



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**ARSENİĞE MARUZ KALAN BİREYLERDE
SERUM TİYOREDOKSİN-1 VE EPİDERMAL
BÜYÜME FAKTÖR RESEPTÖR
SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UMMAHAN SİNEM ŞENGZER

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANA BİLİM DALI

HAZİRAN 2024



**ARSENİĞE MARUZ KALAN BİREYLERDE SERUM TİYOREDOKSİN-1
VE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖR RESEPTÖR SEVİYELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ummahan Sinem ŞENGZER

**YÜKSEK LİSANS
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ummahan Sinem ŞENGZER

26/06/2024

ARSENİĞE MARUZ KALAN BİREYLERDE SERUM TİYOREDOKSİN-1 VE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖR RESEPTÖR SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Ummahan Sinem ŞENGZER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2024

ÖZET

Uzun dönemde ortaya çıkabilecek sağlık riskleri yönünden içme sularındaki en tehlikeli kirletici olan inorganik arsenik (iAs), Uluslararası Kansere Araştırma Kurumu (IARC) nun değerlendirmesine göre 1987 yılından bu yana Grup 1’de (*insan karsinojeni*) yer almaktadır. Türkiye’de Orta Anadolu bölgesinde yapılan son jeolojik çalışmalarda Nevşehir ili kapsamındaki yerleşim alanlarında içme sularındaki iAs düzeylerinin yüksek olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda, Nevşehir Bölgesinde yüksek düzeyde As maruziyetinin etkilerini incelemek için toplamda çalışma grubu olarak (içme suyu arsenik düzeyi $>50 \mu\text{g/l}$) Dadağı, Küçükayhan, Gülpınar ve Emmiler köylerinde yaşayan bireylerden alınan serum örnekleri ($n=116$) kullanıldı. Kontrol grubu olarak da (içme suyu arsenik $< 10 \mu\text{g/l}$) Eskiaylacık, Civelek, Alkan ve Altıpınar köylerinde yaşayan bireylerden alınan serum örnekleri kullanıldı ($n=106$). Bu örnekler içerisinde Trx1 ölçümü için çalışma ($n=63$) ve kontrol ($n=65$) grubu, EGFR ölçümü için çalışma ($n=100$) ve kontrol ($n=99$) grubu seçildi. Çalışma ve kontrol gruplarında ölçümler ELISA yöntemiyle yapıldı ve birbiri ile karşılaştırıldı. Ayrıca As maruziyeti göstergeleri ile hem Trx1 düzeyleri hem de EGFR düzeyleri arasındaki ilişkiler incelendi. Bulgularımız, $>50 \mu\text{g/l}$ konsantrasyonda As maruziyetinin serum Trx düzeyi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir ve serum Trx1’in erken aşamada bir biyogösterge olarak kullanılması yönünde bir potansiyelinin olmadığını sonucuna vardık. Yine sonuçlarımız $>50 \mu\text{g/l}$ konsantrasyonda As maruziyetinin serum EGFR konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Ancak As maruziyetinin bir göstergesi olan dermal lezyon ve serum EGFR arasında özellikle çalışma grubunda pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Bu nedenle serum EGFR’nin As maruziyeti nedeni ile kanser oluşumundan önce erken aşamada bir biyogösterge olarak kullanılması yönünde bir potansiyelinin olabileceği düşünülebilir.

Bilim Kodu : 1021
Anahtar Kelimeler : Arsenik, Tioredoksin, Epidermal büyüme faktör reseptörü, Oksidatif stres
Sayfa Adedi : 90
Danışman : Prof. Dr. Ela KADIOĞLU

INVESTIGATION OF SERUM THIOREDOXIN-1 AND EPIDERMAL GROWTH
FACTOR RECEPTOR LEVELS IN INDIVIDUALS EXPOSED TO ARSENIC

(M. Sc. Thesis)

Ummahan Sinem ŞENGEZER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

June 2024

ABSTRACT

In terms of long term health risks, inorganic arsenic (iAs), the most dangerous contaminant in drinking water, has been classified as a Group 1 (human carcinogen) by the International Agency for Research on Cancer (IARC) since 1987. In Türkiye, according to recent measurements and geological studies, high levels of iAs in drinking water have been reported in Nevşehir province. In our study, to investigate the effects of high levels of As exposure in the Nevşehir Region, serum samples were taken from individuals living in the villages of Dadağı, Küçükayhan, Gölpinar, and Emmiler (n=116) as the study group (drinking water arsenic level >50 µg/l). As the control group, serum samples were taken from individuals living in the villages of Eskiaylacık, Civelek, Alkan, and Altıpınar (n=106) (drinking water arsenic < 10 µg/l). Among these samples, the study group (n=63) and control group (n=65) were selected for Trx1 measurement, and the study group (n=100) and control group (n=99) were selected for EGFR measurement. Trx1 and EGFR measurements were performed in the study and control groups using the ELISA method, and they were compared with each other. Additionally, the relationships between As exposure indicators and both Trx1 levels and EGFR levels were examined. Our findings showed that exposure of As at a concentrations >50 µg/l had no significant effect on serum Trx1 levels, leading us to conclude that have no potential as an early-stage biomarker. Similarly, our results showed that As exposure at concentrations >50 µg/l had no significant effect on serum EGFR concentration. However, a positive relationship was found between dermal lesions, an indicator of As exposure, and EGFR, particularly in the study group. Therefore, it can be considered that serum EGFR has the potential to be used as an early-stage biomarker before cancer formation due to As exposure.

Science Code : 1021

Key Words : Arsenic, Thioredoxin, Epidermal growth factor receptor, Oxidative stress

Page Number : 90

Supervisor : Prof. Dr. Ela KADIOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel katkıları ile yardımlarını esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ela KADIOĞLU'na,

Çalışmamda gösterdiği hoşgörü ve istatistik analiz konusunda profesyonel yardımı için Sayın Su ÖZGÜR'e

Serum örneklerini kullandığımız “İçme Sularında Arsenik Kirliliği Olan Bölgelerde Yaşayan Bireylerdeki Sağlık Risklerinin Moleküler Epidemiyolojik Yöntemlerle Araştırılması, TÜBİTAK Proje no:109S419SBAG-109S419” projesinde görev almış tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Samimiyetleriyle hep yanımda ve yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Dr. Ecz. Sevim Peri AYTAÇ ve Uzm. Ecz. Feray KUTLAY YİRCİ'ye,

Beni bugünlere getiren, sevgi ve ilgileriyle, yüreklendirici destekleri ile her zaman yanımda olan, herşeyimi borçlu olduğum canım aileme,

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Bu tez Gazi Üniversitesi 02/2018-13 kodlu ve “Arseniğe maruz kalan bireylerde serum Tioredoksin-1 ve Epidermal Büyüme Faktör Reseptör seviyelerinin araştırılması” başlıklı genel araştırma projesi kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Arseniğin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
2.2. Doğal ve Antropojenik Arsenik Kaynakları	6
2.3. İnsanlarda Arsenik ve Bileşiklerine Maruziyet	8
2.4. Dünya’da ve Türkiye’de Arsenik Maruziyeti	9
2.5. Arseniğin Toksikokinetiği	10
2.6. Arsenik Bileşiklerinin Toksisitesi.....	12
2.6.1. Arseniğin akut toksik etkileri	13
2.6.2. Arseniğin karsinojenik etkileri	14
2.6.3. Arseniğin karsinojenitesi dışındaki diğer kronik toksik etkileri	15
2.7. Arsenik ve Bileşiklerinin Başlıca Karsinojenik Etki Mekanizmaları	17
2.7.1. Oksidatif stres.....	18
2.7.2. DNA hasarı.....	21
2.7.3. Epigenetik değişiklikler.....	23
2.8. İçme Suyundaki Arsenik Maruziyeti ile İlgili Yasal Düzenlemeler.....	24
2.9. Tioredoksin 1 (Trx1).....	25

