaman (s) | Akış (L/min) | Sinyal |       | Okuma |       |
|-------|---------------|-----------|--------------|--------|-------|-------|-------|
| 1     | 85            | 5         | 0.3          | X      | Hayır | X     | Hayır |
| 2     | 95            | 40        | 0.3          | X      | Hayır | X     | Hayır |
| 3     | 120           | 10        | 0.3          | X      | Hayır | X     | Hayır |
| 4     | 800           | 5         | 0.3          | X      | Hayır | X     | Hayır |
| 5     | 800           | 1         | 0.3          | X      | Hayır | X     | Hayır |
| 6     | 800           | 2         | 0.0          | X      | Hayır | √     | Evet  |
| 7     | 2450          | 0.9       | 0.0          | √      | Evet  | √     | Evet  |
| 8     | 2450          | 2         | 0.0          | √      | Evet  | √     | Evet  |
| 9     | 2450          | 2         | 0.3          | X      | Hayır | √     | Evet  |

**Çizelge 2.4.** Kan As Analizinde Varian AA240Z Zeeman AAS’de Uygulanan Prosedür.

|                      |                     |                               |            |                              |               |
|----------------------|---------------------|-------------------------------|------------|------------------------------|---------------|
| Cihaz                | Zeeman AA240Z       | Konsantrasyon ondalık aralığı | 2 basamak  | Reslope standardı            | Standart 2    |
| Element- Matriks     | As- Kan             | Dalga boyu                    | 193,7 nm   | Reslope Alt Limit            | %75           |
| Konsantrasyon birimi | µg/L                | Slit genişliği                | 0,5 nm     | Reslope Üst Limit            | %125          |
| Enstrüman Modu       | Absorbans           | Gain                          | %59        | Rekalibrasyon                | 50 de 1       |
| Örnekleme            | Otomatik-Karıştırma | Akım                          | 12 mA      | Kalibrasyon algoritması      | Linear Origin |
| Kalibrasyon Mod      | Konsantrasyon       | Background                    | BC on      | Total Enjeksiyon Hacmi       | 25 µl         |
| Ölçüm Modu           | Pik Yüksekliği      | Std.1                         | 3,0 µg /L  | Stok Standart Konsantrasyonu | 15 µg/L       |
| Standart Tekrarı     | 3                   | Std.2                         | 6,0 µg /L  |                              |               |
| Örnek Tekrarı        | 3                   | Std.3                         | 9,0 µg /L  |                              |               |
| Ekspansiyon faktör   | 1,0                 | Std.4                         | 12,0 µg /L |                              |               |
| Eğri Çizimi          | 7 noktalı           | Std.5                         | 15,0 µg /L |                              |               |

## 2.4. Mn-SOD ve p22phox Gen Polimorfizmlerinin PCR ve RFLP ile Belirlenmesi

### 2.4.1. Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Materyaller

Gen polimorfizmlerinin belirlenmesinde kullanılan materyaller Çizelge 2.5’de verilmiştir.

**Çizelge 2.5.** Gen Polimorfizminin Belirlenmesinde Kullanılan Materyaller.

| Polimorfizm | Malzemeler                                   | Kimyasal Maddeler                                   | Çözeltiler            | Cihazlar                             |
|-------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
|             | Eppendorf Tüpler Steril (Axygen Genuine)     | Trisma Base (Merck)                                 | TE Çözeltisi          | Santrifüj (Hettich)                  |
|             | Jel Tarakları                                | NaCl (Sigma-Aldrich)                                | %20’lik SDS Çözeltisi | Su banyosu (Nüve BM 402)             |
|             | Jel Kalıpları                                | SDS (Applichem)                                     | Proteinaz K Çözeltisi | Vorteks-Biosan                       |
|             | Parafilm                                     | Proteinaz K (Merck)                                 | 1M NaCl Çözeltisi     | Mikrodalga Fırın (Arçelik)           |
|             | Mikropipet (Eppendorf, Thermo)               | Etil Alkol (Merck)                                  |                       | Elektroforez Cihazı (Scie-Plas)      |
|             | Otomatik pipetler (Eppendorf, Thermo)        | Nuclease Free Water (Qiagen)                        |                       | Güç Kaynağı (Bio-Rad)                |
|             | Steril eppendorf tüpler (Axygen Genuine)     | Agaroz (Prona)                                      |                       | Jel Görüntüleme Sistemi (Syngene)    |
|             | Pirojen free Filtreli pipet uçları (Finntip) | 1X TBE                                              |                       | Laminar Flow Kabin (Esco)            |
|             | Steril ve Pudrasız Eldivenler                | Etidyum Bromür (Applichem)                          |                       | Thermal Cycle Cihazı (TECHNE TC 512) |
|             |                                              | 6X Jel Loading Buffer (Qiagen)                      |                       | Otoklav (Nüve)                       |
|             |                                              | Primerler (Alpha DNA, Montreal)                     |                       | Etüv (Memmert)                       |
|             |                                              | EDTA (Merck)                                        |                       | Hassas Terazi                        |
|             |                                              | 10X PCR Buffer                                      |                       | pH metre                             |
|             |                                              | dNTP karışımı                                       |                       |                                      |
|             |                                              | Hot Star Taq DNA Polimeraz (Qiagen)                 |                       |                                      |
|             |                                              | Steril Su                                           |                       |                                      |
|             |                                              | DNA Ladder (100bp) (Fermentas)                      |                       |                                      |
|             |                                              | Restriksiyon Enzimleri BsaW1, RsaI (NEB)            |                       |                                      |
|             |                                              | Fenol-Kloroform-İzoamil Alkol (25:24:1) (Applichem) |                       |                                      |

TE (Tris-EDTA) Çözeltisi: 80 ml distile suda 0,121 gr Tris çözölmüş ve üzerine 0,037 gr EDTA ilave edilerek pH: 7,5'e ayarlanarak üzeri distile suyla 100 ml'ye tamamlanmıştır (+4°C'de muhafaza edilir).

1 M NaCl Çözeltisi: NaCl'den 58,44 gr alınmış ve 1000 ml Distile suda çözüölerek hazırlanmıştır.

Proteinaz K Çözeltisi: Proteinaz K'dan 25 mg alınmış ve 1250 µl distile suda çözüölerek hazırlanmış ve eppendorf tüplere paylaştırılarak -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

SDS Çözeltisi (%20'lik): Bir miktar Distile suya 100 gr SDS ilave edilip çözüölmüş ve üzeri 500 ml'ye distile suyla tamamlanmıştır (Oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir).

#### **2.4.2. Kandan Nökleer DNA İzolasyonu**

Mn-SOD (Val 16 Ala) ve p22phox (C242T) genotiplerinin belirlenmesi için öncelikle kandan Nökleer DNA'nın Fenol-Kloroform-İzoamil Alkol yöntemi ile izolasyonu yapılmıştır. Uygulanan yöntemde fenol ve kloroform, proteinleri bağlamada; izoamil alkol ise DNA'yı sulu fazdan ayırmada kullanılmıştır.

+4 °C'de inkübe edilen EDTA'lı tüplerdeki kan örneklerinden 100'er µl alınmış 1,5 ml'lik eppendorflara konulmuş ve Tris-EDTA'dan 1000 µl eklenerek bir dakika santrifüj (12000 rpm) edilmiştir. Üst fazlar atılarak alt fazlardan 100 µl bırakılarak üzerlerine 1000 µl TE eklenir ve bu işlem üç kez tekrar edilir. Tüplerde kalan 100 µl peletin üzerine SDS (%20'lik, 40 µl), NaCl (1 M, 45 µl), proteinaz K (7 µl) ve TE (400 µl) ilave edilmiş ve birkaç dakika vortekslenmiştir. Su banyosunda 56°C'de 2 saat inkübasyonu sağlanmıştır. Tüplerin üzerine 500µl fenol-kloroform-izoamil alkol karışımı (25:24:1) ilave edilerek yine vortekslenmiş ve 2 dakika 2500 devirde santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda üst fazlar dikkatlice farklı eppendorf tüplere alınarak alt fazlar atılmıştır. Ayırdığımız üst fazların üzerine soğuk saf etil alkolden 1000'er µl eklenmiştir. Eppendorflar 10 dakika 10000 devirde santrifüjlenmiştir.

Pelletten süpernatant kısımdaki alkol atılıp ve üzerine 500 µl %70'lik etanol ilave edilmiştir. Santrifüj cihazında 5 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ependorf tüpteki alkol yine uzaklaştırılmıştır. Ependorfların ağzı biraz açık bırakılarak dipte kalan alkol de iyice uçurulmuştur. Pelletin üzerine 150 µl nükleaz free (DNase-RNase free) su ilave edilerek -20 °C'ye kaldırılmıştır.

#### **2.4.2.1. %0,5'lik Agaroz Jel Elektroforezi ile Genomik DNA'nın Kontrolü**

Genomik DNA'nın kandan izolasyonunun kontrolü için %0,5'lik jel elektroforezinde örnekler yürütülmüştür. 120 ml 1X TBE çözeltisi içine 0,6 gr agaroz eklenerek bir erlen mayerde çözölmüş, ağzı folyoyla kapatılarak mikrodalga fırında kaynatılmış ve oda ısısında 50-60 °C' ye kadar soğutulmuştur. Üzerine 10 µl EtBr ilave edip iyice çözünene kadar çalkalanarak %0,5'lik agaroz jelimiz hazırlanmıştır. Jel elektroforezinin kalıpları hazırlanmış ve hazırlanan %0,5'lik agaroz jel hava kabarcıkları oluşturmada kalıba dökölmüştür. 40-45 dakika kadar (jelin katılaşması için) oda ısısında bekletilmiş ve taraqları çıkarılan jel, elektroforez tankına kuyucukların olduğu kısmı katoda (-) gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Tankın içine jelin üzerini örtecek kadar 1X TBE çözeltisinden konulmuştur. Buz kalıbının üzerine yerleştirilen parafilm 5 µl DNA örneği ve 1µl Jel Loading Buffer (6X) eklenerek mikropipetaj yapılarak homojenize edilmiştir. Bütün örnekler aynı şekilde hazırlandıktan sonra elektroforez tankındaki jelin kuyucuklarına tamamı 6 µl olarak aktarılmıştır. Tank 100 V/70 A'e ayarlanmış güç kaynağına bağlanarak 45 dakika kadar yürütölmüştür. Jel görüntöleme cihazına aktarılaraq UV ışığında görüntölenerek değeriendirilmiştir.

#### **2.4.3. PCR Yöntemi ile Hedeflenen DNA Bölgesinin Çoğaltılması**

Kandan izole ettiğimiz Genomik DNA örneklerinde Mn-SOD (Val 16 Ala) ve p22phox (C242T) gen polimorfizmlerini içeren (hedeflenen DNA bölgesinin) gen dizilimleri, Forward (F) ve Reverse (R) primerleri kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle TECHNE Thermal Cycle (TC 512) cihazı ile 2<sup>35</sup> kez amplifiye edilmiştir. Denatürasyon aşamasında DNA'nın çift sarmal yapısı tek sarmal hale getirilmekte, Annealing aşamasında primerlerin hedef DNA bölgelerine bağlanmaları sağlanmaktadır. Uzama (elongation) aşamasında ise hedef DNA zincilerinin komplementerlerinin kopyaları oluşturulmaktadır.

### PCR Bileşenleri ve Programı

Klasik PCR’da kalıp DNA, forward ve reverse primerler, Taq DNA Polimeraz, dNTP’ler ve tampon çözeltiler gerekmektedir. Çalışmamızda kullanılan her bir örnek için; 25 µl’lik PCR reaksiyon bileşenleri, bileşenlerin stok konsantrasyonları, her bir bileşenin reaksiyondaki miktarları ve reaksiyon karışımındaki son konsantrasyonlarına ait bilgiler Çizelge 2.6’da verilmiştir.

**Çizelge 2.6.** PCR Bileşenleri ile Stoktaki ve Reaksiyondaki Konsantrasyonları.

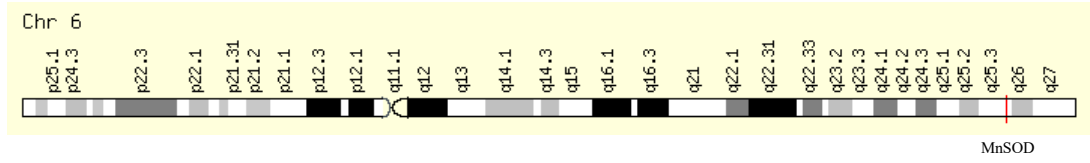
| PCR Bileşenleri            | Stok konsantrasyon | Reaksiyona konulan miktar | Reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon |
|----------------------------|--------------------|---------------------------|-------------------------------------------|
| 10 X PCR Buffer (+Mg)      | 10X                | 2,5 µl                    | 1X                                        |
| dNTP karışımı              | 2 mM               | 2 µl                      | 200 µM                                    |
| F ve R Primerler           | 10 pmol/ µl        | 0,5 µl                    | 10 pmol/ µl                               |
| Hot Star Taq DNA Polimeraz | 5 U/ µl            | 0,125 µl                  | 1,25 U                                    |
| DNA                        |                    | 5 µl                      | ~200 ng                                   |
| Steril H2O                 |                    | 15 µl                     |                                           |

MnSOD ve p22phox genlerinin bulundukları kromozomdaki yerleri Şekil 2.3. ve Şekil 2.4.’te gösterilmiştir. Amplifikasyon işleminde kullanılan Forward ve Revers Primerler ise özellikleri ile Çizelge 2.7 ve Çizelge 2.8’de gösterilmiştir.

Primer çiftlerinin HPSF (High Performance Salt Free) yöntemi ile Montreal’deki Alpha DNA firmasınınca sentezlenmesi sağlanmıştır.

**Çizelge 2.7.** MnSOD Val16Ala Gen Polimorfizmi Analizi İçin Kullanılan F ve R Primerlerine Ait Özellikler.

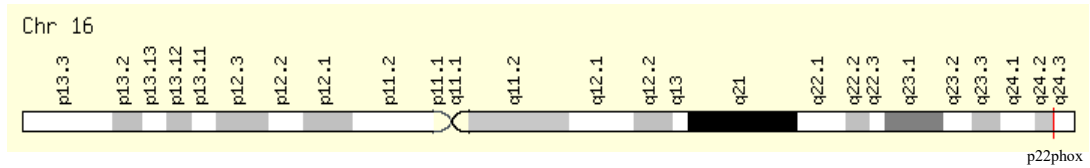
| MnSOD                                | F Primer                                                                                                                                                                                                            | R Primer                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
|                                      | 5’-CAGCCTGCGT<br>AGACGGTCCC-3’                                                                                                                                                                                      | 5’-CGTGGTGCTT<br>GCTGTGGTGC-3’ |
| Uzunluk                              | 20 bp                                                                                                                                                                                                               | 20 bp                          |
| GC içeriği                           | %70,00                                                                                                                                                                                                              | %65,00                         |
| Erime sıcaklığı T <sub>m</sub>       | 67,5 °C                                                                                                                                                                                                             | 68,6 °C                        |
| Primerler arası T <sub>m</sub> farkı | 1,1 °C                                                                                                                                                                                                              |                                |
| PCR ürününün uzunluğu<br>(202 bp)    | CAGCCTGCGTAGACGGTCCCgcggcgctgactgacggggtgtgtcttctcg<br>tcttcagcaccagcaggcagctggctccggg/ctttgggggtatctggggtccaggcagaagcac<br>agcctccccgacctacgactacggcgccctggaacctcacatcaacgcgcagatcatg<br>cagctGCACCACAGCAAGCACCACG |                                |



Şekil 2.3. MnSOD Geninin 6. Kromozomdaki Yerinin Şematik Gösterimi.

Çizelge 2.8. p22phox His72Tyr Gen Polimorfizmi Analizi İçin Kullanılan F ve R Primerlerine Ait Özellikler.

| p22phox                              | F Primer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | R Primer                                 |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
|                                      | 5'-TGCTTGTGGGTAA<br>ACCAAGGCCGGTG-3'                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 5'-AACACTGAGGTAAGT<br>GGGGGTGGCTCCTGT-3' |
| Uzunluk                              | 26 bp                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 30 bp                                    |
| GC içeriği                           | %50,00                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | %53,30                                   |
| Erime sıcaklığı T <sub>m</sub>       | 75,2 °C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 74,6 °C                                  |
| Primerler arası T <sub>m</sub> farkı | 0,6 °C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                          |
| PCR ürününün uzunluğu (348 bp)       | TGCTTGTGGGTAAACCAAGGCCGGTGcctgccggtgtgtttgtgggaggaaagag<br>gcctgggtgccctggggtggtcagcagggcagcaaaggagtcaggagggagagggccagccgcgc<br>gtctgccttctccctccccagggacagaagacatgaccgcgtggtgaagctgttcgggcccttta<br>ccaggaattactatgttcgggcccgtcctgcctcctgtgagtcctccgcacccctctagggtcagga<br>gggcttggagccgaccctccccactgtcccaccggcgggctgctggACAGGAGCCACCCC<br>CACTTACCTCAGTGTT |                                          |



Şekil 2.4. p22phox Geninin 16. Kromozom Üzerindeki Yerinin Şematik Gösterimi.

### PCR programı:

MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr gen polimorfizmlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan PCR programları Çizelge 2.9 ve 2.10'da verildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (amplifiye PCR ürünleri jel elektroforezi yapılarına kadar -20 °C'de saklanmıştır).

Çizelge 2.9. MnSOD Val16Ala Gen Polimorfizmini Belirlemede Kullanılan PCR Programı.

| Aşama            | °C | Süre (dakika) | Döngü Sayısı |
|------------------|----|---------------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 94 | 8             | 1            |
| Denatürasyon     | 94 | 1             | 33           |
| Bağlanma         | 60 | 1             |              |
| Uzama            | 72 | 1             |              |
| Son Uzama        | 72 | 10            |              |
| Bekleme          | 4  | ∞             | -            |

**Çizelge 2.10.** p22phox His72Tyr Gen Polimorfizmini Belirlemede Kullanılan PCR Programı.

| Aşama            | °C | Süre (dakika) | Döngü Sayısı |
|------------------|----|---------------|--------------|
| İlk Denatürasyon | 94 | 10            | 1            |
| Denatürasyon     | 94 | 1             | 35           |
| Bağlanma         | 62 | 1             |              |
| Uzama            | 72 | 1             |              |
| Son Uzama        | 72 | 10            |              |
| Bekleme          | 4  | ∞             | -            |

#### 2.4.3.1. %2'lik Agaroz Jel Elektroforezinde PCR Ürünlerinin Kontrolü

MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr gen polimorfizmlerinin bulunduğu hedef bölgenin PCR'da çoğaldığını teyit amaçlı, PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. Bunun için 2,4 gr agaroz 120 ml 1x TBE çözeltisinde çözülerek mikro dalga fırında, ağzı alüminyum folyo ile kapatılmış ve üzerine delikler açılarak kaynatılmıştır. Mikrodalga fırından çıkarılan çözeltinin sıcaklığı 50–60 °C'ye düşünceye kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. 10µl EtBr çözeltiye eklenerek hafifçe karıştırılmış ve homojen bir karışım elde edilerek %2'lik agaroz jelimiz hazırlanmıştır. Jel tarakları ve bariyerleri hazırlanarak kalıplara dökülmüş ve katılaşması için 40-45 dakika beklenmiş, tarakları ve kalıpları çıkarılan jel, elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Anot ve katot uçlara dikkat edilmiş, jel kuyucukların yürüme tankında katot elektrot (-) tarafına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. (DNA (-) yüklü olduğundan jel üzerinde (+) kutba doğru ilerleyecektir). Tank içerisine jelin üzerine 2-3 mm örtünceye kadar 1xTBE çözeltisi ilave edilmiştir. 6x Jel Loading Buffer'dan 1µl ve 8µl PCR ürününden alınarak buz kalıbı üzerindeki parafilm üzerinde karıştırılması sağlanmış ve boya ile homojen haline getirilen PCR ürünü jel kuyucuklarına yerleştirilmiştir. Ayrıca, PCR ürünlerinin boyutunun okunabilmesi için her jele belli aralıklarla 100 bp DNA ladder yüklenmiştir. Ladder için ise 1 µl DNA ladder alınmış üzerine 1 µl Jel Loading Buffer (6X) ve 6 µl distile su ilave edilerek iyice homojenize edildikten sonra jelin ladder için ayırdığımız kuyucuklarına yüklenmiştir. Tankın kapağı kapatılarak, anot ve katot uçların bağlantıları takılmıştır. Güç kaynağı 100V/70A ayarlanarak, numuneler 1,5 saat jelde yürütülmüştür. UV ışığı altında, jel görüntüleme cihazında sonuçlar değerlendirilmiştir.

PCR sonucu gözlenmesi gereken MnSOD Val16Ala gen polimorfizmi için PCR ürününün fragman büyüğü 202 bp; p22phox His72Tyr gen polimorfizmi için PCR ürününün fragman büyüğü ise 348 bp'dir.

#### 2.4.4. RFLP Yöntemi ile PCR Ürünlerinin Kesilmesi

MnSOD Val16Ala gen polimorfizminde, 202 bp'lik PCR ürünü BsaWI restriksiyon enzimi kullanılarak, p22 His72Tyr gen polimorfizminde ise, 348 bp'lik oligonükleotid RsaI restriksiyon enzimi kullanılarak belirlenmiştir. Polimorfizmlerin tespit edilmesinde kullanılan restriksiyon enzimi, kesim koşulları ve kesim sonucunda oluşan oligonükleotid uzunluklarına ait bilgiler Çizelge 2.11'de verilmiştir.

**Çizelge 2.11.** MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr Gen Polimorfizminlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Restriksiyon Enzimleri, Kesim Koşulları ve Kesim Sonucunda Oluşan Oligonükleotid Uzunlukları.

| Polimorfizm      | Restriksiyon Enzimi ve Kesim Bölgesi             | Restriksiyon enzimi ile kesim koşulları                                                                                            | Kesim Ürünleri                   |
|------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| MnSOD Val16Ala   | BsaW I<br>5'...W/CCGGW...3'<br>3'...WGGCC/W...5' | Nükleaz free Su: 18,0 µl<br>Cut Smart Buffer: 2,0 µl<br>BsaW I enzimi: 0,4 µl<br>PCR ürünü: 10,0 µl<br>60 °C'de 16 saat inkübasyon | Val: 124 bp+78 bp<br>Ala: 202 bp |
| p22phox His72Tyr | RsaI<br>5'...GT/AC...3'<br>3'...CA/TG...5'       | Steril Su: 18,0 µl<br>Cut Smart: 2,0 µl<br>Rsa I: 0,35 µl<br>PCR ürünü: 10,0 µl<br>37 °C'de 16 saat inkübasyon                     | His: 348 bp<br>Tyr:160 bp+188 bp |

MnSOD Val16Ala polimorfizminin belirlenmesi için çoğaltılan 202bp'lik PCR ürününün kesilmesi amacıyla 30,4 µl'lik karışım (Nükleaz free su, Cut Smart Buffer, BsaW I enzim ve PCR ürünü karışımı) 60°C'de 16 saat inkübe edildikten sonra analiz zamanına kadar +4°C'de saklanmıştır.

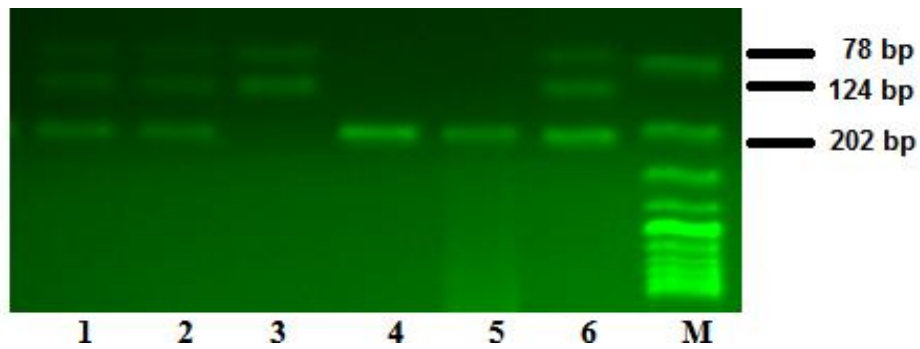
p22phox His72Tyr polimorfizminin belirlenmesi için çoğaltılan 348 bp'lik PCR ürününün kesilmesi amacıyla 30,35µl'lik karışım (Nükleaz free su, Cut Smart

Buffer, RsaI enzim ve PCR ürünü karışımı) 37<sup>0</sup>C’de 16 saat inkübe edildikten sonra analiz zamanına kadar +4<sup>0</sup>C’de saklanmıştır.

### **BsaWI Restriksiyon Enzimi ile Kesim:**

MnSOD Val16Ala polimorfizminin genotiplendirilmesinde amplifiye edilmiş 202 bp’lik DNA dizisi BsaWI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. BsaWI restriksiyon enzimi 5’...↓CCGG...3’ ve 3’...GGCC↓...5’ dizilerini tanıyarak keser.

Bireyler MnSOD homozigot TT (Val/Val) ise; BsaWI enzimi 202 bp’lik diziyi 5’ ünden CCGG dizisini tanır sonraki baz T ise keser ve PCR ürününü 124 bp ve 78 bp’lik iki oligonükleotide ayıracağı için jelde iki bant gözlenecektir. Bireyler MnSOD homozigot CC (Ala/Ala) ise; BsaW I enzimi diziyi tanır ancak sonraki baz C ise kesemez ve jelde 202 bp’lik tek bant gözlenecektir. Bireyler heterozigot genotipli CT olduğunda ise DNA’nın bir iğinde T olan baz diğer ipte C olacağı için, BsaW I enzimi tek ipliği tanıyıp ikiye kesecek, diğerini tanıyamadığı için kesemeyeceği için heterozigotlarda jelde üç bant gözlenecektir. BsaW I restriksiyon enzim kesim ürünleri Şekil 2.5’te verilmiştir. MnSOD Val16Ala genotiplemesine ait agaroz jel fotoğrafı Şekil 2.5’te gösterilmiştir.



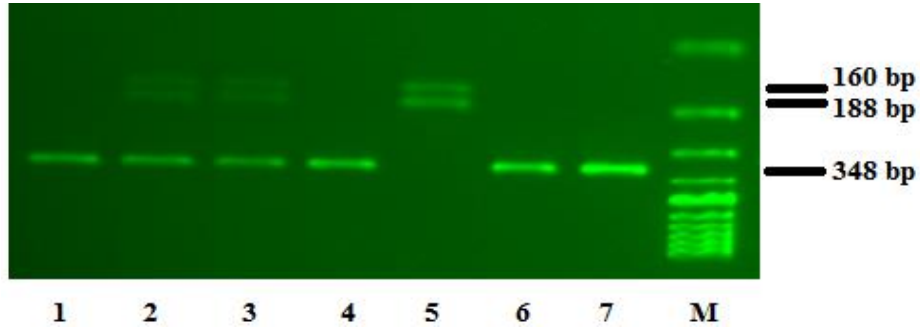
Şekil 2.5. MnSOD Val16Ala Polimorfizmi Agaroz Jel Görüntüsü.

(202 bp’lik PCR ürününün BsaW I restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda oluşan oligonükleotidler ve uzunlukları (M= 100bp Ladder; 4: PCR ürünü (202 bp); 3: Val/Val genotip (124 bp + 78 bp); 5: Ala/Ala genotip (202 bp); 1, 2, 6: Val/Ala genotip (202 bp + 124 bp + 78 bp)).

### **RsaI Restriksiyon Enzimi ile Kesim:**

p22phox His72Tyr polimorfizminin genotiplendirilmesinde amplifiye edilmiş 348 bp'lık DNA dizisi RsaI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. RsaI restriksiyon enzimi 5'...GT↓AC...3' ve 3'...CA↓TG...5' dizilerini tanıyarak keser.

Bireyler p22phox homozigot TT (Tyr/Tyr) ise; Rsa I enzimi 348 bp'lık diziyi 5' ünden GT AC dizisini tanıyarak keser ve PCR ürünü 160 bp ve 188 bp'lık iki oligonükleotide ayıracağı için jelde iki bant gözlenecektir. Bireyler p22phox homozigot CC (His/His) ise; Rsa I enzimi diziyi tanıyamaz ve jelde 348 bp'lık tek bant gözlenecektir. Bireyler heterozigot genotipli CT olduğunda ise DNA'nın bir ipinde C olan baz diğer ipde T olacağı için, Rsa I enzimi tek ipliği tanıyıp ikiye kesecek, diğerini tanıyamaz, kesemez ve böylece heterozigotlarda jelde üç bant gözlenecektir. Rsa I restriksiyon enzim kesim ürünleri Şekil 2.6'da verilmiştir. p22phox His72Tyr genotiplemesine ait agaroz jel fotoğrafı Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.6.** p22phox His72Tyr Polimorfizmi Agaroz Jel Görüntüsü.

(348 bp'lık PCR ürününün RsaI restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda oluşan oligonükleotidler ve uzunlukları. (M= 100bp Ladder; 7: PCR ürünü (348 bp); 5: Tyr/Tyr genotip (160 bp + 188 bp); 2, 3: His/Tyr genotip (348 bp + 188 bp + 160 bp); 1, 4 ve 6: His/His genotip (348 bp)).

#### **2.4.4.1. RFLP ile Kesim Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezine Uygulanması ve Genotip Tayini**

PCR ürünlerinin, BsaWI ve RsaI restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda oluşan oligonükleotidlerin görüntülenmesi için Bölüm 2.4.3.1'deki gibi %2'lik agaroz jel hazırlanarak elektroforezde yürütülmüş ve oligonükleotidler EtBr ile boyanarak

UV ışıktta görünür hale getirilmiştir. Syngene Jel Görüntüleme Sistemi ile sonuçlar fotoğraflanmıştır (Şekil 2.5 ve Şekil 2.6).

## **2.5. İstatistiki Analiz**

Tüm istatistiksel analizlerde SPSS V21 kullanılmıştır. İkili grupların karşılaştırılmasında Student-T testi; ikiden fazla grupların karşılaştırılmasında Tekyönlü Varyans Analizi (One Way Anova Testi) kullanılmıştır. Genlerin genotip frekansları ve alel frekansları çıkarılarak Hardy-Weinberg eşitliğinde olduğu hesaplanmıştır. Gruplar arası normalite testi olarak Shapiro Wilk testi kullanılmıştır. Datalar Ortalama±Standart Sapma, minimum ve maksimum değerleri kullanılarak verilmiştir. Ölçümle elde edilen sonuçların korelasyonu, Pearson Korelasyon analizi ile karşılaştırılmıştır.  $p<0,05$  ve  $p<0,01$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

Yapılan çalışmada, Kütahya'nın Emet ilçesindeki bir gümüş fabrikasında çalışan ve Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne başvurmuş metal maruziyet şüphesi olan 175 erkek işçinin kan örnekleri esas alınmıştır. Çalışmamıza bireylerin yaş, çalışma süreleri, sigara içme durumları da dahil edilmiştir. İlk olarak 175 işçinin total kan As düzeyleri Atomik Absorpsiyon Spektrometre ile ölçülmüştür. Ardından kişilerin DNA hasarlarını belirlemek için Comet analizleri yapılmış. MnSOD ve p22phox gen polimorfizmleri de PCR ve RFLP yöntemiyle belirlenmiş ve bunların DNA hasarlarına etkileri araştırılmıştır ve istatistiksel analizleri yapılmıştır. Datalar Ortalama±Standart Sapma, minimum ve maksimum değerleri kullanılarak verilmiştir. Ölçümle elde edilen sonuçların korelasyonu, Pearson korelasyon analizi ile karşılaştırılmıştır.  $p<0,05$  ve  $p<0,01$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 3.1. Arseniğe Maruz Kalan Bireylerin Tanımlayıcı İstatistikleri

Arseniğe maruz kalan işçilerin yaş ortalamaları, çalışma süreleri, kan örneklerindeki As düzeyleri ile DNA hasarına ait tanımlayıcı parametreler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, yaş ortalamaları  $32,60\pm7,56$  (Minimum:18,00 - Maksimum:61,00), çalışma süreleri  $3,30\pm1,95$  yıl (Minimum:0,50 - Maksimum:10,00), kan arsenik düzeyleri  $17,15\pm11,30$  µg/L (Minimum:3,40 - Maksimum:52,44) ve DNA hasarları  $65,84\pm8,42$  (Minimum:52,92 - Maksimum:105,27) olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.1.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerin Tanımlayıcı İstatistikleri: Yaş Ortalamaları, Çalışma Süreleri, Kan Örneklerindeki As Düzeyleri ile DNA Hasarları.

| Parametre             | n   | Minimum | Maksimum | Ortalama±Standart sapma |
|-----------------------|-----|---------|----------|-------------------------|
| Yaş (yıl)             | 175 | 18,00   | 61,00    | $32,60\pm7,56$          |
| Çalışma Süresi (yıl)  | 175 | 0,50    | 10,00    | $3,30\pm1,95$           |
| As (µg/L)             | 175 | 3,40    | 52,44    | $17,15\pm11,30$         |
| DNA hasarı (DNA tail) | 175 | 52,92   | 105,27   | $65,84\pm8,42$          |

### 3.2. Arsenik Düzeyleri, DNA Hasarı ve Maruziyet Süreleri Arasındaki Korelasyon

DNA hasarı, kan As düzeyleri ve maruziyet süreleri arasındaki korelasyon istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kandaki arsenik düzeyi ile DNA hasarı arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. İşçilerin kanındaki arsenik düzeyi arttıkça, DNA hasarı da istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmaktadır ( $r=0,451$ ;  $p<0,01$ ) ancak, maruziyet yılı, DNA hasarı ve arsenik düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. DNA Hasarı, Kan As Düzeyleri ve Maruziyet Süreleri Arasındaki Korelasyon.

| Parametreler   | Pearson Korelasyonu | Maruziyet yılı | DNA Hasarı | As      |
|----------------|---------------------|----------------|------------|---------|
| Maruziyet yılı | r                   | 1,000          | 0,111      | 0,069   |
|                | p                   |                | 0,143      | 0,367   |
| DNA Hasarı     | r                   | 0,111          | 1,000      | 0,451   |
|                | p                   | 0,143          |            | 0,000** |
| As             | r                   | 0,069          | 0,451      | 1,000   |
|                | p                   | 0,367          | 0,000**    |         |

\*\* $p<0,01$

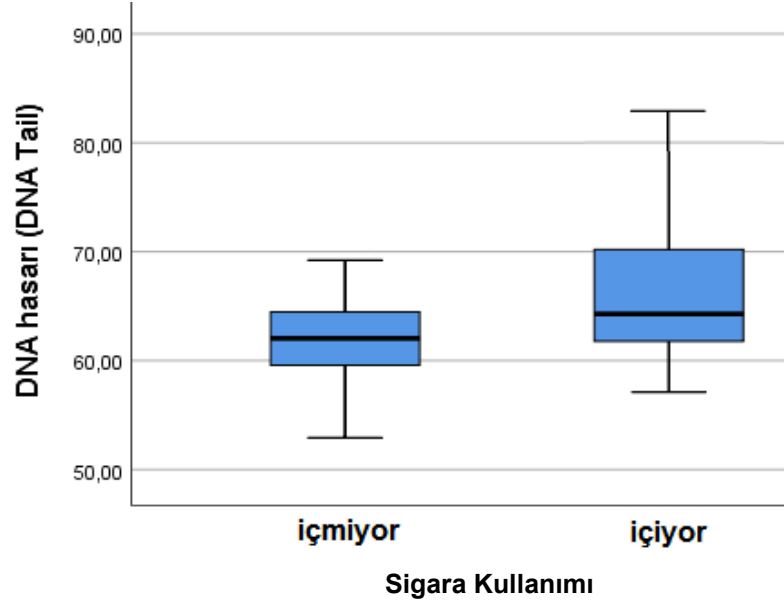
### 3.3. Sigara Kullanımı ve DNA Hasarı

Çalışmamızda 175 işçinin 59'u sigara kullanmamakta, 116'sı ise sigara kullanmaktadır. Gruplararası normallik için Shapiro Wilk testi uygulanmış ve sigara içen ve içmeyen grupların normal dağılımında olduğu teslim edilmiştir. Sigara kullanımı ile DNA hasarı arasındaki ilişki Student T testine göre istatistiksel olarak analiz edilmiş, sigara içenlerde DNA hasarı  $67,13\pm 8,47$  iken, sigara içmeyenlerde  $63,32\pm 7,80$  olarak belirlenmiştir. Sigara içenlerde DNA hasarı istatistiksel olarak içmeyenlere göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p=0,004$ ) (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Sigara İçimi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki.

| Sigara Kullanımı | n   | DNA Hasarı |                | p      |
|------------------|-----|------------|----------------|--------|
|                  |     | Ortalama   | Standart Sapma |        |
| İçmiyor          | 59  | 63,32      | 7,80           | 0,004* |
| İçiyor           | 116 | 67,13      | 8,47           |        |

\* $p<0,01$



Şekil 3.1. Sigara Kullanımı ve DNA Hasarı Arasındaki İlişki.