	Sayfa
2.9.1. Tiyoredoksin sistemi ve antioksidan mekanizması	25
2.9.2. Tiyoredoksin 1 (Trx1)'in antioksidan rolleri ve etkilediği yollar	27
2.9.3. Arseniğin Trx1 üzerine etkisi	31
2.10. Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR).....	33
2.10.1. EGFR yapısı ve aktivasyon mekanizması	33
2.10.2. Karsinogenezis ve EGFR arasındaki ilişki.....	34
2.10.3. Arseniğin EGFR üzerine etkisi	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Çalışma ve Kontrol Grubunun Seçimi	37
3.2. Çalışma ve Kontrol Grubunda serum Trx1 Analizi	40
3.2.1. Analiz için kullanılan materyaller ve aletler	40
3.2.2. Reaktiflerin hazırlanması	41
3.2.3. Standartların hazırlanması	41
3.2.4. Serum örneklerinin hazırlanması	42
3.2.5. Deney prosedürü ve analiz işlemi	42
3.3. Çalışma ve Kontrol Grubunda Serum EGFR Analizi.....	44
3.3.1. Analiz için kullanılan materyaller ve aletler	44
3.3.2. Reaktiflerin hazırlanması	45
3.3.3. Standartların hazırlanması	45
3.3.4. Serum örneklerinin hazırlanması	46
3.3.5. Deney prosedürü ve analiz işlemi	46
3.4. İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR	49
4.1. Kontrol ve Çalışma Gruplarındaki Bireylerin Temel Özellikleri	49
4.2. Kontrol ve Çalışma Gruplarında İçme Sularında Zaman Ağırlıklı As Düzeyleri (TWA-As).....	50

	Sayfa
4.3. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Arsenik ve Türlerinin Düzeyleri	51
4.4. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Arsenik Metilasyon Etkinliği	52
4.5. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Saç Örneklerinde Total As Düzeyleri	52
4.6. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Dermal Lezyon Sıklığı	53
4.7. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Trx1 Düzeyleri	53
4.8. Kontrol ve Çalışma Gruplarında EGFR Düzeyleri.....	55
4.9. Korelasyon Analizleri	56
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ	71
KAYNAKLAR	73
EKLER.....	87
EK-1. Etik Kurul İzni.....	88
ÖZGEÇMİŞ	90

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Arsenik hakkında genel bilgiler	5
Çizelge 2.2. Doğada bulunan arsenik türevleri	6
Çizelge 2.3. Kronik arsenik maruziyetine bağlı kanser dışındaki olumsuz sağlık etkileri	17
Çizelge 2.4. Tioredoksin sisteminin bileşenleri ve majör fonksiyonları.....	26
Çizelge 2.5. Çeşitli kanser türlerinde EGFR'nin aşırı ekspresyonu	35
Çizelge 3.1. Trx1 örneklem analizi çalışması konsantrasyonları.....	38
Çizelge 3.2. Spearman korelasyon aralıkları ve ilişki düzeyleri	48
Çizelge 4.1. Araştırmaya katılan bireylerin temel özellikleri	50
Çizelge 4.2. Seçilen bölgelerdeki içme suyu örneklerinin total arsenik düzeyleri	51
Çizelge 4.3. Çalışma ve kontrol gruplarında içme suyu zaman ağırlıklı As düzeyleri (TWA-As)	51
Çizelge 4.4. Çalışma ve kontrol gruplarında idrar örneklerinde total As (tAs), iAs türleri[As(III), As(V), MMA, DMA] düzeyleri(µg/l).....	52
Çizelge 4.5. Çalışma ve kontrol gruplarında DMA/MMA oranı	52
Çizelge 4.6. Kontrol ve çalışma gruplarında saç örneklerindeki total As düzeyleri.....	53
Çizelge 4.7. Kontrol ve çalışma gruplarında dermal lezyonların sıklığı.....	53
Çizelge 4.8. Kontrol ve çalışma gruplarında serum Trx1 düzeyleri	54
Çizelge 4.9. Genel popülasyon ve gruplarda dermal lezyonların varlığına göre Trx1 düzeyleri.....	54
Çizelge 4.10. Dermal lezyonların varlığına göre çalışma ve kontrol gruplarında Trx1 düzeyleri	54
Çizelge 4.11. Kontrol ve çalışma gruplarında EGFR düzeyleri.....	55
Çizelge 4.12. Genel popülasyonda ve gruplarda dermal lezyonların varlığına göre EGFR düzeyleri.....	55
Çizelge 4.13. Dermal lezyonların varlığına göre kontrol ve çalışma gruplarında EGFR düzeyleri.....	56

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.14. Çalışma ve kontrol grubunun Trx1 düzeylerinin EGFR, As maruziyet parametreleri, DMA/MMA, yaş, ikamet süresi ile korelasyonu	57
Çizelge 4.15. Çalışma ve kontrol grubunun EGFR düzeylerinin Trx1, As maruziyet parametreleri, DMA/MMA, yaş, ikamet süresi ile korelasyonu	58



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Arseniğin doğadaki sirkülasyonu.....	7
Şekil 2.2. Arsenik metabolizasyonu şeması	12
Şekil 2.3. As kaynaklı karsinojenite mekanizmaları	18
Şekil 2.4. Arsenik kaynaklı oksidatif stres ve karsinojenezisin indüklenmesi.....	19
Şekil 2.5. Arsenik kaynaklı genetik ve epigenetik değişiklikler	22
Şekil 2.6. Tioredoksin sistemi	27
Şekil 2.7. Proteinlerde sisteinin oksidatif modifikasyonu.....	28
Şekil 2.8. Tioredoksin ve glutatyon antioksidan sistemleri	29
Şekil 2.9. Trx1 ve antioksidan etkileri	30
Şekil 2.10. EGFR aktivasyon aşamaları	33
Şekil 3.1. Trx1 örneklem analiz çalışması regresyon grafiği.....	38
Şekil 3.2. Trx1 örneklem çalışması sonuçları	38
Şekil 3.3. Trx1 standartların hazırlanması.....	42
Şekil 3.4. EGFR standartların hazırlanması	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

μg	mikrogram
l	litre
mg	miligram
ml	mililitre
ng	nanogram
nm	nanometre
pKa	asidik iyonlaşma sabiti
ppb	mikrogram/litre
ppm	miligram/litre

Kısaltmalar

Açıklamalar

8-OHdG	8-hidroksi-2 deoksiguanozin
A	Adenin nükleotid bazı
AP-1	Aktivatör protein 1
As (V)	Arsenat
As	Arsenik
As(III)	Arsenit
As ₂ O ₃ , ATO	Arsenik trioksit
AS ₃ MT	Arsenit metil transferaz
AsB	Arsenobetain
AsC	Arsenokolin
ASK-1	Apoptoz Sinyal Düzenleyici Kinaz
AsL	Arsenolipitler
AsS	Arsenoşekerler
C	Sitozin nükleotid bazı
DMA	Dimetilarsenik asit

Kısaltmalar**Açıklamalar****DMA/MMA**

İkincil metilasyon indeksi

DSÖ

Dünya Sağlık Örgütü

EGFR

Epidermal büyüme faktör reseptörü

EPA

Çevre Koruma Ajansı

ERK

Hücre dışı sinyal ile düzenlenen kinazlar

G

Guanin nükleotid bazı

Grx

Glutaredoksin

GSH

Glutatyon

GSTO1

glutatyon sülfhidril transferaz omega 1

IARC

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı

iAs

İnorganik arsenik

JNK

c-Jun N-terminal kinazlar

MAPK

Mitojen aktif protein kinaz

MMA

Monometillarsenik asit

MMA/iAs

Birincil metilasyon indeksi

Msr

Metiyonin sülfoksit redüktazlar

Prx

Peroksiredoksin

RNR

ribonükleotit redüktaz

RNT

Reaktif azot türleri

ROT

Reaktif oksijen türevleri

SAM

S-adenosilmetiyonin

SH

Sülfidril grubu

Srx

sülfiredoksin

T

Timin nükleotid bazı

tAs

Total arsenik miktarı

TMAO

Trimetilarsinoksit

Trx

Tiyoredoksin

TrxR

Tiyoredoksin redüktaz

TWA-As

Zaman ağırlıklı içme suyu-As konsantrasyonu

1. GİRİŞ

İçme suyu kirliliği, dünya çapında gittikçe artan önemli bir problemdir. Kentsel atıklar, gelişen sanayi, taşımacılık, termik ve nükleer santral faaliyetleri, tarımsal faaliyetler bilinen kirlilik kaynaklarıdır (Evans, Mateo-Sagasta, Qadir, Boelee ve Ippolito, 2019; Ünlü, Çoban ve Tunç, 2008). İnsan faaliyetleri gibi çeşitli taşıyıcı vektörler sonucu su ortamlarına (nehir, göl vs.) karışan organik ve inorganik maddeler, tuzlar, mikroorganizmalar, ağır metaller, kimyasallar ortam suyunun fizikokimyasal ve biyolojik yapısında değişikliğe neden olmaktadır (Ünlü ve diğerleri, 2008).