### 3.4. Çalışılan Popülasyonun MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr Genotiplerinin Hardy-Weinberg Dengesi

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda; çalıştığımız popülasyondaki MnSOD Val/Ala genotipinin Hardy Weinberg eşitliğinde olduğu tespit edilmiştir ( $\chi^2 = 2,089$ ;  $p = 0,175$ ) (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Genotipinin Hardy-Weinberg Dengesinde Olup Olmadığının Tespiti.

|                                             | Val/Val<br>(n) | Val/Ala<br>(n) | Ala/Ala<br>(n) | Toplam<br>(n) |
|---------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| Gözlenen                                    | 41             | 97             | 37             | 175           |
| Beklenen                                    | 45,77          | 87,45          | 41,77          | 175           |
| $\chi^2 = 2,089$ ; $p = 0,175$ ; $p > 0,05$ |                |                |                |               |

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda; çalıştığımız popülasyondaki p22phox His72Tyr genotipinin Hardy Weinberg eşitliğinde olduğu tespit edilmiştir ( $\chi^2 = 0,012$ ;  $p = 1,000$ ) (Çizelge 3.5).

**Çizelge 3.5.** Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Genotipinin Hardy-Weinberg Dengesinde Olup Olmadığının Tespiti.

|                                             | His/His<br>(n) | His/Tyr<br>(n) | Tyr/Tyr<br>(n) | Toplam<br>(n) |
|---------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>Gözlenen</b>                             | <b>48</b>      | <b>88</b>      | <b>39</b>      | <b>175</b>    |
| <b>Beklenen</b>                             | <b>48,37</b>   | <b>87,27</b>   | <b>39,37</b>   | <b>175</b>    |
| $\chi^2 = 0,012$ ; $p = 1,000$ ; $p > 0,05$ |                |                |                |               |

### 3.5. Çalışılan Popülasyonun MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr Polimorfizmlerin Genotip ve Alel Frekansları

Arseniğe maruz kalan işçilerdeki (n:175) MnSOD Val16Ala polimorfizminde; %23,4'ünün Val/Val, %55,4'ünün Val/Ala, %21,2'sinin ise Ala/Ala genotiplerinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.6.** Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile Oluşan Genotip Frekansları.

| MnSOD<br>Polimorfizm | Genotip Frekansı (n:175) |             |
|----------------------|--------------------------|-------------|
|                      | N                        | %           |
| <b>Val/Val</b>       | <b>41</b>                | <b>23,4</b> |
| <b>Val/Ala</b>       | <b>97</b>                | <b>55,4</b> |
| <b>Ala/Ala</b>       | <b>37</b>                | <b>21,2</b> |

Arseniğe maruz kalan işçilerdeki MnSOD Val16Ala polimorfizmi ile oluşan alel frekansları (n:350); Val alel frekansı; %51,1 (n:179), Ala alel frekansı ise %48,9 (n:171) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.7).

**Çizelge 3.7.** Çalıştığımız Popülasyonda MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile Oluşan Alel Frekansları.

| Alel (Val/Ala) | Alel Frekansı (n:350) |             |
|----------------|-----------------------|-------------|
|                | n                     | %           |
| <b>Val</b>     | <b>179</b>            | <b>51,1</b> |
| <b>Ala</b>     | <b>171</b>            | <b>48,9</b> |

Arseniğe maruz kalan işçilerdeki (n:175) p22phox His72Tyr polimorfizminde; %27,4'ünün His/His, %50,3'ünün His/Tyr, %22,3'ünün ise Tyr/Tyr genotiplerinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.8).

**Çizelge 3.8.** Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile Oluşan Genotip Frekansları.

| p22phox<br>Polimorfizm | Genotip Frekansı (n:175) |      |
|------------------------|--------------------------|------|
|                        | n                        | %    |
| His/His                | 48                       | 27,4 |
| His/Tyr                | 88                       | 50,3 |
| Tyr/Tyr                | 39                       | 22,3 |

Arseniğe maruz kalan işçilerdeki p22phox His72Tyr polimorfizminde alel frekansları (n:350); His alel frekansı; %52,6 (n:184), Tyr alel frekansı ise %47,4 (n:166) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.9).

**Çizelge 3.9.** Çalıştığımız Popülasyonda p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile Oluşan Alel Frekansları.

| Alel (His/Tyr) | Alel Frekansı (n:350) |      |
|----------------|-----------------------|------|
|                | n                     | %    |
| His            | 184                   | 52,6 |
| Tyr            | 166                   | 47,4 |

### 3.6. Arseniğe Maruz Kalanlarda MnSOD Val16Ala polimorfizmi ile DNA hasarı

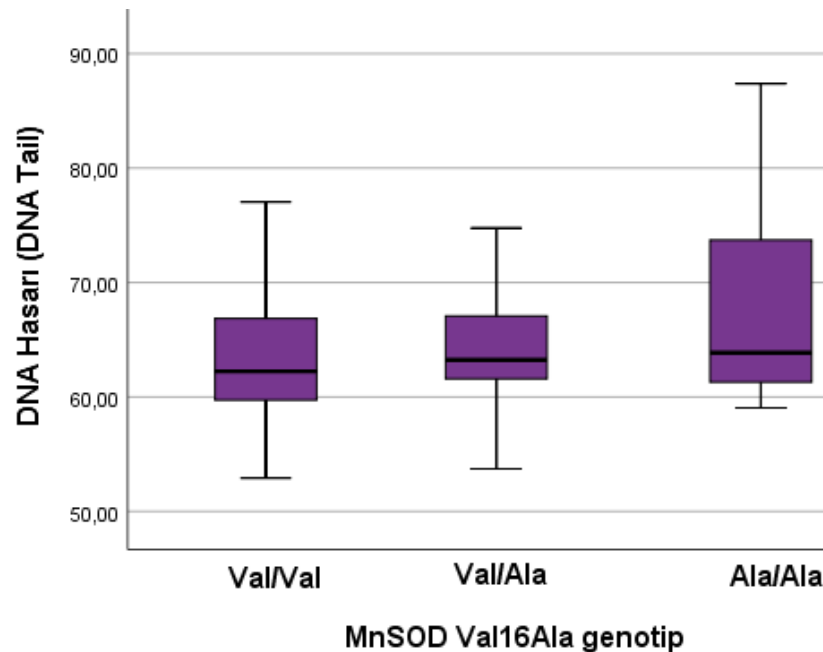
Arseniğe maruz kalan işçilerdeki DNA hasar miktarı ile MnSOD Val16Ala polimorfizmi genotipleri arasındaki ilişki One Way Anova testine göre istatistiksel olarak analiz edildiğinde; Val/Val genotipli 41 bireyin DNA hasarı  $63,58 \pm 5,83$  (Minimum:52,92-Maksimum:77,04), Val/Ala genotipli 97 bireyin  $65,30 \pm 7,18$  (Minimum: 53,72-Maksimum: 91,82) ve Ala/Ala genotipli 37 bireyin  $69,79 \pm 12,03$  (Minimum: 59,04-Maksimum:105,27) olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak MnSOD Val16Ala polimorfizmi genotipleri ile DNA hasarı arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,003$ ) (Çizelge 3.10).

Ayrıca işçilerdeki DNA hasarı ve Ala alelini içermeyen genotipli bireyler (Val/Val; n=41) ile Ala alelini içeren genotipli bireyler (Val/Ala+Ala/Ala; n=134) gruplandırılarak aralarındaki ilişki Student T testine göre istatistiksel olarak analiz edildiğinde, Ala alelini içeren genotipli bireylerdeki DNA hasarının, Ala alelini içermeyen genotipli bireylerdeki DNA hasarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunduğu tespit edilmiştir (p=0,048) (Çizelge 3.10).

**Çizelge 3.10.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki.

| MnSOD<br>Val16Ala polimorfizmi | n          | DNA Hasarı        |              |               | p              |
|--------------------------------|------------|-------------------|--------------|---------------|----------------|
|                                |            | Ortalama±S.S.     | Minimum      | Maksimum      |                |
| Val/Val                        | 41         | 63,58±5,83        | 52,92        | 77,04         | <b>0,003**</b> |
| Val/Ala                        | 97         | 65,30±7,18        | 53,72        | 91,82         |                |
| Ala/Ala                        | 37         | 69,79±12,03       | 59,04        | 105,27        |                |
| Val/Val                        | 41         | 63,58±5,83        | 52,92        | 77,04         | <b>0,048*</b>  |
| Val/Ala + Ala/Ala              | 134        | 66,54±8,97        | 53,72        | 105,27        |                |
| <b>Toplam</b>                  | <b>175</b> | <b>65,84±8,42</b> | <b>52,92</b> | <b>105,27</b> |                |

\*p<0,05; \*\*p<0,01



**Şekil 3.2.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik.

### 3.7. Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde p22phox His72Tyr polimorfizmi ile DNA hasarı

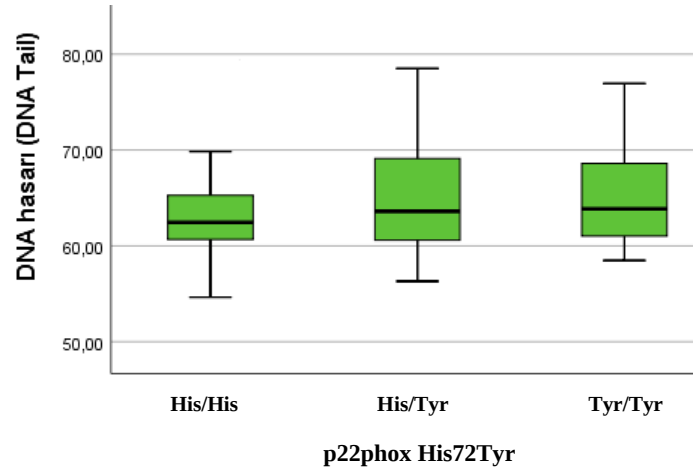
Arseniğe maruz kalan işçilerdeki DNA hasar miktarı ile p22phox His72Tyr polimorfizmi genotipleri arasındaki ilişki One Way Anova testine göre istatistiksel olarak analiz edildiğinde; His/His genotipli 48 bireyin DNA hasarı  $63,39 \pm 5,75$  (Minimum:52,92 - Maksimum:83,04), His/Tyr genotipli 88 bireyin  $65,90 \pm 7,46$  (Minimum:56,30 - Maksimum:91,82) ve Tyr/Tyr genotipli 39 bireyin  $68,73 \pm 11,84$  (Minimum:58,48 - Maksimum:105,27) olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak p22phox His72Tyr polimorfizmi genotipleri ile DNA hasarı arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,012$ ) (Çizelge 3.11).

Ayrıca işçilerdeki DNA hasarı ve Tyr alelini içermeyen genotipli bireyler (His/His;  $n=48$ ) ile Tyr alelini içeren genotipli bireyler (His/Tyr+Tyr/Tyr;  $n=127$ ) gruplandırılarak aralarındaki ilişki Student T testine göre istatistiksel olarak analiz edildiğinde, Tyr alelini içeren genotipli bireylerdeki DNA hasarının, Tyr alelini içermeyen genotipli bireylerdeki DNA hasarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunduğu tespit edilmiştir ( $p=0,017$ ) (Çizelge 3.11).

**Çizelge 3.11.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki.

| p22phox His72Tyr polimorfizmi | n          | DNA Hasarı          |         |          | P             |
|-------------------------------|------------|---------------------|---------|----------|---------------|
|                               |            | Ortalama $\pm$ S.S. | Minimum | Maksimum |               |
| His/His                       | 48         | $63,39 \pm 5,75$    | 52,92   | 83,04    | <b>0,012*</b> |
| His/Tyr                       | 88         | $65,90 \pm 7,46$    | 56,30   | 91,82    |               |
| Tyr/Tyr                       | 39         | $68,73 \pm 11,84$   | 58,48   | 105,27   |               |
| His/His                       | 48         | $63,39 \pm 5,75$    | 52,92   | 83,04    | <b>0,017*</b> |
| His/Tyr + Tyr/Tyr             | 127        | $66,77 \pm 9,08$    | 56,30   | 105,27   |               |
| <b>Toplam</b>                 | <b>175</b> | $65,84 \pm 8,42$    | 52,92   | 105,27   |               |

\* $p < 0,05$



**Şekil 3.3.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde p22phox His72Tyr Polimorfizmi ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik.

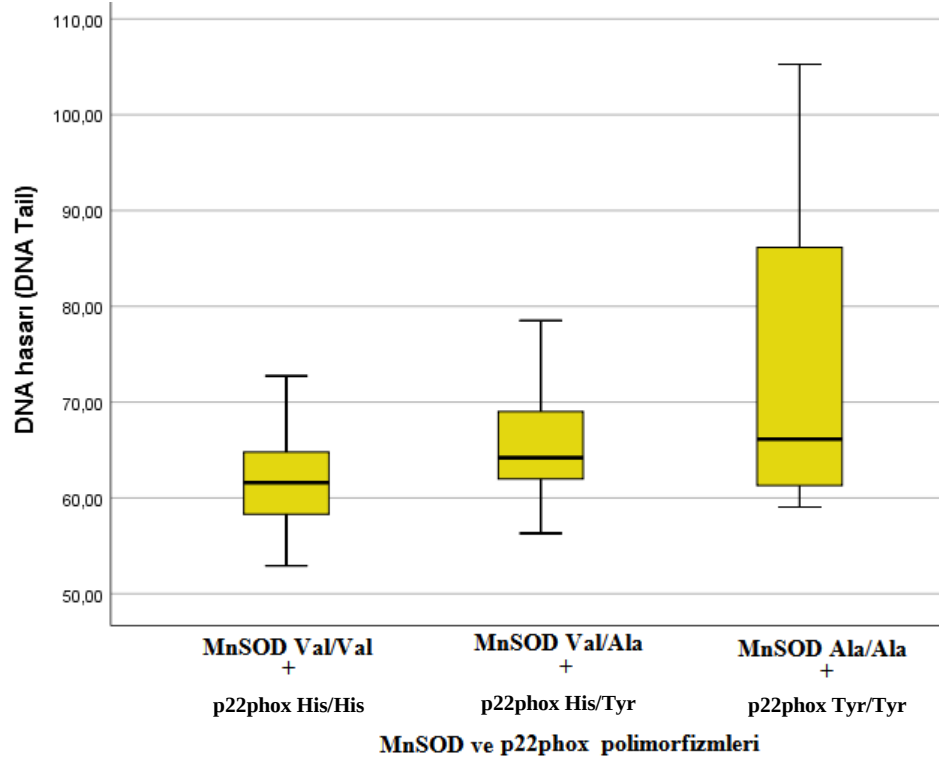
### 3.8. Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA Hasarı

Arseniğe maruz kalan işçiler, MnSOD Val/Val+p22phox His/His genotipliler, MnSOD Val/Ala+p22phox His/Tyr genotipliler ve MnSOD Ala/Ala+ p22phox Tyr/Tyr genotipliler olmak üzere 3 gruba ayrılmış ve bu genotiplere sahip bireyler ile bireylerin DNA hasarları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, bu gruplardaki genotiplere sahip bireyler ile DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ( $p=0,012$ ) (Çizelge 3.12).

**Çizelge 3.12.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA Hasarı Arasındaki İlişki.

| MnSOD ve p22phox polimorfizmleri      | n  | DNA Hasarı    |         |          | P             |
|---------------------------------------|----|---------------|---------|----------|---------------|
|                                       |    | Ortalama±S.S. | Minimum | Maksimum |               |
| MnSOD Val/Val<br>+<br>p22phox His/His | 13 | 62,63±7,07    | 52,92   | 77,04    | <b>0,012*</b> |
| MnSOD Val/Ala<br>+<br>p22phox His/Tyr | 49 | 66,57±8,18    | 56,30   | 91,82    |               |
| MnSOD Ala/Ala<br>+<br>p22phox Tyr/Tyr | 15 | 73,71±15,80   | 59,04   | 105,27   |               |

\* $p<0,05$



**Şekil 3.4.** Arseniğe Maruz Kalan Bireylerde MnSOD Val16Ala - p22phox His72Tyr Polimorfizmleri ile DNA Hasarı Arasındaki İlişkiyi Gösteren Grafik.

#### 4. TARTIŞMA

As maruziyeti insan sağlığını etkileyen önemli global sorunlardan biridir. Dünyada yüz milyondan fazla kişi yer altı suları başta olmak üzere hava, toprak, yiyecekler (pirinç, balık, meyve suları v.b), kimyasal boyalar, insektisit-pestisitler, ahşap koruyucular, kurşun/asit akü endüstrisi, bakır-maden-cevher endüstrileri, mikroelektronik endüstrisi ve sağlık (terapotik ajan) sektörü gibi çeşitli maruziyet alanlarından; inhalasyon, oral (yeme-içme) ve parenteral yolla As'ye maruz kalmaktadır (Pierce ve ark., 2012; Jomova ve ark., 2011; Valko ve ark., 2005; Magalhaes, 2002; Chou ve ark., 2007).

Dünyada doğuda Hindistan, Bangladeş, Çin, Şili, Japonya, Kore, Malezya, Tayvan, Vietnam, Nepal, Moğolistan; batıda Meksika, Amerika, Arjantin, Brezilya, Kanada, Romanya, Gana, Macaristan, Yunanistan, İzlanda, Avusturya gibi ülkelerde, sulardaki As seviyelerinin yüksek düzeyde ( $> 50 \mu\text{g/L}$ ) olduğu bildirilmiştir (Chowdhury ve ark., 2000; Karim, 2000; Mukherjee ve Bhattacharya, 2001; Lianfang ve ark., 1994; Ferreccio ve ark., 2000; Chen ve ark., 1994; Berg ve ark., 2001; Steinmaus ve ark., 2003; Smedley ve ark., 2005; Bundschuh ve ark., 2004; Centeno ve ark., 2007). Dünyadaki en yüksek As düzeyleri daha çok jeotermal sularda Şili'de 45 000-50 000  $\mu\text{g/L}$  (Centeno ve ark., 2007; Howell ve ark., 2014), maden havzalarında en yüksek Gana'da 35 600 mg/kg (Howell ve ark., 2014), İngiltere'de 50 000  $\mu\text{g/L}$  (Mandal ve Suzuki, 2002) ve 130 000 mg/L'la Çek Cumhuriyeti'nde (Majzlan ve ark., 2014) tespit edilmiştir. Türkiye'deki As kirliliği daha çok jeojenik ve antropojeniktir. Özellikle tektonik aktifliğe sahip doğal jeolojik yapıları, maden yataklarının bulunuşu-işleniş ve jeotermal yataklarının varlığı nedeniyle Ege bölgesinde ve Orta Anadolu'daki toprak ve sularda, As kirliliği tespit edilmiştir (Doğan ve ark., 2005; Doğan ve Doğan, 2007; Gunduz ve ark., 2015; Arıkan ve ark., 2015). Ülkemizde Bursa, Balıkesir, Uşak, İzmir, Eskişehir, Aksaray, Sivas, Nevşehir ve özellikle Kütahya ve ilçelerinde As düzeyleri çok yüksek bulunmuştur (Erdol ve Ceylan, 1997; Gemici ve ark., 2008; Çamtepe, 2006; Çalışkan ve Pala, 2009; Öztürk, 2017; Aksoy ve ark., 2009; Yuce ve Yasin, 2012; Cicek ve ark., 2013; Şimşek, 2012; Atabey, 2009). Kütahya'da 40 farklı içme suyunda yapılan analizde en yüksek ölçülen As düzeyi 10 700  $\mu\text{g/L}$  olarak tespit edilmiştir (Doğan ve Doğan, 2007). Bu düzey dünyadaki As kirliliği en yüksek olan ülkelere eşdeğer düzeyde

yüksektir. Kronik As zehirlenmelerinin tespiti ile muhtemel As kaynakları önem kazanmıştır (Doğan ve ark., 2005). Literatüre göre Dünya, Türkiye ve Kütahya'daki sülardaki As düzeyleri Çizelge 1.2 ve Çizelge 1.3'te verilmiştir.

As'nin maruziyet dozuna-yoluna-süresine ve maruziyet sıklığına bağılı olarak sağıık üzerine olumsuz etkileri ortaya çıkmaktadır. İnorganik ve organik As'ler kanda kısa bir süre kalırlar, ancak maruziyet sürekli-sabitse As konsantrasyonu da kanda belli düzeyde bulunarak, sabit durum konsantrasyonlarını oluşturarak maruz kalma derecesini yansıtmaktadır (Morton, 1994; Arsenic in Drinking Water, 1999; Hall ve ark., 2006). Kronik As maruziyetindeki doz-yanıt çalışmalarında en geniş maruziyet düzeyleri total kan As konsantrasyonlarıyla belirlenebilmektedir (Hall ve ark., 2006). Kronik maruziyetlerde daha çok idrar As'lerinin çalışıldığı görülmektedir. Ancak üriner As ölçümlerinde idrar kreatinin de devreye girmektedir. Bilindiğı üzere idrar kreatinin yaşı, cinsiyet, ırk-etnik köken ve beden kitle indeksi (BMI) gibi birçok demografik değışenden etkilenebilmektedir. As metilasyonundaki folatın, kas kreatininin folat bağımlı metabolizmada temel ürün olması üriner As'de gram başına düşen kreatini de etkilemekte ve tüm bunlar toksisite değeriendirmesini kompleks hale getirebilmektedir (Barr ve ark., 2005; Gamble ve Liu, 2005; Gamble ve ark., 2005). Bu nedenle idrar As, metabolizma sonrası atılımın yansımasını ifade etmekte, gerçık doku yükünü ifade etmemektedir (Klaassen, 2001; NRC, 2001). Kan As (BAs) ise internal dozun ölçüsü olup, hem yakın maruziyeti hem de dokulardan kana geçen As'yi de içerdığıinden total Kan As'yi ifade etmektedir. As'ye maruz kalanlarda yapılan çalışmalarda sigara içme durumuyla cilt lezyonlarında artış gözlenmiş ve sigara içme durumuyla BAs'ler UAs (idrır As)'lere göre daha ilişkili bulunmuştur (Ahsan ve ark., 2006b; Chen ve ark., 2006). AAS ile ölçülen kan As'lerle (BAs) plazma reaktif antioksidan kapasitesi arasında ters bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Wu ve ark., 2001). Bu nedenle BAs seviyeleri maruziyet sonrası olası hastalıklar için erken biyobelirteç olarak kullanılabilir. As'ye maruz kalanlarda yapılan bir çalışmada BAs düzeyleri arttıkça As kaynaklı aterosklerozda rol oynadığı düşünölen inflamatuvar mediatör gen ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir (Wu ve ark., 2003).

Bilinen bir arsenik maruziyeti olmayan insanlarda arsenik düzeyleri 0,3 – 2 µg/L olarak tespit edilmiştir (Bencko ve Symon, 1977; Heydorn, 1970; Kagey ve ark., 1977; Olguin ve ark., 1983; Hamilton ve ark., 1994; Vahter ve ark., 1995; Concha ve ark., 1998a; Concha ve ark., 1998b). Amerika ulusal ATSDR'ye (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) göre maruziyeti olmayanlarda kan As düzeyleri < 1 µg/L olarak; Avrupa'da ise WHO'ya göre 0,5-1 µg/l olarak kabul edilmektedir (ATSDR, 2007; WHO, 2015). Bilinen As maruziyeti olmayan insanlarda yapılan çalışmalarda kan As düzeyleri ülkelere göre farklılıklar göstermektedir: Kanada'da 0,2 µg/l, Brezilya'da 9,87 µg/l, İtalya'da 5,32 µg/l-3,69 ng/ml, Belçika'da 2,12 ng/ml, Almanya'da 2,4 ng/ml, Slovenya'da 2,98 ng/ml, Moğolistan'da 11,02 ppb, Hindistan'da 11,74 µg/L, Pakistan'da 1,7 ppb, Tayvan'da 6,8 µg/L ve Türkiye'de (kadınlarda) 25 ppb olarak kan As (BAs) düzeyleri ölçülmüştür (Saravanabhavan ve ark., 2017; Freire ve ark., 2015; Alimonti ve ark., 2011; Pino ve ark., 2012; Schoeters ve ark., 2012; Schulz ve ark., 2007; Snoj Tratnik ve ark., 2012; Dong ve Liu, 2006; Vuyyuri ve ark., 2006; Afridi ve ark., 2011; Soong ve ark., 1991; Aliyev, 2011).

İçme suyundan, mesleksel ve/veya çevresel arsenik maruziyeti olan insanlarda kan arsenik düzeyleri yüksek olup ülkelere göre farklılık göstermektedir: İçme suyu maruziyeti bilinenlerde kan As düzeyleri Arjantin'de 10 µg/L, Kaliforniya'da 13 µg/L, Nevada'da 3-4 µg/L olarak tespit edilmişken, mesleksel ve çevresel maruziyet olduğu bilinen Hindistan'da kan As düzeyleri 56,76 µg/L olarak tespit edilmiştir (Vahter ve ark., 1995; Concha ve ark., 1998a; Concha ve ark., 1998b; Valentine ve ark., 1979; Vuyyuri ve ark., 2006).

Türkiye'de kan As düzeyleri ölçülen çalışmalara baktığımızda daha çok Kütahya ve ilçelerinin çalışıldığını görmekteyiz. Kütahya'ya bağlı 511 köyden rastgele belirlenen İğdeköy, Kırıl, Kayaarası, Kepez ve Gümüşköy'de 18 yaş üzeri yaşayan 1102 kişiyi kapsayan çalışmada dermatologlarca 93 erkek ve 210 kadında toplamda 303 kişide As'ye özgü keratoz lezyonlu sarımtırak tırnaklar tespit edilmiştir (Arikan ve ark., 2015). Kayaarası, Kepez ve Gümüşköy'deki sularda ortalama As seviyesi 10,15 µg/L ve kan As değerleri 3,04 µg/L; İğdeköy ve Kırıl köylerinde ise sularda 44,94 µg/L olarak kan As değerleri ise ortalama 4,22 µg/L olarak tespit edilmiş ve

burada yaşayanların birinci derece akrabalarında kanser nedenli ölümler ve kronik hastalıklar olduğu bildirilmiştir (Arikan ve ark., 2015). Ayrıca Kütahya-Emet-İğdeköy kuyu sularında 1,70 mg/L As konsantrasyonu, içme suyundaki normal sınırlar olan 10 µg/L'nin 170 katı kadar yüksek tespit edilmiş ve bölge halkında yapılan çalışmada ise kan As düzeyleri 115 µg/L olarak oldukça yüksek bulunmuştur (Sardaş, 2009).

Arsenik maruziyetinin tespit edildiği Kütahya-Emet bölgesinde, toprak ve su analizlerinde As düzeyleri yüksek bulunmuş ve çevresel maruziyet sonrası toksik etkileri de gözlenmektedir. Ciddi toksik etkilerin görülmeye başlanması maruziyetin boyutunu da ortaya koymaktadır. Ancak arsenik maruziyeti sonucu aynı ortamdaki farklı bireylerde farklı toksik etkiler görülebilmekte ve farklı arsenik düzeyleri tespit edilebilmektedir. “Arseniğe Maruz İşçilerde, Oksidatif Stresle İlişkili Genlerdeki Polimorfizmlerin (Mn-SOD ve p22phox) ve Kan Arsenik Düzeylerinin DNA Hasarına Etkisi” adı altında yaptığımız çalışmada bir taraftan arseniğin mesleksel maruziyeti izlenerek DNA hasarı belirlenmeye çalışıldı, diğer taraftan da maruziyet sonucu DNA hasarındaki bireysel farklılıklarda MnSOD ve p22phox polimorfizmlerin etkisinin araştırılması hedeflendi. Çalışma grubumuzu oluşturan Kütahya-Emet'te bir fabrikadaki 175 işçide çevresel ve/veya mesleksel akut veya kronik olarak As'ye maruziyeti olduğu düşünülerek, As düzeyleri ölçülmek istenmiş ve kanda As düzeyleri (BAs) Minimum: 3,40 µg/L ve Maksimum: 52,44 µg/L ise ortalama  $17,15 \pm 11,30$  µg/L olarak tespit edilmiştir (1 ppb=1 µg/L).

Yapılan çalışmada işçilerin kan arsenik düzeyleri, bilinen maruziyeti olmayan literatürdeki verilere göre anlamlı şekilde oldukça yüksek bulunmuştur. Vuyyuri ve ark. (2006) As'ye mesleksel maruziyeti olan Hindistan-Haydarabat'taki cam işçilerinde yaptıkları çalışmadaki kan As düzeyleri 56,76 µg/L olarak bizim çalışmamızdaki işçilerin maksimum kan As değerleri olan 52,44 µg/L'ye oldukça yakın çıkmış ve işyeri maruziyetine örnek teşkil etmiştir. Sardaş'ın (2009) çalışması bizim çalışma popülasyonumuz olan Kütahya-Emet bölgesi olup, Sardaş(2009) kuyu suyundan As'ye maruzlardaki çalışmasında kan As düzeylerini, bizim çalışma grubumuzdaki işçilere göre yaklaşık 7 kat yüksek bulmuştur. Sardaş'ın (2009) çalışmasında kan As düzeylerinin bu kadar yüksek olması maruziyet sebebi olan

tüketilen kuyu suyundaki As düzeyinin ortalama 1 700 ppb (As MCL=10 ppb, EPA) olmasından kaynaklanmaktadır. Literatüre göre dünya ülkeleri, Türk popülasyonu ve bu çalışmadaki bireylerin kan arsenik düzeyleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Popülasyonlara Göre Ortalama Kan Arsenik Düzeyleri.

| Popülasyon                            | N                                         | Ort. Kan As Düzeyi                          | Maruziyet                                    | Kaynak                                                  |
|---------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| US                                    |                                           | < 1 µg/L                                    | Yok                                          | ATSDR, 2007.                                            |
| Kanada                                |                                           | 0,2 µg/l                                    | Bilinmiyor                                   | Saravanabhavan ve ark., 2017.                           |
| Brezilya                              | 1183                                      | 9,87 µg/l (sigara-)<br>10,86 µg/l (sigara+) | Bilinmiyor                                   | Freire ve ark., 2015.                                   |
| Avrupa                                |                                           | 0,5-1 µg/l                                  | Yok                                          | WHO, 2015.                                              |
| İtalya                                | 1423<br>252                               | 5,32 µg/l<br>3,69 ng/ml                     | Bilinmiyor                                   | Alimonti ve ark., 2011.<br>Pino ve ark., 2012.          |
| Belçika                               | 241-yenidoğan<br>207-genç<br>235-yetişkin | 2,18 ng/ml<br>2,12 ng/ml<br>2,04 ng/ml      | Bilinmiyor                                   | Schoeters ve ark., 2012.                                |
| Almanya                               | 4001<br>4052                              | 2,0 ng/ml<br>2,4 ng/ml                      | Bilinmiyor                                   | Kolossa-Gehring ve ark., 2012.<br>Schulz ve ark., 2007. |
| Slovenya                              | 274                                       | 2,98 ng/ml                                  | Bilinmiyor                                   | Snoj Tratnik ve ark., 2012.                             |
| Moğolistan                            | 63                                        | 11,02 ppb                                   | Kontrol grubu                                | Dong ve Liu, 2006.                                      |
| Hindistan-Haydarabat                  | 165                                       | 11,74 µg/L                                  | Kontrol grubu                                | Vuyyuri ve ark., 2006.                                  |
| Pakistan                              | 75                                        | 1,7 ppb                                     | Kontrol grubu                                | Afridi ve ark., 2011.                                   |
| Tayvan                                | 168-maternal kan<br>168-kordon kanı       | 6,8 µg/L<br>7,9 µg/L                        | Bilinmiyor                                   | Soong ve ark., 1991.                                    |
| Türkiye                               | 113-maternal kan<br>113-kordon kanı       | 25 ppb<br>27 ppb                            | Bilinmiyor                                   | Aliyev, 2011                                            |
| Kuzey Batı Arjantin                   |                                           | 10 µg/L                                     | 200 µg/L (İçme suyu)                         | Vahter ve ark., 1995;<br>Concha ve ark., 1998a.b        |
| Kaliforniya Nevada                    |                                           | 13 µg/L<br>3-4 µg/L                         | 400 µg/L (İçme suyu)<br>100 µg/L (İçme suyu) | Valentine ve ark., 1979.                                |
| Hindistan-Haydarabat                  | 200 Cam işçisi                            | 56,76 µg/L                                  | Mesleki Maruziyet                            | Vuyyuri ve ark., 2006.                                  |
| Kütahya Kayaarası Kepez Gümüşköy      | 1102 Köy Halkı                            | 3,04 µg/L                                   | 10,15µg/L (İçme suyu)                        | Arikan ve ark., 2015.                                   |
| Kütahya İğdeköy Kırıl                 |                                           | 4,22 µg/L                                   | 44,94µg/L (İçme suyu)                        |                                                         |
| Kütahya-Emet-İğdeköy                  | 30 Köy halkı                              | 115 µg/L (Min:114-Mak:264)                  | 1.70 mg/L (Kuyu suyu)                        | Sardaş, 2009.                                           |
| Bizim çalışmamız Türkiye Kütahya-Emet | 175 işçi                                  | 17,15±11,30 µg/L (Min:3,40-Maks:52,44)      | Mesleki ve Çevresel Maruz                    |                                                         |

1ppb=1µg/L=1000ng/L, 1mg/L=1000 µg/L=1000ppb.

As birinci sınıf insan karsinojenidir ve kronik maruziyeti deri, mesane, akciğer ve böbrek kanserlerinin; kardiyovasküler, nörolojik, diyabet ve solunum yolu hastalıklarının risklerinin artışıyla ilişkilendirilmektedir (IARC, 2004; Flora, 2011; Fata ve ark., 2013). Kan As’nin toksik dozu WHO’ya göre > 12 µg/L olarak kabul

edilmektedir. iAs'lerin organizma üzerindeki etki mekanizmaları multifaktöriyel ve kompleksdir (WHO, 2008). Ancak As toksisitesinin en temel mekanizması maruziyetle birlikte hücrelerde oluşan ve artan serbest radikaller, ROT'lar ve dolayısıyla artmış oksidatif strese (Flora, 2011). Kronik As maruziyeti olan popülasyonlarda yapılan çalışmalarda oksidatif strese artış gözlenmiş ve bu artışın DNA hasarlarını, lipid peroksidasyonunu ve glutatyon düzeylerinde azalmayı indüklediği tespit edilmiştir (Basu ve ark., 2005; Mendez-Gomez ve ark., 2008; Sampayo-Reyes ve ark., 2010; Schoen ve ark., 2004; Wu ve ark., 2001). Hücrelerde As kaynaklı ROT'ların oluşumu, karsinogenezde önemli rolü olan sinyal yollarının değişmesi ve transkripsiyon faktörlerinin regülasyonu ile ilişkilidir (Tapio ve Grosche, 2006). Kronik iAs maruziyetinde doğrudan As ve As metabolitleri kaynaklı primer ROT oluşumu ya da dolaylı olarak As maruziyetinde antioksidan enzim sistemlerindeki (SOD, katalaz v.b) değişiklikler neticesinde dolaylı ROT oluşumu oksidatif stresi indükler ve Kromozom aberasyonları, Kardeş Kromatid Değişimleri, DNA Hiper/Hipometilasyonu, Histon Modifikasyonları, miRNA'lar, Anoploidi ve DNA Zincir Kırıkları gibi çeşitli DNA hasarlarına neden olmaktadır (Flora, 2011).

Arseniğe içme suyundan maruz kalan ve As maruziyetleri yüksek olanlardan Meksika ve Arjantin'deki popülasyonlarda Kromozomal Aberasyonlar ve Kardeş Kromatid Değişimleri gözlenmiş, maruziyet arttıkça aberasyonların frekansı da artmıştır (Ostrosky-Wegman ve ark., 1991; Lerda, 1994). Şili'de içme suyundan yüksek As'ye maruz kalanlarda İki çekirdekli Mikronükleus görülme sıklığı daha yüksek tespit edilmiştir (Martinez ve ark., 2004). Meksika'daki çalışmada içme suyundan maruz bireyler olup, cilt kanserlilerde yapılan çalışmada maruz lenfositlerinde p53 ekspresyonu-deri kanseri arasında ilişki belirlenmiş (Salazar ve ark., 2004); yine Meksika'da içme suyundan As'ye yüksek düzeyde maruz farklı bir popülasyonda ise maruzların DNA hasarlarında artış, DNA onarımlarında azalma tespit edilmiştir (Andrew ve ark., 2006; Burgess ve ark., 2007). Batı Bengal'de yaşayanlarda yapılan çalışmada içme suyundan yüksek düzeyde As'ye maruz kalan bireylerin DNA hasar düzeyleri ortalama 86,50 µm olarak yüksek bulunmuştur (Basu ve ark., 2005).

Arseniğe mesleki ve çevresel maruz kalan ve kan As düzeyleri yüksek olanlardan Şili'deki metal-maden işçilerinde yapılan çalışmalarda metal döküm

işçileri, işçi yöneticileri ve bakır madeni çalışanları arasında lenfositlerdeki Mikronukleus frekanslarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Paiva ve ark., 2008). Polonya’da bakır madenindeki 6-80  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  As’ye ortam havasından maruz kalan işçiler ve kontrol grubu üzerinde As maruziyeti ve DNA hasarı üzerine yaptıkları çalışmada maruz kalan işçilerden sigara içenlerin DNA hasarı düzeyleri 72,2 olarak sigara içmeyenlere (68,7) ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Palus ve ark., 2005). Vuyyuri ve arkadaşlarının (2006) Hindistan-Haydarabat’ta cam işçilerinde ve kontrol grubunda As maruziyeti ve DNA hasarı üzerine yapılan çalışmada, maruz kalan işçi grubunda ortalama kan As düzeyleri 56,76  $\mu\text{g}/\text{L}$  olarak oldukça yüksek ve DNA hasar düzeyleri sigara içenlerde 15,58 olarak içmeyenlere (13,95) ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Vuyyuri ve ark., 2006). Ülkemizde de Kütahya-Emet (İğdeköy)’te kuyu suyundan 1,70 mg/L As’ye maruz kalan bölge halkının kan As düzeyleri 114–264  $\mu\text{g}/\text{L}$  olarak ölçülmüş ve ortalama kan arsenik düzeyleri 115  $\mu\text{g}/\text{L}$  (BAs) olarak anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir. DNA hasarları Comet’le değerlendirilmiş ve sigara içenlerde DNA hasar düzeyi ortalama 57,06 olarak, içmeyen maruzlara göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Sardaş, 2009).

Kütahya-Emet’te fabrikadaki çalışan 175 işçideki çalışmamızda kan As düzeyleri 3,40-52,44  $\mu\text{g}/\text{L}$  aralığında ölçülmüş, ortalama kan As konsantrasyonları  $17,15 \pm 11,30$   $\mu\text{g}/\text{L}$  olarak tespit edilmiş ve genotoksik hasarın biyobelirteci olarak DNA hasarları Comet Assay ile 52,92- 105,27 aralığında belirlenmiş ve ortalama  $65,84 \pm 8,42$  olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Bulduğumuz sonuçlara göre kan As düzeyi arttıkça DNA hasarı da artmıştır. Sonuçlarımız anlamlı olup, As düzeyi ve DNA hasarı arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir ( $p < 0,01$ ;  $r = 0,451$ ) (Çizelge 3.2). Çalışma grubumuzda sigara içenlerde DNA hasar düzeyi  $67,13 \pm 8,47$  olarak; sigara içmeyenlerde  $63,32 \pm 7,80$  olarak ölçülmüş ve sigara içen maruz bireylerde DNA hasarı beklendiği üzere anlamlı ve daha yüksek bulunmuştur. Sigara içenlerde DNA hasarının yüksekliği ile anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ( $p = 0,004$ ;  $p < 0,01$ ) (Çizelge 3.3). Çalışmamızdaki As’ye maruz kalan işçilerin ortalama DNA hasar sonuçları ( $65,84 \pm 8,42$ ) Palus ve ark.’nın (2005) mesleksi As maruziyeti (6-80  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) olan Polonya’da bakır madeni işçilerinin DNA hasar düzeylerine (70,1) göre daha düşük çıkmasına rağmen her iki çalışmada mesleksi

As maruziyetini yansıtacak kadar yüksektir. Ancak Kütahya-Emet popülasyonunda kuyu suyundan maruz kalanlardaki Sardaş'ın (2009) çalışmasında bireylerin kan As ortalamaları bizim çalışmamızdaki Kütahya-Emet'teki işçilere göre ortalama 7 kat daha yüksek çıkmış, DNA hasar düzeyleri ise bizim sonuçlara göre daha düşük çıkmıştır. Literatürde dünya ülkeleri, Türk popülasyonu ve bu çalışmadaki bireylerin As maruziyet şekilleri, As konsantrasyonları, genotoksik etkiler ve DNA hasarı düzeyleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Popülasyonlara Göre As Maruziyetleri ve Genotoksik Etkileri.

| Popülasyon                            | N               | As Konsantrasyonu ve Maruziyeti                                                                                          | Genotoksik Etkiler                                                                                                          | Kaynak                         |
|---------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Meksika                               | 11<br>13        | 0,39 mg/L-İçme suyu kons.<br>0,019-0,026 mg/L-İçme Suyu kons.                                                            | Kromozomal Aberasyonlar, Kardeş Kromatid Değişimleri (Maruziyetle Aberasyonların frekansı doğru orantılı)                   | Ostrosky-Wegman ve ark., 1991. |
| Arjantin                              | 282<br>155      | 0,13 mg/L As-İçme Suyu kons.<br>0,02 mg/L As-İçme Suyu kons.                                                             | Yüksek düzeydeki Maruziyetlerde Kardeş Kromatid Değişimleri önemli derecede daha yüksek.                                    | Lerda, 1994.                   |
| Şili                                  | 106<br>111      | 0,750 mg/L As-İçme Suyu kons.<br>0,002 mg/L As-İçme Suyu kons.                                                           | İki Çekirdekli MikroNukleus görülme sıklığı Yüksek maruzlarda daha yüksek.                                                  | Martinez ve ark., 2004.        |
| Meksika                               | 19<br>44        | 12 si cilt kanserli-As Endemik alanda yaşayan (İçme Suyu kons)<br>Sağlıklı-Farklı alanda yaşayan (İçme Suyu)             | Maruz kalanlarda lenfositlerde p53 ekspresyonu ve Deri kanseri arasında ilişki tespit edilmiştir.                           | Salazar ve ark., 2004.         |
| Meksika                               | 16<br>37        | 32 µg/L As (İçme Suyu kons.)<br>0,7 µg/L As (İçme Suyu kons.)                                                            | As maruz kalanlarda DNA Hasarı artmış ve DNA Onarımı azalmıştır.                                                            | Andrew ve ark., 2006.          |
| Meksika                               | 51              | 4,8-33,3 µg/L As (İçme Suyu kons)                                                                                        | Maruz kalanlarda artmış DNA oksidasyonu belirlenmiştir.                                                                     | Burgess ve ark., 2007.         |
| Batı Bengal                           | 30              | 247,12 µg/L As (İçme Suyu kons)                                                                                          | Maruz kalanlarda önemli DNA hasarı.<br>Comet: 86,50 µm                                                                      | Basu ve ark., 2005.            |
| Şili                                  | 105<br>52<br>50 | (Çevresel Maruziyet)<br>Metal Döküm İşçisi<br>Metal Döküm Yöneticisi<br>Bakır Madeni İşçisi                              | Gruplar arasında lenfositlerdeki Mikronukleus Frekanslarında anlamlı bir farklılık saptanmadı.                              | Paiva ve ark., 2008.           |
| Hindistan-Haydarabad                  | 165<br>200      | Kontrol grubu<br>11,74 µg/l (Ort. Kan As Düzeyi)<br>Cam işçileri (Mesleksi Maruziyet)<br>56,76 µg/l (Ort. Kan As Düzeyi) | DNA Hasar Düz. Ort.<br>9,36 Sigara (+)<br>7,29 Sigara (-)<br>15,58 Sigara (+)<br>13,95 Sigara (-)                           | Vuyyuri ve ark., 2006.         |
| Polonya                               | 83<br>72        | Kontrol grubu<br>Bakır Madeni İşçileri (Mesleksi maruziyet)<br>6-80 µg/m <sup>3</sup> (Ortam Havası)                     | DNA Hasar Düz. Ort.<br>10,9 Sigara (+),<br>5,7 Sigara (-),<br>8,6 ort.<br>72,2 Sigara (+),<br>68,7 Sigara (-),<br>70,1 ort. | Palus ve ark., 2005.           |
| Kütahya Emet-İğdeköy                  | 30              | 1,70 mg/L (Kuyu suyu kons.)<br>115 µg/l (Kan As kons. (BAs))<br>(114-264µg/l)                                            | DNA Hasar Düz. Ort.<br>57,06 (Sigara +)<br>43,60 (Sigara -)                                                                 | Sardaş, 2009.                  |
| Bizim çalışmamız Türkiye Kütahya-Emet | 175             | Kan Arsenik Kons. (BAs)<br>17,15 ±11,30 µg/L<br>(Min:3,40-Mak:52,44)                                                     | DNA Hasar Düz. Ort.<br>65,84±8,42<br>67,13± 8,47(sigara +)<br>63,32± 7,80(sigara -)                                         |                                |

As toksisitesinin devamlı olduğu durumlarda kan As seviyeleri ile oksidatif stres markırları ve DNA hasarı gibi As toksisitesi kaynaklı erken biyolojik etkiler gösteren biyobelirteçlerle karşılaştırmalı analizleri, biyolojik varyasyonları daha iyi anlamamıza yol açacaktır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda da görüldüğü üzere düşük düzeydeki kronik As maruziyetinde, periferel kandaki polimorfonükleer hücrelerin oksidatif DNA hasarları indüklenmiş, apoptozları hızlanmış ve artmıştır (Pei ve ark., 2013).

As maruziyetinde artmış ROT'lar ve NOT'lar nedeniyle oksidatif stres ve DNA hasarı gözlenmektedir. As süperoksit anyonlar, hidrojen peroksitler ve hidroksil radikalleri gibi süperoksitlerinin oluşumunu artırarak oksidatif hasarı tetiklemekte ve DNA hasarlarına (tek-çift iplik kırılmalarına) neden olmaktadır. Hücrede meydana gelen ROT'ları uzaklaştırmada süperoksit dismutazlar (SOD) etkin rol oynamaktadır (Clair ve ark., 2005). MnSOD ise ökaryotlarda mitokondride etkin tek antioksidan enzim olup, hücre ölümlerinin düzenlenmesinde önemli rolü olan, tümör süpresör olarak da görev yapan bir enzimdir (Möllsten ve ark., 2007; Bresciani ve ark., 2013). MnSOD'un aşırı ekspresyonu matrikste artmış  $H_2O_2$ 'e, hücrede Gpx ya da CAT düzeyi yetersiz olduğunda da ROT'ları artırmakta ve fazla ROT'lar mitokondri membranını geçerek nükleusta oksidatif hasara neden olabilmektedir (Valdivia ve ark., 2009; Bresciani ve ark., 2013; Janssen ve ark., 2000). MnSOD Val16Ala Tek Nükleotit Polimorfizmi MnSOD geninin (9.pozisyonunda) 2.ekzonda (16.aminoasitte) Timin (T) bazı yerine Sitozin (C) bazının gelmesi sonucu Valin aminoasiti yerine Alanin aminoasitinin ifadesiyle gerçekleşmektedir (Bag ve Bag, 2008). Bu TNP, MnSOD Val16Ala, MnSOD V16A, MnSOD A16V, MnSOD A-9V ifadeleriyle ve rs4880 koduyla adlandırılmaktadır (Shimoda-Matsubayashi ve ark., 1996). MnSOD Val16Ala TNP'sinde Ala-MnSOD (C) ile Val-MnSOD (T) ile ifade edilmektedir. Ala-MnSOD alelleri süperoksitlerin dismutasyonunu artırmaktadır ve bu da matrikste  $H_2O_2$  düzeyini artırarak kanser riskini artıracaktır (Şekil 1.37) (Bag ve Bag, 2008). Val-MnSOD alel durumunda ise Val öncüleri  $\beta$ -tabakalı olması nedeniyle MnSOD transportunda azalmaya neden olarak, matrikste  $H_2O_2$  düzeylerini azaltmakta ve dolayısıyla DNA hasarları azalmakta ve kanser riski azalmaktadır (Şekil 1.37) (Bag ve Bag, 2008). MnSOD

genindeki mutasyon ya da polimorfizmler nedeniyle MnSOD mitokondriyal matriksteki aktivitesi azalabilmekte ve bu da DNA'da oksidatif hasara neden olmakta, insanlarda tümör ve kanser riskini artırabilmektedir (Remmen ve ark., 2003; Kinnula ve Crapo, 2003). SOD2 TT (Val/Val) genotipli sigara içenlerde mitokondri içine geçemeyişinin sonucu oksidatif stresin arttığı gözlenmiştir (Möllsten ve ark., 2007). Ayrıca MnSOD, MnSOD eksikliği olan farelerde yenidoğan ölümcüllüğüyle dramatik bir şekilde resmedildiği gibi yaşam için gereklidir. Buna ek olarak, normal MnSOD içeriğinin yalnızca %50'sini ifade eden fareler, yükselmiş ROT üretiminden kaynaklanan oksidatif strese ve ciddi mitokondriyal disfonksiyona duyarlılığın arttığını gösterir (Bresciani ve ark., 2013). MnSOD geni olmayan farelerle yapılan çalışmalarda nörodejenerasyon ve kardiyopati sonucu birkaç hafta yaşayabildikleri ya da ölü doğdukları tespit edilmiştir (Clair ve ark., 2005). Farelerde yapılan bir diğer çalışmada yükselmiş ROT üretiminden kaynaklanan oksidatif strese ve ciddi mitokondriyal disfonksiyona duyarlılığın arttığını gözlenmiştir (Bresciani ve ark., 2013).

Literatüre göre dünya ülkeleri, Türk popülasyonu ve bu çalışmadaki MnSOD gen polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekansları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çalışma grubumuzu oluşturan As maruz kalan 175 işçinin MnSOD Val16Ala polimorfizmi ile oluşan alel frekansları (n:350) Val alel frekansı %51,1 (n:179), Ala alel frekansı ise %48,9 (n:171) olarak belirlenirken; %23,4'ünün Val/Val, %55,4'ünün Val/Ala, %21,2'sinin ise Ala/Ala genotiplerinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.6, 3.7).

**Çizelge 4.3.** MnSOD Val16Ala (rs4880) Polimorfizminin Dünyada ve Türkiye'deki Genotip ve Alel Frekansları.

| Popülasyon                                         | n    | SOD2<br>Genotip Frekansı<br>% |                             |                             | SOD2<br>Alel Frekansı<br>% |                           | Kaynak                             |
|----------------------------------------------------|------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|
|                                                    |      | Val/Val<br>TT<br>(Val16Val)   | Val/Ala<br>CT<br>(Val16Ala) | Ala/Ala<br>CC<br>(Ala16Ala) | Val Alel<br>(16 Val)<br>%  | Ala Alel<br>(Ala 16)<br>% |                                    |
| Amerika                                            | 110  | 23                            | 56                          | 21                          | 51                         | 49                        | Ambrosone ve ark.,1999.            |
| Amerika                                            | 1205 | 24,7                          | 50,8                        | 24,6                        | 50                         | 50                        | Tamimi ve ark., 2004.              |
| Amerika                                            | 1135 | 23                            | 52                          | 25                          | 49                         | 51                        | Millikan ve ark., 2004.            |
| Amerika                                            | 764  | 24,9                          | 49,6                        | 25,5                        | 50                         | 50                        | Li ve ark., 2005b.                 |
| Amerika                                            | 395  | 30,9                          | 49,1                        | 20,0                        | 55                         | 45                        | Kang ve ark., 2007.                |
| Afro-<br>Amerikan                                  | 331  | 21,1                          | 53,7                        | 25,2                        | 48                         | 52                        | Bag ve Bag, 2008.                  |
| Brezilya                                           | 170  | 49,2                          | 26,2                        | 24,6                        | 62                         | 38                        | Gottlieb ve ark., 2005.            |
| Almanya                                            | 603  | 21,7                          | 60,4                        | 17,9                        | 52                         | 48                        | Funke ve ark., 2009.               |
| Almanya                                            | 100  | 22,5                          | 50,6                        | 26,9                        | 48                         | 52                        | Stickel ve ark., 2005.             |
| İngiltere                                          | 244  | 26,2                          | 51,2                        | 22,5                        | 52                         | 48                        | Stewart ve ark., 2002.             |
| İngiltere<br>(Beyaz ırk)                           | 135  | 23                            | 60                          | 17                          | 52,5                       | 47,5                      | Houldsworth ve ark., 2015.         |
| Portekiz                                           | 75   | 25,3                          | 49,3                        | 25,3                        | 50                         | 50                        | Martin ve ark., 2005.              |
| Polonyalı                                          | 361  | 18,0                          | 50,0                        | 32,0                        | 43                         | 57                        | Martin ve ark., 2005.              |
| Danimarka                                          | 1650 | 23,9                          | 57,1                        | 19,0                        | 52                         | 48                        | Soerensen ve ark., 2009.           |
| İtalya                                             | 212  | 24                            | 56                          | 20                          | 52                         | 48                        | Valenti ve ark., 2004.             |
| İtalya                                             | 275  | 27,0                          | 48,8                        | 24,2                        | 51                         | 49                        | Ventriglia ve ark., 2006.          |
| Finlandiya                                         | 63   | 27,4                          | 57,9                        | 14,7                        | 56                         | 44                        | Hirvonen ve ark., 2002.            |
| Finlandiya                                         | 482  | 31,7                          | 47,9                        | 20,3                        | 56                         | 44                        | Mitrunen ve ark., 2001.            |
| Fransa                                             | 214  | 21                            | 53,7                        | 25,2                        | 48                         | 52                        | Hung ve ark., 2004.                |
| Makedonya                                          | 151  | 27,2                          | 48,3                        | 24,5                        | 51                         | 49                        | Arsova-Sarafinovska ve ark., 2008. |
| Rusya                                              | 88   | 5,7                           | 53,4                        | 40,9                        | 32                         | 68                        | Chistyakov ve ark., 2001.          |
| Kore                                               | 106  | 31,7                          | 47,9                        | 20,3                        | 56                         | 44                        | Pae ve ark., 2006.                 |
| Çin                                                | 1065 | 24,7                          | 50,8                        | 24,6                        | 50                         | 50                        | Tu ve ark., 2010.                  |
| Çin                                                | 1197 | 73,9                          | 24,2                        | 1,9                         | 86                         | 14                        | Cai ve ark., 2004.                 |
| Japonya                                            | 100  | 68                            | 29                          | 3                           | 82                         | 18                        | Namikawa ve ark., 2004.            |
| Japonya                                            | 107  | 73,8                          | 25,2                        | 0,9                         | 87                         | 13                        | Nakao ve ark., 2007.               |
| Japonya                                            | 137  | 27                            | 43                          | 30                          | 49                         | 51                        | Iguchi ve ark., 2008.              |
| Japonya                                            | 618  | 69,8                          | 28,3                        | 1,9                         | 84                         | 16                        | Fujimoto ve ark., 2010.            |
| Tayvan                                             | 115  | 22,9                          | 62,8                        | 14,4                        | 54                         | 46                        | Fong ve ark., 2007.                |
| Tayvan                                             | 213  | 66,8                          | 31,8                        | 1,4                         | 83                         | 17                        | Hsueh ve ark., 2005.               |
| İran                                               | 103  | 28,2                          | 47,6                        | 24,3                        | 52                         | 48                        | Nakhaee ve ark., 2016.             |
| Mısır                                              | 40   | 7,5                           | 52,5                        | 40                          | 34                         | 66                        | El Masry ve ark., 2005.            |
| Türkiye                                            | 105  | 40,0                          | 43,8                        | 16,2                        | 62                         | 38                        | Gurel ve ark., 2004.               |
| Türkiye                                            | 196  | 34,2                          | 42,3                        | 23,5                        | 56                         | 44                        | Akyol ve ark., 2005.               |
| Türkiye                                            | 103  | 24,3                          | 38,3                        | 36,9                        | 44                         | 56                        | Kocabaş ve ark., 2005.             |
| Türkiye                                            | 35   | 22,9                          | 51,4                        | 25,7                        | 49                         | 51                        | Erbil, 2008.                       |
| Türkiye                                            | 51   | 54,9                          | 33,3                        | 11,7                        | 72                         | 28                        | Dalan ve ark., 2008.               |
| Türkiye                                            | 50   | 6                             | 68                          | 26                          | 40                         | 60                        | Zejnlovic ve ark., 2009.           |
| Türkiye                                            | 40   | 22,5                          | 57,5                        | 20,0                        | 51                         | 49                        | Kadioğlu ve ark., 2010.            |
| Türkiye                                            | 265  | 31,3                          | 46,4                        | 22,2                        | 54,5                       | 45,5                      | Köse, 2011.                        |
| Türkiye                                            | 50   | 46                            | 38                          | 16                          | 65                         | 35                        | Atılğan ve ark., 2014.             |
| Türkiye                                            | 440  | 32                            | 50,5                        | 17,5                        | 57                         | 43                        | Silig ve ark., 2015.               |
| Türkiye                                            | 58   | 32,8                          | 51,7                        | 15,5                        | 59                         | 41                        | Atmaca ve ark., 2015.              |
| Türkiye                                            | 125  | 24,8                          | 53,6                        | 21,6                        | 51,5                       | 48,5                      | Uz ve ark., 2016.                  |
| Bizim<br>Çalışmamız<br>Türkiye<br>Kütahya-<br>Emet | 175  | 23,4                          | 55,4                        | 21,2                        | 51,1                       | 48,9                      |                                    |

Dünyadaki herhangi bir hastalığı bulunmayanların MnSOD Val16Ala polimorfizmlerindeki genotip dağılımlarında % frekanslarına baktığımızda genel dünyada yaygın homozigot genotip MnSOD Val/Val (Val16Val) olup, Val alel frekansı ile Ala alel frekans farkları çok azdır. Çin, Japonya ve Tayvan'da da yaygın homozigot genotip MnSOD Val/Val (Val16Val) olmasına rağmen, literatürdeki diğer ülkelerden farklı olarak Val alel frekansı ve Ala alel frekansı farkları çok fazla olup, Val Alel frekansı %80'in üzerinde tespit edilmiştir (Cai ve ark., 2004; Namikawa ve ark., 2004; Hsueh ve ark., 2005). Rusya ve Mısır'da ise yaygın homozigot genotip MnSOD Ala/Ala (Ala16Ala), Val alel frekansları da %68 ve %66 olarak tespit edilmiştir (Chistyakov ve ark., 2001; El Masry ve ark., 2005). Türkiye'deki yaygın homozigot genotip MnSOD Val/Val (Val16Val) olup, Val alel frekansı ile Ala alel frekansları dağılım farkları çok azdır. Ancak Türkiye'deki bir kaç çalışmada yaygın homozigot genotip MnSOD Val/Val (Val16Val) olmasına rağmen Val ve Ala alel frekansları farkı çok fazladır (Gurel ve ark., 2004; Atılğan ve ark., 2014; Dalan ve ark., 2008). Türkiye'deki birkaç çalışmada ise yaygın homozigot genotip MnSOD Ala/Ala (Ala16Ala) çıkmıştır (Zejnilić ve ark., 2009; Kocabaş ve ark., 2005). Bizim çalışmamızdaki MnSOD Val16Ala polimorfizmine ait genotip frekansları MnSOD Val16Val genotipinde %23,4, MnSOD Val16Ala genotipinde %55,4, MnSOD Ala16Ala genotipinde %21,2; alel frekansları ise Val aleli %51,1, Ala aleli %48,9 olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımız Dünya ve Türkiye'deki literatürdeki dağılıma benzer dağılım göstermiş, yaygın homozigot genotip MnSOD Val/Val (Val16Val), Val ve Ala Alel frekansları ise birbirine çok yakın bulunmuştur.

Literatürdeki yapılan çalışmalara göre Val aleli ABD, Türkiye ve beyaz ırkta akciğer kanseri (Wang ve ark., 2001b; Zejnilić ve ark., 2009; Liu ve ark., 2004); Rusya ve Mısır'da Tip-1 diyabetik nöropati (Chistyakov ve ark., 2001; El Masry ve ark., 2005); Japonya'da Tip-1 diyabetik nefropati (Nomiya ve ark., 2003); İtalya'da mesane kanseri (Hung ve ark., 2004), İsveç'te meme kanseri (Bergman ve ark., 2005) ile ilişkili bulunmuştur. Ala aleli ise ABD, Finlandiya ve Çin'de meme kanseri (Ambrosone ve ark., 1999; Mitrunen ve ark., 2001; Cai ve ark., 2004); ABD, Japonya ve Türkiye'de prostat kanseri (Woodson ve ark., 2003; Iguchi ve ark., 2008; Mikhak ve

ark., 2008; Ergen ve ark., 2007), ABD’de over kanseri (Olson ve ark., 2004), Fas’ta hepatoselüler kanser (Ezzikouri ve ark., 2008) ile ilişkili bulunmuştur.

As’ye maruz kalan işçilerdeki DNA hasarı ve MNSOD Val16Ala polimorfizmleri ile yaptığımız çalışmada Val/Val genotipli 41 bireyin DNA hasarı  $63,58 \pm 5,83$  (Minimum:52,92 - Maksimum:77,04), Val/Ala genotipli 97 bireyin  $65,30 \pm 7,18$  (Minimum:53,72 - Maksimum:91,82) ve Ala/Ala genotipli 37 bireyin  $69,79 \pm 12,03$  (Minimum:59,04 - Maksimum:105,27) olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak MnSOD Val16Ala polimorfizmi genotipleri ile DNA hasarı arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,003$ ) (Çizelge 3.10). Çalışmamızda istatistiki analizlerle Ala (C) aleli içermeyen işçilerdeki (Val/Val;  $n=41$ ) DNA hasarı ort.  $63,58 \pm 5,83$  olarak, Ala (C) aleli içerenlerde (Val/Ala+Ala/Ala;  $n=134$ ) DNA hasarı ise ort.  $66,54 \pm 8,97$  olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,048$ ) (Çizelge 3.10).

Hücrede membrana bağlı kompleks yapıdaki heteroproteinlerden olan NADPH oksidazlar (NOX) da hem fagositik hücrelerde hem de fagositik olmayan hücrelerde ROT üretimine neden olmaktadır. Fagositik hücrelerde NADPH oksidaz uyarılarak aktifleşmekte proteolitik yıkım sonrası süperoksit ve reaktif oksijen ara ürünleri oluşumu artmaktadır (Holland, 2010). NADPH oksidaz oksijenden süperoksit oluşumundan ve mitokondri harici oksijen tüketiminin artmasıyla oluşan solunum patlamasından sorumlu enzimdir. Fagositiklerde ROT’un ana kaynağını oluşturmaktadır. Fagositik olmayan hücrelerde ise yavaş ve sürekli hücre içi süperoksit anyon oluşturmaktadır. NADPH oksidazlar (NOX) transkripsiyon faktörleri, inflamasyon ve hücre büyümesindeki molekülleri etkileyen sinyal molekülleri gibi davranmaktadırlar (Cosentino ve ark., 2008). p22phox NOX'ların membran bağlantılı katalitik küçük altbirimi olup, NOX (NADPH oksidaz) sisteminin membran boyunca elektron transportunda görev almaktadır. NOX izoformları dokular ve türler arasında farklı dağılım göstermektedirler. NOX proteinleri; hücre büyümesi, farklılaşma, apoptozis ve sitoskeletal biçimlendirmesi gibi süreçlerde görev almaktadır. p22phox, NOX alt birimlerin etkileşiminde önemli rol oynar ve aminoasit kalıplarındaki herhangi bir fark, yeni aminoasitin elektroforetik karakteristiğinde ve dolayısıyla diğer altbirimlerde kompleks oluşturarak proteinin globuler formasyonunu

değiştirebilmektedir. p22phox gen ekspresyonunun artması, genin fonksiyonlarını doğrudan etkilemektedir ve p22phox geninin fonksiyonlarındaki değişiklik NADPH oksidaz sistemini ve oluşan serbest oksijen radikal miktarını etkileyebilmektedir (Ding ve ark., 2007). p22phox'ta en çok çalışılan TNP'lerden biri de C242T polimorfizmidir. C242T Tek Nukleotit Polimorfizmi p22phox geninin 4. ekzonun 72. kodonunda Sitozin (C) bazı yerine Timin (T) bazının gelmesi sonucu Histidin aminoasitinin yerine Tirozin aminoasiti oluşumuyla gerçekleşmektedir (Dinauer ve ark., 1990; Roos ve ark., 1996). Bu TNP, p22phox His72Tyr (H72Y), p22phox C242T ifadeleriyle ve rs4673 koduyla adlandırılmaktadır. p22phox C242T (His72Tyr) TNP'sinde His72-p22phox "C" ile, 72Tyr-p22phox "T" ile ifade edilmektedir. Meijles ve ark. (2016)'nın yaptıkları modellemeye göre His72-p22phox (C) aleli içerenler NOX2 peptitleriyle H bağları oluşturarak, NOX2 proteininin stabilizasyonunu sağlamaktadır. CC genotipli bireylerde NADPH-oksidaz enzim düzeyleri daha yüksek tespit edilmiştir. Meijles ve ark. (2016)'ya göre 72Tyr-p22phox (T) aleli içerenlerdeki yapısal farklılık sonucu H bağları oluşamamakta ve kararsız bir NOX2 proteini oluşarak kolayca bozunabilmekte ve "TT" bireylerdeki düşük NOX2 seviyelerine neden olabilmektedir. T aleli varlığı NADPH-Oksidaz aktivitesini azalmakta ve dolayısıyla oksidatif stresi artırmaktadır. C242T polimorfizmi p22phox'un heme bağlanmasını da etkileyerek, CV hastalıkların gelişme riskinin değişimi ve farklı düzeylerde ROT üretimi ile ilişkili olarak, NADPH oksidazın varyantlarının üretilmesine neden olabilmektedir (Wyche ve ark., 2004; Guzik ve ark., 2000).

Literatüre göre dünya ülkeleri, Türk popülasyonu ve bu çalışmadaki p22phox gen polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekansları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Arseniğe maruz kalan 175 kişilik çalışma grubumuzdaki p22phox His72Tyr polimorfizminde alel frekansları (n:350); His alel frekansı %52,6 (n:184), Tyr alel frekansı ise %47,4 (n:166) olarak tespit edilirken; %27,4'ünün His/His, %50,3'ünün His/Tyr, %22,3'ünün ise Tyr/Tyr genotiplerinde oldukları belirlenmiştir (Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9).

**Çizelge 4.4.** p22phox His72Tyr (rs4673) Polimorfizminin Dünyada ve Türkiye'deki Genotip ve Alel Frekansları.

| Popülasyon                               | n    | p22phox<br>Genotip Frekansı<br>% |                             |                             | p22phox<br>Alel Frekansı<br>%   |                                 | Kaynak                       |
|------------------------------------------|------|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
|                                          |      | His/His<br>CC<br>(His72His)      | His/Tyr<br>CT<br>(His72Tyr) | Tyr/Tyr<br>TT<br>(Tyr72Tyr) | His Aleli<br>C<br>%<br>(His 72) | Tyr Aleli<br>T<br>%<br>(72 Tyr) |                              |
| Amerika                                  | 103  | 47*                              | 42*                         | 14*                         | 66                              | 34                              | Li ve ark., 1999.            |
| Brezilya                                 | 196  | 92                               | 80                          | 24                          | 67                              | 33                              | Santos ve ark., 2005.        |
| İngiltere                                | 70   | 41                               | 25                          | 4                           | 76                              | 24                              | Hodgkinson ve ark., 2003.    |
| Almanya                                  | 136  | 45,6                             | 50                          | 4,4                         | 71                              | 29                              | Genius ve ark., 2008.        |
| Almanya                                  | 1174 | 530*                             | 499*                        | 145*                        | 66                              | 34                              | Gardemann ve ark., 1999.     |
| İspanya                                  | 139  | 38,8                             | 42,4                        | 18,7                        | 60                              | 40                              | Pierola ve ark., 2011.       |
| İspanya                                  | 106  | 57*                              | 47*                         | 2*                          | 76                              | 24                              | Mata-Balaguer ve ark., 2004. |
| İspanya                                  | 315  | 123*                             | 145*                        | 47*                         | 62                              | 38                              | Macia-Reyes ve ark., 2008.   |
| Çek Cumh.                                | 311  | 42,8                             | 42,1                        | 15,1                        | 64                              | 36                              | Izakovicova ve ark., 2009.   |
| Yunanistan                               | 204  | 88*                              | 95*                         | 21*                         | 66                              | 34                              | Vasiliadou ve ark., 2007.    |
| Polonya (Beyaz ırk)                      | 169  | 66*                              | 85*                         | 18*                         | 64                              | 36                              | Niemiec ve ark., 2007.       |
| Finlandiya (Beyaz ırk)                   | 152  | 86*                              | 56*                         | 10*                         | 75                              | 25                              | Fan ve ark., 2006.           |
| İtalya (Beyaz ırk)                       | 218  | 98*                              | 95*                         | 25*                         | 67                              | 33                              | Nasti ve ark., 2006.         |
| Beyaz ırk                                | 297  | 93*                              | 156*                        | 48*                         | 58                              | 42                              | Moreno ve ark., 2006.        |
| Beyaz ırk                                | 97   | 41*                              | 52*                         | 4*                          | 69                              | 31                              | Kuznetsova ve ark., 2008.    |
| Beyaz ırk                                | 826  | 367*                             | 369*                        | 90*                         | 67                              | 33                              | Schreiber ve ark., 2012.     |
| Beyaz ırk                                | 188  | 64*                              | 99*                         | 25*                         | 60                              | 40                              | Petrovic, 2014.              |
| Beyaz ırk                                | 1864 | 679*                             | 889*                        | 296*                        | 60,3                            | 39,7                            | de Caterina ve ark., 2011.   |
| Asya                                     | 106  | 91*                              | 13*                         | 2*                          | 92                              | 8                               | Ji ve Pan, 2003.             |
| Asya-Japonya                             | 762  | 587*                             | 170*                        | 5*                          | 88,2                            | 11,8                            | Murase ve ark., 2004.        |
| Asya                                     | 105  | 91*                              | 13*                         | 1*                          | 93                              | 7                               | Pang, 2004.                  |
| Asya                                     | 3693 | 2942*                            | 618*                        | 33*                         | 90,5                            | 9,5                             | Katakami ve ark., 2010.      |
| Asya                                     | 213  | 90,6                             | 8,0                         | 1,4                         | 95                              | 5                               | Hsueh ve ark., 2005.         |
| Asya                                     | 135  | 100*                             | 35*                         | 0*                          | 87                              | 13                              | Wang, 2007.                  |
| Keşmir-Hindistan                         | 65   | 35*                              | 25*                         | 5*                          | 72,9                            | 27,1                            | Rafiq ve ark., 2014.         |
| Hindistan                                | 154  | 57*                              | 77*                         | 20*                         | 62                              | 38                              | Saha ve ark., 1999.          |
| Japonya                                  | 201  | 73,6                             | 26,4                        |                             | 87                              | 13                              | Inoue ve ark., 1998.         |
| Japonya                                  | 1074 | 816*                             | 242*                        | 16*                         | 87                              | 13                              | Yamada ve ark., 2002.        |
| Çin                                      | 609  | 543*                             | 64*                         | 2*                          | 94                              | 6                               | He ve ark., 2007.            |
| Çin                                      | 306  | 87,6                             | 11,8                        | 0,6                         | 93,5                            | 6,5                             | Lim ve ark., 2006.           |
| Çin                                      | 167  | 139*                             | 25*                         | 3*                          | 81                              | 9                               | Saha ve ark., 1999.          |
| Kore                                     | 215  | 165*                             | 49*                         | 1*                          | 88                              | 12                              | Lee ve ark., 2001.           |
| Avusturalya                              | 139  | 64*                              | 62*                         | 13*                         | 68                              | 32                              | Cai ve ark., 1999.           |
| Avusturalya                              | 45   | 15*                              | 24*                         | 6*                          | 60                              | 40                              | Stanger ve ark., 2001.       |
| Yunanistan                               | 139  | 28,8                             | 53,2                        | 18,0                        | 55                              | 45                              | Lepetsos ve ark., 2013.      |
| İran                                     | 168  | 31,54                            | 48,22                       | 20,24                       | 55,65                           | 44,35                           | Amin ve ark., 2015.          |
| Türkiye                                  | 167  | 26                               | 49                          | 26                          | 50                              | 50                              | Demir ve ark., 2015.         |
| Türkiye                                  | 332  | 29,2                             | 54,2                        | 16,6                        | 29,2                            | 70,8                            | Kayaaltı ve ark., 2013       |
| Bizim Çalışmamız<br>Türkiye Kütahya-Emet | 175  | 27,4                             | 50,3                        | 22,3                        | 52,6<br>(n:184)                 | 47,4<br>(n:166)                 |                              |

\* n değerleridir.