İçme suyu kirliliği, doğada doğal olarak bulunan elementlerin içme suyuna karışmasıyla da meydana gelebilmektedir. Arsenik (As), yeryüzünde geniş dağılımı olan, doğal olarak bulunan ve birçok endüstri dalında hammadde olarak kullanılan bir elementtir (Bilici Çalışkan ve Pala, 2009; Zuo ve diğerleri, 2019). Arsenik, arsenit [As(III)], arsenat [As(V)], monometillarsenik asit (MMA), dimetillarsenik asit (DMA) ve çeşitli organoarsenikler halinde bulunmaktadır. Bunlardan inorganik formları olan As(III) ve As(V) doğal sularda baskın olarak bulunan ve daha toksik olan türleridir (Liu ve Huang, 2014).

Arsenik, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından Sınıf-I (insan karsinojeni) olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2012a). Dünyada birçok ülkede ve bölgede yeraltı suları As ile kontamine durumdadır ve insan karsinojeni olan arseniğe maruziyetin başlıca nedeni inorganik arsenik (iAs) ile kontamine olmuş suyun tüketimidir (Cui ve diğerleri, 2023; Zuo ve diğerleri, 2019). Bu nedenle, içme suyundaki As kirliliği insan sağlığını etkileyen küresel bir tehdit olarak kabul edilmektedir (Ravenscroft, 2007). As maruziyeti kanser dahil olmak üzere çeşitli akut veya kronik hastalıklara sebep olmaktadır. Endemik As maruziyetinin spesifik semptomları cilt lezyonları (hiperpigmentasyon, hipopigmentasyon, hiperkeratoz) ve deri kanseridir. Bununla birlikte, maruz kalan bireylerde periferik vasküler hastalıklar, nörolojik etkiler ve kardiyovasküler hastalıklar görülmüştür (Li ve diğerleri, 2012).

As maruziyetine karşı alınan önlemlere rağmen, dünya genelinde yaklaşık 200 milyondan fazla insan, su tüketimi ile “Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)” kılavuzunda kabul edilen değer olan 10 µg/l’den daha yüksek konsantrasyonlarda As maruziyeti riski altındadır (Uppal, Zheng ve Le, 2019). Güneydoğu Asya, içme suyu aracılığı ile arsenikten en çok etkilenen bölgeler arasındadır. Bangladeş, Çin, Vietnam, Hindistan, Şili, ABD ve Kanada gibi ülkeler

de As seviyesinin 10 µg/l kılavuz değerin üzerinde olduğu bölgeler arasında bulunmaktadır (Liu ve Huang, 2014; Uppal ve diğerleri, 2019).

Türkiye’de ise Bursa, Balıkesir, Uşak, İzmir, Antalya, Kayseri, Nevşehir ve Aksaray dahil olmak üzere çeşitli şehirlerin yüzeysel ve yer altı sularında 10 µg/l’nin üzerinde As seviyeleri bildirilmiştir (Akgül ve Bekaroğlu, 2022). Orta Anadolu’da yapılan jeolojik çalışmalarda Nevşehir ili yerleşim alanlarında içme sularındaki iAs seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Atabey ve Ünal, 2008). Nevşehir Valiliği’nce 2008 yılında 45 belediye ve 133 köyün dahil edildiği içme ve kullanım sularında yapılan analizlerde >10 µg/l - 500 µg/l seviyelerinde değişen iAs konsantrasyonları saptanmıştır (Atabey, 2009, 2013).

iAs’in olumsuz sağlık etkileri üzerine yapılan çalışmalarda öngörülen başlıca temel mekanizmalar; oksidatif stres, genotoksisitenin indüklenmesi ve DNA onarımının inhibisyonudur (Bustaffa, Stoccoro, Bianchi ve Migliore, 2014). As ve metabolik ürünleri olan mono ve dimetil arsenik türevlerinin, oksidatif stresi dengeleyen antioksidan enzimleri inhibe ederek biyolojik sistemde reaktif oksijen türleri (ROT) üretimini arttırdığı düşünülmektedir (Bustaffa ve diğerleri, 2014). Oksidatif stres, hücrede lipid, protein, karbonhidrat gibi makromoleküller ile etkileşerek hücre yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olan ROT’ların üretimi ve vücudun bu kararsız moleküllere karşı antioksidan savunması arasındaki dengesizlik sonucu meydana gelmektedir (Öztürk, Akın, Çıkım ve Şahin, 2013: 37, 39). Oksidatif stresteki sürekli artış, lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı dahil olmak üzere farklı şekillerde ortaya çıkan hücresel ve doku hasarına yol açabilmektedir.

Organizmada canlı dokuyu serbest radikallerden korumak ve sebep olabileceği hasarı en aza indirmek için oldukça karmaşık bir savunma sistemi vardır (Ebadi, Srinivasan ve Baxi, 1996). Tiyoredoksin sistemi, tiyoredoksin (Trx), tiyoredoksin redüktaz (TrxR) ve NADPH’dan oluşan, hücreleri oksidatif strese karşı koruyan ve hücre içi oksidasyon/redüksiyon durumunu belirleyen bir antioksidan enzim sistemidir (Li ve diğerleri, 2012). Trx sistemi, hücrenin gelişim, proliferasyon, migrasyon, apoptoz, inflamasyon ve metabolizma dahil olmak üzere farklı hücresel süreçleri düzenlemektedir (Xie, Ma, Liu ve Zhou, 2019). Trx sistemi bileşenlerinden Trx, tüm canlı hücrelerde bulunan oksijen metabolizmasında ve oksidatif strese karşı savunmada karmaşık fizyolojik fonksiyonlarda görevli redoks aktif bir proteindir (Holmgren ve Lu, 2010; Li ve diğerleri,

2012) ve kanser dahil olmak üzere birçok hastalık sürecinde rol almaktadır (Powis ve Montfort, 2001).

As, hücrel toksisitesini özellikle proteinlerin ditiyol gruplarını oksitleyerek göstermektedir (Jovanovic ve diğerleri, 2021). Ditiyol içeren redoks katalitik bölgesine sahip bir protein olan Trx1, As maruziyeti nedeniyle oksitlenmiş proteinlerdeki disülfid bağlarının indirgenmesi için elektron donörleri olarak görev alarak, hücrede oksitlenmiş proteinlerin indirgenmesini ve redoks tepkimelerini düzenleyerek redoks dengesini sağlar. Böylece Trx1 aracılığı ile okside disülfid bağlarının oluşmasından kaynaklanan protein agregasyonu veya inaktivasyonu engellenebilir, sitozoldeki ve çekirdekdeki proteinlerin enzimatik aktivitesi düzenlenebilir (Jin, Zhou ve Xi, 2022). As maruziyetinin neden olduğu hücrel oksidatif stresin yönetiminde ve hücrelerin As maruziyetine karşı adaptasyonunda Trx1 önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stresin değerlendirilmesinin bir yolu antioksidanların ve ilgili metabolitlerin belirlenmesidir. Oksidatif stres ve As toksisitesi arasındaki ilişki düşünüldüğünde, As toksisitesinin belirlenmesinde, Trx1 seviyesinin ölçülebileceği düşünülebilir. Dolayısıyla, Trx1, As'ın indüklediği deri lezyonları ortaya çıkmadan erken aşamada ölçülebilen potansiyel bir biyogösterge olarak kullanılabilir.