Dünyadaki herhangi bir hastalığı bulunmayanların p22phox His72Tyr polimorfizmlerindeki genotip dağılımlarının % frekanslarına baktığımızda dünyada yaygın homozigot genotip p22phox His/His (His72His)'tir. His ile Tyr alel frekansları dağılımlarında His aleli % frekansları İngiltere, İspanya, Finlandiya gibi beyaz ırkta 60-75 aralığında (Hodgkinson ve ark., 2003; Mata-Balaguer ve ark., 2004; Fan ve ark., 2006) çıkmış; Yunanistan, İran ve birkaç beyaz ırk çalışmasında ise His aleli %50-60 aralığında çıkmış (Lepetsos ve ark., 2013; Amin ve ark., 2015; Moreno ve ark., 2006); Asya grubu ülkelerinden Japonya, Çin ve Kore'de ise His Alel frekansı %'si 80-95 aralığında oldukça yüksek frekansta çıkmıştır (Ji ve Pan, 2003; Pang, 2004; Hsueh ve

ark., 2005; Inoue ve ark., 1998; He ve ark., 2007; Lee ve ark., 2001). Türkiye’de p22phox His72Tyr polimorfizm üzerine yapılmış iki çalışma bulunmaktadır: Bu çalışmalardan Kayaaltı ve ark.’nın (2013) yaptığı çalışmada His Alel frekansı %29,2 olarak literatüre göre çok düşük tespit edilmiş, Demir ve ark.’nın (2015) yaptığı çalışmada ise His Alel frekansı %50 olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızdaki p22phox His72Tyr polimorfizmine ait genotip frekansları p22phox His72His genotipinde %7,4; p22phox His72Tyr genotipinde %50,3; p22phox Tyr72Tyr genotipinde %22,3; alel frekansları ise His aleli %52,6 ve Tyr aleli %47,4 olarak belirlenmiştir. Bizim sonuçlarımızın genotip dağılımı da literatürdeki genotip dağılımıyla benzerlik göstermiş ve p22phox His72His genotipi yaygın homozigot genotip olarak belirlenmiştir. Ancak bizim His alel frekans (%52,6) dağılımımız literatüre göre biraz düşük çıkmıştır.

p22phox genindeki C242T polimorfizmi p22phox’un heme bağlanmasını etkilemektedir. Böylece farklı düzeylerde ROT üreten NADPH oksidaz varyantlarına sebep olmaktadır. ROT’taki spesifik değişiklikler, kardiyovasküler hastalıkların gelişme riskiyle ilişkilendirilmiştir. 140 Keşmirli birey (75’i sistematik hipertansif, 65’i normotansif (kontrol)) üzerinde yapılan çalışmada, kan basıncı/hipertansiyon prevalansı C242T p22phox genotipleri arasında T aleli varlığında/ yokluğunda farklılık göstermemiştir (Rafiq ve ark., 2014). Literatürdeki yapılan çalışmalara göre uyku apnesinde artmış nörobilişsel eksiklikler (Gozal ve ark., 2012), koroner kalp hastalığı (He ve ark., 2007; Fang ve ark., 2010; Hu ve ark., 2015), oksidatif stres ve tetiklenmiş endotel hasarı (Moreno ve ark., 2006) gibi durumlar His (C) aleliyle ilişkili bulunmuştur. NADPH-oksidad enzim düzeyleri daha yüksektir. Çalışmalarda Japonya’da kardiyovasküler hastalıklar (Cahilly ve ark., 2000; Ito ve ark., 2000), koroner arter hastalıklar (Cahilly ve ark., 2000), Almanya’da serebral iskemi (Genius ve ark., 2008; Li ve ark., 2013), İspanya’da tıkalıcı uyku apnesi (Pierola ve ark., 2011; Gozal ve ark., 2012), Tayvan, Japonya, İngiltere ve Portekiz’de artmış oksidatif stres (Hsueh ve ark., 2005; Shimo-Nakanishi ve ark., 2004; Guzik ve ark., 2000; Gonçalves ve ark., 2015), Çek Cumhuriyeti’nde artmış astım riski (Izakovicova ve ark., 2009), İngiltere’de azalmış NADPH oksidaz aktivitesi (Guzik ve ark., 2000) ve Türkiye’de yaşlanma (Kayaaltı ve ark., 2013) gibi durumlar Tyr (T) aleliyle ilişkili bulunmuştur.

T aleli varlığı NADPH-Oksidaz aktivitesini azalmakta dolayısıyla oksidatif stresi artırmaktadır. Ancak Asya popülasyonlarındaki çalışmalarda T aleli koroner arter hastalıklarındaki riskte azalmayla kendini göstermektedir (Fang ve ark., 2010; Xu ve ark., 2014; Inoue ve ark., 1998).

As'ye maruz kalan işçilerdeki DNA hasarı ve p22phox C242T (His72Tyr) polimorfizmleri ile yaptığımız çalışmada His/His genotipli 48 bireyin DNA hasarı  $63,39 \pm 5,75$  (Minimum:52,92 - Maksimum:83,04), His/Tyr genotipli 88 bireyin  $65,90 \pm 7,46$  (Minimum:56,30 - Maksimum:91,82) ve Tyr/Tyr genotipli 39 bireyin  $68,73 \pm 11,84$  (Minimum:58,48 - Maksimum:105,27) olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak p22phox His72Tyr polimorfizmi genotipleri ile DNA hasarı arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,012$ ) (Çizelge 3.11). Çalışmamızda Tyr alelini içermeyen genotipli bireylerdeki (His/His;  $n=48$ ) DNA Hasarı istatistiki analizlerle ort.  $63,39 \pm 5,75$  olarak, Tyr alelini içeren genotipli bireylerde (His/Tyr+Tyr/Tyr;  $n=127$ ) ise DNA hasarı  $66,77 \pm 9,08$  olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p=0,017$ ) (Çizelge 3.11). Bizim çalışmamız da Japonya ve Çin gibi Asya grubu dışındakilerle uyumlu olarak Tyr aleli taşıyan bireylerde DNA hasarı anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Gonçalves ve ark. (2015) İspanya'da 101 Myelodisplastik sendrom (MDS) hastası, 90 Akut Myeloid Lösemi (AML) hastası ve 261 kişilik kontrolle MnSOD ve p22phox polimorfizmleri üzerine yaptıkları araştırmalarda, SOD2'de CC (Ala) ve p22phox'ta TT (Tyr) genotiplerinde oksidatif stresin arttığını tespit etmişlerdir. MnSOD daha çok MDS ile, p22phox ise hem MDS hem de AML ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Gonçalves ve ark., 2015).

Arsenit NADPH oksidazın alt ünitesini süperoksit üretmek için aktive etmektedir ve düz kas hücrelerinde oksidatif hasara neden olmaktadır (Lynn ve ark., 2000; Morawietz ve ark., 2001). Hsueh ve arkadaşları (2005) Tayvan'da içme suyundan As'ye maruz kalanlarda MnSOD, p22phox, katalaz ve eNOS polimorfizmleri ve hipertansiyon arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik yaptıkları çalışmada, MnSOD Val16Ala polimorfizminde TC/CC bireylerde As ilişkili

hipertansiyon arasında anlamlı ilişki bulmuşlar ve Ala-MnSOD (C) alelinin hipertansiyon riskini artırdığını ifade etmişlerdir. p22phox His72Tyr TNP'sinde CT/TT bireylerde hipertansiyon riskinin 1,3 kat daha fazla olduğu ve 72Tyr-p22phox (T) alelinin hipertansiyonda riski artırdığı tespit edilmiştir (Hsueh ve ark., 2005).

Arseniğe maruz kalan 175 işçiyle yaptığımız çalışmada, MnSOD Val/Val + p22phox His/His genotipliler, MnSOD Val/Ala + p22phox His/Tyr genotipliler ve MnSOD Ala/Ala + p22phox Tyr/Tyr genotipliler olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. MnSOD Val/Val+p22phox His/His genotipine sahip 13 işçide DNA hasarı ortalama  $62,63 \pm 7,07$  (Min: 52,92-Mak: 77,04); MnSOD Val/Ala+p22phox His/Tyr genotipine sahip 49 işçide DNA hasarı ortalama  $66,57 \pm 8,18$  (Min: 56,30-Mak: 91,82) ve MnSOD Ala/Ala+ p22phox Tyr/Tyr genotipine sahip 15 işçide ise DNA hasarı ortalama  $73,71 \pm 15,80$  (Min:59,04-Mak:105,27) olarak tespit edilmiştir. Bu gruplardaki genotiplere sahip bireyler ile DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir (0,012) (Çizelge 3.12). MnSOD Ala/Ala homozigot ve p22phox Tyr/Tyr homozigot işçilerin literatürle uyumlu olarak DNA hasarları da daha yüksek ve anlamlı bulunmuştur.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kütahya-Emet'te metal fabrikasında çalışan, hem mesleksenel hem çevresel As maruziyeti olduğunu düşündüğümüz 175 kişilik çalışma grubumuzda ortalama kan As değerleri, literatürdeki maruziyet düzeyleriyle uyumlu ve anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. As hücrelerde serbest radikal birikmesine yol açabilir, antioksidanlarla etkileşebilir, inflamasyonu artırabilir böylece doğrudan ve/veya dolaylı ROT oluşturabilmektedir (Flora, 2011). Normal solunum zinciri, ara Arsin türlerinin üretimi, metillenmiş arsenik türleri dolaylı OH radikali oluşumu, Arsenitin Arsenata oksidasyonu gibi durumlar ROT'ları ve oksidatif stresi tetiklemekte ve DNA onarımını engellemektedir. As maruziyetlerinde maruziyet dozu arttıkça kan As düzeyleri artmakta, kan As düzeyleri arttıkça da DNA hasarları artmaktadır. Kronik As maruziyeti ise kardiyovasküler hastalıklardan kronik akciğer-karaciğer hastalıklarına, nöropatlilere ve nefropatlilere, deride keratozlardan akciğer-karaciğer-böbrek-mesane ve cilt kanserlerine neden olabilmektedir (NRC, 2001; IARC, 2004; Hsueh ve ark., 2005; Chen ve ark., 2009; IARC, 2012). Arsenik maruziyeti sonrası bu patolojik durumlar çevresel faktörlere, yaş-cinsiyet-beslenme şekline-sigara içme durumuna ve genetik farklılıklar-polimorfizmlere göre bireylerarası farklılıklar gösterebilmektedir (Ahsan ve ark., 2006a; Ahsan ve ark., 2006b; Chen ve ark., 2009; Bhattacharjee ve ark., 2013; Chatterjee ve ark., 2017). Arsenik düzeyleri, maruziyet şekline göre farklı biyolojik materyallerden ölçülebilmektedir. Kronik maruziyette, idrar As düzeyi kreatin baz alınarak ölçülmektedir. Daha uzun dönem maruziyetler ise As'nin sülfidril gruplarına affinitesinden dolayı As'nin tırnak ve saçta birikimi göz önüne alınarak bu dokulardan çalışılmıştır. Kan arsenik düzeyleri ise devam eden maruziyeti ve kanda stabil As konsantrasyonunu görmek ve maruziyetin devamında oluşabilecek hastalıkları önleyebilmek amacıyla ön belirteç olarak çalışılmaktadır. Arsenik hücrelerde ilk olarak oksidatif stresi artırmakta ve erken biyolojik gösterge olarak DNA hasarı yapmaktadır. Kan düzeyleri erken maruziyeti vermesi açısından erken biyogösterge olması ve bu maruziyet comet yöntemiyle DNA hasar düzeyi ölçümlerinde önemi belirlenebildiğinden ve maruziyetlerin kısa sürede önüne geçilebilmesi açısından diğer biyobelirteçlere oranla daha çok kullanım avantajı sağlamaktadır (Marchiset-Ferlay ve ark., 2012). Çalışma grubumuzdaki bireylerin

DNA hasarını belirlemek için Comet analizleri yapılmış ve ortalama DNA hasar düzeyleri de literatürdeki maruz kalan gruplarla uyumlu olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Kan As düzeyleri yüksek çıkanlarda DNA hasar düzeyleri de anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır. Özellikle bizim çalışma grubumuzla aynı bölgede (Kütahya-Emet bölgesi) su arsenik düzeyi ölçümleri de yüksek bulunmuş, popülasyonda yapılan ölçümlerde de kan ve saç As düzeyleri de yüksek bulunarak istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır (Sardaş, 2009). Çalışmamızdaki bireylerin sigara içme durumlarına göre DNA hasarları da karşılaştırılmış ve sigara içenlerde Comet DNA hasar düzeyleri daha anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur, Sardaş (2009)'ın benzer bölge popülasyonunda yaptığı çalışmada da sigara içenlerde DNA hasar düzeyleri bizim çalışmamızla uyumlu olarak yüksek bulunmuştur.

Belirlediğimiz popülasyondaki bireylerde MnSOD Val16Ala gen polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekanslarımız Çin, Japonya ve Tayvan gibi Asya grubu ülkeler dışındaki diğer popülasyonlarla benzer dağılım göstermiştir. Çalışma grubumuzdaki bireylerin p22phox His72Tyr gen polimorfizmlerine ait genotip ve alel frekansları Japonya, Kore ve Çin gibi Asya grubu olarak nitelendirilen popülasyonlar dışındaki popülasyonlarla genotip ve alel frekansları benzer dağılım göstermekle birlikte frekansları biraz düşük çıkmıştır. Türkiye'deki alel frekanslarının farklı dağılımı ise Türkiye'de ki çalışma gruplarının homojen/heterojen dağılım göstermesinden ve çalışılan popülasyonun sayısının yetersizliğinden ileri gelebilir.

Çalıştığımız popülasyondaki bireylerde MnSOD ve p22phox genlerinin, arsenik maruziyetinde artmış oksidatif stres ve dolayısıyla DNA hasarı ilişkisi araştırılmıştır. Bu genlerin polimorfizmlerine göre DNA hasarına artırıcı ya da azaltıcı etkileri olacaktır. Bu genler Oksidatif stresle ilişkili ve DNA hasarında olumlu etkiler gösteriyorsa DNA hasarları daha düşük bulunacaktır. Çalışma grubumuzda MnSOD ve p22phox geninde heterozigot genotipler daha yüksek oranda bulunmuş olup, MnSOD geninde Val alel frekansı, p22phox geninde ise His alel frekansı daha yüksek çıkmıştır. Arseniğe maruz kalan bireylerde, MnSOD-Val16Ala polimorfizminde Ala/Ala genotiplilerin, p22phox-His72Tyr polimorfizminde ise Tyr/Tyr genotiplilerin DNA hasarları anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, MnSOD-

Ala ve p22pox-Tyr alelleri taşıyan bireylerde DNA hasarının anlamlı şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup, Asya popülasyonu haricindeki diğer popülasyonlarla yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. As'ye maruz kalanlarda her iki genin MnSOD Ala/Ala + p22pox Tyr/Tyr genotiplerini taşıyanlarda ise DNA hasarı anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçlarına göre As maruziyeti olan bireylerden MnSOD Ala/Ala + p22pox Tyr/Tyr genotiplerini taşıyan bireylerde As'nin DNA hasarı oluşturma etkisi daha çok görülmektedir. Çalışma grubumuzu oluşturan bireyler yaşam alanı olarak arsenik kirliliği yüksek olan Kütahya-Emet bölgesinde yaşamaktadırlar. Metal madeni olan çalışma ortamları ise maruziyet düzeylerini ve maruziyetin etkilerini daha da artırmaktadır.

As toksisitesinin devamlı olduğu durumlarda, kan As düzeyleri maruziyet biyogöstergelerini, oksidatif stres belirteçleri ve As Comet değerleri ise DNA hasarı-genotoksik hasar biyogöstergelerini ifade etmektedir. As maruziyetinde oksidatif stresin 8-OHdG, malondialdehit, 4-hidroksinonenal, tioredoksin redüktaz gibi diğer biyolojik göstergelerinden (Kitchin ve Conolly, 2010) ve kardeş kromatid değişimleri, mikronükleus gibi diğer genotoksik hasar biyogöstergelerinden de yararlanılarak daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Sardaş (2009)'ın yaptığı çalışmada kontrol grubu ve maruz kalanlardaki kardeş kromatid değişimleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Arsenikçe riskli bölgede bu biyobelirteçlerle karşılaştırmalı analizler yapılması biyolojik varyasyonları daha iyi anlamamıza ve riskli bölgede biyoizlenimin periyodik zamanlarda yapılması da popülasyonlarda gözlenecek olası patolojik sonuçların önüne geçilmesine olanak sağlayacaktır. Ülkemizde çevresel ve mesleki As maruziyetinin düzeylerini azaltmak için daha çok toprak, su analizleri ve işyeri ortam analizleri ve meta analizler yapılmalıdır. Bu meta analizler yapılırken özellikle As türevlendirme (speciation) çalışmaları da biyolojik materyallerdeki As düzeyleri için daha hassas sonuç veren teknik ve cihazlarla yapılmalıdır. İnorganik arsenikler organik arseniklere göre, Arsenitler (3 değerlikli) arsenatlara (5 değerlikli) göre daha toksiktir (Jain ve Ali, 2000). Bu nedenle maruziyetin arseniğin hangi türevinden kaynaklandığı da maruziyetin toksik boyutu için önemli olup, metabolomiks çalışmalarının temelini oluşturmaktadır (Wrobel ve ark., 2009) ve temel besinler, çevresel toksinler, DNA

metilasyonu, Histon modifikasyonları, kalp-damar hastalıkları, kanser ve kalıtım gibi epigenetik faktörlerle birlikte değerlendirilip araştırılmalıdır. Ayrıca askorbik asit,  $\alpha$ - tokoferol, flavonoidler, polifenoller ve selenyum gibi antioksidanlarca zengin diyetin arseniğin indüklediği oksidatif stresi ve toksisiteyi azalttığı, arseniğin yol açtığı hipometilasyonu azaltmak için de folik asit, B12 ve kolin alımını artırmak gerektiği ifade edilmektedir (Vahter, 2007). Arsenikçe riskli bölgede yaşayan ve çalışan bireyler arseniğin toksisitesi ve yukarıda belirtilen antioksidanların alımını artırmaları açısından bilgilendirilmelidirler. Çalışma ortamında işçi ve iş yeri güvenliği için gerekli olan düzenli ortam havası ölçümleri yapılmalı, gerekli hava filtrelemenin sağlanması, çalışanlar için maske gibi koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir. Arsenik ve diğer ağır metale kronik maruz kalan işyeri ortamlarında çalışan bireylerin, oksidatif stres ve DNA hasarı ilişkili gen polimorfizmleri belirlenerek, bu genler bakımından mutasyonlu olan bireyler riskli grup olarak değerlendirilebilir. Bu kişilerde oluşabilecek ciddi hastalıkları önlemek amacıyla, kişilerin rutin aralıklarla DNA hasar düzeyleri ve ağır metal düzeylerinin ölçülmesi, daha dikkatli önlemlerin alınması, alternatif çalışma ortamlarına yönlendirilmesi önerilmektedir. İnsan sağlığının önemi düşünüldüğünde, genetik yapı-maruziyet etkileşiminden doğan ciddi sağlık problemlerinin önlenmesi açısından bu konularla ilgili daha büyük çalışma grupları ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## ÖZET

### **Arseniğe Maruz İşçilerde, Oksidatif Stresle İlişkili Genlerdeki Polimorfizmlerin (MnSOD ve p22phox) ve Kan Arsenik Düzeylerinin, DNA Hasarına Etkisi**

Arsenik IARC'a göre Grup-I insan karsinojeni olup, kronik maruziyeti bir çok ülkede insan sağlığını tehdit etmektedir. Çevresel ve mesleki olarak düşük dozda da olsa As maruziyeti sonucu bireylerde zamanla kronik arsenik maruziyeti meydana gelmekte, bu maruziyeti oksidatif stresi tetikleyerek DNA hasarlarına, dermal, kardiyovasküler, diyabet ve solunum yolu hastalık risklerini artırarak da deri, mesane, akciğer ve böbrek kanserlerine neden olabilmektedir.

Ülkemizde arsenik kirliliğinin jeojenik olarak yüksek olduğu ve çevresel As maruziyetlerinin gözlemlendiği Kütahya'nın Emet ilçesindeki bir metal fabrikasındaki işçilerin yakın/stabil maruziyetin belirlenmesi için kan As düzeylerinin ölçülerek mesleki maruziyetlerin tespiti, bireylerin lenfositlerindeki genotoksik hasarlarının belirlenmesi, bireylerin oksidatif stres ilişkili genlerindeki MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr polimorfizmlerinin analizlerinin yapılması ve bu polimorfizmler ve kan As düzeylerinin DNA hasarlarına etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

Bu kapsamda Arseniğe doğal ve mesleki maruz işçilerin kan As düzeylerini belirlemek için grafit fırınlı AAS cihazı, genotoksik hasarın (DNA hasarı) tespiti için Comet Assay yöntemi, Oksidatif stresle ilişkili MnSOD Val16Ala ve p22phox His72Tyr gen polimorfizmlerinin tespiti için de PCR-RFLP tekniği kullanılmıştır.

Çalışmamızda işçilerin kan As düzeyleri ortalama  $17,15 \pm 11,30$  µg/L (Min:3,40 µg/L-Mak: 52,44 µg/L); Comet DNA hasar düzeyleri ortalama  $65,84 \pm 8,42$  (Min:52,92-Mak:105,27) olarak belirlenmiştir. MnSOD Val16Val polimorfizminde genotip frekansları Val/Val %23,4 - Val/Ala %55,4 - Ala/Ala %21,2 olarak; p22phox

His72Tyr polimorfizminde genotip frekansları ise His/His %27,4 - His/Tyr %50,3 – Tyr/Tyr %22,3 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan istatistikler sonucunda MnSOD Ala/Ala + p22phox Tyr/Tyr genotiplerine sahip bireylerdeki DNA hasarları  $73,71 \pm 15,80$  (Min:59,04-Mak:105,27) olarak, diğer genotip varyantlarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.

Kan As düzeyleri erken biyolojik gösterge olarak, Comet DNA hasarı düzeyleri de erken genotoksik biyobelirteç olarak iyi bir potansiyele sahiptir. Bireylerin çalışma ortamı, yaşam alanları ve biyolojik materyallerindeki As düzeyleri izlenerek, arsenikten etkin şekilde korunma yolları belirlenebilir ve oluşabilecek hastalıklar önlenabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Arsenik, Comet, PCR-RFLP, MnSOD-Val16Ala polimorfizm, p22phox-His72Tyr polimorfizm.

## SUMMARY

### **Effect on DNA Damage of Gene Polymorphisms (MnSOD and p22phox) Related to Oxidative Stress and Blood Arsenic Levels in Arsenic Exposed Workers**

According to IARC Arsenic is a Group-I human carcinogen and its chronic exposure threatens human health in many countries. As a result of the exposure of arsenic occupationally low doses, chronic Arsenic exposure occurs in individuals which may cause oxidative stress and increases the risk of DNA damage. Dermal, cardiovascular, diabetes and respiratory diseases and skin, bladder, lung and kidney cancers can be observed in exposed patients.

Turkey is high as geogenic arsenic environmental pollution and exposure of workers in the vicinity of a metal factory in Kütahya-Emet district observed / detection of occupational exposure by measuring the blood level to determine As stable exposure, Genotype analysis of MnSOD Val16Ala and p22phox His72Tyr polymorphisms in oxidative stress-related genes of individuals for the determination of genotoxic damage in individuals with lymphocytes and to investigate the effects of these polymorphisms and blood As levels on DNA damage.

For the determination of As levels in the blood levels of workers who were exposed naturally and occupationally, GFAAS device was used. For the detection of genotoxic damage (DNA damage) the Comet Assay method was engaged. Finally, oxidative stress – related MnSOD Val16Ala and p22phox His72Tyr genes polymorphisms for PCR-RFLP methods were used.

Our study has found that blood arsenic levels of the workers were measured as  $17.15 \pm 11.30 \mu\text{g/L}$  (Min:  $3.40 \mu\text{g/L}$ -Max:  $52.44 \mu\text{g/L}$ ); Comet DNA damage levels were determined as  $65.84 \pm 8.42$  (Min:  $52.92$ -Max:  $105.27$ ); the genotype frequencies in the MnSOD Val16Val polymorphism were Val/Val 23.4%-Val/Ala 55.4%- Ala/Ala

21.2%; the genotype frequencies His/His 27.4%-His/Tyr 50.3%- Tyr/Tyr 22.3% were detected in the p22phox His72Tyr polymorphism.

As a result of statistical analysis, DNA damages in individuals with MnSOD Ala/Ala + p22phox Tyr/Tyr genotypes were determined as  $73.71 \pm 15.80$  (Min:59.04-Max:105.27) statistically higher than other genotype variants.

As levels in blood levels have strong potential to serve as early biological indicators. Comet DNA damage levels also have a strong potential as early genotoxic biomarkers. By monitoring the As levels in the working environments, habitats and biological materials of individuals, effective protection methods can be determined from Arsenic and preventable diseases can be effectively avoided.

**Key Words:** Arsenic, Comet, PCR-RFLP, MnSOD-Val16Ala Polymorphism, p22-phox-His72Tyr polymorphism.

## KAYNAKLAR

- AF M. (2012). Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett.*, 586 (5):585-595.
- AFRIDI HI, KAZI TG, SHAH F, SHEIKH HU, KOLACHI NF. (2011). Evaluation of arsenic, cadmium, lead, and nickel in biological samples (scalp hair, serum, blood, and urine) of Pakistani viral hepatitis (A - E) patients and controls. *Clin Lab*, 57 (11-12):847-57.
- AGRAWAL S, FLORA G, BHATNAGAR P, FLORA SJS. (2014). Comparative oxidative stress, metallothionein induction and organ toxicity following chronic exposure to arsenic, lead and mercury in rats. *Cell. Mol. Biol*, 60 (2): 13-21.
- AHSAN H, CHEN Y, KIBRIYA MG, SLAVKOVICH V, PARVEZ F, JASMINE F, GAMBLE MV, GRAZIANO JH. (2007). Arsenic Metabolism, Genetic Susceptibility, and Risk of Premalignant Skin Lesions in Bangladesh. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16 (6): Doi:10.1158/1055-9965.EPI-06-0676.
- AHSAN H, CHEN Y, PARVEZ F, ARGOS M, HUSSAIN AI, MOMOTAJ H, LEVY D, VAN GEEN A, HOWE GR, GRAZIANO J. (2006a). Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS): description of a multidisciplinary epidemiologic investigation. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 16 (2):191-205.
- AHSAN H, CHEN Y, PARVEZ F, ZABLOTSKA L, HUSSAIN I, MOMOTAI H, LEVY D, CHENG Z, SLAVKOVICH V, VAN GEEN A, HOWE GR, GRAZIANO JH. (2006b). Dose-response relationship between arsenic exposure from drinking water and risk of skin lesions in Bangladesh population: baseline results from Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS). *Am. J. Epidemiol*, 163, 1138-1148.
- AHSAN H, PERRIN M, RAHMAN A, PARVEZ F, STUTE M, ZHENG Y, MILTON AH, BRANDT-RAUF P, VAN GEEN A, GRAZIANO J. (2000). Associations between drinking water and urinary arsenic levels and skin lesions in Bangladesh. *J Occup Environ Med*, 42 (12):1195-1201.
- AHSAN N, LEE DG, KIM KH, ALAM I, LEE SH, LEE KW, LEE H, LEE BH. (2010). Analysis of arsenic stress-induced differentially expressed proteins in rice leaves by two-dimensional gel electrophoresis coupled with mass spectrometry. *Chemosphere*, 78:224-231.
- AKSOY N, SIMSEK C, GUNDUZ O. (2009). Groundwater contamination mechanism in a geothermal field: a case study of Balçova, Turkey. *J. Contam. Hydrol*, 103:13-28.

- AKYOL O, YANIK M, ELYAS H, NAMLI M, CANATAN H, AKIN H, YILMAZ HR, TUTKUN H, SOGUT S, HERKEN H, OZYURT H, SAVAS HA, ZOROGLU SS. (2005). Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **29** (1):123-31.
- AKYOL Ö. (2003). Şizofreni Hastalarında Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) Gen Polimorfizminin Araştırılması, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ: Fırat Üniversitesi.
- ALIMONTI A, BOCCA B, MATTEI D, PINO A. (2011). Programme for Biomonitoring the Italian Population Exposure (PROBE): Internal Dose of Metals. Istituto superiore di sanità. Volumes 11-19 of Rapporti ISTISAN, ISSN 1123-3117.
- ALIYEV V. (2011). Plasenta ve anne biyolojik örneklerinde arsenik düzeyinin belirlenmesi ve glutatyon s transferaz polimorfizminin arsenik düzeyine etkisi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adli Bilimler Anabilim Dalı. Doktora Tezi. Ankara.
- ALLEN J. (2002). Hypocrisy & terror: The U.S., Britain, and biochemical weapons. *International Socialist Review*, Issue 21, Erişim Adresi: [[https://isreview.org/issues/21/biochem\\_weapons.shtml](https://isreview.org/issues/21/biochem_weapons.shtml)] Erişim Tarihi: 15/02/2018.
- ALTAŞ L, IŞIK M, KAVURMACI M. (2011). Determination of arsenic levels in the water resources of Aksaray Province, Turkey. *J Environ Manage*, **92** (9):2182-92.
- AMANSO AM, GRIENDLING KK. (2012). Differential roles of NADPH oxidase in vascular physiology and path- ophysiology. *Front Biosci (Schol Ed)*, **4**: 1044-1064.
- AMBASTA RK, KUMAR P, GRIENDLING KK, SCHMIDT HH, BUSSE R, BRANDES RP. (2004). Direct interaction of the novel Nox proteins with p22phox is required for the formation of a functionally active NADPH oxidase. *J Biol Chem*, **279**:45935–45941.
- AMBROSONE CB, FREUDENHEIM JO L, THOMPSON PA, BOWMAN E, VENA JE, MARSHALL JR, GRAHAM S, LAUGHLIN R, NEMOTO T, SHIELDS PG. (1999). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res*, **59**:602–606.
- AMIN F, JAHANI MM, GHAEDI H, ALIPOOR B, FATEMI A, TAJIK M, SHARIFI Z, GOLMOHAMMADI T, ASKARI M, AZARNEJAD A, ALIPOOR S, VALIPOUR A, MOUSAVIZADEH K. (2015). Genetic Variants of Cytochrome b-245, Alpha Polypeptide Gene and Premature Acute Myocardial infarction risk in an Iranian population. *J Med Biochem*, **34** (4):402-408.

- AN Y, GAO Z, WANG Z, YANG S, LIANG J, FENG Y, KATO K, NAKANO M, OKADA S, YAMANAKA K. (2004). Immunohistochemical analysis of oxidative DNA damage in arsenic-related human skin samples from arsenic-contaminated area of China. *Cancer Letters*, **214** (1):11–18.
- ANDREW AS, BURGESS JL, MEZA MM, DEMIDENKO E, WAUGH MG, HAMILTON JW, KARAGAS MR. (2006). Arsenic exposure is associated with decreased DNA repair in vitro and in individuals exposed to drinking water arsenic. *Environ Health Perspect*, **114**:1193–1198.
- ANDREW AS, KARAGAS MR, HAMILTON JW. (2003). Decreased DNA repair gene expression among individuals exposed to arsenic in United States drinking water. *Int. J. Cancer*, **104**: 263–268.
- ANDREW AS, MASON RA, MEMOLI V, DUELL EJ. (2009). Arsenic activates EGFR pathway signaling in the lung. *Toxicol. Sci.* **109**: 350–357.
- APOSHIAN HV, APOSHIAN MM. (2006). Arsenic toxicology: five questions. *Chem Res Toxicol*, **19** (1): 1-15.
- ARGOS M, AHSAN H, GRAZIANO JH. (2012). Arsenic and human health: epidemiologic progress and public health implications. *Rev Environ Health*, **27** (4):191–195.
- ARIKAN I, NAMDAR ND, KAHRAMAN C, DAGCI M, ECE E. (2015). Assessment of Arsenic Levels in Body Samples and Chronic Exposure in People Using Water with a High Concentration of Arsenic: a Field Study in Kutahya. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **16** (8):3183-3188.
- ARRIGO AP. (1983). Acetylation and methylation patterns of core histones are modified after heat or arsenite treatment of *Drosophila* tissue culture cells. *Nucleic Acids Res.*, **11**(5):1389–1404.
- ARSENIC IN DRINKING WATER. (1999). National Research Council (US) Subcommittee on Arsenic in Drinking Water. Washington (DC): National Academies Press (US); ISBN-10: 0-309-06333-7. Erşim Adresi: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK230898/>]. Erşim Tarihi: 12/5/2017.
- ARSOVA-SARAFINOVSKA Z, MATEVSKA N, PETROVSKI D, BANEV S, DZIKOVA S, GEORGIEV V, SIKOLE A, SAYAL A, AYDIN A, SUTURKOVA L, DIMOVSKI AJ. (2008). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphism is associated with risk of early-onset prostate cancer. *Cell Biochem Funct*, **26** (7):771-7.
- ASSARI T. (2006). Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD. *Medical Immunology*, **5**:4.
- ATABEY E. (2009). Arsenik ve Etkileri. Ankara: MTA yayınları, Yerbilimleri ve Kültür Serisi: **3**, 91.

- ATILGAN D, PARLAKTAS BS, ULUOCAK N, KOLUKCU E, ERDEMİR F, OZYURT H, ERKORKMAZ U. (2014). The Relationship between ALA16VAL Single Gene Polymorphism and Renal Cell Carcinoma. *Adv Urol*, 932481.
- ATMACA H, KOLDEMİR GM, ÇAĞATAY P, ÇEVİK M, SÜSLEYİCİ DUMAN B. (2015). Mangan süperoksit dismutaz Ala16Val gen polimorfizmlerinin koroner arter olaylarında koruyucu rollerinin araştırılması. *FNG & Bilim Tıp Dergisi*, **1** (3):134-144.
- ATSDR, (2007). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Arsenic (Update). U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
- ATSDR, (2013). Agency for Toxic Substances & Disease Registry. Erişim Adresi: [https://www.atsdr.cdc.gov/csem/csem.asp?csem=1&po=8] Erişim Tarihi: 7/10/2016.
- AXELSON O, DAHLGREN E, JANSSON CD, REHNLUND SO. (1978). Arsenic exposure and mortality. A case reference study from a Swedish copper smelter. *Br. J. Ind. Med.* **35** (1): 8-15.
- BABACAN T. (2011). Post Ercp Pankreatit Gelişiminde Metabolik Faktörlerin ve p22phox Gen Ekspresyonunun Önemi, Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları ABD., Gaziantep Üniversitesi.
- BAETJER AM, LILIENFELD AM, LEVIN MI. (1975). Cancer and occupational exposure to inorganic arsenic. In Abstracts 18th International Congress on occupational Health Brighton England. pp 14- 19.
- BAG A, BAG N. (2008). Target sequence polymorphism of human manganese superoxide dismutase gene and its association with cancer risk: a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **17** (12):3298-305.
- BALAJEE AS, BOHR VA. (2000). Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene* 2000, **250**: 15-30.
- BALLINGER SW, PATTERSON C, KNIGHT-LOZANO CA, BUROW DL, CONKLIN CA, HU Z, REUF J, HORAIST C, LEOVITZ R, HUNTER GC, MCLNTYRE K, RUNGE MS. (2002). Mitochondrial integrity and function in atherogenesis. *Circulation*, **106**:544–549.
- BARR DB, WILDER LC, CAUDILL SP, GONZALEZ AJ, NEEDHAM LL, PIRKLE JL. (2005). Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ. Health Perspect*, **113**:192–200.
- BARRETT JC, LAMB PW, WANG TC, LEE TC. (1989). Mechanisms of arsenic induced cell transformation. *Biol. Trace Elem. Res*, **21**: 421-429.

- BARTEL DP. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, **116**(2):281–297.
- BARTSCH H, NAIR J. (2004). Oxidative stress and lipid peroxidation-derived DNA-lesions in inflammation driven carcinogenesis. *Cancer Detect. Prev*, **28**:385–391.
- BASTAKI M, HUEN K, MANZANILLO P, CHANDE N, CHEN C, BALMES JR, TAGER IB, HOLLAND N. (2006). Genotype- activity relationship for Mnsuperoxide dismutase, glutathione peroxide 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*, **16**: 279-286.
- BASU A, SOM A, GHOSHAL S, MONDAL L, CHAUBEY RC, BHILWADE HN, RAHMAN MM, GIRI AK. (2005). Assessment of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of individuals susceptible to arsenic induced toxicity in West Bengal, India. *Toxicol Lett*, **159**: 100-112.
- BAU DT, WANG TS, CHUNG CH, WANG AS, WANG AS, JAN KY. (2002). Oxidative DNA adducts and DNA-protein cross-links are the major DNA lesions induced by arsenite. *Environ. Health Perspect*, **110**: 753–756.
- BECKMAN G, BECKMAN L, NORDENSON I. (1977). Chromosomal aberration in workers exposed to arsenic. *Environ. Health. Perspect*, **19**: 145-146.
- BEDARD K, KRAUSE KH. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, **87**:245–313.
- BENBRAHIM-TALLAA L, WATERLAND RA, STYBLO M, ACHANZAR WE, WEBBER MM, WAALKES MP. (2005). Molecular events associated with arsenic-induced malignant transformation of human prostatic epithelial cells: aberrant genomic DNA methylation and K-ras oncogene activation. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **206**: 288–289.
- BENCKO V & SYMON K. (1977). Health aspects of burning coal with a high arsenic content. *Environ. Res.* **13**: 378-385.
- BERG M, TRAN HC, NGUYEN TC, PHAM HV, SCHERTENLEIB R, GIGER W. (2001). Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. *Environ Sci Technol*, **35** (13):2621-2626.
- BERGMAN M, AHNSTRÖM M, WEGMAN PP, WINGREN S. (2005). Polymorphism in the manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene and risk of breast cancer in young women. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **131**: 439-444.
- BERNARD K, HECKER L, LUCKHARDT TR, CHENG G, THANNICKAL VJ. (2014). NADPH oxidases in lung health and disease. *Antioxid Redox Signal*, **20** (17):2838-53.

- BHATTACHARJEE P, BANERJEE M, GIRI AK. (2013). Role of genomic instability in arsenic-induced carcinogenicity. *A review. Environ Int*; **53**:29-40.
- BICA CG, DA SILVA LL, TOSCANI NV, ZETTLER CG, GOTTLIEB MG, ALEXANDRE CO, GRAUDENZ MS, MANICA DA CRUZ IB. (2010). Polymorphism (ALA16VAL) correlates with regional lymph node status in breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet*, **196**:153–158.
- BICA CG, DE MOURA DA SILVA LL, TOSCANI NV, DA CRUZ IB, SÁ G, GRAUDENZ MS, ZETTLER CG. (2009). MnSOD gene polymorphism association with steroid-dependent cancer. *Pathol Oncol Res*, **15**:19–24.
- BLOCK ML. (2008). NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *BMC Neurosci*; **9** (2):8.
- BOHRER D, DO NASCIMENTO PC, BECKER E, DE CARVALHO LM, DESSUY M. (2005). Arsenic species in solutions for parenteral nutrition. *JPEN J Parenteral & Enteral Nutrition*, **29** (1):1-7.
- BOMFORD A. (2002). Genetics of haemochromatosis. *Lancet*, **360**:1673–1681.
- BOONCHAI W, GREEN A, NG J, DICKER A, CHENEVIX-TRENCH G. (2000). Basal cell carcinoma in chronic arsenicism occurring in Queensland, Australia, after ingestion of an asthma medication, *Journal of the American Academy of Dermatology*, **43** (4):664–669.
- BORAK J, HOSGOOD HD. (2007). Seafood arsenic: implications for human risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol.*, **47**(2):204-12.
- BORGSTAHL GE, PARGE HE, HICKEY MJ, JOHNSON MJ, BOISSINOT M, HALLEWELL RA, LEPOCK JR, CABELLI DE, TAINER JA. (1996). Human Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase Polymorphic Variant Ile58Thr Reduce Activity by Destabilizing The Tetrameric Interface. *Biochemistry*, **35**:4287-4297.
- BOULIKAS T. (1991). Relation between carcinogenesis, chromatin structure and poly (ADP-ribosylation). *AntiCancer Res*, **11**: 489–527.
- BOWELL RJ, ALPERS CN, JAMIESON HE, NORDSTROM DK, MAJZLAN J. (2014). The Environmental Geochemistry of Arsenic. *An Overview*, **79**: 1-16.
- BRANDES RP, KREUZER J. (2005). Vascular NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation. *Cardiovasc. Res*, **65**:16–27.
- BRAR SS, CORBIN Z, KENNEDY TP, HEMENDINGER R, THORNTON L, BOMMARIUS B, ARNOLD RS, WHORTON AR, STURROCK AB, HUECKSTEADT TP, QUINN MT, KRENITSKY K, ARDIE KG, LAMBETH JD, HOIDAL JR. (2003). NOX5 NAD (P)H oxidase regulates growth and apoptosis in DU 145 prostate cancer cells. *American journal of physiology*, **285**:C353–369.

- BRESCIANI G, DA CRUZ IBM, PAZ JA, CUEVAS MJ & GONZÁLEZ-GALLEGO J. (2013). The MnSOD Ala16Val SNP: Relevance to human diseases and interaction with environmental factors. *Free Radical Research*, **47** (10): 781–792.
- BREWSTAR MD. (1994). Removing arsenic from contaminated water. *Water Environ. & Tech*, **4**:54-57.
- BUNDSCHUH J, FARIAS B, MARTIN R, STORNILO A, BHATTACHARYA P, CORTES J, BONORINO G, ALBOUY R. (2004). Groundwater arsenic in the Chaco-Pampean Plain, Argentina: case study from Robles county. *Santiago del Estero Province Original. Appl Geochem*, **19** (2):231-243.
- BURGESS JL, MEZA MM, JOSYULA AB, POPLIN GS, KOPPLIN MJ, MCCLELLLEN HE, STÜRUP S, LANTZ RC. (2007). Environmental Arsenic Exposure and Urinary 8-OHdG in Arizona and Sonora. *Clinical Toxicology*, **45** (5): 490-498.
- CAHILLY C, BALLANTYNE CM, LIM DS, GOTTO A, MARIAN AJ. (2000). A variant of p22 (phox), involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Circ Res*, **86**:391–395.
- CAI H, DUARTE N, WILCKEN DE, WANG XL. (1999). NADH/NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism and coronary artery disease in the Australian population. *Eur J Clin Invest*, **29**:744–8.
- CAI Q, SHU XO, WEN W, CHENG JR, DAI Q, GAO YT, ZHENG W. (2004). Genetic polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene, antioxidant intake, and breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res.*, **6**: R647–R655.
- Castejon AM, Bracero J, Hoffman IS, Alfieri AB, Cubeddu LX. (2006). NAD(P)H oxidase p22phox gene C242T polymorphism, nitric oxide production, salt sensitivity and cardiovascular risk factors in Hispanics. *J Hum Hypertens*, **20**: 772-779.
- CELIK I, GALLICCHIO L, BOYD K, LAM T K, MATANOSKI G, TAO X, SHIELS M, HAMMOND E, CHEN L, ROBINSON K A, CAULFIELD L E, HERMAN J G, GUALLAR E, ALBERG A J. (2008). Arsenic in drinking water and lung cancer: a systematic review, *Environmental Research*, **108** (1):48–55.
- CENTENO JA, MULLICK FG, MARTINEZ L, PAGE NP, GIBB H, LONGFELLOW D, THOMPSON C, LADICH ER. (2002). Pathology related to chronic arsenic exposure. *Environ Health Perspect*, **110** (5):883–886.

- CENTENO JA, TSENG CH, VAN DER VOET GB, FINKELMAN RB. (2007). Global Impacts Of Geogenic Arsenic: A Medical Geology Research Case. *Ambio*, **36** (1):78-81.
- CHAKRABORTY AK, SAHA KC. (1987). Arsenical dermatosis from tubewell water in West Bengal. *Indian J Med Res*, **85**:326–334.
- CHANDA S, DASGUPTA UB, GUHAMAZUMDER D, GUPTA M, CHAUDHURI U, LAHIRI S, DAS S, GHOSH N, CHATTERJEE D. (2006). DNA hypermethylation of promoter of gene p53 and p16 in arsenic-exposed people with and without malignancy. *Toxicol. Sci.* **89**:431–437.
- CHATTERJEE S, MOOGUI R, GUPTA DK. (2017). Arsenic: Source, Occurrence, Cycle, and Detection. In: Gupta D., Chatterjee S. (eds) *Arsenic Contamination in the Environment*. Springer, Cham. ISBN 978-3-319-54356-7.
- CHATTERJEE S. (1994). Transitional dynamics and the distribution of wealth in a neoclassical growth model. *Journal of Public Economics*, **54**: 97-119.
- CHEN H, LI S, LIU J, DIWAN BA, BARRETT JC, WAALKES MP. (2004). Chronic inorganic arsenic exposure induces hepatic global and individual gene hypomethylation: implications for arsenic hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis*. **25**(9):1779–1786.
- CHEN LEE SF, GURR JR, LIN IB, JAN KY. (1993). Arsenite enhances DNA double-strand breaks and cell killing of methyl methanesulfonate-treated cells by inhibiting the excision of alkali-labile sites. *Mutat Res*, **294**: 21–28.
- CHEN SL, DZENG SR, YANG MH, CHIU KH, SHIEH GM, WAI CM. (1994). Arsenic species in groundwaters of the blackfoot disease area, Taiwan. *Environ Sci Technol*, **28** (5):877-881.
- CHEN Y, GRAZIANO JH, PARVEZ MF, HUSSAIN I, MOMOTAJ H, HOWE GR, AHSAN H. (2006). Modification of risk of arsenic-induced premalignant skin lesions by sunlight exposure, smoking, and occupational exposures in Bangladesh. *Epidemiology*, **17**: 459–467.
- CHEN YC, SU HJ, GUO YL, HSUEH YM, SMITH TJ, RYAN LM., LEE MS, CHRISTIANI DC. (2003). Arsenic methylation and bladder cancer risk in Taiwan. *Cancer Causes Control*, **14**: 303–310.
- CHEN YU, PARVEZ F, GAMBLE M, ISLAM T, AHMED A, ARGOS M, GRAZIANO JH, AHSAN H. (2009). Arsenic exposure at low-to-moderate levels and skin lesions, arsenic metabolism, neurological functions, and biomarkers for respiratory and cardiovascular diseases: Review of recent findings from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study (HEALS) in Bangladesh. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **239**: 184–192.

- CHIOU HY, CHIOU ST, HSU YH, CHOU YL, TSENG CH, WEI ML, CHEN CJ. (2001). Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8,102 residents in an arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *Am. J. Epidemiol.*, **153**: 411-418.
- CHIOU HY, HSUEH YM, HSIEH LL, HSU LI, HSU YH, HSIEH FI, WEI ML, CHEN HC, YANG HT, LEU LC, CHU TH, WU CC, YANG MH, CHEN CJ. (1997). Arsenic methylation capacity, body retention, and null genotypes of glutathione S-transferase M1 and T1 among current arsenic-exposed residents in Taiwan. *Mutat. Res.*, **386**:197-207.
- CHISTYAKOV DA, SAVOST'ANOV KV, ZOTOVA EV, NOSIKOV VV. (2001). Polymorphisms in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relation- ship to diyabetic neuropathy in type 1 diyabetes mellitus. *BMC Med Genet*, **2**:4.
- CHOI JY, NEUHOUSER ML, BARNETT M, HUDSON M, KRISTAL AR, THORNQUIST M, KING IB, GOODMAN GE, AMBROSONE CB. (2007). Polymorphisms in Oxidative Stress–Related Genes Are Not Associated With Prostate Cancer Risk in Heavy Smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers& Prevention*, **16 (6)**: 1115-20.
- CHOONG TSY, CHUAH TG, ROBIAH Y, KOAY, FLG, AZNI I. (2007). Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview. *Desalination*, **217**:139–166.
- CHOU S, HARPER C, INGERMAN L, LLADOS F, COLMAN J, CHAPPELL L, OSIER M, ODIN M, SAGE G. (2007). Toxicological Profile for Arsenic. US Department of Health and Human Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Erişim Adresi: [https://pdfs.semanticscholar.org/027d/f21077b7c183b45e1018bed5b412995f3145.pdf]. Erişim Tarihi: 09/11/2016.
- CHOWDHURY UK, BISWAS BK, CHOWDHURY TR, SAMANTA G, MANDAL BK, BASU GC, CHANDA CR, LODH D, SAHA KC, MUKHERJEE SK, ROY S, KABIR S, QUAMRUZZAMAN Q, CHAKRABORTI D. (2000). Groundwater arsenic contamination in Bangladesh and West Bengal, India. *Environ Health Perspect*, **108 (5)**:393-397.
- CHRISTMANN M, TOMICIC MT, ROOS WP, KAINA B. (2003). Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology*, **193 (1-2)**:3-34.
- CHUNG CJ, HUANG CJ, PU YS, SU CT, HUANG YK, CHEN YT, HSUEH YM. (2008). Polymorphisms in cell cycle regulatory genes, urinary arsenic profile and urothelial carcinoma. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **232**: 203–209.
- CHUNG JY, YU SD, HONG, YS. (2014). Environmental Source of Arsenic Exposure. *JprevMedPublicHealth*, **47**:253-257.

- CICCIA A, ELLEDGE SJ. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. **40** (2):179-204.
- CICEK A, BALKIS R, UGURLUOGLU A, KOSE E, TOKATLI C. (2013). The effects of large borate deposits on groundwater quality. *Pol. J. Environ. Stud.*, **22**: 1031–1037.
- CLAIR STD, ZHAO Y, CHAISWING L, OBERLEY T. (2005). Modulation of Skin Tumorigenesis by SOD. *Biomedicine Pharmacotherapy*, **59** (4): 209-214.
- COHEN DR, BOWELL RJ. (2014). Exploration Geochemistry. In: Treatise on Geochemistry (2nd ed), Scott SD (ed) *Elsevier, Oxford*, **13** (24):624-649.
- COHEN SM, OHNISHI T, ARNOLD LL, LE XC. (2006). Arsenic-induced bladder cancer in an animal model. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **222**: 258–263.
- COHEN SM, YAMAMOTO S, CANO M, ARNOLD LL. (2001). Urothelial cytotoxicity and regeneration induced by dimethylarsinic acid in rats. *Toxicol. Sci.*, **59**: 68–74.
- COLAK M, GEMICI U, TARCAN G. (2003). The effects of colemanite deposits on the arsenic concentrations of soil and groundwater in Igdeköy-Emet, Kutahya, Turkey. *Water Air Soil Pollut*, **149** (1-4): 127–143.
- COLLINS AR, OSCOZ AA, BRUNBORG G, GAIVAO I, GIOVANNELLI L, KRUSZEWSKI M, SMITH CC, STETINA R. (2008). The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, **23**: 143–151.
- COLLINS AR. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol*, **26** (3):249-61.
- COLLINS AR. (2014). Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochim Biophys Acta*, **1840**:794–800.
- CONCHA G, NERMELL B, & VAHTER M. (1998a). Metabolism of inorganic arsenic in children with chronic high arsenic exposure in northern Argentina. *Environ. Health Perspect*, **106**:355-359.
- CONCHA G, VOGLER G, LEZEANO D, NERMELL B, VAHTER M. (1998b). Exposure to inorganic arsenic metabolites during early human development. *Toxicol. Sci*, **44**:185-190.
- COOKE MS, EVANS MD, DIZDAROGLU M, LUNEC J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.*, **17**: 1195–1214.
- COOPER KL, LIU KJ, HUDSON LG. (2009). Enhanced ROS production and redox signaling with combined arsenite and UVA exposure: contribution of NADPH oxidase. *Free Radic. Biol. Med.*, **47**:381–388.

- COPPIN JF, QU W, WAALKES MP. (2008). Interplay between cellular methyl metabolism and adaptive efflux during oncogenic transformation from chronic arsenic exposure in human cells. *J Biol Chem.*, **283(28)**:19342–19350.
- COSENTINO F, HÜRLIMANN D, DELLI GATTI C, CHENEVARD R, BLAU N, ALP NJ, CHANNON KM, ETO M, LERCH P, ENSELEIT F, RUSCHITZKA F, VOLPE M, LÜSCHER TF, NOLL G. (2008). Chronic treatment with tetrahydrobiopterin reverses endothelial dysfunction and oxidative stress in hypercholesterolaemia. *Heart*, **94 (4)**:487-92.
- CRAWFORD A, FASSETT RG, GERAGHTY DP, KUNDE DA, BALL MJ, ROBERTSON IK, COOMBES JS. 2012. Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidant enzymes and disease. *Gene*, **501**:89–103.
- CROSS AR, SEGAL AW. (2004). The NADPH oxidase of professional phagocytes: prototype of the NOX electron transport chain systems. *Biochim Biophys Acta.*, **1657**:1–22.
- CULLEN WR. (2008) Is Arsenic an Aphrodisiac? The Sociochemistry of an Element. The Royal Society, Cambridge, UK. Erişim Adresi: [https://doi.org/10.1039/9781847558602]. Erişim Tarihi:11/05/2015.
- CURNOW A, SALTER L, MORLEY N, GOULD D. (2001). A preliminary investigation of the effects of arsenate on irradiation-induced DNA damage in cultured human lung fibroblasts. *J. Toxicol. Environ. Health A*, **63**, 605–616.
- ÇALIŞKAN MB, PALA A. (2009). İçme sularında arsenik kirliliği: ülkemiz açısından bir değerlendirme. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **5 (1)**: 69-7
- ÇAMTEPE Y. (2006). Kolonkaya kuyusunda arsenik. Akşam Gazetesi. Uşak Erişim Adresi:[https://www.haberler.com/usak-esme-deki-icme-suyunda-arsenik-cikti-haberi/] Erişim Tarihi: 06/03/2018.
- ÇÖL M, ÇÖL C, SORAN A, SAYLI BS, ÖZTURK S. (1999). Arsenic-Related Bowen's Disease, Palmar Keratosis, and Skin Cancer. *Environmental Health Perspectives*, **107 (8)**: 687–689.
- ÇÖL M, ÇÖL C. (2004). Arsenic Concentrations in the Surface, Well, and Drinking Waters of the Hisarcik, Turkey, Area. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, **10 (2)**:461-465.
- DAKOTAMATRIX. (2016). Erişim Adresi: [https://www.dakotamatrix.com/products/2681/arsenopyrite] Erişim Tarihi:19/02/2016.

- DALAN AB, ERGEN A, YILMAZ H, KARATEKE A, ISBIR T. (2008). Manganese superoxide dismutase gene polymorphism, MnSOD plasma levels and risk of epithelial ovarian cancer. *J Obstet Gynaecol Res.*, **34** (5):878-884.
- DANG WM, MA WJ, WANG S, SHI C, SU LP, GUAN HY, ZHANG Q, WANG Y, ZHAO Q, YANG T, XIANG LJ. (2008). Investigation on mental health of residents living in a mineral area in Hubei province. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*, **26** (8):457–460.
- DE BONT R, VAN LAREBEKE N. (2004). Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*, **19** (3):169-85.
- DE CATERINA R, TALMUD PJ, MERLINI PA, FOCO L, PASTORINO R, ALTSHULER D, MAURI F, PEYVANDI F, LINA D, KATHIRESAN S, BERNARDINELLI L, ARDISSINO D. (2011). Strong association of the APOA5-1131T>C gene variant and early-onset acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **214** (2):397-403.
- DEBELEÇ-BÜTÜNER B, KANTARCI G. (2006). Mutasyon, Dna Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kanserle İlişkisi. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **35** (2): 149-170.
- DEMİR S, ORTAK H, BENLİ İ, ALİM S, BUTUN İ, GÜNEŞ A, ATES Ö. (2015). Genetic association between arterial stiffness-related gene polymorphisms in brvo and crvo patients in a Turkish population. *Retina-the journal of retinal and vitreous diseases*; **35** (10): 2043-2051.
- DIKALOV SI, DIKALOVA AE, BIKINEYEVA AT, SCHMIDT HH, HARRISON DG, GRIENDLING KK. (2008). Distinct roles of Nox1 and Nox4 in basal and angiotensin II-stimulated superoxide and hydrogen peroxide production. *Free Radic Biol Med*, **45**:1340–1351.
- DIKALOVA A, CLEMPUS R, LASSEGUE B, CHENG G, MCCOY J, DIKALOV S, SAN MARTIN A, LYLE A, WEBER DS, WEISS D, TAYLOR WR, SCHMIDT HH, OWENS GK, LAMBETH JD, GRIENDLING KK. (2005). Nox1 overexpression potentiates angiotensin II-induced hypertension and vascular smooth muscle hypertrophy in transgenic mice. *Circulation*, **112**:2668–2676.
- DIKALOVA AE, BIKINEYEVA AT, BUDZYN K, NAZAREWICZ RR, MCCANN L, LEWIS W, HARRISON DG, DIKALOV SI. (2010) Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension. *Circ Res*; **107**:106–116.
- DINAUER MC, PIERCE EA, BRUNS GA, CURNUTTE JT, ORKIN SH. (1990). Human neutrophil cytochrome b light chain (p22-phox). Gene structure, chromosomal location, and mutations in cytochrome-negative autosomal recessive chronic granulomatous disease. *J Clin Invest*, **86**:1729–1737.
- DİNÇER Y, KANKAYA S. (2010). DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **30** (4): 1365-1373.

- DING G, SUN G, FEN Z, LI L, LI C. (1987). Epidemiologic research of cancer in exposed cadmium, lead and arsenic workers. *J. China Med. Univ.*, **16**: 368-371.
- DING H, ALJOFAN M, TRIGGLE CR. (2007). Oxidative stress and increased eNOS and NADPH oxidase expression in mouse microvessel endothelial cells. *J Cell Physiol.*, **212**: 682- 689.
- DIXON HBF. (1997). The biochemical action of arsenic acids especially as phosphate analogues. *Adv. Inorg. Chem.*, **44**: 191–227.
- DOĞAN M, DOĞAN AU, ÇELEBI C, BARIŞ YI. (2005). Geogenic Arsenic and the Dose response of Skin Lesions in the Emet Region of Kütahya, Turkey, *Indoor and Built Environment*, **14 (6)**: 533–536.
- DOĞAN M, DOĞAN AU. (2007). Arsenic mineralization, source, distribution, and abundance in the Kutahya Region of the Western Anatolia, Turkey. *Env. Geochem. Health.* **29**: 119-129.
- DONG B, LIU JR. (2006). Arsenic determination in water and human blood and urine in Inner Mongolia. *Chin J Health Lab Technol*, **16**:1098–9.
- DONG JT, LUO XM. (1993). Arsenic-induced DNA-strand breaks associated with DNA-protein crosslinks in human fetal lung fibroblasts. *Mutat Res.*, **302**:97–102.
- DOUSOVA B, MACHOVIC V, KOLOUSEK D, KOVANDA F, DORNICAK. (2003). Sorption of As (V) species from aqueous systems. *Water Air Soil Pollut.*; **149**:251-267.
- DOYLE D. (2009). Notoriety to Respectability: A Short history of arsenic prior to its present day use in haematology. Blackwell Publishing Ltd, *British Journal of Haematology*, **145**: 309–317.
- EBERT F, WEISS A, BÜLTEMEYER M, HAMANN I, HARTWIG A, SCHWERDTLE T. (2011). Arsenicals affect base excision repair by several mechanisms. *Mutat. Res.*, **715**: 32–41.
- EL MASRY TM, ABOU ZAHRA MAM, EL TAWIL MM, KHALIFA RA. (2005). Manganese Superoxide Dismutase Alanine to Valine Polymorphism and Risk of Neuropathy and Nephropathy in Egyptian Type 1 Diabetic Patients. *Rev Diabetic Stud.*, **2**:70-74.
- EL-KOOFY NM, EL-KARAKSY HM, MANDOUR IM, ANWAR GM, EL-RAZIKY MS, EL-HENNAWY AM. (2011). Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease in obese Egyptian children. *Saudi J Gastroenterol*; **17**:265–270.

- EPA. (2014). Environmental Protection Agency. Erişim Adresi:[ [https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/arsenic\\_factsheet\\_cdc\\_2013.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/arsenic_factsheet_cdc_2013.pdf). ] Erişim Tarihi: 05/01/2017.
- EPA. (2015). Environmental Protection Agency. Charles OA. Arsenic in the Environment: Health Effects and Risk Assessment. Erişim Adresi:[ [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/abernathy\\_arsenic\\_in\\_environment.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/abernathy_arsenic_in_environment.pdf).] Erişim Tarihi: 05/01/2017.
- EPA. (2016). Environmental Protection Agency, Erişim Adresi: [<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/arsenic-compounds.pdf>] Erişim Tarihi: 7/10/2017.
- ERBİL N. (2008). Association Between Superoxide Dismutase Gene (SOD2) And Otism; University of Kahramanmaraş, Sutçu Imam Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Biology, Master Of Science Thesis.
- ERDOL S, CEYLAN S. (1997). Bursa yöresinde içme ve kullanma sularında arsenikle kirlenmenin araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. **16**: 119–127.
- ERGEN HA, NARTER F, TIMIRCI O, ISBİR T. (2007). Effects of manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism on prostate cancer: a case control study. *Anticancer Res*,; **27**:1227 – 30.
- EZZIKOURI S, EL FEYDI AE, CHAFİK A, AFIFI R, EL KİHAL L, BENAZZOUZ M, HASSAR M, PINEAU P, BENJELLOUN S. (2008). Genetic polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene is associated with an increased risk for hepatocellular carcinoma in HCV-infected Moroccan patients. *Mutation Research*, **649**: 1-6.
- FAITA F, CORI L, BIANCHI F, ANDREASSI M G. (2013). Arsenic-Induced Genotoxicity and Genetic Susceptibility to Arsenic-Related Pathologies. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **10**: 1527-1546.
- FAN M, KAHONEN M, RONTU R, LEHTINEN R, VIIK J, NIEMI M, NIEMINEN T, NIEMELA K, PÖRSTI I, KÖÖBI T, TURJANMAA V, LEHTIMAKI T. (2006). The p22phox C242T gene polymorphism is associated with a reduced risk of angiographically verified coronary artery disease in a high-risk Finnish Caucasian population. The Finnish Cardiovascular Study. *Am Heart J*, **152**: 538–542.
- FANG S, WANG L, JIA CH. (2010). Association of p22phox gene C242T polymorphism with coronary artery disease: A meta-analysis. *Thrombosis Research*, **125**: e197–e201.
- FDA. (2016). Food and Drug Administration. Erişim Adresi: -<https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm493740.htm>] Erişim tarihi: **08/10/2017**.

- FEAIRHELLER DL, BROWN MD, PARK JY, BRINKLEY T, BASU ES, HAGBERG JM, FERRELL RE, FENTY-STEWART NM. (2009). Exercise Training, NADPH Oxidase p22phox Gene Polymorphisms, and Hypertension. *Med Sci Sports Exerc.*, **41 (7)**: 1421–1428.
- FERRECCIO C, GONZALEZ C, MILOSAVJLEVIC V, MARSHALL G, SANCHAM, SMITH AH. (2000). Lung cancer and arsenic concentrations in drinking water in Chile. *Epidemiology*, **11 (6)**:673-679.
- FIGUEROA-GONZALEZ G, PEREZ-PLASENCIA C. (2017). Strategies for the evaluation of DNA damage and repair mechanisms in cancer. *Oncol Lett.*, **13(6)**: 3982-3988.
- FILIZ S, KOCACIK UYGUN DF, YEĞİN O. (2013). Kronik Granülomatöz Hastalık, (Derleme) *Turk J Immunol*; **1 (1)**:22-31.
- FISHBEIN L. (1987). Perspectives of carcinogenic and mutagenic metals in biological samples. *Int. J. Environ. Annl. Chem.*, **28 (1-2)**: 21-69.
- FLORA SJ. (2011). Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. *Free Radic. Biol. Med.*, **51**: 257–281.
- FLORA SJS, BHADAURIA S, KANNAN GM, SINGH N. (2007). Arsenic induced oxidative stress and the role of antioxidant supplementation during chelation: A review. *Journal of Environmental Biology.*, **28 (2)**: 333-347.
- FLORA SJS, MEHTA A, GUPTA R. (2009). Prevention of arsenic-induced hepatic apoptosis by concomitant administration of garlic extracts in mice. *Chem. Biol. Interact.*, **177**: 227–233.
- FONG CS, WU RM, SHIEH JC, CHAO YT, FU YP, KUAO CL, CHENG CW. (2007). Pesticide exposure on southwestern Taiwanese with MnSOD and NQO1 polymorphisms is associated with increased risk of Parkinson's disease. *Clin Chim Acta*, **378 (1-2)**:136-41.
- FORTUNA A, SAN JOSE G, MORENO MU, DIEZ J, ZALBA G. (2005) Oxidative stress and vascular remodeling. *Exp. Physiol.*, **90 (4)**: 457-62.
- FREIRE C, KOIFMAN RJ, FUJIMOTO D, DE OLIVEIRA SOUZA VANESSA CRISTINA BARBOSA, F, KOIFMAN S. (2015). Reference values of cadmium, arsenic and manganese in blood and factors associated with exposure levels among adult population of Rio Branco, Acre, Brazil. *Chemosphere*, **128**: 70-78.
- FRITH J. (2013). Arsenic – the “Poison of Kings” and the “Saviour of Syphilis”. *Journal of Military and Veterans' Health*, 21 (4), Erişim Adresi: [<https://www.etymonline.com/word/arsenic>] Erişim tarihi: 13/07/2014.

- FUJIMOTO H, KOBAYASHI H, OGASAWARA K, YAMAKADO M, OHNO M. (2010). Association of the manganese superoxide dismutase polymorphism with vasospastic angina pectoris. *J Cardiol*, **55** (2):205-10.
- FUJIMOTO H, TAGUCHI J, IMAI Y, AYABE S, HASHIMOTO H, KOBAYASHI H, OGASAWARA K, AIZAWA T, YAMAKADO M, NAGAI R, OHNO M. (2008). Manganese superoxide dismutase polymorphism affects the oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis of macrophages and coronary artery disease. *Eur Heart J.*, **29** (10):1267-74.
- FUKUHARA R, KAGEYAMA T. (2005). Structure, gene expression, and evolution of primate glutathione peroxidases. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* **141**: 428 – 436.
- FUNKE S, HOFFMEISTER M, BRENNER H, CHANG-CLAUDE J. (2009). Effect modification by smoking on the association between genetic polymorphisms in oxidative stress genes and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; **18** (8):2336-8.
- GAMBLE MV, LIU X, AHSAN H, PILSNER R, ILIEVSKI V, SLAVKOVICH V, PARVEZ F, LEVY D, FACTOR-LITVAK, P, GRAZIANO JH. (2005). Folate, homocysteine, and arsenic metabolism in arsenic- exposed individuals in Bangladesh. *Environ. Health Perspect*, **113**: 1683–1688.
- GAMBLE MV, LIU X. (2005). Urinary creatinine and arsenic metabolism. *Environ. Health Perspect*, **113**: A442.
- GARDEMANN A, MAGES P, KATZ N, TILLMANN H, HABERBOSCH W. (1999). The p22phox A640G gene polymorphism but not the C242T gene variation is associated with coronary heart disease in younger individuals. *Atherosclerosis*, **145**:315–23.
- GARRIDO N, MESEGUER M, SIMON C, PELLICER A, REMOHI J. (2004). Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J. Androl.*, **6** (1): 59-65.
- GEMICI U, TARCAN G, HELVACI C, SOMAY AM. (2008). High arsenic and boron concentrations in groundwaters related to mining activity in the Bigadic borate deposits (Western Turkey), *Appl. Geochem.*, **23**:2462–2476.
- GENIUS J, GRAU AJ, LICHY C. (2008). The C242T polymorphism of the NAD (P)H oxidase p22phox subunit is associated with an enhanced risk for cerebrovascular disease at a young age. *Cerebrovasc Dis.*, **26**:430-433.
- GEOLOGYSCIENCE. (2016). [<http://geologyscience.com/minerals/orpiment/>]. Erişim Tarihi:07/01/2016.
- GIACCO F, BROWNLEE M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*; **107**:1058–1070.

- GONÇALVES AC, ALVES R, BALDEIRAS I, CORTESÃO E, CARDA JP, BRANCO CC, OLIVEIROS B, LOUREIRO L, PEREIRA A, NASCIMENTO COSTA JM, SARMENTO-RIBEIRO AB & MOTA-VIEIRA L. (2015). Genetic variants involved in oxidative stress, base excision repair, DNA methylation, and folate metabolism pathways influence myeloid neoplasms susceptibility and prognosis. *Under review*, in Oxidative stress versus epigenetic—Role in susceptibility, development, and progression of myeloid neoplasms—Faculdade de Medicina. Universidade de Coimbra. Chapter 6. Pages: 157-188.
- GONGORA MC, QIN Z, LAUDE K, KIM HW, MCCANN L, FOLZ JR, DIKALOV S, FUKAI T, HARRISON DG. (2006). Role of extracellular superoxide dismutase in hypertension. *Hypertension*, **48**:473–481.
- GOTTLIEB MG, SCHWANKE CH, SANTOS AF, JOBIM PF, MÜSSEL DP, DA CRUZ IB. (2005). Association among oxidized LDL levels, MnSOD, apolipoprotein E polymorphisms, and cardiovascular risk factors in a south Brazilian region population. *Genet Mol Res.*, **4** (4):691-703.
- GOZAL D, KHALYFA A, CAPDEVILA OS, KHEIRANDISH-GOZAL L, KHALYFA AA, KIM. (2012). Cognitive Function in Prepubertal Children with Obstructive Sleep Apnea: A Modifying Role for NADPH Oxidase p22 Subunit Gene Polymorphisms? *Antioxidants & Redox Signaling*, **16** (2): 171–177.
- GREEN MH, LOWE JE, DELANEY CA, GREEN IC. (1996). Comet assay to detect nitric oxide-dependent DNA damage in mammalian cells. *Methods Enzymol*, **269**:243-66.
- GROLLMAN AP, MORIYA M. (1993). Mutagenesis by 8-oxoguanine: An enemy within. *Trends Genet.*, **9**: 246–249.
- GROS L, SAPARBAEV MK, LAVAL J. (2002). Enzymology of The Repair of Free Radicals-Induced DNA Damage. *Oncogene*, **21**: 8905-8925.
- GUNDUZ O, BAKAR C, SIMSEK C, BABA A, ELCI A, GURLEYIK H, MUTLU M, CAKIR A. (2015). Statistical Analysis of Causes of Death (2005–2010) in Villages of Simav Plain, Turkey, With High Arsenic Levels in Drinking Water Supplies. *Archives of Environmental & Occupational Health*, **70**, 35–46.
- GUNDUZ O, SIMSEK C, HASOZBEK A. (2010). Arsenic pollution in the groundwater of Simav Plain, Turkey: its impact on water quality and human health. *Water Air Soil Pollution*, **205**:43–62.
- GUO JX, HU L, YAND PZ, TANABE K, MIYATALRE M, CHEN Y. (2007). Chronic arsenic poisoning in drinking water in Inner Mongolia and its associated health effects. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, **42** (12):1853–1858.

- GUPTA RC. (2017). Reproductive and Developmental Toxicology. Second Edition. Academic Press, ISBN:978-0-12-804239-7.
- GUREL A, TOMAC N, YILMAZ HR, TEKEDERELI I, AKYOL O, ARMUTCU F, YUCE H, AKIN H, OZCELIK N, ELYAS H. (2004). The Ala-9Val polymorphism in the mitochondrial targeting sequence (MTS) of the manganese superoxide dismutase gene is not associated with juvenile-onset asthma. *Clin Biochem*, **37 (12)**:1117-1120.
- GUTTERIDGE JMC. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.*, **41**: 1819-1828.
- GUZIK TJ, CHEN W, GONGORA MC, GUZIK B, LOB HE, MANGALAT D, HOCH N, DIKALOV S, RUDZINSKI P, KAPELAK B, SADOWSKI J, HARRISON DG. (2008). Calcium-dependent NOX5 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase contributes to vascular oxidative stress in human coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, **52**:1803–1809.
- GUZIK TJ, WEST NE, BLACK E, MCDONALD D, RATNATUNGA C, PILLAI R, CHANNON KM. (2000). Functional effects of the C242T polymorphism in the NAD (P)H oxidase p22PHOX gene on vascular superoxide production in atherosclerosis. *Circulation*, **102**: 1744-1747.
- HAKEM R. (2008). DNA-damage repair; the good, the bad, and the ugly. *EMBO J.*, **27 (4)**:589-605.
- HALL M, CHEN Y, AHSAN H, SLAVKOVICH V, VAN GEEN A, PARVEZ F, GRAZIANO J. (2006). Blood arsenic as a biomarker of arsenic exposure: Results from a prospective study. 2006 Aug 15; *Toxicology*, **225 (2-3)**:225-233.
- HALL M, GAMBLE M, SLAVKOVICH V, LIU X, LEVY D, CHENG Z, VAN GEEN A, YUNUS M, RAHMAN M, PILSNER JR, GRAZIANO J. (2007). Determinants of Arsenic Metabolism: Blood Arsenic Metabolites, Plasma Folate, Cobalamin, and Homocysteine Concentrations in Maternal–Newborn Pairs. *Environ Health Perspect*, **115 (10)**: 1503-1509.
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC, (1999). Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Ed., Oxford University Pres, Newyork. 246-351.
- HAMILTON EI, SABBIONI E & VANDER VENNE MT (1994). Element reference values in tissues from inhabitants of the European community. IV. Review of elements in blood plasma and urine and a critical evaluation of reference values for the United Kingdom population. *Sci. Total Environ.*, **158**: 165-190.
- HANAWALT PC. (2002). Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene*, **21**: 8949-56.
- HANNA IR, HILENSKI LL, DIKALOVA A, TANIYAMA Y, DIKALOV S, LYLE A, QUINN MT, LASSEGUE B, GRIENDLING KK. (2004) Functional

association of nox1 with p22phox in vascular smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med*, **37**:1542–1549.

HANSEN HR, RAAB A, JASPARS M, MILNE BF, FELDMANN J. (2004). Sulfur-containing arsenical mistaken for dimethylarsinous acid [DMA (III)] and identified as a natural metabolite in urine: major implications for studies on arsenic metabolism and toxicity. *Chem Res Toxicol*, **17**:1086–91.

HARRISON D, GRIENDLING KK, LANDMESSER U, HORNIG B, DREXLER H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol.*, **6**:91 (3A):7A-11A.

HARTWIG A, GROBLINGHOFF UD, BEYERSMANN D, NATARAJAN AT, FILON R, MULLENDERS LH. (1997). Interaction of arsenic (III) with nucleotide excision repair in UV-irradiated human fibroblasts. *Carcinogenesis*, **18**: 399–405.

HE L, HANNON GJ. (2004). microRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*, **5**(7):522–531.

HE MA, CHENG LX, JIANG CZ, ZENG HS, WANG J, WANG F, CHEN Y, YANG M, TAN H, ZHENG HY, HU FB, WU TC. (2007). Associations of polymorphism of P22 (phox) C242T, plasma levels of vitamin E, and smoking with coronary heart disease in China. *Am Heart J*, **153** (**640**):e1–6.