Kanser, temelde büyüme artışı ve büyüme inhibisyonu faktörleri arasındaki dengesizlikten kaynaklanan kontrolsüz hücre büyümesine dayanır. Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR), hücre çoğalmasının, hayatta kalma ve farklılaşmanın düzenlenmesinde hayati rol oynayan tirozin kinaz ailesinden bir transmembran glikoproteinidir. EGFR'nin vücutta bir seri reaksiyon ile aktivasyonu sonucunda, apoptoz, diferensiyon, hücrel proliferasyon, invazyon, adezyon, DNA onarımı ve hücre sağ kalımı olmak üzere çeşitli biyolojik işlemler düzenlenir (Capdevila ve diğerleri, 2009). Hücre büyümesi ve replikasyonunda görev alan EGFR, insanlarda kanser ile doğrudan ilişkisi tanımlanan ilk reseptördür. EGFR aktivitesindeki aşırı artış, kontrolsüz hücre bölünmesine ve malign hücre popülasyonunun oluşmasına neden olabilmektedir (Andrew, Mason, Memoli ve Duell, 2009). Bir insan karsinogeni olan arseniğe akut veya kronik maruziyet çeşitli moleküler mekanizmalar ile insan hücre hattında EGFR'yi aktive etmekte ve EGFR ekspresyonunu artırmaktadır. EGFR'nin kanser oluşumuyla ilişkisi göz önüne alındığında, serum EGFR değerleri kanser hastaları için potansiyel bir biyogösterge olarak kullanılabilir.

Bu tez çalışmasında As maruziyetinin serum Trx1 ve serum EGFR seviyelerine olan etkisinin incelenmesi ve muhtemel bir erken biyogösterge olarak kullanılıp kullanılamayacağı hipotezinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, Nevşehir ili sınırları içerisinde yaşayan ve içme suyu yoluyla As maruziyeti olan bireylerde 2010- 2014 yılları arasında yürütülen “İçme Sularında Arsenik Kirliliği Olan Bölgelerde Yaşayan Bireylerdeki Sağlık Risklerinin Moleküler Epidemiyolojik Yöntemlerle Araştırılması, TÜBİTAK Proje no:109S419SBAG-109S419” projesinden elde edilen kan örneklerinin serumları kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen numuneler, söz konusu örneklerden yaş ve cinsiyet yönünden birbiri ile uyumlu Trx1 ve EGFR seviyelerini etkileyebilecek herhangi bir hastalığı bulunmayan bireylerden rastgele seçilmiştir ve $>50\mu\text{g/l}$ As konsantrasyonunda içme suyunu tüketen bireyler çalışma grubuna, içme suyunda izin verilen As konsantrasyonu olan $<10\mu\text{g/l}$ konsantrasyonunda içme suyunu tüketen bireyler kontrol grubuna dahil edilmiştir. Bu iki grubun serum örneklerinde ELISA yöntemi ile Trx1 ve EGFR ölçümleri yapılarak birbiriyle kıyaslanmıştır. Burada ayrıca As maruziyeti göstergeleri [iAs(III), DMA, MMA, iAs(V), tAs, saç tAs, TWA-As], ikincil metilasyon indeksi (DMA/MMA), yaş, ikamet süresi parametreleri ile Trx1 ve EGFR arasındaki ilişkisi incelenmiştir. Diğer taraftan bireylerde Trx1 ve EGFR seviyelerinin As maruziyetinin bir göstergesi olan dermal lezyon sıklığı gözlenmesi ile ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Arseniğin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Periyodik tablonun 5A grubunun üçüncü elementi olan As hem metalik hem de metalik olmayan özelliklere sahip olması yönüyle metalloid olarak sınıflandırılmaktadır, arseniğe ait genel bilgiler Çizelge 2.1’de özetlenmiştir (Bissen ve Frimmel, 2003).

Çizelge 2.1. Arsenik hakkında genel bilgiler

Kimyasal sembolü	As
Atom numarası	33
Atom ağırlığı	74,921
Denge durumu	-3, -1, 0, +3, +5
Erime sıcaklığı	817 °C
Periyodik tabloda yeri	4. Periyod, 15. Grup (VA)
Elektrik konfigürasyonu	[As].3d ¹⁰ .4s ² .4p ³

Biyolojik ve toksikolojik açıdan As bileşikleri; inorganik As bileşikleri, organik As bileşikleri ve arsin gazı olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2007; IARC, 2012b). Elemental As (As₄), doğal koşullarda bir tetramerik molekül olarak, buhar halinde ve nadiren oluşur (Atabey, 2009). Bununla birlikte iAs çevrede oksijen, klor ve kükürt gibi elementlerle, organik arsenikler ise karbon ve hidrojen ile birlikte bulunmaktadır (ATSDR, 2007). iAs bileşiklerinden; arsenik trioksit, sodyum arsenit ve arsenik triklorür en yaygın üç değerlikli, arsenik pentoksit, arsenatlar (örneğin kurşun arsenat ve kalsiyum arsenat) en yaygın beş değerlikli bileşiklerdir. Arsanilik asit, metilarsonik asit, dimetilarsonik asit, arsenobetain yaygın bulunan organik As bileşiklerinin arasındadır (Bkz. Çizelge 2.2) (IARC, 2012b; World Health Organization [WHO], 2000).

Çizelge 2.2. Doğada bulunan arsenik türevleri

Arsenik türevi	Kısaltma
İnorganik Arsenik Türevleri	
Arsenat (Arsenik asit)	As(V), As^{+5} , $H_2AsO_4^-$, $HAsO_4^{2-}$
Arsenit (Arsinöz asit)	As(III), As^{+3} , $H_3AsO_3^0$, $H_2AsO_3^-$
Organik Arsenik Türleri	
Monometilarsinik asit	MMA(V)
Monometilarsinöz asit	MMA(III)
Dimetilarsinik asit	DMA(V)
Dimetilarsinöz asit	DMA(III)
Arsenokolin	AsC
Arsenobetain	AsB
Trimetilarsin oksit	TMAO
Tetrametilarsonyum iyonu	Me_4As^+
Arsenoşekerler	AsS
Arsenolipitler	AsL
Moleküler Arsenik	As_4

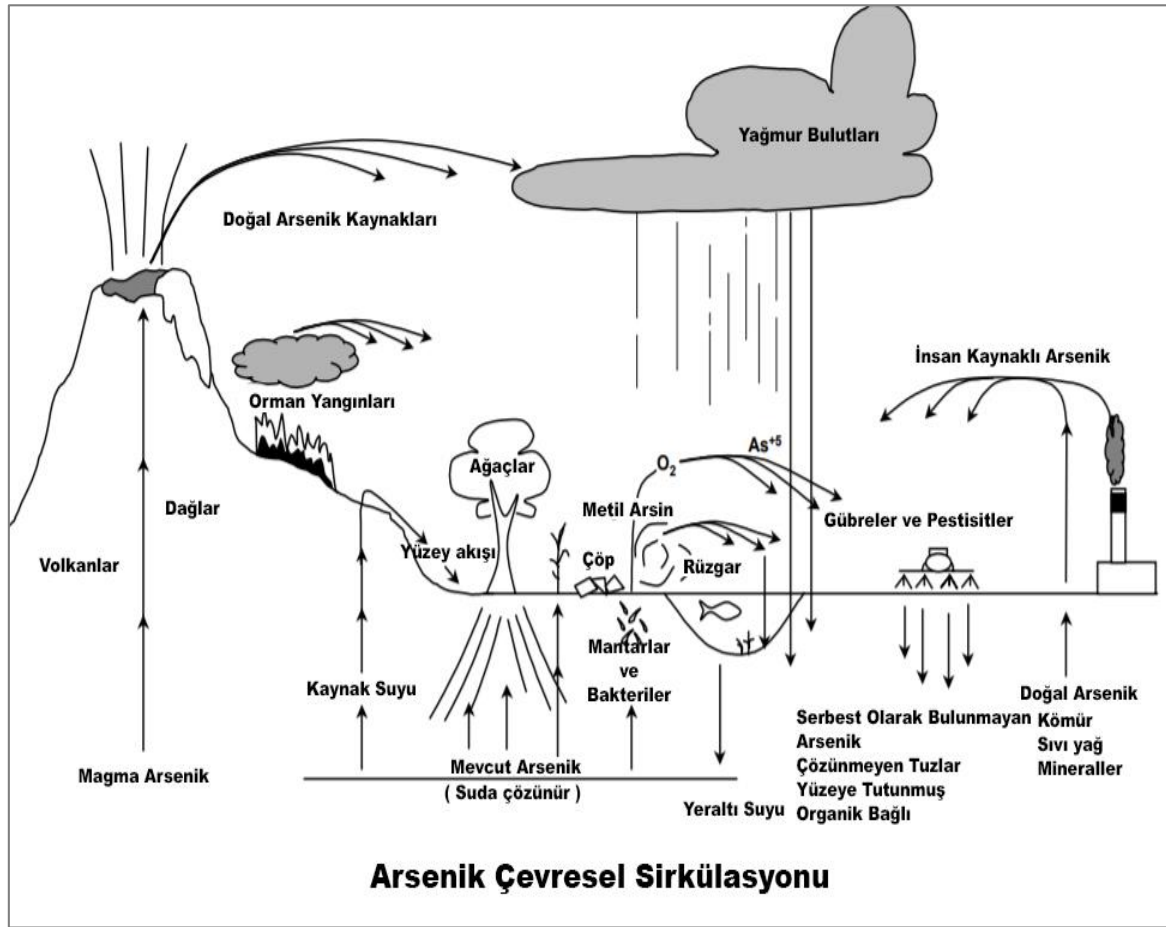
2.2. Doğal ve Antropojenik Arsenik Kaynakları