HERMES-LIMA M, and ZENTENO-SAVIN T. (2002). Animal Response to Drastic Changes in Oxygen Availability and Physiological Oxidative Stress. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol*, **133** (**4**):537-56.

HEYDORN K. (1970). Environment variation of arsenic levels in human blood determined by neutron activation analysis. *Clinica Chimica Acta*, **28**: 349-357.

HIRVONEN A, TUIMALA J, OLLIKAINEN T, LINNAINMAA K, KINNULA V. (2002). Manganese superoxide dismutase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *Cancer Lett.*, **178** (**1**):71-4.

HINDMARSH T. (2002). Caveats in hair analysis in chronic arsenic poisoning. *Clin Biochem.*, **35**:1–11.

HINWOOD AL, SIM RR, JOLLEY D, DE KLERK N, BASTONE EB, GEROSTAMOULOS J, DRUMMER OH. (2003). Hair and toenail arsenic concentrations of residents living in areas with high environmental arsenic concentrations. *Environ Health Perspect*, **111**:187–193.

HODGKINSON AD, MILLWARD BA, DEMAINE AG. (2003). Association of the p22phox component of NAD (P)H oxidase with susceptibility to diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, **26**:3111–5.

- HOEIJMAKERS JH. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med.*;361 (19):1914.
- HOLLAND SM. (2010). Chronic granulomatous disease. *Clin Rev Allergy Immunol*, **38** (1): 3-10.
- HONG YS, SONG KH, CHUNG JY. (2014). Health Effects of Chronic Arsenic Exposure. *J Prev Med Public Health*; **47** (5):245-252.
- HOPKINS RZ. (2016). Reactive Oxygen Species. Cell Med Press. *Superoxide in Biology and Medicine: An Overview*; **1** (2):99–109.
- HOULDSWORTH A, HODGKINSON A, SHAW S, MILLWARD A, DEMAINE ANDY G. (2015). Polymorphic differences in the SOD-2 gene may affect the pathogenesis of nephropathy in patients with diabetes and diabetic complications. *Gene*, **569**: 41–45.
- HOVNIK T, DOLZAN V, BRATINA NU, PODKRAJSEK KT, BATTELINO T. (2009). Genetic polymorphisms in genes encoding antioxidant enzymes are associated with diabetic retinopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, **32**:2258–2262.
- HSIEH RL, HUANG YL, SHIUE HS, HUANG SR, LIN MI, MU SC, CHUNG CJ, HSUEH YM. (2014). Arsenic methylation capacity and developmental delay in preschool children in Taiwan. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **217**: 678–686.
- HSIEH RL, SU CT, SHIUE HS, CHEN WJ, HUANG SR, LIN YC, LIN MI, MU SC, CHEN RJ, HSUEH YM. (2017). Relation of polymorphism of arsenic metabolism genes to arsenic methylation capacity and developmental delay in preschool children in Taiwan. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **321**: 37-47.
- HSUEH YM, CHIOU HY, HUANG YL, WU WL, HUANG CC, YANG MH, LUE LC, CHEN GS AND CHEN CJ. (1997) Serum beta-carotene level, arsenic methylation capability, and incidence of skin cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, **6**: 589-596.
- HSUEH YM, LIN P, CHEN HW, SHIUE HS, CHUNG CJ, TSAI CT, HUANG YK, CHIOU HY, CHEN CJ. (2005) Genetic polymorphisms of oxidative and antioxidant enzymes and arsenic-related hypertension. *J Toxicol Environ Health A*; **68**:1471-1484.
- <http://clinicaljunior.com/entseptalperf.html>, Erişim Tarihi:09/03/2017.
- <http://genecardsdata.blob.core.windows.net/genomic-location-v460/SOD2-gene.png>, Erişim Tarihi: 6/09/2016.
- <http://pubs.sciepub.com/ajssm/1/1/2/index.html#Figure1>, Erişim Tarihi: 7/11/2017.
- <http://www.digitaljournal.com/image/341108>, Erişim Tarihi:12/02/2017.

- <http://www.genecards.org/cdn/genomic-location/CYBA-gene.png>, Erişim Tarihi: 3/12/2017.
- <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SOD2>, Erişim Tarihi: 4/04/2016.
- [http://www.probiox.com/uk/html/body\\_stressoxydant.htm](http://www.probiox.com/uk/html/body_stressoxydant.htm), Erişim Tarihi: 4/11/2017.
- <http://www.rsc.org/periodic-table/element/33/arsenic>, Erişim Tarihi:13/04/2015.
- <http://www.scind.org/1034/Health/cancer-caused-by-ground-water-arsenic-contamination.html>, Erişim Tarihi:16/02/2017.
- <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYBA#synonyms>) Erişim Tarihi: 13/08/2016.
- <https://tr.doctorforhelp.com/raynauds-phenomenon-18940>, Erişim Tarihi:09/03/2017.
- <https://www.aimsoci.com/ros/html/wp-content/uploads/2016/03/f7-2.png>, Erişim Tarihi: 6/12/2017.
- <https://www.ensembl.org>, Erişim Tarihi: 14/03/2016.
- <https://www.etymonline.com/word/arsenic>, Erişim Tarihi: 13/07/2014.
- <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/68190/arsenic-brain-cancer/>, Erişim Tarihi: 7/7/2016.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1535>, Erişim Tarihi: 2/04/2016.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6648>, Erişim Tarihi: 7/09/2016.
- <https://www.selfdecode.com/snp/rs4673/>, Erişim Tarihi: 27/09/2017.
- <https://www.selfdecode.com/snp/rs4880/>, Erişim Tarihi: 7/10/2015.
- <https://www.slideshare.net/dhanz1/dna-repair-39272527>, Erişim Tarihi:05/01/2017.
- [https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(08\)61587-1/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(08)61587-1/fulltext), Erişim Tarihi:11/03/2017.
- <https://www.youtube.com/watch?v=ACfEF0i3JoM>, Erişim Tarihi:11/03/2016.
- HU P, HUANG MY, HU XY, XIE XJ, XIANG MX, LIU XB, WANG JA. (2015). Meta-analysis of C242T polymorphism in CYBA genes: risk of acute coronary syndrome is lower in Asians but not in Caucasians. *J Zhejiang Univ Sci B.*, **16** (5): 370–379.
- HU Y, JIN X, SNOW ET. (2002). Effect of arsenic on transcription factor AP-1 and NF-κB DNA binding activity and related gene expression. *Toxicology Letters*, **133** (1): 33-45.

- HU Y, SU L, SNOW ET. (1998). Arsenic toxicity in enzyme specific and its affects on ligation are by the direct inhibition of DNA repair enzymes. *Mutat Res.*, **408(3)**: 203-18.
- HU YC, CHENG HL, HSIEH BS, HUANG LW, HUANG TC, CHANG KL. (2012). Arsenic trioxide affects bone remodeling by effects on osteoblast differentiation and function. *Bone*; **50**:1406-15.
- HUA Z, QING L, WEI X, YONG L, XI W, DONG W. (2016). Association between the OGG1 Ser326Cys Polymorphism and Cancer Risk: Evidence from 152 Case-Control Studies. *J Cancer*; **7 (10)**: 1273-1280.
- HUANG C, KE Q, COSTA M, SHI X. (2004). Molecular mechanisms of arsenic carcinogenesis. *Mol. Cell. Biochem.*, **25**: 57–66.
- HUANG YK, HUANG YL, HSUEH YM, YANG MH, WU MM, CHEN SY, HSU LI, CHEN CJ. (2008). Arsenic exposure, urinary arsenic speciation, and the incidence of urothelial carcinoma: a twelve-year follow-up study. *Cancer Causes Control*, **19**:829–839.
- HUANG YK, TSENG CH, HUANG YL, YANG MH, CHEN CJ, HSUEH YM. (2007). Arsenic methylation capability and hypertension risk in subjects living in arseniasis-hyperendemic areas in southwestern Taiwan. *Toxicol Appl Pharmacol*, **218 (2)**:135-42.
- HUGHES MF, BECK BD, CHEN YL, ARI S., THOMAS, DAVID J. (2011). Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. *Toxicological Sciences*, **123 (2)**: 305–332.
- HUGHES MF, DEVESA V, ADAIR BM, STYBLO M, KENYON EM, THOMAS DJ. (2005). Tissue dosimetry, metabolism and excretion of pentavalent and trivalent monomethylated arsenic in mice after oral administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **208 (2)**:186-197.
- HUGHES MF, KENYON EM, EDWARDS BC, MITCHELL CT, DEL RAZO LM, THOMAS DJ. (2003). Accumulation and metabolism of arsenic in mice after repeated oral administration of arsenate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **191 (3)**: 202-210.
- HUGHES MF. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of action, *Toxicology Letters*, **133**: 1–16.
- HUNG RJ, BOFFETTA P, BRENNAN P, MALAVEILLE C, GELATTI U, PLACIDI D, CARTA A, HAUTEFEUILLE A, PORRU S. (2004). Genetic polymorphisms of MPO, COMT, MnSOD, NQO1, interactions with environmental exposures and bladder cancer risk. *Carcinogenesis*; **25 (6)**: 973-978.
- HWANG ES, KIM GH. (2007). Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology*, **229**, 1–10.

- HYSON MJR. (2007). A history of arsenic in dentistry. *J. Calif. Dent. Assoc.*, **35**:135–139.
- IARC. (1980). International Agency for Research on Cancer.. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Metals and Metallic Compounds. *Lyon: International Agency for Research on Cancer*; **23**:39–141.
- IARC. (2004). Summaries & evaluations: Arsenic in drinking-water (Group 1). Lyon, International Agency for Research on Cancer, p. 39 (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 84; Erişim Adresi [<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol84/84-01-arsenic.html>.] Erişim Tarihi: 7/02/2016.
- IARC. (2012). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals Fibers and Dusts. Volume 100C Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Erişim Adresi [<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/index.php>.] Erişim Tarihi: 7/02/2016.
- IGUCHI T, WANG CY, DELONGCHAMPS NB, SUNHEIMER R, NAKATANI T, DE LA ROZA G, HAAS GP. (2008). Association of prostate cancer and manganese superoxide dismutase AA genotype influenced by presence of occult cancer in control group. *Urology*, **72** (2):238-41.
- INOUE N, KAWASHIMA S, KANAZAWA K, YAMADA S, AKITA H, YOKOYAMA M. (1998). Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation*, **97**:135–137.
- ISBIR S, ERGEN A, YILMAZ H, TEKELI A, ARSAN S. (2008) Effect of Ala16Val genetic polymorphism of MnSOD on antioxidant capacity and inflammatory response in open heart surgery. *In Vivo*, **22**:147–151.
- ITO D, MURATA M, WATANABE K, YOSHIDA T, SAITO I, TANAHASHI N, FUKUUCHI Y. (2000). C242T polymorphism of NADPH oxidase p22phox gene and ischemic cerebrovas- cular disease in the Japanese population. *Stroke*, **31**: 936–939.
- IWAKUMA T, SAKUMI K, NAKATSURU Y, KAWATE H, IGARASHI H, SHIRAISHI A, TSUZUKI T, ISHIKAWA T, SEKIGUCHI M. (1997). High incidence of nitrosamine-induced tumorigenesis in mice lacking DNA repair methyltransferase. *Carcinogenesis*, **18**:1631– 1635.
- IYAMA T, WILSON DM. (2013). DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair*, **12** (8):620-36.

- IZAKOVICOVA HOLLA L, KAŇKOVÁ K, ZNOJIL V. (2009). Haplotype Analysis of the NADPH Oxidase p22phox Gene in Patients with Bronchial Asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, **148**:73–80.
- JAIN A, AGRAWAL S, FLORA SJS. (2015). Arsenic and nicotine co-exposure lead to some synergistic effects on oxidative stress and apoptotic markers in young rat blood, liver, kidneys and brain. *Toxicol Rep.*, **2**:1334-1346.
- JAIN CK, ALI I. (2000). Arsenic: Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques. *Wat. Res.*, **34 (7)**: 4304-4312.
- JANSSEN AM, BOSMAN CB, VAN DUIJN W, OOSTENDORP-VAN DE RUIT MM, KUBBEN FJ, GRIFFIOEN MG, LAMERS CB, VAN KRIEKEN JH, VAN DE VELDE CJ, VERSPAGET HW. (2000). Superoxide Dismutases in Gastric and Esophageal Cancer and the Prognostic Impact in Gastric Cancer. *Clinical Cancer Research*, **6 (8)**: 3183-3192.
- JASMINA Z. (2007). Akciğer Kanseri Hastalarda Mangan Süperoksit Dismutaz (MnSOD) Gen Polimorfizminin İncelenmesi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- JENSEN TJ, NOVAK P, EBLIN KE, GANDOLFI AJ, FUTSCHER BW. (2008). Epigenetic remodeling during arsenical-induced malignant transformation. *Carcinogenesis*, **29(8)**:1500–1508.
- JEPPESEN DK, BOHR VA, STEVNSNER T. 2011. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*, **94 (2)**:166-200.
- JI ZLB, PAN SY. (2003). Relationship of the p22phox C242T gene polymorphism to hypertension. *Chin J Geriatr Cardiovasc Cerebrovasc Dis*, **5**: 103-105.
- JOMOVA K, JENISOVA Z, FESZTEROVA M, BAROS S, LISKA J, HUDECOVA D, RHODES CJ, VALKO M. (2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *J. Appl. Toxicol.*, **31 (2)**: 95–107.
- KADIOGLU E, SARDAS S, ERGUN M, UNAL S, KARAKAYA AE. (2010). The role of oxidative DNA damage, DNA repair, GSTM1, SOD2 and OGG1 polymorphisms in individual susceptibility to Barrett's esophagus. *Toxicol Ind Health*, **26 (2)**:67-79.
- KAGEY BT, BUMGARNER JE & CREASON JP. (1977). Arsenic levels in maternal-fetal tissue sets. in Trace Substances in Environmental Health – XI, Proceedings of the University of Missouri's 11th Annual Conference on Trace Substances in Environmental Health, D.D. Hemphill, ed. Columbia, Mo.: University of Missouri Press. 252-256.
- KAKKO S, PAIVANSALO M, KOISTINEN P, KESANIEMI YA, KINNULA VL, SAVOLAINEN MJ. (2003). The signal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **168**:147-152.

- KALYANASUNDARAM D, KIM JH, YEO WH, OH K, LEE KH, KIM MH, RYEW SM, AHN SG, GAO D, CANGELOSI GA, CHUNG JH. (2013). Rapid extraction and preservation of genomic DNA from human samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **405** (6):1977-1983.
- KAMIGUTI AS, SERRANDER L, LIN K, HARRIS RJ, CAWLEY JC, ALLSUP DJ, SLUPSKY JR, KRAUSE KH, ZUZEL M. (2005). Expression and activity of NOX5 in the circulating malignant B cells of hairy cell leukemia. *J Immunol*, **175**:8424–8430.
- KANG D, LEE KM, PARK SK, BERNDT SI, PETERS U, REDING D, CHATTERJEE N, WELCH R, CHANOCK S, HUANG WY, HAYES RB. (2007). Functional variant of manganese superoxide dismutase (SOD2 V16A) polymorphism is associated with prostate cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **16**:1581-1586.
- KANG YH, YI MJ, KIM MJ, PARK MT, BAE S, KANG CM, CHO CK, PARK IC, PARK MJ, RHEE CH, HONG SI, CHUNG HY, LEE YS & LEE SJ. (2004). Caspase-Independent Cell Death By Arsenic Trioxide In Human Cervical Cancer Cells: Reactive Oxygen Species-Mediated Poly (Adp-Ribose) Polymerase-1 Activation Signals Apoptosis-Inducing Factor Release From Mitochondria. *Cancer Research*, **64**, 8960–8967.
- KANGAS-KONTIO T, VAVULI S, KAKKO SJ, PENNA J, SAVOLAINEN ER, SAVOLAINEN MJ, LIINAMAA MJ. (2009). Polymorphism of the manganese superoxide dismutase gene but not of vascular endothelial growth factor gene is a risk factor for diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*, **93**:1401–1406.
- KARDIA SL, GREENE MT, BOERWINKLE E, TURNER ST, KULLO IJ. (2008) Investigating the complex genetic architecture of ankle- brachial index, a measure of peripheral arterial disease, in non-Hispanic whites. *BMC Med Genomics*, **1**:16.
- KARIM MM. (2000). Arsenic in groundwater and health problem in Bangladesh. *Water Res.*, **34** (1):304-310.
- KARLIN M, HACKETT S, RICHARDSON C, BRABETZ B. (2016). Biochemical Analysis of Manganese Superoxide Dismutase Mutations, SUNY Cobleskill, Student Research Showcase, SRS Poster Presentation. Erişim Adresi: [https://dspace.sunyconnect.suny.edu/handle/1951/66690] Erişim tarihi: 03/03/2017.
- KATAKAMI N, KANETO H, MATSUOKA T, TAKAHARA M, IMAMURA K, ISHIBASHI F, KANDA T, KAWAI K, OSONOI T, KASHIWAGI A, KAWAMORI R, MATSUHISA M, SHIMOMURA I, YAMASAKI Y. (2010). Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*, **212**: 534–538.

- KAWAHARA T, RITSICK D, CHENG G, LAMBETH JD. (2005). Point mutations in the proline-rich region of p22phox are dominant inhibitors of Nox1- and Nox2-dependent reactive oxygen generation. *J Biol Chem.*, **280**:31859–31869.
- KAYAALTI Z, KAYA D, BACAŞIZ A, SÖYLEMEZ E, SÖYLEMEZOĞLU T. (2013). An association between polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22phox (phagocyte oxidase) subunit and aging in Turkish population. *Aging Clin Exp Res.*, **25** (5):511-6.
- KAYAMA Y, RAAZ U, JAGGER A, ADAM M, SCHELLINGER IN, SAKAMOTO M, SUZUKI H, TOYAMA K, SPIN JM, TSAO PS. (2015). Diyabetic Cardiovascular Disease Induced by Oxidative Stress. *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 25234-25263.
- KEHRER JP. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol.*, **23** (1): 21-48.
- KESSEL M, LIU S X, XU A, SANTELLA R, HEI TK. (2002). Arsenic induces oxidative DNA damage in mammalian cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 234-235 (1-2): 301-308.
- KHAIRUL I, WANG QQ, JIANG YH, WANG C, NARANMANDURA H. (2017). Metabolism, toxicity and anticancer activities of arsenic compounds. *Oncotarget*, 4;**8** (14):23905-23926.
- KINNULA VL, CRAPO JD. (2003). Superoxide Dismutases in the Lung and Human Lung Diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **167**: 1600-1619.
- KITCHIN KT, AHMAD S. (2003). Oxidative stress as a possible mode of action for arsenic carcinogenesis. *Toxicology Letters*, **137** (1-2) 3-13.
- KITCHIN KT, CONOLLY R. (2010). Arsenic-induced carcinogenesis--oxidative stress as a possible mode of action and future research needs for more biologically based risk assessment. *Chem Res Toxicol*, **23** (2):327-35.
- KITCHIN KT, WALLACE K. (2008). Evidence against the nuclear in situ binding of arsenicals—Oxidative stress theory of arsenic carcinogenesis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **232**: 252-257.
- KITCHIN KT. (2001). Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol*, **172**:249–261.
- KLAASSEN CD. (2001). Casarett and Doull Toxicology: The Basic Science of Poisons. Erişim Adresi: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101741592>] Erişim Tarihi: 01/12/2018.

- KLIGERMAN AD, DOERR CL, TENNANT AH, HARRINGTON-BROCK K, ALLEN JW, WINKFIELD E, POORMAN-ALLEN P, KUNDU B, FUNASAKA K, ROOP BC, MASS MJ, DEMARINI DM. (2003). Methylated trivalent arsenicals as candidate ultimate genotoxic forms of arsenic: induction of chromosomal mutations but not gene mutations. *Environ. Mol. Mutagen*, **42**, 192–205.
- KLIGERMAN AD, MALIK SI, CAMPBELL JA. (2010). Cytogenetic insights into DNA damage and repair of lesions induced by a monomethylated trivalent arsenical. *Mutat. Res.*, **695**: 2–8.
- KOCA N ve KARADENİZ F. (2003). Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32-37.
- KOCABAŞ NA, ŞARDAŞ S, CHOLERTON S, DALY AK, ELHAN AH, KARAKAYA AE. (2005). Genetic polymorphism of manganese superoxide dismutase (MnSOD) and breast cancer susceptibility. *Cell Biochemistry and Function*, **23** (1) 73-76.
- KOHEN R, NYSKA A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* **30** (6): 620-650.
- KOISTINEN P, RUUSKA S, SAILY M, KAKKO S, SIITONEN P, SIITONEN T, SAVOLAINEN MJ, KINNULA VL, SAVOLAINEN ER. (2006) An association between manganese superoxide dismutase polymorphism and outcome of chemotherapy in acute myeloid leukemia. *Haematologica*, **91**:829–832.
- KOLOSSA-GEHRING M, BECKER K, CONRAD A, SCHRÖTER-KERMANI C, SCHULZ C, SEIWERT M. (2012). Environmental surveys, specimen bank and health related environmental monitoring in Germany. *Int J Hyg Environ Health*, **215** (2):120–126.
- KONG B, HUANG S, WANG W, MA D, QU X, JIANG J, YANG X, ZHANG Y, WANG B, CUI B. & YANG Q. (2005). Arsenic trioxide induces apoptosis in cisplatin-sensitive and -resistant ovarian cancer cell lines. *International Journal of Gynaecological Cancer*, **15**: 872–877.
- KOUZARIDES T. (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, **128**(4):693–705.
- KÖKER MY, VAN LEEUWEN K, DE BOER M, CELMELI F, METIN A, ÖZGÜR TT, TEZCAN I, SANAL O, ROOS D. (2009). Six different CYBA mutations including three novel mutations in ten families from Turkey, resulting in autosomal recessive chronic granulomatous disease. *Eur J Clin Invest.* **39** (4):311-9.

- KÖKER Y VE AVCILAR H. (2012). “Missense Mutation in AR-CGD” içinde Mutations in Human Genetic Disease. Chapter 1:1-10. DOI: 10.5772/35758.
- KÖSE G. (2011). Kseroderma Pigmentosum Grup D (XPD), Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD, SOD2), Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX1) Genlerinin Polimorfizmlerinin Baş Boyun Bölgesi Kansерlerinde Araştırılması. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara: Ankara Üniversitesi.
- KUCUKGERGIN C, SANLI O, AMASYALI AS, TEFİK T, SECKIN S. (2012) Genetic variants of MnSOD and GPX1 and susceptibility to bladder cancer in a Turkish population. *Med Oncol*, **29**:1928–1934.
- KUKIEŁKA E, CEDERBAUM AI. (1989). NADH-dependent microsomal interaction with ferric complexes and production of reactive oxygen intermediates. *Arch Biochem Biophys*; **275**: 540–550.
- KUKIEŁKA E, DICKER E, CEDERBAUM AI. (1994). Increased production of reactive oxygen species by rat liver mitochondria after chronic ethanol treatment. *Arch Biochem Biophys*; **309**:377–386.
- KULAKSIZ G, SANCAR A. (2007). Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kansер. *Türk Biyokimya Dergisi*, **32 (3)**; 104-11.
- KUZNETSOVA TLU, GAVRILOV DV, DUDANOV IP, MAKAREVICH PI, BALATSKII AV, SAMOKHODSKAIA LM, PARFENOVA EV. (2008). Influence of polymorphism's of endothelial nitric oxide synthase gene and polymorphism of NADPH oxidase gene on development of complications of arterial hypertension. *Kardiologiya*, **48 (3)**:27-33.
- LAGERKVIST B, LINDERHOLM H, NORDBERG GF. (1986). Vasospastic tendency and Raynaud's phenomenon in smelter workers exposed to arsenic. *Environ Res*; **39 (2)**: 465-74.
- LAI Y, ZHAO W, CHEN C, WU M, ZHANG Z. (2011). Role of DNA polymerase beta in the genotoxicity of arsenic. *Environ. Mol. Mutagen*, **52**: 460–468.
- LANTZ RC, HAYS AM. (2006). Role of oxidative stress in arsenic-induced toxicity. *Drug Metabolism Reviews*, **38 (4)**: 791–804.
- LANTZ RC, LYNCH BJ, BOITANO S, POPLIN GS, LITTAU S, TSAPRAILIS G, BURGESS JL. (2007). Pulmonary biomarkers based on alterations in protein expression after exposure to arsenic. *Environ. Health Perspect*, **115**:586–591.
- LASSÈGUE B, GRIENDLING KK. (2010). NADPH oxidases: functions and pathologies in vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **30 (4)**:653-61.
- LASSÈGUE B, SAN MARTIN A, GRIENDLING KK. (2012). Biochemistry, Physiology, and Pathophysiology of NADPH Oxidases in the Cardiovascular System. *Circ Res*; **110**: 1364-1390.

- LEE WH, HWANG TH, OH GT, KWON SU, CHOI YH, PARK JE. (2001). Genetic factors associated with endothelial dysfunction affect the early onset of coronary artery disease in Korean males. *Vascular Medicine*, **6**: 103–108.
- LEE-FELDSTEIN A. (1983). Arsenic and respiratory cancer in humans: Follow-up of Copper Smelter Employees in Montana. *Journal of the National Cancer Institute*, **70 (4)**: 601-609.
- LEONARDI G, VAHTER M, CLEMENS F, GOESSLER W, GURZAU E, HEMMINKI K, HOUGH R, KOPPOVA K, KUMAR R, RUDNAI P, SURDU S, FLETCHER T. (2012). Inorganic arsenic and basal cell carcinoma in areas of Hungary, Romania, and Slovakia: a case-control study. *Environ Health Perspect*; **120 (5)**:721-6.
- LEPETSOS P, PAMPANOS A, LALLOS S, KANAVAKIS E, KORRES D, PAPAVALASSILIOU AG, EFSTATHOPOULOS N. (2013). Association of NADPH oxidase p22phox gene C242T, A640G and -930A/G polymorphisms with primary knee osteoarthritis in the Greek population. *Mol Biol Rep*. **40**:5491–5499.
- LERDA D. (1994). Sister-chromatid exchange (SCE) among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. *Mutat Res.*, **312**:111–120.
- LI A, PRASAD A, MINCEMOYER R, SATORIUS C, EPSTEIN N, FINKEL T, QUYYUMI AA. (1999). Relationship of the C242T p22phox gene polymorphism to angiographic coronary artery disease and endothelial function. *Am J Med Genet*, **86**:57– 61.
- LI BH, ZHANG LL, ZHANG BB, YIN YW, DAI LM, PI Y, GUO L, GAO CY, FANG CQ, WANG JZ, LI JC. (2013). Association between NADPH Oxidase p22phox C242T Polymorphism and Ischemic Cerebrovascular Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One*; **8 (2)**: e56478.
- LI H, ENGSTRÖM K, VAHTER M, BROBERG K. (2012). Arsenic exposure through drinking water is associated with longer telomeres in peripheral blood. *Chem. Res. Toxicol*. **25**:2333–2339.
- LI H, KANTOFF PW, GIOVANNUCCI E, LEITZMANN MF, GAZIANO JM, STAMPFER M J, MA J. (2005b). Manganese Superoxide Dismutase Polymorphism, Prediagnostic Antioxidant Status, and Risk of Clinical Significant Prostate Cancer. *Cancer Res*; **65 (6)**: 2498-2504.
- LI J, CHEN P, SINOGEVA N, GOROSPE M, WERSTO RP, CHREST FJ, BARNES J, LIU Y. (2002). Arsenic trioxide promotes histone H3 phosphoacetylation at the chromatin of CASPASE-10 in acute promyelocytic leukemia cells. *J Biol Chem.*, **277(51)**:49504–49510.
- LI JH, ROSSMAN TG. (1989). Mechanism of comutagenesis of sodium arsenite with n-methyl-n-NITROSOUREA. *BIOL TRACE ELEM RES*, **21**: 373–381.

- LI YY, GONG G, GENG HY, QIAN Y. (2017). p22phox C242T gene polymorphism and overt diyabetic nephropathy: a meta-analysis of 1,452 participants. *Korean J Intern. Med*, **32 (6)**: 1045–1052.
- LIANFANG W, JIANZHONG H. (1994). Chronic arsenicism from drinking water in some areas of Xinjiang, China. In: Nriagu J. Arsenic in the environment. Part II. Human health and ecosystem effects. *Chichester: Wiley*, 159-172.
- LIEN HC, TSAI TF, LEE YY, HSIAO CH. (1999). Merkel cell carcinoma and chronic arsenicism. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **41 (4)**: 641–643.
- LIM SC, GOH SK, LAI YR, TEE WW, KOH A, XU XH, WU YS, YAP E, SUBRAMANIAM T, SUM CF. (2006). Relationship between common functional polymorphisms of the p22phox gene (-930A > G and +242C > T) and nephropathy as a result of Type 2 diyabetes in a Chinese population. *Diyabet Med.*, **23 (9)**:1037-1041.
- LIN C, HSU C, HSU W, CHENG A, YANG C. (2006). Arsenic trioxide in patients with hepatocellular carcinoma: a phase ii trial. (Annual Meeting Proceedings Part I) *Journal of Clinical Oncology*, **24 (18)**: 14129.
- LIN LM, LI BX, XIAO JB, LIN DH, YANG BF. (2005). Synergistic effects of all-trans-retinoic acid and arsenic trioxide on growth inhibition and apoptosis in human hepatoma, breast cancer and lung cancer cells in vitro. *World Journal of GastroEnterology*, **11 (36)**: 5633–5637.
- LIU F, JAN KY. (2000). DNA damage in arsenite- and cadmium-treated bovine aortic endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med*, **28**:55–63.
- LIU G, ZHOU W, PARK S, WANG LI, MILLER DP, WAIN JC, LYNCH TJ, SU L, CHRISTIANI DC. (2004). The SOD2 Val/Val genotype enhances the risk of nonsmall cell lung carcinoma by p53and XRCC1 polymorphisms. *Cancer*; **101**:2802–2808.
- LIU LY, ZOU D, ZHANG J. (2006). Association between NADPH oxidase subunit p22phox gene polymorphism and diyabetic nephropathy patients in Shanghai. *Chin. J. Nephrol*, **22**:84–87.
- LÌ J, WATERS SB, DROBNA Z, DEVESA V, STYBLO M, THOMAS DJ. (2005a). Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase and the inorganic arsenic methylation phenotype. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **204**: 164-169.
- LYNN S, GURR JR, LAI HT, JAN KY. (2000). NADH oxidase activation is involved in arsenite-induced oxidative DNA damage in human vascular smooth muscle cells. *Circ res.*, **86 (5)**:514-9.
- LYNN S, LAI HT, GURR JR, JAN KY. (1997). Arsenite retards DNA break rejoining by inhibiting DNA ligation. *Mutagenesis*, **12**: 353–358.

- MACIA-REYES A, RODRIGUEZ-ESPARRAGON F, CABALLERO-HIDALGO A, HERNANDEZ-TRUJILLO Y, MEDINA A, RODRIGUEZ-PEREZ JC. (2008). Insight into the role of CYBA A640G and C242T gene variants and coronary heart disease risk. A case-control study. *Free Radic Res.*, **42 (1)**:82-92.
- MAGALHAES MCF. (2002). Arsenic. An environmental problem limited by solubility. *Pure Appl. Chem.*, **74**: 1843–1850.
- MAHIMAIRAJA S, BOLAN NS, ADRIANO DC, ROBINSON B. (2005). Arsenic contamination and its risk management in complex environmental settings. *Advances in Agronomy*, **86**: 1-82.
- MAJUMDAR S, CHANDA S, GANGULI B, MAZUMDER DN, LAHIRI S, DASGUPTA UB. (2010). Arsenic exposure induces genomic hypermethylation. *Environ Toxicol.*, **25(3)**:315–318.
- MAJZLAN J, PLASIL J, SKODA R, GESCHER J, KÖGLER F, RUSZYNYAK A, KÜSEL K, NEU TR, MANGOLD S, ROTHE J. (2014). Arsenic-Rich Acid Mine Water with Extreme Arsenic Concentration: Mineralogy, Geochemistry, Microbiology, and Environmental Implications. *Environ. Sci. Technol.*, **48 (23)**: 13685–13693.
- MANDAL BK, SUZUKI KT. (2002). Arsenic round the world: A Review. *Talanta*. **58 (1)**: 201-235.
- MARCHISET-FERLAY N, SAVANOVITCH C, SAUVANT-ROCHAT MP. (2012). What is the best biomarker to assess arsenic exposure via drinking water? *Environ Int.*, **39 (1)**: 150-71.
- MARSHALL G, FERRECCIO C, YUAN Y, BATES MN, STEINMAUS C, SELVIN S, LIAW J, SMITH AH. (2007). Fifty-Year study of lung and bladder cancer mortality in Chile related to arsenic in drinking water. *Journal of the National Cancer Institute*, **99 (12)**: 920–928.
- MARSIT CJ, EDDY K, KELSEY KT. (2006). MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res.*, **66(22)**:10843–10848.
- MARTIN C, ZHANG Y. (2005). The diverse functions of histone lysine methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **6(11)**:838–849.
- MARTIN RC, LAN Q, HUGHES K, DOLL MA, MARTINI BD, LISSOWSKA J, ZATONSKI W, ROTHMAN N, HEIN DW. (2005). No apparent association between genetic polymorphisms (-102 C>T) and (-9 T>C) in the human manganese superoxide dismutase gene and gastric cancer (1). *J Surg Res.*, **124 (1)**:92-97.
- MARTIN RC, LI Y, LIU Q, JENSEN NS, BARKER DF, DOLL MA, HEIN DW. (2009). Manganese superoxide dismutase V16A single-nucleotide polymorphism in the mitochondrial targeting sequence is associated with

- reduced enzymatic activity in cryopreserved human hepatocytes. *DNA Cell Biol.*, **28** (1):3-7.
- MARTINEZ V, CREUS A, VENEGAS W, ARROYO A, BECK JP, GEBEL TW, SURRALLES J, MARCOS R. (2004). Evaluation of micronucleus induction in a Chilean population environmentally exposed to arsenic. *Mutat Res.*, **564**:65–74.
- MARTINEZ VD, BECKER-SANTOS DD, VUCIC EA, LAM S, LAM WL. (2011b). Induction of human squamous cell-type carcinomas by arsenic. *J Skin Cancer.*, 454157.
- MARTINEZ VD, VUCIC EA, ADONIS M, GIL L, LAM WL. (2011a). Arsenic biotransformation as a cancer promoting factor by inducing DNA damage and disruption of repair mechanisms. *Mol. Biol. Int.*, 718974.
- MARTINEZ VD, VUCIC EA, BECKER-SANTOS DD, GIL L, LAM WL. (2011c). Arsenic Exposure and the Induction of Human Cancers. *Journal of Toxicology.* 431287.
- MASS MJ, WANG L. (1997). Arsenic alters cytosine methylation patterns of the promoter of the tumor suppressor gene p53 in human lung cells: a model for a mechanism of carcinogenesis. *Mutat. Res.*, **386**: 263–277.
- MATA-BALAGUER T, DE LA HERRAN R, RUIZ-REJON C, RUIZ-REJON M, GARRIDO-RAMOS MA, RUIZ-REJON F. (2004). Angiotensin-converting enzyme and p22 (phox) polymorphisms and the risk of coronary heart disease in a low-risk Spanish population. *Int J Cardiol.*, **95** (2-3):145-151.
- MATHEWS V, GEORGE B, CHENDAMARAI E, LAKSHMI KM, DESIRE S, BALASUBRAMANIAN P, VISWABANDYA A, THIRUGNANAM R, ABRAHAM A, SAJI RV, SRIVASTAVA A, CHANDY M. (2010). Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: long-term follow-up data. *Journal of Clinical Oncology*, **28** (24): 3866–3871.
- MATHUR N, PANDEY G, JAIN GC (2010). Male reproductive toxicity of some selected metals: A review. *J Biol Sci*, **10**: 396-404.
- MATSCHULLAT J, BIRMANN K, BORBA RP, CIMINELLI V, DESCHAMPS EM, FIGUEIREDO BR, GABRIO T, HABLER S, HILSCHER A, JUNGHANEL I, DE OLIVEIRA N, RABBACH K, SCHMIDT H, SCHWENK M, DE OLIVEIRA VILHENA MJ, WEIDNER U. (2007). Long-term environmental impact of Arsenic-dispersion in Minas Gerais, Brazil. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, **9**:355–372.
- MAURIZ JL, GONZALEZ P, JORQUERA F, OLCOZ JL, GONZALEZ- GALLEGO J. (2003). Caspase inhibition does not protect against liver damage in hemorrhagic shock. *Shock*, **19**:33–37.

- MAYO JC, SAINZ RM, QUIROS-GONZALES I. (2018). Reactive Oxygen Species. **5 (14):**86–106.
- MAZUMDER G, DAS GUPTA J, SANTRA A, PAL A, GHOSE A, SARKAR S. (1998). Chronic arsenic toxicity in West Bengal —the worst calamity on the world. *J. Indian Med. Assoc.*, **96 (1):** 4–7.
- MCCLINTOCK TR, CHEN Y, BUNDSCHUH J, OLIVER, JT, NAVONI J, OLMOS V, VILLAAMIL LE, AHSAN H, PARVEZ F. (2012). Arsenic Exposure in Latin America: Biomarkers, Risk Assessments and Related Health Effects. *Sci Total Environ.*, **429:** 76–91.
- MCKELVEY-MARTIN VJ, GREEN MH, SCHMEZER P, POOL- ZOBEL BL, DE MÉO MP, COLLINS A. (1993). The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European re- view. *Mutat Res.*, **288 (1):**47-63.
- MEAD MN. (2005). Arsenic: in search of an antidote to a global poison. *Environmental Health Perspectives*, **113 (6):** A378–A386.
- MEHRANPOUR P, WANG SS, BLANCO RR, LI W, SONG Q, LASSE`GUE B, DIKALOV SI, AUSTIN H, ZAFARI AM. (2009). The C242T CYBA polymorphism as a major determinant of NADPH oxidase activity in patients with cardiovascular disease. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.*, **7:** 251–259.
- MEIJLES DN, FAN LM, GHAZALY MM, HOWLIN B, KRÖNKE M, BROOKS G, LI JM. (2016). p22phox C242T Single-Nucleotide Polymorphism Inhibits Inflammatory Oxidative Damage to Endothelial Cells and Vessels. *Circulation*, **133:**2391-2403.
- MENDEZ-GOMEZ J, GARCÍA-VARGAS GG, LÓPEZ-CARRILLO L, CALDERÓN-ARANDA ES, GÓMEZ A, VERA E, VALVERDE M, CEBRIÁN ME, ROJAS E. (2008). Genotoxic effects of environmental exposure to arsenic and lead on children in region Lagunera, Mexico. *Ann N Y Acad Sci*, **1140:** 358-367.
- MIKHAK B, HUNTER DJ, SPIEGELMAN D, PLATZ EA, WU K, ERDMAN JW, GIOVANNUCCI E. (2008). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism, interactions with carotenoid levels and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, **29:** 2335-2340.
- MILLIKAN RC, PLAYER J, COTRET A R, MOORMAN P, PITTMAN G, VANNAPPAGARI V, TSE CJ, KEKU T. (2004). Manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism and risk of breast cancer in a population-based case–control study of African Americans and whites. *Breast Cancer Research*, **6:** 264- 274.
- MITRUNEN K, SILLANPÄÄ P, KATAJA V, ESKELINEN M, KOSMA VM, BENHAMOU S, UUSITUPA M, HIRVONEN A. (2001). Association

between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and breast cancer risk. *Carcinogenesis*; **22** (5): 827-829.

- MO JY, XIA YJ, WADE TJ, SCHMITT M, LE XC, DANG RH, MUMFORD JL. (2006). Chronic arsenic exposure and oxidative stress: OGG1 expression and arsenic exposure, nail selenium, and skin hyperkeratosis in Inner Mongolia. *Environ. Health Perspect*, **114**:835–841.
- MOHAMMEDI K, BELLILI-MUNOZ N, DRISS F, ROUSSEL R, SETA N, FUMERON F, HADJADJ S, MARRE M, VELHO G. (2014). Manganese Superoxide Dismutase (SOD2) Polymorphisms, Plasma Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) Concentration and Risk of Kidney Complications in Subjects with Type 1 Diabetes. *PLoS ONE*, **9** (5): e96916.
- MÖLLSTEN A, JORSAL A, LAJER M, VIONNET N, TARNOW L. (2009). The V16A polymorphism in SOD2 is associated with increased risk of diabetic nephropathy and cardiovascular disease in type 1 diabetes. *Diabetologia*, **52**:2590-2593.
- MONTANO MA, BARRIO LERA JP, GOTTLIEB MG, SCHWANKE CH, DA ROCHA MI, MANICA-CATTANI MF, DOS SANTOS GF, DA CRUZ IB. (2009). Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and elderly obesity. *Mol Cell Biochem.*, **328**:33–40.
- MONTANO MA, DA CRUZ IB, DUARTE MM, KREWER CDAC, DA ROCHA MI, MÂNICA-CATTANI MF, SOARES FA, ROSA G, MARIS AF, BATTISTON FG, TROTT A, LERA JP. (2012). Inflammatory cytokines in vitro production are associated with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism of peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine*, **60**:30–33.
- MOON K, GUALLAR E, NAVAS-ACIEN A. (2012). Arsenic Exposure and Cardiovascular Disease: An Updated Systematic Review. *Curr Atheroscler Rep.*, **14** (6): 542-555.
- MORALES KH, RYAN L, KUO TL, WU MM, CHEN CJ. (2000). Risk of internal cancers from arsenic in drinking water, *Environmental Health Perspectives*, **108** (7): 655–661.
- MORAWIETZ H, WEBER M, RUECKSCHLOSS U, LAUER N, HACKER A, KOJDA G. (2001). Upregulation of vascular NAD (P)H oxidase subunit Gp91phox and impairment of the nitric oxide signal transduction pathway in hypertension. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **285**:1130–1135.
- MORENO MU, JOSE GS, FORTUNO A, BELOQUI O, DIEZ J, ZALBA G. (2006). The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension. *J Hypertens*, **24**:1299–306.

- MORRY J, NGAMCHERDTRAKUL W, YANTASEE W. (2017). Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox Biology*, **11**: 240–253.
- MORTON WE. (1994). Arsenic in the Environment. Part II. Human Health and Ecosystem Effects. ISBN: 978-0-471-30436-4.
- MOURON SA, GOLIJOW CD, DULOUT FN. (2001). DNA damage by cadmium and arsenic salts assessed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res.*, **498**: 47–55.
- MOURÓN SA, GRILLO CA, DULOUT FN, GOLIJOW CD. (2006). Induction of DNA strand breaks, DNA-protein crosslinks and sister chromatid exchanges by arsenite in a human lung cell line. *Toxicol In Vitro*, **20**:279–285.
- MÖLLSTEN A, MARKLUND SL, WESSMAN M, SVENSSON M, FORSBLOM C, PARKKONEN M, BRISMAR K, GROOP PH, DAHLQUIST G. (2007). A Functional Polymorphism in the Manganese Superoxide Dismutase Gene and Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, **56** (1):265-269.
- MUKHERJEE AB, BHATTACHARYA P. (2001). Arsenic in groundwater in the Bengal Delta Plain: slow poisoning in Bangladesh. *Environ Rev.*, **9** (3):189-220.
- MULLER FL, LUSTGARTEN MS, JANG Y, RICHARDSON A, REMMEN HV. (2007). Trends in Oxidative Aging Theories. *Free Radical Biology & Medicine*, **43** (4): 477-503.
- MURASE Y, YAMADA Y, HIRASHIKI A, ICHIHARA S, KANDA H, WATARAI M, TAKATSU F, MUROHARA T, YOKOTA M. (2004). Genetic risk and gene-environment interaction in coronary artery spasm in Japanese men and women. *Eur. Heart J.*, **25** (11):970-977.
- NAJAFI M, ALIPOOR B, SHABANI M, AMIRFARHANGI A, GHASEMI H. (2012). Association between rs4673 (C/T) and rs13306294 (A/G) haplotypes of NAD (P)H oxidase p22phox gene and severity of stenosis in coronary arteries. *Gene*, **499** (1):213-217.
- NAKAMURO K, SAYATO T. (1981). Comparative studies of chromosomal aberration induced by trivalent and pentavalent arsenic. *Mutat. Res.*, **88**: 73-80.
- NAKANISHI S, YAMANE K, OHISHI W, NAKASHIMA R, YONEDA M, NOJIMA H, WATANABE H, KOHNO N. (2008). Manganese superoxide dismutase Ala16Val polymorphism is associated with the development of type 2 diabetes in Japanese-Americans. *Diabetes Res Clin Pract.*, **81**:381–385.

- NAKAO K, ISASHIKI Y, SONODA S, UCHINO E, SHIMONAGANO Y, SAKAMOTO T. (2007). Nitric oxide synthase and superoxide dismutase gene polymorphisms in Behçet disease. *Arch Ophthalmol*, **125** (2):246-251.
- NAKHAE A, MASHHADI MA, ZADEMIR M, SEPEHRI Z, KENNEDY D. (2016). Lack of association between superoxide dismutase gene polymorphism and malignant lymphoproliferative disorders. *Gene Cell Tissue*. **3** (3): e37768. DOI:10.17795/gct-37768.
- NAMIKAWA C, SHU-PING Z, VYSELAAR JR, NOZAKI Y, NEMOTO Y, ONO M, AKISAWA N, SAIBARA T, HIROI M, ENZAN H, ONISHI S. (2004). Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, **40** (5):781-786.
- NASTI S, BALBI M, FABBI P, ALTIERI P, MANCA V, GARIBALDI S, OLIVOTTI L, BACINO L, CASALINO L, GHIGLIOTTI G, BARSOTTI A, BRUNELLI C. (2002). CYBA polymorphism associated with oxidative stress in Italian patients with early onset of coronary artery disease. *Ital Heart J*, **3**: 52-54.
- NASTI S, SPALLAROSSA P, ALTIERI P, GARIBALDI S, FABBI P, POLITO L, BACINO L, BRUNELLI M, BRUNELLI C, BARSOTTI A, GHIGLIOTTI G. (2006). C242T polymorphism in CYBA gene (p22phox) and risk of coronary artery disease in a population of Caucasian Italians. *Dis Markers*, **22**: 167-173.
- NAUSEEF WM. (2008) Biological roles for the nox family NAD (P)H oxidases. *J Biol Chem.*, **283** (25): 16961 – 16965.
- NESNOW S, ROOP BC, LAMBERT G, KADIISKA M, MASON RP, CULLEN WR, MASS MJ. (2002). DNA damage induced by methylated trivalent arsenicals is mediated by reactive oxygen species. *Chem. Res. Toxicol.*, **15**: 1627–1634.
- NGUYEN GT, GREEN ER, MECSAS J. (2017). Neutrophils to the ROScues: Mechanisms of NADPH Oxidase Activation and Bacterial Resistance. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **7**:373.
- NIEMIEC P, ZAK I, WITA K. (2007). The 242T variant of the CYBA gene polymorphism increases the risk of coronary artery disease associated with cigarette smoking and hypercholesterolemia. *Coron Artery Dis*, **18**: 339–346.
- NITURE SK, VELU CS, SMITH QR, BHAT JG, SRIVENUGOPAL KS. (2007). Increased expression of the MGMT repair protein mediated by cysteine prodrugs and chemopreventative natural products in human lymphocytes and tumor cell lines. *Carcinogenesis*, **28** (2): 378-389.
- NOMIYAMA T, TANAKA Y, PIAO L, NAGASAKA K, SAKAI K, OGIHARA T, NAKAJIMA K, WATADA H, KAWAMORI R. (2003). The polymorphism

- of manganese superoxide dismutase is associated with diyabetic nephropathy in Japanese type 2 diyabetic patients. *J Hum Genet*, **48**:138–141.
- NORBURY CJ, HICKSON ID. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; **41**: 367-401.
- NORDENSON I, SALMONSSON S, BRUN E, BECHMAN G. (1978). Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. II. Chromosomal aberrations in workers exposed to arsenic. *Hereditas*, **88**: 47-50.
- NRC. (1999). Arsenic in Drinking Water. Washington, DC:National Research Council, Doi: <https://doi.org/10.17226/6444>.
- NRC. (2001). National Research Council. Arsenic in Drinking Water: 2001 Update. National Academy Press, Washington, DC. DOI: <https://doi.org/10.17226/10194>.
- OLGUIN A, JAUGE P, CEBRIAN M & ALBORES A. (1983). Arsenic levels in blood, urine, hair, and nails from a chronically exposed human population. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **26**: 175-177.
- OLSON SH, CARLSON MD, OSTRER H, HARLAP S, WINTERS M, AMBROSONE CB. (2004). Genetic variants in SOD2, MPO, NQO1, and risk of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, **93**:615 – 620.
- ONUR E, TUĞRIL B, BOZYİĞİT F. (2009). DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Derg.*, **7 (2)**: 61-70.
- ORUÇ N. 2004. Emet-Kütahya içme sularında arsenik düzeyi, önemi ve bor yatakları ile ilişkisi II. Uluslararası Bor Sempozyumu, Eskişehir.
- OSTROSKY-WEGMAN P, GONSEBATT ME, MONTERO R, VEGA L, BARBA H, ESPINOSA J, PALAO A, CORTINAS C, GARCIA-VARGAS G, DEL RAZO M, CEBRIAN M. (1991). Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Mutat Res.*, **250**:477–482.
- OZKUL C, CIFTCI E, KOPRUBASI N, TOKEL S, SAVAS M. (2015). Geogenic arsenic anomalies in soils and stream waters of Neogene Emet basin (Kütahya-Western Turkey). *Environ. Earth Sci.*, **73**: 6117–6130.
- ÖZBOLAT G, TULI A. (2016). Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri Effects of Heavy Metal Toxicity on Human Health. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. *Archives Medical Review Journal*, **25 (4)**:502-521.
- ÖZKUL C, TOKEL S, SAVAŞ M. (2011). Emet (Kütahya) Neojen Havzası Topraklarında Saptanan Jeojenik Arsenik Ve Antimon Anomalileri. *DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Sayı **25**:91-102.

- ÖZTÜRK M. (2017). İçme Suyu Kaynaklarında Arsenik Arıtımı. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı. Müsteşar Raporu.
- PAE CU, YOON SJ, PATKAR A, KIM JJ, JUN TY, LEE C, PAIK IH. (2006). Manganese superoxide dismutase (MnSOD: Ala-9Val) gene polymorphism and mood disorders: a preliminary study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **30 (7)**:1326-9.
- PAIVA L, MARCOS R, CREUS A, COGGAN M, OAKLEY AJ, BOARD PG. (2008). Polymorphism of glutathione transferase Omega 1 in a population exposed to a high environmental arsenic burden. *Pharmacogenet Genomics*; **18**:1–10.
- PALUS J, LEWINSKA D, DZIUBALTOWSKA E, STEPNIK M, BECK J, RYDZYNSKI K, NILSSON R. (2005). DNA damage in leukocytes of workers occupationally exposed to arsenic in copper smelters. *Environmental and Molecular Mutagenesis*; **46 (2)**:81-87.
- PANDAY A, SAHOO MK, OSORIO D, BATRA S. (2015). NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies. *Cell Mol Immunol*. **12**: 5-23.
- PANG JHD. (2004). Relationship of the Promoter of NAD (P)H Oxidase p22phox Gene Polymorphism to Hypertension. *Chin J Hyper*, **12**:502-504.
- PARAJULI RP, FUJIWARA T, UMEZAKI M, WATANABE C. (2013). Association of cord blood levels of lead, Arsenic, and zinc with neurodevelopmental indicators in newborns: a birth cohort study in Chitwan Valley, Nepal. *Environmental Research*, **121**: 45-51.
- PAROLA M, ROBINO G. (2001). Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol*, **35**:297-306.
- PEI Q, MA N, ZHANG J, XU W, LI Y, MA Z, LI Y, TIAN F, ZHANG W, MU J, LI Y, WANG D, LIU H, YANG M, MA C, YUN F. (2013). Oxidative DNA damage of peripheral blood polymorphonuclear leukocytes, selectively induced by chronic arsenic exposure, is associated with extent of arsenic-related skin lesions. *Toxicol Appl Pharmacol*, **266**:143-149.
- PETROVIC D. (2014). Association of the –262C/T polymorphism in the catalase gene promoter and the C242T polymorphism of the NADPH oxidase p22phox gene with essential arterial hypertension in patients with diabetes mellitus type 2. *Clinical and Experimental Hypertension*, **36 (1)**: 36-9.
- PFARR N, KORSCH E, KASPERS S, HERBST A, STACH A, ZIMMER C, POHLENZ J. (2006) Congenital hypothyroidism caused by new mutations in the thyroid oxidase 2 (THOX2) gene. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **65**:810-815.
- PIATEK K, SCHWERDTLE T, HARTWIG A, BAL W. (2008). Monomethylarsonous acid destroys a tetrathiolate zinc finger much more

efficiently than inorganic arsenite: mechanistic considerations and consequences for DNA repair inhibition. *Chem. Res. Toxicol.* **21**: 600-606.

- PIERCE BL, KIBRIYA MG, TONG L, JASMINE F, ARGOS M, ROY S, PAUL-BRUTUS R, RAHAMAN R, RAKIBUZ-ZAMAN M, PARVEZ F, AHMED A, QUASEM I, HORE SK, ALAM S, ISLAM T, SLAVKOVICH V, GAMBLE MV, YUNUS M, RAHMAN M, BARON JA, GRAZIANO JH, AHSAN H. (2012). Genome-wide association study identifies chromosome 10q24.32 variants associated with arsenic metabolism and toxicity phenotypes in Bangladesh. *PloS Genet*, **8** (2):e1002522.
- PIEROLA J, ALEMANY A, YANEZ A, DE-LA-PENA M, SANCHEZ-DE-LA-TORRE M, ESQUINAS C, PEREZ-GUTIERREZ C, BURGUERA B, BARBE F, BARCELO A. (2011). NADPH oxidase p22phox polymorphisms and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea. *Respir Med.*, **105** (11):1748-1754.
- PILSNER JR, LIU X, AHSAN H, ILIEVSKI V, SLAVKOVICH V, LEVY D, FACTOR-LITVAK P, GRAZIANO JH, GAMBLE MV. (2007). Genomic methylation of peripheral blood leukocyte DNA: influences of arsenic and folate in Bangladeshi adults. *Am J Clin Nutr.*, **86**(4):1179–1186.
- PINO A, AMATO A, ALIMONTI A, MATTEI D, BOCCA B. (2012). Human biomonitoring for metals in Italian urban adolescents: data from Latium Region. *Int J Hygiene Environ Health*, **215** (2):185–90.
- PIZENT A, TARIBA B, ZIVKOVIC T. (2012). Reproductive toxicity of metals in men. *Arh Hig Rada Toksikol*, **63**(1): 35-46.
- PLANTAMURA J, DORANDEU F, BURNAT P, RENARD C. (2011). Arsine: An unknown industrial chemical toxic. *Ann Pharm Fr.*, **69**(4):196-200.
- PONGNIMITPRASERT N, EL-BENNA J, FOGLIETTI MJ, GOUGEROT-POCIDALO MA, BERNARD M, BRAUT-BOUCHER F. (2008). Potential role of the “NADPH oxidases” (NOX/DUOX) family in cystic fibrosis. *Ann Biol Clin (Paris)*, **66**:621–629.
- PU YS, YANG SM, HUANG YK, CHUNG CJ, HUANG SK, CHIU AW, YANG MH, CHEN CJ, HSUEH, YM. (2007). **Urinary arsenic profile affects the risk of urothelial carcinoma even at low arsenic exposure.** *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **218**: 99-106.
- QIAN Y, LIU KJ, CHEN Y, FLYNN DC, CASTRANOVA V, SHI X. (2005). Mechanisms of signal transduction: Cdc42 regulates arsenic-induced NADPH oxidase activation and cell migration through actin filament reorganization. *J. Biol. Chem.*, **280**: 3875–3884.

- QIN XJ, HUDSON LG, LIU W, TIMMINS GS, LIU KJ. (2008). Low concentration of arsenite exacerbates UVR-induced DNA strand breaks by inhibiting PARP-1 activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **232**: 41–50.
- RADA B, HABLY C, MECZNER A, TIMAR C, LAKATOS G, ENYEDI P, LIGETI E. (2008) Role of Nox2 in elimination of microorganisms. *Semin Immunopathol*, **30**:237–253.
- RADABAUGH TR, SAMPAYO-REYES A, ZAKHARYAN RA, APOSHIAN HV. (2002). Arsenate reductase II. Purine nucleoside phosphorylase in the presence of dihydrolipoic acid is a route for reduction of arsenate to arsenite in mammalian systems. *Chem. Res. Toxicol.*, 692-698.
- RAFIQ A, ASLAM K, MALIK R, AFROZE D. (2014). C242T polymorphism of the NADPH oxidase p22PHOX gene and its association with endothelial dysfunction in asymptomatic individuals with essential systemic hypertension. *Molecular Medicine Reports*, **9**: 1857-1862.
- RAHMAN MM, NG JC, NAIDU R. (2009). Chronic exposure of arsenic via drinking water and its adverse health impacts on humans. *Environ Geochem Health*, **31**:189-200.
- RAINS JL, JAIN SK. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med*, **50**:567–575.
- RATNAIKE RN. (2003). Acute and chronic arsenic toxicity, *Postgrad Med J*; **79**:391–396.
- REICHARD JF, SCHNEKENBURGER M, PUGA A. (2007). Long term low-dose arsenic exposure induces loss of DNA methylation. *Biochem Biophys Res Commun.*, **352(1)**:188–192.
- REMMEN HV, IKENO Y, HAMILTON M, PAHLAVANI M, WOLF N, THORPE SR, ALDERSON NL, BAYNES JW, EPSTEIN CJ, HUANG TT, NELSON J, STRONG R, RICHARDSON A. (2003). Life-long reduction in MnSOD activity results in increased DNA damage and higher incidence of cancer but does not accelerate aging. *Physiol Genomics*, **16**: 29–37.
- REN X, MCHALE CM, SKIBOLA CF, SMITH AH, SMITH MT, ZHANG L. (2011). An Emerging Role for Epigenetic Dysregulation in Arsenic Toxicity and Carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.*, **119(1)**:11-19.
- ROBERTSON KD. (2005). DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet.*, **6(8)**:597–610.
- RODIÑO-JANCIRO GK, PARADELA-DOBARRO B, CASTIÑEIRAS-LANDEIRA MI, RAPOSEIRAS-ROUBIN S, GONZÁLES- JUANATEY JR, ALVAREZ E. (2013). Current status of NADPH oxidase research in cardiovascular pharmacology. *Vasc Health Ris Manag*, **(9)**: 401-428.

- RODRIGUEZ VM, JIMENEZ-CAPDEVILLE ME, GIORDANO M. (2003). The effects of arsenic exposure on the nervous system. *Toxicology Letters*, **145**:1-18.
- ROGERS RJ, CHESROWN SE, KUO S, MONNIER JM, NICK HS. (2000). Cytokine-inducible enhancer with promoter activity in both the rat and human manganese-superoxide dismutase genes. *Biochem J.*, **347 (1)**:233-242.
- ROKUTAN K, KAWAHARA T, KUWANO Y, TOMINAGA K, NISHIDA K, TESHIMA-KONDO S. (2008). Nox enzymes and oxidative stress in the immunopathology of the gastrointestinal tract. *Semin Immunopathol*, **30**:315-327.
- ROOS D, DE BOER M, KURIBAYASHI F, MEISCHL C, WEENING RS, SEGAL AW, AHLIN A, NEMET K, HOSSLE JP, BERNATOWSKA-MATUSZKIEWICZ E, MIDDLETON-PRICE H. (1996). Mutations in the X- linked and autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. *Blood*, **87**:1663- 1681.
- ROSADO JL, RONQUILLO D, KORDAS K, ROJAS O, ALATORRE J, LOPEZ P, GARCIA-VARGAS G, DEL CARMEN CAAMANO M, CEBRIAN ME, STOLTZFUS RJ. (2007). Arsenic exposure and cognitive performance in Mexican schoolchildren. *Environ Health Perspect*, **115(9)**:1371-1375.
- ROSELL R, TARON M, BARNADAS A, SCAGLIOTTI G, SARRIES C, ROIG B. (2003). Nucleotide excision repair pathways involved in Cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer. *Cancer Control*, **10(4)**:297-305.
- ROSENBLUM JS, GILULA NB, LERNER RA. (1996). On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93 (9)**:4471-4473.
- ROSSMAN TG. (2003). Mechanisms of arsenic carcinogenesis. An integrated approach. *Mutat. Res.*, **533**: 37-65.
- ROY A, KORDAS K, LOPEZ P, ROSADO JL, CEBRIAN ME, VARGAS GG, RONQUILLO D, STOLTZFUS RJ. (2011). Association between arsenic exposure and behavior among first-graders from Torreón, Mexico. *Environ Res.*, **111(5)**:670-6.
- SAHA JC, DIKSHIT AK, BANDYOPADHYAY MA, SAHA KC. (1999). Review of arsenic poisoning and its effects on human health. School of Tropical Medicine, Calcutta, India. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology Journal*, **29(3)**: 281-313.
- SALAZAR AM, CALDERON-ARANDA E, CEBRIAN ME, SORDO M, BENDESKY A, GOMEZ-MUNOZ A, ACOSTA-SAAVEDRA L, OSTROSKY-WEGMAN P. (2004). p53 expression in circulating lymphocytes of non-melanoma skin cancer patients from an arsenic

contaminated region in Mexico. A pilot study. *Mol Cell Biochem.*, **255**:25–31.

SAMPAYO-REYES A, HERNANDEZ A, EL-YAMANI N, LOPEZ-CAMPOS C, MAYET-MACHADO E, RINCON-CASTANEDA C B, LIMONES-AGUILAR MDE L, LOPEZ-CAMPOS JE, DE LEON M B, GONZALEZ-HERNANDEZ S, HINOJOSA-GARZA D, MARCOS R. (2010). Arsenic induces DNA damage in environmentally exposed Mexican children and adults. Influence of GSTO1 and AS3MT polymorphisms. *Toxicol. Sci.*, **117**: 63–71.

SAMUEL S, KATHIRVEL R, JAYAVELU T, CHINNAKKANNU P. (2005). Protein oxidative damage in arsenic induced rat brain: influence of DL-alpha-lipoic acid. *Toxicol. Lett.*, **155**: 27–34.

SAN JOSE G, FORTUNO A, BELOQUI O, DIEZ J, ZALBA G. (2008). NADPH oxidase CYBA polymorphisms, oxidative stress and cardiovascular diseases. *Clin Sci (Lond)*, **114**:173-82.

SANCAR A, LINDSEY-BOLTZ LA, GADDAMEEDHI S, SELBY CP, YE R, CHIOU YY, KEMP MG, HU J, LEE JH, OZTURK NURI. (2015). Circadian Clock, Cancer, and Chemotherapy. *Biochemistry*, **54** (2):110-123.

SANCAR A, LINDSEY-BOLTZ LA, UNSAL-KAÇMAZ K, LINN S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem.*, **73**:39-85.

SANTOS KG, CANANI LH, GROSS JL, TSCHIEDEL B, SOUTO KE, ROISENBERG I. (2005). Relationship of p22phox C242T polymorphism with nephropathy in type 2 diabetic patients. *J Nephrol.*, **18**:733-738.

SARAVANABHAVAN G, WERRY K, WALKER M, HAINES D, MALOWANY M, KHOURY C. (2017). Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007–2013. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **220**:189-200.

SARDAŞ S. (2009). Arsenik Maruziyetinde Risk Değerlendirmesi. 1.Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, 30 Ekim–1 Kasım 2009, Ürgüp Bld., Kültür Merkezi, Ürgüp/NEVŞEHİR.

SATSANGI J, PARKES M, JEWELL DP, BELL JI. (1998). Genetics of inflamamatory bowel disease. *Clin Sci.*, **94**:473-478.

SCHEINDLIN S. (2005). The duplicitous nature of inorganic arsenic. *Mol. Interv.* **5**, 60-64.

SCHIEBER M, CHANDEL NS. (2014). ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol.*, **24** (10): R453-462.

- SCHOEN A, BECK B, SHARMA R, DUBÉ E. (2004). Arsenic toxicity at low doses: Epidemiological and mode of action considerations. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **198**: 253-267.
- SCHOETERS G, COLLES A, DEN HOND E, CROES K, VRIJENS J, BAEYENS W, NELEN V, VAN DE MIEROOP E, COVACI A, BRUCKERS L, VAN LAREBEKE N, SIOEN I, MORRENS B, LOOTS I. (2012). The Flemish Environment and Health Study (FLEHS) – Second Survey (2007–2011): Establishing Reference Values for Biomarkers of Exposure in the Flemish Population. In: Knudsen E, Merlo DF, editors. Biomarkers and human biomonitoring. *London: Royal Society of Chemistry*, **1**:135–165.
- SCHOFIELD MJ, HSIEH P. (2003). DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function. *Annu. Rev. Microbiol*, **57**: 579-608.
- SCHRAM A, MATUSIK P, OSMENDA G, GUZICK TJ. (2012). Targeting NADPH oxidases in vascular pharmacology. *Vascul Pharmacol*, **56 (5-6)**: 216-231.
- SCHREIBER R, BELLINAZZI VR, SPOSITO AC, MILL JG, KRIEGER JE, PEREIRA AC, NADRUZ JR W. (2013). Influence of the C242T Polymorphism of the p22-phox Gene (CYBA) on the Interaction between Urinary Sodium Excretion and Blood Pressure in an Urban Brazilian Population. *PLOS One*,; **8(12)**:e81054.
- SCHREIBER R, FERREIRA-SAE MC, RONCHI JA, PIO-MAGALHAES JA, CIPOLLI JA, MATOS-SOUZA JR, MILL JG, VERCESI AE, KRIEGER JE, FRANCHINI KG, PEREIRA AC, NADRUZ JUNIOR W. (2011). The C242T polymorphism of the p22-phox gene (CYBA) is associated with higher left ventricular mass in Brazilian hypertensive patients. *BMC Med Genet*, **12**:114.
- SCHREIBER R, FERREIRA-SAE MC, TUCUNDUVA AC, MILL JG, COSTA FO, KRIEGER JE, FRANCHINI KG, PEREIRA AC, NADRUZ JR W. (2012). CYBA C242T polymorphism is associated with obesity and diabetes mellitus in Brazilian hypertensive patients. *Diabet Med*, **29(7)**: e55-e61.
- SCHULIGA M, CHOUCANE S, SNOW ET. (2002). Upregulation of glutathione-related genes and enzyme activities in cultured human cells by sublethal concentrations of inorganic arsenic. *Toxicol Sci.*, **70 (2)**:183-192.
- SCHULZ C, CONRAD A, BECKER K, KOLOSSA-GEHRING M, SEIWERT M, SEIFERT B. (2007). Twenty years of the German Environmental Survey (GerES): Human biomonitoring – temporal and spatial (West Germany/East Germany) differences in population exposure. *Int J Hygiene Environ Health*, **210 (3-4)**: 271-297.
- SCHWERDTLE T, WALTER I, MACKIW I, HARTWIG A. (2003). Induction of oxidative DNA damage by arsenite and its trivalent and pentavalent

- methyated metabolites in cultured human cells and isolated DNA. *Carcinogenesis*, **24**: 967-974.
- SEGAL AW. (2008). The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOX inplants, invertebrates, and mammals. *Int J Biochem Cell Biol*; **4 (4-3)**: 604-618.
- SEGAL BH, ROMANI L, PUC CETTI P. (2009). Chronic granulomatous disease. *Cell Mol Life Sci*, **66**:553-558.
- SEGAL BH, VEYS P, MALECH H, COWAN MJ. (2011). Chronic Granulomatous Disease: Lessons from a Rare Disorder. *Biol Blood Marrow Transplant*, **17 (1)**: S123-S131.
- SEN D, SARATHI P. (2012). Arsenicosis: is it a protective or predisposing factor for mental illness? *Iran J Psychiatry*, **7 (4)**:180–183.
- SHAKOOR MB, NAWAZ R. HUSSAIN F, RAZA M, ALI S, RIZWAN M, OH SE, AHMAD S. (2017). Human health implications, risk assessment and remediation of As-contaminated water: A critical review. *Sci Total Environ*, 601-602:756-769.
- SHARMA AK, TJELL JC, SLOTH JJ, HOLM PE. (2014). Review of arsenic contamination, exposure through water and food and low cost mitigation options for rural areas. *Applied Geochemistry*, **41**: 11-33.
- SHARMA VK, SOHN M. (2009). Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation. *Environment International*, **35**: 743–759.
- SHERMAN MH, BASSING CH, TEITELL MA. (2011). Regulation of cell differentiation by the DNA damage response. *Trends Cell Biol.*, **21 (5)**:312-319.
- SHI H, SHI X, LIU KJ. (2004). Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **255 (1-2)**: 67–78.
- SHIMODA-MATSUBAYASHI S, MATSUMINE H, KOBAYASHI T, NAKAGAWA-HATTORI Y, SHIMIZU Y, MIZUNO Y. (1996). Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. a predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **226 (2)**:561-565.
- SHIMO-NAKANISHI Y, HASEBE T, SUZUKI A, MOCHIZUKI H, NOMIYAMA T, TANAKA Y, NAGAOKA I, MIZUNO Y, URABE T. (2004). Functional effects of NAD (P)H oxidase p22PHOX C242T mutation in human leukocytes and association with thrombotic cerebral infraction. *Atherosclerosis*, **175**: 109-115.

- SHUCK SC, SHORT EA, TURCHI JJ. (2008). Eukaryotic nucleotide excision repair: from understanding mechanisms to influencing biology. *Cell Res.*, **18**: 64-72.
- SILIG Y, TAS A, PINARBASI H. (2015). Manganese-superoxide dismutase (MnSOD) polymorphisms. *Turkish J Biochem*, **40** (2):163-168.
- SINGH NP, MCCOY MT, TICE RR, SCHNEIDER EL. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, **175**: 184-191.
- SLANGER TE, CHANG-CLAUDE J, WANG-GOHRKE S. (2006). Manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism, environmental modifiers, and risk of breast cancer in a German population. *Cancer Causes Control*, **17**:1025–1031.
- SMART DJ, CHIPMAN JK, HODGES NJ. (2006). Activity of OGG1 variants in the repair of pro-oxidant-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine. *DNA Repair*, **5**:1337–1345.
- SMEDLEY PL, KINNIBURGH DG, MACDONALD DMJ, NICOLLI HB, BARROS AJ, TULLIO JO, PEARCE JM, ALONSO MS. (2005). Arsenic associations in sediments from the loess aquifer of La Pampa. *Argentina. Appl Geochem*, **20** (5): 989-1016.
- SMEDLEY PL, KINNIBURGH DG. (2002). A Review of the Source, Behaviour and Distribution of Arsenic in Natural Waters. *Applied Geochemistry*, **17**:517-568.
- SMIRNOV A, DAILY KP, CRISS AK. (2014). Assembly of NADPH oxidase in human neutrophils is modulated by the opacity-associated protein expression State of *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun*, **82** (3):1036-1044.
- SNOJ TRATNIK J, MAZEJ D, HORVAT M. (2012). Human biomonitoring studies in Slovenia – toxic metals, arsenic and essential elements. In: Human Biomonitoring (HBM) – Linking Environment to Health and Supporting Policy. Proceedings of the Conference, Larnaca, Cyprus, 22–25 October 2012. Nicosia: Ministry of Health, 88.
- SOERENSEN M, CHRISTENSEN K, STEVNSNER T, CHRISTIANSEN L. (2009). The Mn-superoxide dismutase single nucleotide polymorphism rs4880 and the glutathione peroxidase 1 single nucleotide polymorphism rs1050450 are associated with aging and longevity in the oldest old. *Mech Ageing Dev*, **130** (5):308-314.
- SONG O. (2004). Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality?. *C. R. Biologies.*, **327**: 649-662.
- SONG WZ, CHEN AF, WANG DH. (2004). Increased salt sensitivity induced by sensory denervation: role of superoxide. *Acta Pharmacol Sin*, **25**:1626–1632.

- SOONG YK, TSENG R, LIU C, LIN PW. (1991). Lead, cadmium, arsenic, and mercury levels in maternal and fetal cord blood. *J Formos Med Assoc.*, **90** (1): 59-65.
- SRIVASTAVA M, MA LQ, SANTOS JAG. (2006). Three new arsenic hyperaccumulating ferns. *Sci. Total Environ.*, **364**: 24–31.
- SRIVASTAVA V, BUZAS B, MOMENAN R, OROSZI G, PULAY AJ, ENOCH MA, HOMMER DW, GOLDMAN D. (2010). Association of SOD2, a Mitochondrial Antioxidant Enzyme, with Gray Matter Volume Shrinkage in Alcoholics. *Neuropsychopharmacology*, **35** (5):1120-8.
- STANGER O, RENNER W, KHOSCHSORUR G, RIGLER B, WASCHER TC. (2001). NADH/NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism and lipid peroxidation in coronary artery disease. *Clin Physiol*, **21**:718–722.
- STASIA MJ, LI XJ. (2008). Genetics and immunopathology of chronic granulomatous disease. *Semin Immunopathol*, **30**:209-35.
- STEHOUWER CD, HENRY RM, DEKKER JM, NIJPELS G, HEINE RJ, BOUTER LM. (2004). Microalbuminuria is associated with impaired brachial artery, flow-mediated vasodilation in elderly individuals without and with diabetes: Further evidence for a link between microalbuminuria and endothelial dysfunction—the Hoorn Study. *Kidney Int. Suppl.* **92**:42–44.
- STEINMAUS C, YUAN Y, BATES MN, SMITH AH. (2003). Case-control study of bladder cancer and drinking water arsenic in the western United States. *Am J Epidemiol*, **158** (12):1193-1201.
- STEINMAUS CM, FERRECCIO C, ROMO ACEVEDO J, YUAN Y, CORTES S, MARSHALL G, MOORE LE, BALMES JR, LIAW J, GOLDEN T, SMITH AH. (2013). Drinking water arsenic in northern Chile: high cancer risks 40 years after exposure cessation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **22**:623–630.
- STEWART SF, LEATHART JB, CHEN Y, DALY AK, ROLLA R, VAY D, MOTTARAN E, VIDALI M, ALBANO E, DAY CP. (2002). Valine-Alanine Manganese Superoxide Dismutase Polymorphism Is Not Associated With Alcohol-Induced Oxidative Stress or Liver Fibrosis. *Hepatology*, **36**: 1355-1360.
- STICKEL F, OSTERREICHER CH, DATZ C, FERENCI P, WÖLFEL M, NORGAUER W, KRAUS MR, WRBA F, HELLERBRAND C, SCHUPPAN D. (2005). Prediction of progression to cirrhosis by a glutathione S-transferase P1 polymorphism in subjects with hereditary hemochromatosis. *Arch Intern Med*; **165**:1835–1840.
- STOJIC L, BRUN R, JIRICNY J. 2004. Mismatch repair and DNA damage signaling, DNA Repair (Amst), 2004 Aug-Sep;3 (8-9):1091-101, Review.