As, çevrede doğal olarak bulunan bir metalloid olup geniş bir çevreye yayılmıştır ve birçok mineral türü ile bileşik halinde bulunmaktadır (ATSDR, 2007; WHO, 2001). Atmosferik As sirkülasyonunun yaklaşık üçte birinin doğal kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Volkanik hareket, As'in önemli bir doğal kaynağıdır, bunu düşük sıcaklıkta buharlaşma izler (WHO, 2001). Özellikle tortul kayaçlar As konsantrasyonları bakımından zengindir (Environmental Protection Agency [EPA], 2000). As, toprakta çeşitli inorganik bileşik formlarında çok çeşitli minerallerle birlikte bulunur. Arsenopirit, realgar ve orpiment As içeren yaygın bulunan minerallerdendir (WHO, 2001). As'in doğadaki sirkülasyonu Şekil 2.1'de gösterilmiştir (EPA, 2000).

Yeryüzünde As konsantrasyonları değişkenlik göstermekte olup, ortalama konsantrasyonların 1,5-5 mg/kg arasında olduğu bildirilmiştir. Normal dağılım olarak topraklarda 0,1-0,5 mg/kg, bitkilerde 0,1-1,0 mg/kg, bazı hayvan dokularında 0,1-0,5 mg/kg, doğal sularda 0,2-1,0 µ/l As bulunmaktadır (Atabey, 2009; EPA, 2000).

Jeojenik ve antropojenik süreçler yer altı sularının As bakımından zenginleşmesine neden olmaktadır (Zhu ve diğerleri, 2023). Bangladeş gibi çoğu As endemik bölgede içme suyu olarak kullanılan yeraltı sularında bulunan iAs jeolojik kökenlidir (WHO, 2001). Pek çok

As bileşiği suda çözülebilir özelliktedir ve suda bulunan As ve türevlerinin çoğu toprakta veya tortul kayalarda birikmektedir (ATSDR, 2007). Yer altı suları jeolojik formasyonlar içine yerleşirken ya da dolaşım halindeyken yapısına kayalarda bulunan ve suda çözünebilen elementleri de katmaktadır (WHO, 2010). Ortam pH'sı, redoks potansiyeli ve rekabetçi iyonların varlığı; arseniğin oksitlere veya karbonatlara adsorpsiyonun ve sulu ortamda As desorpsiyonunun, doğada As mobilizasyonunun ve yeraltı sularında dağılımının düzenleyici mekanizması olarak kabul edilmektedir (Richards ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.1. Arseniğin doğadaki sirkülasyonu (EPA, 2000)'den uyarlanmıştır

Arsenikçe zengin yer altı suları; sülfürce zengin mineral ortamları (maden alanları gibi), jeotermal alanlar, alüvyon düzlükleri ve deltadaki genç akiferlerden gelen anerobik yeraltı suları ve kurak ve yarı kurak bölgelerdeki iç havzalardaki genç akiferlerden gelen yüksek pH'lı yer altı suyu ortamları olmak üzere başlıca dört jeolojik ortamda bulunabilir (Atabey, 2009).

Madencilik, demir dışı metallerin eritilmesi ve fosil yakıtların yakılması hava, su ve toprağın antropojenik As kontaminasyonuna katkıda bulunan başlıca endüstriyel süreçlerdir (WHO, 2001). As bileşikleri mikroelektronik ve optik endüstrilerinde, tekstil ve cam sanayisinde, anorganik kimyasal maddelerin bileşeni olarak bakır, kurşun alaşımlarında, metalurji gibi alanlarda, tarımda herbisit ve pestisit (özellikle meyve bahçelerinde ve üzüm bağlarında kullanım için) üretiminde kullanılmıştır (Atabey, 2009; IARC, 2012b). Dünyadaki As üretiminin %70'inin bakır krom arsenat (CCA) olarak kereste işlemede, %22'sinin tarım kimyasallarında ve geri kalanının cam, ilaç ve demir dışı alaşımlarda kullanıldığı tahmin edilmektedir (WHO, 2001). Fosil yakıtların yakılması, metal ertitme işlemleri ve As bazlı pestisitlerin kullanımı gibi endüstriyel faaliyetler sonucu arseniğin çevresel birikimi artırmaktadır (Minatel ve diğerleri, 2018).

2.3. İnsanlarda Arsenik ve Bileşiklerine Maruziyet

As maruziyeti, cilt teması, inhalasyon ve kontamine içme suyu ve gıdanın tüketilmesi dahil olmak üzere çeşitli yollarla meydana gelebilmektedir (Majumder ve diğerleri, 2023). As maruziyetinin başlıca kaynağı kontamine olmuş yeraltı suyu kaynaklarının kullanımıdır. Ancak bununla birlikte tahıl, deniz ürünleri gibi kontamine olmuş gıda ürünlerinin kullanımı ve hava kaynakları ile maruziyet de büyüyen bir problemdir (Huang, Wu ve van der Kuip, 2015; Minatel ve diğerleri, 2018). Balık, kabuklu deniz ürünleri, et, kümes hayvanları, süt ürünleri ve tahıllar, gıda yoluyla As maruziyetinin başlıca kaynaklarıdır (ATSDR, 2007; WHO, 2010).

Sigara kullanımı ile As maruziyeti, tütünün doğal iAs içeriğinden kaynaklanmaktadır. Tütün bitkilerine kurşun arsenat böcek ilacı ile muamele edilen yerlerde As içeriği daha da artmaktadır (WHO, 2010).

As uzun bir süre tıbbi olarak tedavide de kullanılmıştır. Fowler'ın çözeltisi (alkollü bir potasyum arsenit çözeltisi), birkaç yüzyıl boyunca dermatolojik ve solunum hastalıklarında, organoarsenikler 1940'lara kadar penisilin ve diğer mikrobiyal antibiyotiklerle kullanılmaya başlanmadan önce antibiyotik olarak kullanılmıştır (Drobna, Styblo ve Thomas, 2009).