- STROKOV I, BURSA T, DREPA O, ZOTOVA E, NOSIKOV V, AMETOV A. (2003). Predisposing genetic factors for diabetic polyneuropathy in patients with type 1 diabetes: a population-based case- control study. *Acta Diabetol*, **40**:375–379.
- SUGASAWA K. (2008). Xeroderma pigmentosum genes: functions inside and outside DNA repair. *Carcinogenesis*, **29**: 455-465.
- SUMIMOTO H. (2008). Structure, regulation and evolution of NOX-family NADPH oxidases that produce reactive oxygen species. *Faseb J*; **275 (13)**: 3249-77.
- SUNG P, KLEIN H. (2006). Mechanism of homologous recombination: mediators and helicases take on regulatory functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **7**: 739–750.
- SUTTON A, KHOURY H, PRIP-BUUS C, CEPANEC C, PESSAYRE D, DEGOUL F. (2003). The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics*, **13**: 145-157.
- SUTTON A, NAHON P, PESSAYRE D, RUFAT P, POIRÉ A, ZIOL M, VIDAUD D, BARGET N, GANNE-CARRIE N, CHARNAUX N, TRINCHET JC, GATTEGNO L, BEAUGRAND M. (2006). Genetic polymorphisms in antioxidant enzymes modulate hepatic iron accumulation and hepatocellular carcinoma development in patients with alcohol-induced cirrhosis. *Cancer Res.*, **66**: 2844–2852.
- SWANK RA, TH'NG JP, GUO XW, VALDEZ J, BRADBURY EM, GURLEY LR. (1997). Four distinct cyclin-dependent kinases phosphorylate histone H1 at all of its growth-related phosphorylation sites. *Biochemistry*, **36(45)**:13761–13768.
- SYKORA P, SNOW ET. (2008). Modulation of DNA polymerase beta-dependent base excision repair in cultured human cells after low dose exposure to arsenite. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **228**: 385–394.
- ŞEKEROĞLU ZA, ŞEKEROĞLU V. (2011). Genetik Toksisite Testleri. *Tübbav Bilim*, **4 (3)**: 221-229.
- ŞİMŞEK C. (2012). Şarkışla (SİVAS) Ovasında arsenik kirliliği ve insan sağlığı açısından değerlendirilmesi. 65.Türkiye Jeoloji Kurultayı 2-6 Nisan/April 2012.
- TAKAC I, SCHRODER K, BRANDES RP. (2012). The nox family of NADPH oxidases: friend or foe of the vascular system? *Curr Hypertens Rep*; **14 (1)**: 70-78.
- TAMIMI RM, HANKINSOM SE, SPIEGELMAN D, COLDITZ GA, HUNTER DJ. (2004). Manganese superoxide dismutase polymorphism, plasma antioxidants, cigarette smoking, and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **13**: 989-996.

- TANAKA KT, JINNO H, HASEGAWA T, MAKINO Y, SEKO Y, HANIOKA N, ANDO M. (2003). Functional characterization of two variant human GSTO 1-1s (Ala140Asp and Thr217Asn). *Biochem Biophys Res Commun.*, **301**: 516–520.
- TAPIO S, GROSCHE B. (2006). Arsenic in the aetiology of cancer. *Mutat. Res.*, **612**: 215–246.
- TEAF CM, COVERT DJ, TEAF PA, PAGE E, STARKS MJ. (2010). Arsenic cleanup criteria for soils in the us and abroad: comparing guidelines and understanding inconsistencies. proceedings of the annual international conference on soils, sediments, *Water And Energy*, Vol. **15**:10.
- TEDGUI A, MALLAT Z. (2006) Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev.*, **86** (2):515-81.
- THEGYPSYTHREAD. (2016). Erişim Adresi:[<http://www.thegypsythread.org/ruby-arsenic-realgar-beautifully-toxic/>], Erişim Tarihi: 09/02/2016.
- THOMAS DJ, LI J, WATERS SB, XING W, ADAIR BM, DROBNA Z, DEVESA V, STYBLO M. (2007). Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase and the methylation of arsenicals. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **232**:3–13.
- THOMAS P, HOLLAND N, BOLOGNESI C, KIRSCH-VOLDERS M, BONASSI S, ZEIGER E, KNASMUELLER S, FENECH M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature, Nature Protocols*, **4** (6): 825-837.
- THOMAS X, TRONCY J. (2009). Arsenic: A Beneficial Therapeutic Poison - A Historical Overview. *Adler Mus Bull.*, **35**(1):3-13.
- TOURNEL G, HOUSSAYE C, HUMBERT L, DHORNE C, GNEMMI V, BECART-ROBERT A, NISSE P, HEDOUIN V, GOSSET D, LHERMITTE M. (2011). Acute Arsenic Poisoning: Clinical, Toxicological, Histopathological, and Forensic Features, *J Forensic Sci*, **56**(1): 20950314.
- TSENG CH. (2005). Blackfoot disease and arsenic: a never-ending story. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.*, **23**(1):55-74.
- TU HK, PAN KF, ZHANG Y, LI WQ, ZHANG L, MA JL, LI JY, YOU WC. (2010). Manganese superoxide dismutase polymorphism and risk of gastric lesions, and its effects on chemoprevention in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **19** (4):1089-1097.
- TYLER CR, ALLAN AM. (2014). The Effects of Arsenic Exposure on Neurological and Cognitive Dysfunction in Human and Rodent Studies: A Review. *Curr Environ Health Rep.*, **1** (2): 132–147.
- UTHUS EO, DAVIS C. (2005). Dietary arsenic affects dimethylhydrazine-induced aberrant crypt formation and hepatic global DNA methylation and DNA methyltransferase activity in rats. *Biol Trace Elem Res.*, **103**(2):133–145.

- UZ E, YILMAZ HR, YAĞCI R, AKYOL İ, ERSOY T, SUNGUR G, YİĞİT A, DUMAN S, AKYOL Ö. (2016) Genetic polymorphism of manganese superoxide dismutase in behçet's disease. *Arch Rheumatol*, **31 (X)**:İ-Vi.
- ÜNLÜ Mİ, BILEN M, GÜRÜ M. (2011). Kütahya-emet bölgesi yeraltı sularında bor ve arsenik kirliliğinin araştırılması. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, **26 (4)**:753-760.
- VAHIDNIA A, VAN DER VOET GB, DE WOLFF FA. (2007). Arsenic neurotoxicity – A review. *Human & Experimental Toxicology*, **26**: 823–832.
- VAHTER M, CONCHA G, NERMELL B, NILSSON R, DULOUT F, NATARAJAN AT. (1995). A unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean women. *Eur. J. Pharmacol. Environ. Toxicol. Pharmacol*, **293**:455-462.
- VAHTER M, CONCHA G. (2001). Role of metabolism in arsenic toxicity. *Pharmacol. Toxicol.*, **89**: 1-5.
- VAHTER M. (2000). Genetic polymorphism in the biotransformation of inorganic arsenic and its role in toxicity. *Toxicol Lett.*, 112-113: 209-217.
- VAHTER M. (2002). Mechanisms of arsenic biotransformation. *TOXICOLOGY*, 181-182: 211-217.
- VAHTER ME. (2007). Interactions between arsenic-induced toxicity and nutrition in early life. *J Nutr.*, **137 (12)**:2798-2804.
- VALDIVIA A, PÉREZ-ALVAREZ S, AROCA-AGUILAR JD, IKUTA I, JORDÁN J. (2009). Superoxide dismutases: a physiopharmacological update. *J Physiol Biochem*, **65**:195–208.
- VALENTI L, CONTE D, PIPERNO A, DONGIOVANNI P, FRANCANZANI AL, FRAQUELLI M, VERGANI A, GIANNI C, CARMAGNOLA L, FARGION S. (2004). The mitochondrial superoxide dismutase A16V polymorphism in the cardiomyopathy associated with hereditary haemochromatosis. *J Med Genet*, **41**: 946–950.
- VALENTINE JL, KANG HK, SPIVEY G. (1979). Arsenic levels in human blood, urine and hair in response to exposure via drinking water. *Environ. Res.*, **20**: 24–32.
- VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN M, MAZUR M, TELSER J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. **39**: 44–84.
- VALKO M, MORRIS H, CRONIN MTD. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, **12**:1161–1208.
- VASILIADOU C, TOUSOULIS D, ANTONIADES C, MARINOU K, TENTOLOURIS C. (2007). Genetic Polymorphism C242T On The p22-phox

Subunit Of NADPH Oxidase, As A Risk Factor For Myocardial Infarction: Effects On Platelets Activation And Oxidized LDL levels. *J Am Coll Cardiol*, **49**: 339A–340A.

- VENTRIGLIA M, SCASSELLATI C, BONVICINI C, SQUITTI R, BEVACQUA MG, FORESTI G, TURA GB, GENNARELLI M. (2006). No association between Ala9Val functional polymorphism of MnSOD gene and schizophrenia in a representative Italian sample. *Neurosci Lett.*, **410** (3):208-211.
- VIZCAYA-RUIZ A, BARBIER O, RUIZ-RAMOS R, CEBRIAN ME. (2009). Biomarkers of oxidative stress and damage in human populations exposed to arsenic. *Mutat. Res.*, **674**:85–92.
- VOGEL U, DYBDAHL M, FRENTZ G, NEXO B A. (2000). DNA repair capacity: inconsistency between effect of over-expression of five NER genes and the correlation to mRNA levels in primary lymphocytes. *Mutation Research*, **461** (3): 197-210.
- VON BERNHARDI R, VON BERNHARDI LE, EUGENÍN J. (2015). Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **7**:124. doi: 10.3389/fnagi.2015.00124.
- VON EHRENSTEIN OS, PODDAR S, YUAN Y, MAZUMDER DG, ESKENAZI B, BASU A, HIRA-SMITH M, GHOSH N, LAHIRI S, HAQUE R, GHOSH A, KALMAN D, DAS S, SMITHE AH. (2007). Children's intellectual function in relation to arsenic exposure. *Epidemiology*; **18** (1): 44-51.
- VURAL N. (2005). Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. ISBN:975-482-289-1.
- VUYYURI SB, ISHAQ M, KUPPALA D, GROVER P, AHUJA YR. (2006). Evaluation of micronucleus frequencies and DNA damage in glass workers exposed to arsenic. *Environ Mol Mutagen* **47**: 562-570.
- WAALKES MP, LIU J, GERMOLÉ DR, TREMPUS CS, CANNON RE, TOKAR EJ, TENNANT RW, WARD JM, DIWAN BA. (2008). Arsenic exposure in utero exacerbates skin cancer response in adulthood with contemporaneous distortion of tumor stem cell dynamics. *Cancer Res.*, **68**: 8278–8285.
- WALL S. (1980). Survival and mortality pattern among Swedish smelter workers. *Int. J. Epidemiol*, **9**:73-87.
- WANG BWX. (2007). Association of the WNK4 gene and CYBA gene polymorphisms with essential hypertension. Central South Univ.
- WANG CH, JENG JS, YIP PK, CHEN CL, HSU LI, HSUEH YM, CHIOU HY, WU MM, CHEN CJ. (2002). Biological gradient between long-term arsenic exposure and carotid atherosclerosis. *Circulation*, **105** (15):1804-1809.

- WANG H, PERRAULT AR, TAKEDA Y, QIN W, WANG H, ILIAKIS GEORGE. (2003). Biochemical evidence for Ku-independent backup pathways of NHEJ. *Nucleic Acids Res*, **31 (18)**: 5377-5388.
- WANG LI, MILLER DP, SAI Y, LIU G, SU L, WAIN JC, LYNCH TJ, CHRISTIANI DC. (2001b). Manganese Superoxide Dismutase Alanine-to-Valine Polymorphism at Codon 16 and Lung Cancer Risk. *Journal of the National Cancer Institute*, **93 (23)**: 1818-1821.
- WANG TC. (1994). Delay of the excision of UV light-induced DNA adducts is involved in the coclastogenicity of UV light plus arsenite. *Int J Rad Biol.*, **66**: 367–372.
- WANG TS, HSU TY, CHUNG CH, WANG AS, BAU DT, JAN KY. (2001a). Arsenite induces oxidative DNA adducts and DNA-protein cross-links in mammalian cells. *Free Radic Biol Med*, **31**: 321–330.
- WANG ZY, CHEN Z. (2008). Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood*, **111(5)**: 2505-2515.
- WEEDEN CE, ASSELIN-LABAT ML. (2018). Mechanisms of DNA damage repair in adult stem cells and implications for cancer formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular Basis of Disease*, **1864 (1)**: 89-101.
- WHARTON JC. (2010). The Arsenic Century: How Victorian Britain was poisoned at home, work and play. Oxford University Press, Oxford, UK.
- WHEATLEY-PRICE P, ASOMANING K, REID A, ZHAI R, SU L, ZHOU W, ZHU A, RYAN DP, CHRISTIANI DC, LIU G. (2008). Myeloperoxidase and superoxide dismutase polymorphisms are associated with an increased risk of developing pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, **112**:1037–1042.
- WHO. (2000a). Arsenic. In: Air quality guidelines for Europe, 2nd ed. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe, pp. 125–128 Erişim Adresi: [([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0005/74732/E71922.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf))] Erişim Tarihi: 7/2/2018.
- WHO. (2008). Guidelines for drinking-water quality, 3rd edition incorporating 1st and 2nd addenda. Vol. 1. Recommendations. Geneva, World Health Organization, pp. 306–308b Erişim Adresi: [[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/GDW12rev1and2.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDW12rev1and2.pdf)] Erişim Tarihi: 17/4/2018.
- WHO, (2000b). Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark. Air Quality Guidelines Second Edition. Arsenic. Chapter 6.1. Erişim Adresi: [[http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0014/123071/AQG2ndEd\\_6\\_1\\_Arsenic.PDF](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0014/123071/AQG2ndEd_6_1_Arsenic.PDF)] Erişim Tarihi:08/04/2018.
- WHO, (2001). Arsenic and arsenic compounds. 2nd ed. 2001; Geneva: World Health Organization, 2001. Erişim Adresi: [Environmental Health Criteria

Monographs, No. 224). <https://www.who.int/whr/2001/en/>] Erişim Tarihi: 10/1/2016.

WHO, (2015). Human biomonitoring: facts and figures. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. Erişim Adresi: [http://www.euro.who.int/\_\_data/assets/pdf\_file/0020/276311/Human-biomonitoring-facts-figures-en.pdf.]. Erişim Tarihi: 08/05/2017.

WIGHTMAN B, HA I, RUVKUN G. (1993). Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, **75**(5):855-862.

WIRTH JJ, MIJAL RS. (2010). Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst Biol Reprod Med.*, **56** (2):147-67.

WIRTITSCH M, ROTH E, BACHLEITNER-HOFMALL T, WESSNER D, STURLAL S. (2009). Omega 3 and omega 6 polyunsaturated fatty acids enhance arsenic trioxide efficacy in arsenic trioxide resistant leukemic and solid tumor cells. *Oncol. Res.*, **18**: 83-94.

WISPE JR, CLARK JC, BURHANS MS, KROPP KE, KORFHAGEN TR, WHITSETT JA. (1989). Synthesis and Processing of the Precursor for Human Manganese-Superoxide Dismutase. *Biochim. Biophys. Acta*, **994** (1): 30-36.

WOLIN MS. (2000). Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, **20** (6):1430-1442.

Wong HH and Wang J. (2010). Merkel cell carcinoma. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, **134**(11):1711–1716.

WOODSON K, TANGREA JA, LEHMAN TA, MODALI R, TAYLOR KM, SNYDER K, TAYLOR PR, VIRTAMO J, ALBANES D. (2003). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) polymorphism,  $\alpha$ -tocopherol supplementation and prostate cancer risk in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study (Finland). *Cancer Causes and Control*, **14**: 513-518.

WROBEL K, WROBEL K, CARUSO JA. (2009). Epigenetics: an important challenge for ICP-MS in metallomics studies. *Anal Bioanal Chem.*, **393** (2):481-486.

WU MM, CHIOU HY, HO IC, CHEN CJ, LEE TC. (2003). Gene expression of inflammatory molecules in circulating lymphocytes from arsenic-exposed human subjects. *Environ. Health Perspect*, **111**: 1429–1438.

WU MM, CHIOU HY, WANG TW, HSUEH YM, WANG IH, CHEN CJ, LEE TC. (2001). Association of blood arsenic levels with increased reactive oxidants and decreased antioxidant capacity in a human population of northeastern Taiwan. *Environ. Health Perspect.* **109**: 1011–1017.

- WYCHE KE, WANG SS, GRIENDLING KK, DIKALOV SI, AUSTIN H, RAO S, FINK B, HARRISON DG, ZAFARI AM. (2004). C242T CYBA polymorphism of the NADPH oxidase is associated with reduced respiratory burst in human neutrophils. *Hypertension*, **43**:1246–1251
- WYSOCKA J, ALLIS CD, COONROD S. (2006). Histone arginine methylation and its dynamic regulation. *Front Biosci.*, **11**:344–355.
- XIA Y, LIU J. (2004). An Overview on chronic arsenism via drinking water in pr china. *Toxicol.*, **198**: 25-29.
- XIE H, HUANG SP, MARTIN S, WISE SJP. (2014). Arsenic is cytotoxic and genotoxic to primary human lung cells. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, **760**: 33–41.
- XU Q, YUAN F, WU J. (2014). Polymorphisms of C242T and A640G in CYBA Gene and the risk of coronary artery disease: A meta-analysis. *PLoS One*, **9 (1)**: e84251
- XU Y, PORNTADAVITY S, ST CLAIR DK. (2002). Transcriptional regulation of the human manganese superoxide dismutase gene: the role of specificity protein 1 (Sp1) and activating protein-2 (AP-2). *Biochem J.*, **362 (2)**:401–412.
- YAMADA Y, IZAWA H, ICHIHARA S, TAKATSU F, ISHIHARA H, HIRAYAMA H, SONE T, TANAKA M, YOKOTA M. (2002). Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med.*, **347**:1916–1923.
- YAMAOKA H, IKOMA N, KATO M, AKASAKA E, TAMIYA S, MATSUYAMA T, OZAWA A, FUKUNAGA Y. (2011). Multiple Bowen's Disease in a Patient with a History of Possible Arsenic Exposure: A Case Report. *Tokai J Exp Clin Med.*, **36 (2)**: 53-57.
- YANG ST, LIU H, WANG YM, SONG DP. (2006). The polymorphism of C242T of p22phox gene related to diyabetic nephropathy. *J. Kunming Med. Univ.*, **27**:111-115.
- YILMAZ O, DINÇ H. (2013). Ağır Metallerin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri, *Yyu Veteriner Fakultesi Dergisi*, **24 (2)**: 91 – 94.
- YING S, MYERS K, BOTTOMLEY S, HELLEDAY T, BRYANT HE. (2009). BRCA2-dependent homologous recombination is required for repair of Arsenite-induced replication lesions in mammalian cells. *Nucleic Acids Research*, **37(15)**: 5105–5113.
- YOSHIDA T, YAMAUCHI H, SUN G F, (2004). Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: dose-response relationships in review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **198 (3)**: 243–252.

- YOU JS, WANG M, LEE SH. (2003). Biochemical Analysis of the Damage Recognition Process in Nucleotide Excision Repair. *The Journal of Biological Chemistry*, **278**:7476-7485.
- YU H. GUO-QUAN W, WEI-LI Y, HUA Y, KAITAI L. (2000). Raynaud's disease caused by drinking water with high level of arsenic in Xinjiang, China. 4th International conference on arsenic exposure and health effects, San Diego, CA, June 18-22, p. 118.
- YUCE G, YASIN DU. (2012). Assessment of an increase in boron and arsenic concentrations at the discharge area of Na-borate mine (Kirka-Eskisehir, Turkey). *Terr. Atmos. Oceanic Sci. J.*, **23**: 703–723.
- YÜCE H, HEPSEN IF, TEKEDERELI I, KESKIN U, ELYAS H, AKYOL O. (2007). Lack of association between pseudoexfoliation syndrome and manganese superoxide dismutase polymorphism. *Current Eye Research*, **32**: 387-391.
- ZAFARI AM, DAVIDOFF MN, AUSTIN H, VALPPU L, COTSONIS G, LASSEGUE B, GRIENDLING KK. (2002). The A640G and C242T p22 (phox) polymorphisms in patients with coronary artery disease. *Antioxid Redox Signal*, **(4)**:675-680.
- ZAKHARYAN RA, SAMPAYO-REYES A, HEALY SM, TSAPRAİLİS G, BOARD PG, LIEBLER DC, APOSHIAN HV. (2001). Human monomethylarsonic acid (MMA(V)) reductase is a member of the glutathione-S-transferase superfamily. *Chem. Res. Toxicol.* **14**: 1051-1057.
- ZALATA A, YAHIA S, EL-BAKARY A, EISHEIKHA HM. (2007). Increased DNA damage in children caused by passive smoking as assessed by Comet assay and Oxidative stress, *Mutat. Res.*, **629**: 140–147.
- ZALBA G, SAN JOSE G, MORENO MU, FORTUNO MA, FORTUNO A, BEAUMONT FJ, DÍEZ J. (2001) Oxidative stress in arterial hyper- tension: role of NAD (P)H oxidase. *Hypertension*; **38**:1395–1399.
- ZALDIVAR R. (1977). Ecological investigations on arsenic dietary intake and endemic chronic poisoning in man; Dose-dependent curve. *Zentralbl Bakteriол., Parasitenkd. Infektionskr. Hyg., Abt. I: Orig., Reihe B*, **164**: 481-484.
- ZEJNİLOVIC J, AKEV N, YILMAZ H, ISBIR T. (2009). Association between manganese superoxide dismutase polymorphism and risk of lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet*, **189**:1–4.
- ZEJNİLOVIÇ J. (2007). Akciğer Kanseri Hastalarında Mangan Süperoksit Dismutaz (MnSOD) Gen Polimorfizminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul: İstanbul Üniversitesi.

- Zhang HJ, Yan T, Oberley TD, Oberley LW. (1999). Comparison of Effects of Two Polymorphic Variants of Manganese Superoxide Dismutase on Human Breast MCF-7 Cancer Cell Phenotype. *Cancer Res.*, **59**:6276-6283.
- ZHANG J, SONNENSCHN N, PIHL TP, PEDERSEN KR, JENSEN MK, KEASLING JD. (2016). Engineering an NADPH/NADP<sup>+</sup> Redox Biosensor in Yeast. *ACS Synth Bio*, **5** (12):1546-1556.
- ZHANG Y, ROHDE LH, WU H. (2009). Involvement of Nucleotide Excision and Mismatch Repair Mechanisms. *Current Genomics*, **10**: 250-258.
- ZHAO CQ, YOUNG MR, DIWAN BA, COOGAN TP, WAALKES MP. (1997). Association of arsenic-induced malignant transformation with DNA hypomethylation and aberrant gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**: 10907–10912.
- ZHOU GB, ZHAO WL, WANG ZY, CHEN SJ, CHEN Z. (2005). Retinoic acid and arsenic for treating acute promyelocytic leukemia. *PLoS Med.*, **2**(1):e12. doi: 10.1371/journal.pmed.0020012.
- ZHOU X, SUN H, ELLEN TP, CHEN H, COSTA M. (2008). Arsenite alters global histone H3 methylation. *Carcinogenesis*, **29**(9):1831–1836.
- ZHU YG, YOSHINAGA M, ZHAO FJ, ROSEN BP. (2014). Earth Abides Arsenic Biotransformations. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, **42**:443-467
- ZIECH D, FRANCO R, GEORGAKILAS AG, GEORGAKILA S, MALAMOU-MITSIS V, SCHONEVELD O, PAPPAS A, PANAYIOTIDIS MI. (2010). The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. *Chem. Biol. Interact.*, **188**: 334–339.
- ZYKOVA TA, ZHU F, LU C, HIGGINS L, TATSUMI Y, ABE Y, BODE AM, DONG Z. (2006). Lymphokine-activated killer T-cell-originated protein kinase phosphorylation of histone H2AX prevents arsenite-induced apoptosis in RPMI7951 melanoma cells. *Clin Cancer Res.*, **12**(23):6884–6893.

## EKLER

### Ek-1.Etik

#### ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

|                               |                                                     |                                                                                                                                        |                                               |                                           |  |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|--|
| BASYURU BİLGİLERİ             | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                               | Arsenik ve diğer toksik metallerle maruz kalan bireylerde mitokondriyel ve nükleer DNA hasarının bazı gen polimorfizmleri ile ilişkisi |                                               |                                           |  |
|                               | ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU                             |                                                                                                                                        |                                               |                                           |  |
|                               | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI   | Doç.Dr.Zeliha Kayaaltı                                                                                                                 |                                               |                                           |  |
|                               | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI   | Adki Kimya ve Toksikoloji                                                                                                              |                                               |                                           |  |
|                               | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü                                                                                            |                                               |                                           |  |
|                               | DESTEKLEYİCİ                                        |                                                                                                                                        |                                               |                                           |  |
|                               | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ                    |                                                                                                                                        |                                               |                                           |  |
|                               | ARAŞTIRMANIN FAZI                                   | FAZ 1                                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>                      |                                           |  |
|                               |                                                     | FAZ 2                                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>                      |                                           |  |
|                               |                                                     | FAZ 3                                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>                      |                                           |  |
| FAZ 4                         |                                                     | <input type="checkbox"/>                                                                                                               |                                               |                                           |  |
| ARAŞTIRMANIN TÜRÜ             | Yeni Bir Endikasyon                                 | <input type="checkbox"/>                                                                                                               |                                               |                                           |  |
|                               | Yüksek Doz Araştırması                              | <input type="checkbox"/>                                                                                                               |                                               |                                           |  |
|                               | Diğer ise belirtiniz: Prospektif Çalışma            |                                                                                                                                        |                                               |                                           |  |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER | TEK MERKEZ<br><input checked="" type="checkbox"/>   | ÇOK MERKEZLİ<br><input type="checkbox"/>                                                                                               | ULUSAL<br><input checked="" type="checkbox"/> | ULUSLARARAS<br>1 <input type="checkbox"/> |  |

  
 Doç.Dr.Zeliha Kayaaltı  
 Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER                                                 | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Tarîhi                                                                    | Versiyon Numarası | Dili                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                          | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                           |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                                                          | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                           |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                                                          | OLGU RAPOR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                           |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                                                          | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                           |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER                                           | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                           | Açıklama          |                                                                                                   |
|                                                                          | TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | SİGORTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | HASTA KARTI/GÖNÜLLÜKLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | İLAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | YILLIK BİLDİRİM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | SONUÇ RAPORU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <input type="checkbox"/>                                                  |                   |                                                                                                   |
| DİĞER:                                                                   | <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                           |                   |                                                                                                   |
| KARAR BİLGİLERİ                                                          | Karar No:06-242-13                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Tarih: 08 Nisan 2013                                                      |                   |                                                                                                   |
|                                                                          | Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri ile bilgilendirilmiş gönüllü olur formu incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, toplantıya katılan Etik Kurul Üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. |                                                                           |                   |                                                                                                   |
| <b>ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                           |                   |                                                                                                   |
| ÇALIŞMA ESASI                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |                   |                                                                                                   |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Prof.Dr.Mehmet MELLİ                                                      |                   |                                                                                                   |

| Unvanı/Adı/Soyadı       | Uzmanlık Alanı                | Kurumu                  | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişkisi                                           | Katılım *                                                        | İmza |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------|
| Prof.Dr.Mehmet MELLİ    | Farmakoloji                   | A.Ü.Tıp Fakültesi       | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Cihan YURDAYDIN | Gastroenteroloji              | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Mehmet GÜREL    | Genel Cerrahi                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY | Farmakoloji                   | A.Ü.Eczacılık Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Nuhan PURALI    | Biyofizik                     | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Cem ATBAŞOĞLU   | Ruh Sağlığı ve Hastalıkları   | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Sendar ÖZTÜRK   | Biyokimya                     | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Serap SIVRI     | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK  | Hukuk                         | A.Ü.Hukuk Fakültesi     | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |      |
| Prof.Dr.Banu ÇAKIR      | Halk Sağlığı                  | H.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr.Güngör UTKAN     | Tıbbi Onkoloji                | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç.Dr.Derya ÖZTUNA     | Biyostatistik                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY | Tıbbi Genetik                 | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Yrd.Doç.Dr.Volkan KAVAS | Tıp Tarihi ve Etik            | A.Ü. Tıp Fakültesi      | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Gülşim ASLAN            | Arkeoloji                     | -                       | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> |      |

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı:** Esra

**Soyadı:** BALCIOĞLU

**Doğum yeri ve tarihi:** ANKARA, 1978

**Uyruğu:** Türkiye Cumhuriyeti

**Medeni durumu:** Evli

**İletişim Adresi:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Merkez Laboratuvarı/  
ANKARA

**e-posta:** balcioglu@medicine.ankara.edu.tr

**tel:** 0541 267 78 04

### II. Eğitimi

**2012-Devam ediyor:** Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Adli Bilimler Enstitüsü, Adli Kimya ve Adli Toksikoloji (Doktora).

**2011:** Polis Akademisi, Güvenlik Bilimleri Enstitüsü, Adli Bilimler Anabilim Dalı (Yüksek Lisans).

**2003:** Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Lisans).

**Yabancı Dili:** İngilizce

### III. Mesleki Deneyimi

**2015- Devam Ediyor:** Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Cebeci Merkez Laboratuvarı, Metabolizma Birimi.

**2005- 2015:** Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Merkez Laboratuvarı – Analitik Kimya.

**2004-2005:** Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, Proteomiks Birimi.

**2002-2004:** Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Doku Mühendisliği Laboratuvarı.

#### IV. Bilimsel İlgili Alanları

##### Ulusal ya da Uluslararası Makale, Bildiri, Poster:

**Balcioğlu E**, Kayaaltı Z. “The Effect of Arsenic on Gene Polymorphism Associated with Oxidative Stress”. The Turkish Journal of Occupational/ Environmental Medicine and Safety. 2017, Vol:2, No:1 (1), 278-278. ISSN:2149-4711 (**Yayın**).

Kaya-Akyüzlü D, Kayaaltı Z, **Balcioğlu E**, Bal C, Targan P, Haris PI. Lead Poisoning in Turkish Women Due To “Lead Pouring”: A Traditional Practice. 51<sup>st</sup> Congress of the European Societies of Toxicology, 13-16 Eylül 2015, Portekiz. Toxicology Letters 2015; 238S:S101’de yayınlanmıştır. doi: 10.1016/j.toxlet.2015.08.333. (ISI). (**Yayın**).

**Balcioğlu E**, Targan P. “The Most Widely Used Synthetic Cannabinoids in Recent Years”, The Turkish Journal of Occupational/ Environmental Medicine and Safety. 2015, Cilt:1, Sayı:1 (2) (**Yayın**).

Kaya-Akyüzlü D, Kayaaltı Z, **Balcioğlu E**, Bal C, Targan P, Haris PI. Türk Kadınlarında Kurşun Dökmeye Bağlı Kurşun Zehirlenmesi: Geleneksel Bir Uygulama. Türkiye Klinikleri Forensic Medicine, Special Topics. 2015. Volume 1 (3):69-74 (**Yayın**).

**Balcioğlu E**. “Adli Palinoloji”, EuroForensics 2011, 2nd International Digital & Medical Forensic Sciences Conference and Exhibition, 24-26 Mart 2011, Harbiye Askeri Müze ve Kültür Sitesi, İstanbul. (**Sözlü Sunum-Davetli konuşmacı**).

**Balcioğlu E**. “Adli Bilimlerde Biyoloji”, 23-25 Temmuz 2009, 1. Ulusal Biyoloji Öğrencileri ve Mezunları Kongresi, 23-25 Temmuz 2009, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara (**Sözlü Sunum**).

**Balcioğlu E**, Kartal Y, Kayaaltı Z. “RNA 'nın Postmortem İnterval Tayininde Kullanımının Adli Bilimler Açısından Önemi”, 8-11 Mayıs 2014, Adli Bilimler Bahar Sempozyumu, Grand Yazıcı Club Marmaris Palace Otel, Muğla – Marmaris (**Poster**).

Küçük S, **Balcioğlu E**, Targan P, Cantürk G, Kayaaltı Z. Using the Alcohol, Medical Drugs or Narcotic Substances in Traffic Accidents. XI. International Anatolian Forensic Sciences Congress; 23-25 October 2014 Bayburt, Turkey (**Poster**).

**Balcioğlu E**, Targan P, Kayaaltı Z. “The Most Widely Used Synthetic Cannabinoids in Recent Years”, 1st International Congress and Workshop of Forensic Toxicology, 29-30 November, 2014, Ankara University, ATAUM Conference Hall, Turkey (**Poster**).

Targan P, **Balcioğlu E**, Kayaaltı Z. “Drugs Related Suicides in United Kingdom”, 1st International Congress and Workshop of Forensic Toxicology, 29-30 November, 2014, Ankara University, ATAUM Conference Hall, Turkey (**Poster**).

Kartal Y, **Balcioğlu E**, Kayaaltı Z. “The Role of Metal Metabolism in Oxidative Stress” 2<sup>nd</sup> International Congress of Forensic Toxicology, Industrial and Environmental Toxicology, May 26-30, 2016, Ankara University, Ankara, Turkey (**Poster**).

**Balcioğlu E**, Kayaaltı Z. “The Effect of Arsenic on Gene Polymorphism Associated with Oxidative Stress”. 2<sup>nd</sup> International Congress of Forensic Toxicology, Industrial and Environmental Toxicology, May 26-30, 2016, Ankara University, Ankara, Turkey (**Poster**).

## **V. Bilimsel Etkinlikleri**

**"2<sup>nd</sup> International Congress of Forensic Toxicology – Industrial and Environmental Toxicology"** 26-30 May 2016, Ankara (Katılım ve Organizasyon Komitesi).

Ankara Üniversitesi Personel Daire Başkanlığı tarafından düzenlenen- "**Laboratuvar Güvenliği**" 22-23 Haziran 2015, Ankara.

**"XI. International Anatolian Forensic Sciences Congress"**, 23-25 October 2014 Bayburt, Turkey.

**"1<sup>st</sup> International Congress and Workshop of Forensic Toxicology"**, 29-30 November, 2014, Ankara University, ATAUM Conference Hall, Turkey.

Adli Tıp Uzmanları Derneği ve Adli Bilimciler Derneği- "**Adli Bilimler Bahar Sempozyumu**", 8-11 Mayıs 2014, Marmaris.

**"V. Adli Antropoloji Kursu"**, 06-08 Eylül-13-15 Eylül 2013, Ankara Üniversitesi DTC Fakültesi, Ankara.

ATOME (Access To Opioid Medication In Europe)- "**Strategic Action Plan for Improving Access to Opioid Medication**" 2 Mayıs 2012, Ankara.

**"EuroForensics 2011- 2<sup>nd</sup> International Digital & Medical Forensic Sciences Conference and Exhibition"**, 24-26 Mart 2011, Harbiye Askeri Müze ve Kültür Sitesi, İstanbul.

**“Proteomiks Çalıştayı”**, Mayıs 2005, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı, Ankara (Düzenleme ve Katılım).

**“12<sup>th</sup> International Symposium on Biomedical Science and Technology, BIOMED 2005”**, Ege Üniversitesi, İzmir, TÜRKİYE.

**“DNA Biyosensörleri Çalıştayı”**, Mart 2005, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.

**“11<sup>th</sup> International Biomedical Science and Technology Days”**, BIOMED 2004, Hacettepe University, Ankara, TÜRKİYE.

**“3<sup>th</sup> Ankara Biotechnology Days”**, Kasım 2004, Ankara Üniversitesi, Ankara.

**“10<sup>th</sup> Biomedical Science and Technology Symposium”**, BIOMED 2003, O.D.T.Ü., Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

**“2<sup>nd</sup> Ankara Biotechnology Days”**, 2003, Ankara Üniversitesi, Ankara.

**“1<sup>st</sup> Ankara Biotechnology Days”**, September 2002, Ankara Üniversitesi, Ankara.

## **VI. Yurt Dışı Deneyim ve Kurslar**

De Montfort University, Faculty of Health and Life Sciences, Department of Allied Health Sciences, as a Visitor Researcher for 12 months at Leicester, 2013—2014, UK.

**“Intensive Course on Mitochondrial DNA”**, 14-24 November, 2010, Taipei, Taiwan.