2.4. Dünya’da ve Türkiye’de Arsenik Maruziyeti

Halk sağlığı için en büyük As maruziyet tehdidini içme suyu kontaminasyonu oluşturmakta ve As kirliliği sorununun küresel boyutunun tahmin edilenden daha büyük olduğu düşünölmektedir (Minatel ve diğerleri, 2018; WHO, 2010). Dünyada 200 milyondan fazla insanın DSÖ’nün önerdiği limit değerden daha yüksek konsantrasyonlarda arseniğe kronik olarak maruz kaldığı ve çoğunluğunun Hint-Bangladeş bölgesinde yaşadığı tahmin edilmektedir (Flora, 2011; Minatel ve diğerleri, 2018).

iAs, birçok ölkenin yeraltı sularında doğal olarak bulunmaktadır. Arjantin, şili, Çin, Avustralya, Hindistan, Meksika, Kanada ve ABD de dahil olmak üzere beş kıtada yetmişten fazla ölkede yer altı suyunda yüksek miktarda As saptanmıştır (Minatel ve diğerleri, 2018; WHO, 2010). Arjantin’de (200 ppb), Meksika’da (400 ppb), Tayvan’da (50-1980 ppb) ve Hint-Bangladeş Bölgesi’nde (800 ppb) DSÖ yönetmeliklerinde belirtilen azami değerin oldukça üstünde As konsantrasyonları bildirilmiştir (Flora, 2011). İçme suyunda iAs kontaminasyonu ilk olarak Tayvan’da bir halk sağlığı sorunu olarak tanımlanmıştır ve bu bölge As ve sağlığa etkileri üzerine en çok araştırılan bölgelerdendir (Minatel ve diğerleri, 2018). Bangladeş bölgesinde yaklaşık 20-45 milyon kişinin, limit değerin oldukça üzerinde bir As seviyesine maruz kaldığı ve bu durumun ölkede yılda 19.000’den fazla kişinin ölümine sebep olduğu tahmin edilmektedir (Flanagan, Johnston ve Zheng, 2012).

Kuzey Amerika ölkelerinden, Amerika Birleşik Devletleri’nin Utah, Oregon (Batı Oregon), Nevada, Kaliforniya, Florida, Batı Virginia, Kentucky, Maine, Vermont ve New Hampshire eyaletlerinin özellikle yüksek riskli bölgelerinden As kontaminasyonuna ilişkin vaka raporları bildirilmiştir. Kanada’da, madencilik faaliyetlerinden kaynaklı zamanla toprakta As birikimi olduğu belirlenmiş ayrıca çeşitli şehirlerinde özel kuyu suyu kaynaklarında yüksek düzeyde As bulunduğu saptanmıştır (Minatel ve diğerleri, 2018). Çin’de endüstriyel bölgelere yakın alanlarda As seviyelerinin 2009’dan bu yana arttığı (4,6’den 16,22 ppm’e), genel olarak rafinerilerin/petrokimya tesislerinin bulunduğu bölgelerde daha yüksek As konsantrasyonları belirlendiği rapor edilmiştir (González, Esplugas, Marquès ve Domingo, 2021).

Türkiye’de As kontaminasyonunun çoğunlukla jeotermal kaynaklar ve madencilik faaliyetleri ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir. Jeotermal kaynaklar sebebiyle Batı ve Orta

Anadolu'da tatlı yeraltı sularına As geçişi olmaktadır. Ayrıca İç Anadolu ve İç Ege Bölgeleri'nde yer alan kapalı havzalar As birikimine elverişli bölgelerdendir (Atabey, 2009).

Madencilik faaliyetleri sebebiyle Niğde Çamardı-Tekneli, Sivas-Divriği, İzmir-Bergama, Kastamonu-Bozkurt mevkilerinde toprak ve yer altı sularında As konsantrasyonları artmıştır. Bursa, Balıkesir, Uşak, İzmir, Antalya, Kayseri ve Aksaray gibi şehirlerin çeşitli bölgelerindeki yüzeysel ve yer altı sularında, yönetmelikteki sınır değerinin ($10\mu\text{g/l}$) üstünde As konsantrasyonları tespit edilmiştir, ayrıca Kütahya, Kırşehir ve Sivas gibi şehirlerin bazı bölgelerinde ise $1000\mu\text{g/l}$ 'e kadar yüksek As konsantrasyonları bildirilmiştir (Akgül ve Bekaroğlu, 2022). Kütahya'nın Emet-Hisarcık havzası yer altı suları ve Nevşehir yöresi yer altı suları ülkemizde As kontaminasyonu açısından olan en önemli iki yöredir (Atabey, 2009).

İç Anadolu Bölgesi'nde bulunan Nevşehir'in jeolojik yapısı Erciyes, Hasandağı ve Güllüdağ'ın püskürttüğü lav ve küllerin oluşturduğu yumuşak tabakaların yağmur ve rüzgar gibi etkenlerle aşındırılmasıyla ortaya çıkmıştır. Bölgedeki yaygın volkanizma ilde önemli pomza, perlit, kaolen ve kumçakıl yataklarının oluşumuna neden olmuştur. Ayrıca aktif tektonizmaya bağlı olarak jeotermal kaynaklar gelişmiştir. Yöredeki volkanik kayalar ve özellikle siyah şeyller, iAs bakımından oldukça zengindir ve kayalarındaki iAs yer altı sularına karışmaktadır. Nevşehir yöresindeki içme ve kullanım sularının temin edildiği kuyu sularında yapılan ölçümlerde As seviyesinin DSÖ'nün belirlemiş olduğu limit değer olan $10\mu\text{g/l}$ üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu içme sularındaki As değerleri $30-120\mu\text{g/l}$ arasında değişmekte olup, bir lokasyonda $410\mu\text{g/l}$, başka bir lokasyonda $500\mu\text{g/l}$ değerler saptanmıştır (Atabey, 2009).

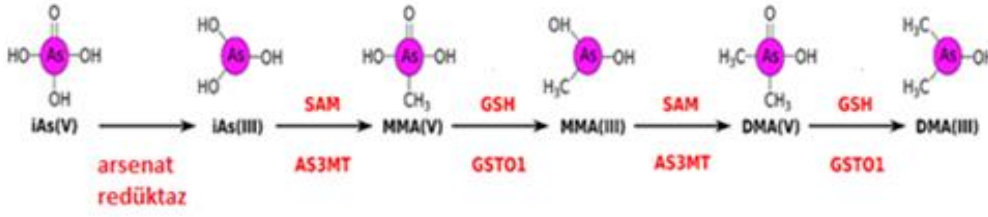
2.5. Arseniğin Toksikokinetiği

iAs, gastrointestinal sistem, solunum sistemi, parantral yollar ve cilt yoluyla absorbe olmaktadır. Solunum yoluyla alınan arseniğin %80'i sistemik absorpsiyonla sonuçlanırken, cilt yoluyla sistemik absorpsiyonu yüksek değildir. Sindirim sistemi yolu ile iAs'ın (iAs^{+3} ve iAs^{+5}) yaklaşık olarak %70-90'ı gastrointestinal sistemden hızla emilir ve en fazla absorpsiyon ince bağırsakta gerçekleşir (Kenyon, 2021; Özbolat ve Abdullah, 2016; Şentürk, 2013). As bileşiklerinin emilim aralığı pKa'sına bağlıdır ve oksidasyon durumlarına

göre pKa değerleri değişkenlik göstermektedir. Negatif yüke sahip As bileşiklerinin hücresel emilimi ve toksisitesi daha düşüktür (Palma-Lara ve diğerleri, 2020).

Absorbe edilen As, hemoglobinin globin kısmına bağlanarak kan dolaşımı yoluyla diğer organ ve dokulara dağılabilmekte, plasenta ve kan beyin bariyerini geçebilmektedir (Roshni, Aiswarya, Remya ve Meenu, 2015). Absorbsiyon ve dağılım sırasında iAs'ın en büyük birikimi karaciğerde meydana gelmektedir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020). iAs ve metabolitlerinin dağılımı organ spesifik olup, saç ve tırnaklar, yüksek miktarda sülfidril grubu bulundurması sebebiyle As tutulumunun daha fazla olduğu bölgelerdir (Şentürk, 2013).

Vücudun çeşitli bölgelerine dağılan As, esas olarak karaciğerde biyotransformasyon sürecinden geçerek metil ve dimetil türevlerine metabolize edilir (Vergara-Gerónimo, Del Río, Rodríguez-Dorantes, Ostrosky-Wegman ve Salazar, 2021). Karaciğer hücrelerine alınan As'ın öncelikle pentavalent arsenik [iAs(V)] formu arsenat redüktazın aktivitesi yoluyla trivalent [iAs(III)] formuna indirgenir (Drobna ve diğerleri, 2009; Sattar ve diğerleri, 2016). As metabolizasyonunun ilk adımı olarak; AS₃MT geni tarafından kodlanan arsenit metiltransferaz enzimi (As(III)-S-adenosilmetiyonin (SAM) metiltransferaz), iAs(III)'ın oksidatif metilasyonunu gerçekleştirerek beş değerlikli monometil arsenat [MMA(V)] oluşumunu sağlar. Daha sonra MMA(V) glutatyon sülfhidril transferaz omega 1 (GSTO1) enzimi tarafından üç değerlikli monometil arsenit MMA(III)'e indirgenir (Sattar ve diğerleri, 2016). Son adımlarda, AS₃MT ve GSTO1 enzimleri tarafından katalizlenen sırasıyla oksidatif metilasyon ve indirgeme reaksiyonları ile beş değerlikli dimetilarsinik asit [DMA(V)] ve üç değerlikli dimetilarsinöz asit [DMA(III)] oluşumu sağlanır (Bkz. Şekil 2.2) (Roggenbeck, Leslie, Walk ve Schmidt, 2019; Sattar ve diğerleri, 2016). Her oksidatif metilasyondan sonra enzimlerin indirgeme kapasitesi tiyoredoksin (Trx) ya da glutatyon (GSH) sistemleri tarafından sağlanır (Roggenbeck ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.2. Arsenik metabolizasyonu şeması (Roggenbeck ve diğerleri, 2019; Vergara-Gerónimo ve diğerleri, 2021)’dan uyarlanmıştır

Karaciğerde monometil ve dimetil bileşiklerine metillenen iAs, idrar yoluyla atılarak vücuttan uzaklaştırılır (Sattar ve diğerleri, 2016). As çoğunlukla DMA(V) formunda ve kıyasla daha küçük miktarlarda MMA(V), MMA(III), DMA (III), iAs (III) ve iAs (V) formlarında atılmaktadır (Kenyon, 2021). İnsan idrarında ortalama %70-80 DMA ve %10-15 MMA, ek olarak %10-25 iAs bulunmaktadır (Wang ve diğerleri, 2021; Zhou ve Xi, 2018). İdrardaki As metabolitlerinin bileşimi bireysel farklılık göstermektedir ve bu durum As metilasyon etkinliği olarak değerlendirilmektedir. As metilasyonu genel olarak idrarla atılan As türlerinin toplamalarına göre oranları (%iAs, %MMA, %DMA) veya bu türlerin birincil metilasyon indeksi (MMA/iAs) ve ikincil metilasyon indeksi (DMA/MMA) oranları ile yorumlanmaktadır (Kuo, Moon, Wang, Silbergeld ve Navas-Acien, 2017).

2.6. Arsenik Bileşiklerinin Toksisitesi

As’ın organik ve inorganik türleri yalnızca özellikleri (biyolojik, kimyasal ve fiziksel) değil aynı zamanda toksisiteleri bakımından da farklılık gösterir. As(V) ve As(III) gibi inorganik türler, MMA ve DMA dahil olmak üzere organik türlerden daha yüksek toksisiteye sahiptir (Rehman, Khan ve Muhammad, 2020) Organik As türlerinin vücuttan kolayca atılabilmesi sebebiyle iAs türlerine göre daha az toksik etkiye neden olduğu düşünülmektedir (Ratnaike, 2003). Ayrıca As kimyasal olarak kararsız kalsiyum, sodyum ve potasyum arsenatları, sülfid ve oksitleri daha yüksek toksisite göstermektedir (Atabey, 2009). Bunun dışında fiziksel durum, çözünürlük, partikül boyutu, hücre emilim oranı, bireylerin sağlık durumu ve genetik geçmişi toksisiteyi etkileyen diğer faktörlerdir (Marlborough ve Wilson, 2015). Ayrıca düşük glomerüler filtrasyon oranlarının, As bileşiklerinin vücutta kalma süresini uzattığı ve daha fazla hasara yol açtığı düşünülmektedir (Robles-Osorio, Sabath-Silva ve Sabath, 2015).

As düzeyi saç, tırnak, kan veya idrar örneklerinde belirlenebilir ve ölçülebilir. iAs kandan hızla uzaklaştırılmaktadır. Bu nedenle, kan As düzeyi yalnızca akut As zehirlenmesi veya stabil kronik yüksek düzeyde maruz kalma durumunda yararlı bir biyobelirteçtir ancak düşük As düzeylerine için güvenilir bir gösterge değildir (WHO, 2001). Diğer taraftan As hızla metabolize edildiğinden ve idrarla atıldığından, idrardaki toplam As, iAs ve idrardaki As metabolitlerinin (iAs, MMA, DMA) düzeyi yakın zamanda arseniğe maruziyetinin biyolojik belirteçleri olarak kullanılabilir (IARC, 2012b; WHO, 2001). Daha önce yapılan birçok çalışmada toplam idrar As düzeyi, yakın zamandaki As maruziyetinin biyobelirteci olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, bazı gıda maddelerinde önemli miktarlarda bulunan organoarseniklerin idrarla atılması nedeniyle (örneğin; deniz ürünlerinin yenmesi sonrası idrarda metabolize olmamış arsenobetainin atılımı) idrarda total As'in, maruziyet göstergesi olarak kullanımındaki bir kısıtlılıktır. Bu koşullarda total As ölçümüne dayalı analitik yöntemler As türlerine maruziyeti olduğundan fazla gösterebilir. iAs maruziyet değerlendirmelerinde bireylerinin idrar örnekleri alınmadan 2-3 gün önce deniz ürünü tüketmemeleri gerekmektedir (WHO, 2001).

As sülfidril grupları içeren keratin açısından zengin dokular olan saç, el ve ayak tırnaklarında birikme eğilimi gösterir ve bu dokulardaki toplam As seviyeleri geçmiş maruziyetlerin göstergesi olarak kullanılabilir (IARC, 2012b). Ayrıca saç büyüme hızı ayda yaklaşık 1 cm olduğundan, As'in saç gövdesi boyunca segmental dağılımı, akut ve kronik zehirlenmeyi ayırt etmenin yanı sıra zehirlenme olayından bu yana geçen süreyi tahmin etmek için kullanılabilir. Saç analizi, saçın dış yüzeyine adsorbe olan As nedeniyle yanlış sonuçlara neden olabilir, ancak bu durum kontaminasyon riski az olan alanlarda (ense gibi) ve kafa derisine mümkün olduğunca yakın yerde örnekleme yapmak ve analizden önce yıkama işlemi yapılması olası riskleri en aza indirir (WHO, 2001).

2.6.1. Arseniğin akut toksik etkileri

As'in akut toksik etkilerinin kimyasal formu ve oksidasyon durumu ile ilgili olduğu ve temel olarak arsenitin akut toksisitesinin arsenattan daha yüksek olduğu düşünülmektedir (Hughes, 2002). As ile gerçekleşen akut zehirlenmede, son maruziyetin (1-2 gün) en iyi göstergesi idrardaki As konsantrasyonudur (Ratnaike, 2003).

Yüksek dozda As maruziyeti 30-60 dakika içinde akut semptomlara neden olabilir, ancak As'ın yiyeceklerle birlikte alınması durumunda etkilerin görülmesi gecikebilir. Akut As zehirlenmesinin ilk belirtileri, gastrointestinal sistemle ilişkilidir. Bu sendrom ağız kuruluğu, dudaklarda yanma ve disfaji ile ilişkili metalik veya sarımsak benzeri bir tat ile başlar (WHO, 2001). Şiddetli karın ağrısı, mide bulantısı ve kusma, ishal, kas krampları, metalik tat ve aşırı susama başlıca akut toksisite semptomlarıdır. Bunları takiben sersemlik, koma, kardiyovasküler kollaps ve doza bağlı olarak ölüm meydana gelebilmektedir (Anonim, 2012; Ratnaike, 2003). Akut zehirlenme tedavi edildikten sonra, sıklıkla periferik sinir sistemi hasarından kaynaklanan kemik iliği baskılanması (anemi ve lökopeni), hemoliz, hepatomegali, melanoz ve polinöropati gelişir. Polinöropati genellikle duyu sinirlerinde daha şiddetlidir ancak motor nöronları da etkileyebilir (WHO, 2001). Akut As maruziyetinden 24 ila 48 saat sonra karaciğer hasarı ortaya çıkabilmektedir (Anonim, 2012). Solunum yetmezliği ve akciğer ödemi, akut zehirlenmenin yaygın semptomlarıdır (Ratnaike, 2003).

2.6.2. Arseniğin karsinogenik etkileri

IARC sınıflandırılmasında As ve iAs türevleri “insan karsinojeni (Grup 1)”, dimetilarsonik asit ve monometilarsonik asit insanlar için olası kanserojen (Grup 2B), arsenobetain ve insanlarda metabolize olmayan diğer organik As bileşikler ise “insanda karsinogenik etkiler yönünden sınıflandırılmayanlar (Grup 3)” olarak belirtilmiştir (IARC, 2012a). As'e maruz kalan hücrelerde, malign hücre dönüşümünün özellikleri olan yüksek oranda çoğalma, sağ kalım ve büyüme görülmektedir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020). As bileşikler tarafından indüklenen oksidatif stres, genotoksik hasar, kromozomal anormallikler, gen ekspresyonunun modifikasyonu, epigenetik mekanizmalar, sitotoksisite ve rejeneratif proliferasyon dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar nedeniyle kanser gelişimi olduğu gösterilmiştir (Zhou ve Xi, 2018). İçme suyunda yüksek düzeyde iAs maruziyetiyle, çeşitli kanser kaynaklı (akciğer, mesane, karaciğer ve böbrek) ölüm oranlarının arttığı ve cilt kanseri vakalarının daha yükseldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca kronik As maruziyetinin düşük konsantrasyonlarda dahi akciğer, mesane, karaciğer, böbrek ve cilt kanserlerine neden olabileceği görülmüştür (Demissie, Mekonen, Awoke, Teshome ve Mengistie, 2024).

Cilt kanseri, kronik iAs maruziyetinin ilk belgelenen kanserojenik etkisi olmuştur (Zhou ve Xi, 2018). Yapılan çalışmalarda, As endemik bölgelerdeki kuyu suyundaki As

konsantrasyonu ile hiperpigmentasyon ve hiperkeratoz görülme prevalansı arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu dermatolojik lezyonlar ve içme suyuyla iAs'e kronik maruziyetin cilt kanseri gelişimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Yu, Liao ve Chai, 2006; Zhou ve Xi, 2018). En sık görülen As kaynaklı cilt kanseri türleri ise Bowen hastalığı, bazal hücreli karsinom ve skuamöz hücreli karsinomdur (Yu ve diğerleri, 2006).

iAs'a kronik olarak maruz kalan işçilerde yapılan çalışmalar, çeşitli internal kanserlerin prevalansının arttığını göstermiştir (Drobna ve diğerleri, 2009). Kronik As maruziyetinin akciğer kanserine neden olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020). Madencilik faaliyetlerinde iAs bileşiklerine maruziyet ile akciğer kanseri riskinin arttığı bildirilmiştir (Zhou ve Xi, 2018). Ayrıca içme suyunda artan As seviyeleri, akciğer kanseri insidansındaki artışla ilişkilendirilmiştir. Yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde, yılda yaklaşık beş akciğer kanseri vakasının As maruziyeti ile ilişkili olduğu raporlanmıştır (Putila ve Guo, 2011).

As'ın idrar yollarındaki başlıca kanserojen etkileri böbrek ve mesane kanseridir. İçme suyunda yüksek seviyelerde iAs'e maruz kalan popülasyonlarda yapılan epidemiyolojik araştırmalar, mesane kanseri ve arsenik arasında doz-yanıt bağımlı ve güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020). Kronik As maruziyeti hepatik anjiyosarkom ve hepatoselüler karsinom gibi kanser türleri ile ilişkilendirilmiştir (Anonim, 2012; WHO, 2022). Ayrıca anne karnında ve erken çocukluk döneminde As maruziyetinin daha sonraki erişkin çağlarda kanser gelişimine neden olduğu da belirtilmektedir (WHO, 2022).

2.6.3. Arseniğin karsinojenitesi dışındaki diğer kronik toksik etkileri

As cilt, saç ve tırnak dahil ektodermal dokuda birikme eğilimindedir. Bu nedenle, cilt lezyonları, insanlarda kronik As maruziyeti ile ilişkili en yaygın advers sağlık etkileridir (Yu ve diğerleri, 2006). Yüksek konsantrasyonlarda uzun süre As maruziyetinin (örn; içme suyu yolu ile) ilk belirtileri genelde ciltte görülmektedir (WHO, 2022). Pigmentasyon, depigmentasyon ve karakteristik olarak “yağmur damlası” şeklinde renk değişikliği gibi cilt lezyonları meydana gelmektedir. Ciltte kuruluk, dökülme, avuç içi ve ayak tabanlarında keratoz kronik As maruziyeti ile sık görülen ve As maruziyeti ile karakterize diğer semptomlarından olup hem palmar hem de plantar keratoz önemli bir tanı kriteridir

(Anonim, 2012; Wei ve diğerkleri, 2017; Yu ve diğerkleri, 2006). Yapılan birçok çalışma, idrardaki As metabolitleri ile cilt lezyonlarının ilişkili olduğunu göstermiştir. Genel olarak yüksek %iAs ve %MMA sevipleri ile düşük %DMA seviyelerinin cilt lezyonlarının oluşma riskini artırdığı düşünülmektedir (Wei ve diğerkleri, 2017).

Kronik olarak yüksek iAs seviyelerine maruz kalmanın diğerk etkileri, periferik nöropati, gastrointestinal semptomlar, konjunktivit, böbrek sistemi etkileri, kemik iliği depresyonu, eritrositlerin imhası, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklardır (WHO, 2010), ayrıca oksidatif stresin artışına bağlı olarak tip 2 diyabet oluşumunun indüklendiği belirlenmiştir (Bonini ve Sargis, 2018). Kronik As maruziyeti, periferik arter ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar geliştirme riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Minatel ve diğerkleri, 2018). Bazı araştırmalar, As maruziyetinin kardiyovasküler hastalıkların biyobelirteçleri olan hücreler arası adezyon moleküllerine ve damar adezyon moleküllerine yol açtığını göstermiştir (Chen ve diğerkleri, 2007). Ayrıca zellikle As endemik bölgelerde görülen ayaklardaki damarların ciddi zarar gördüğü ve kangrenle sonuçlanabilen bir kan damar hastalığı olan "kara ayak (blackfoot)" hastalığına neden olduğu bulunmuştur (Minatel ve diğerkleri, 2018; WHO, 2010).

Alzheimer ve Parkinson hastalarının plazma ve beyin omurilik sıvısında yüksek konsantrasyonlarda iAs(III) tespit edilmiştir (Cheng, Wang, Kao, Chen ve Ho, 2007). iAs ve metabolitlerinin kan beyin bariyerini geçmesi ve As kaynaklı oksidatif stresin, nöronların nekrozuna neden olmasıyla Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalıkların geliştiği düşünülmektedir (Hwang, 2013; Tyler ve Allan, 2014). Çok sayıda alışma, As maruziyetinin bilişsel gelişim, zeka ve hafıza üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir (WHO, 2022).

Kronik As maruziyeti, bozulmuş akciğer fonksiyonunun ve kronik akciğer hastalığının gelişimiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bağışıklık fonksiyonunu bozulmasına neden olarak akciğerlerin solunum yolu enfeksiyonlarına ve organizmanın pulmoner inflamasyona daha duyarlı hale gelmesine neden olabilmektedir (Ramsey, 2023).

As plasentadan geçebilen bir element olup arsenikle kirlenmiş içme suyuna kronik olarak maruz kalan hamile kadınlar düşük, düşük doğum ağırlığı, ölü doğum ve erken doğum riski altındadır (Mahar, Memon, Ishfaq ve Soomro, 2024; WHO, 2022). Ayrıca As maruziyetinin

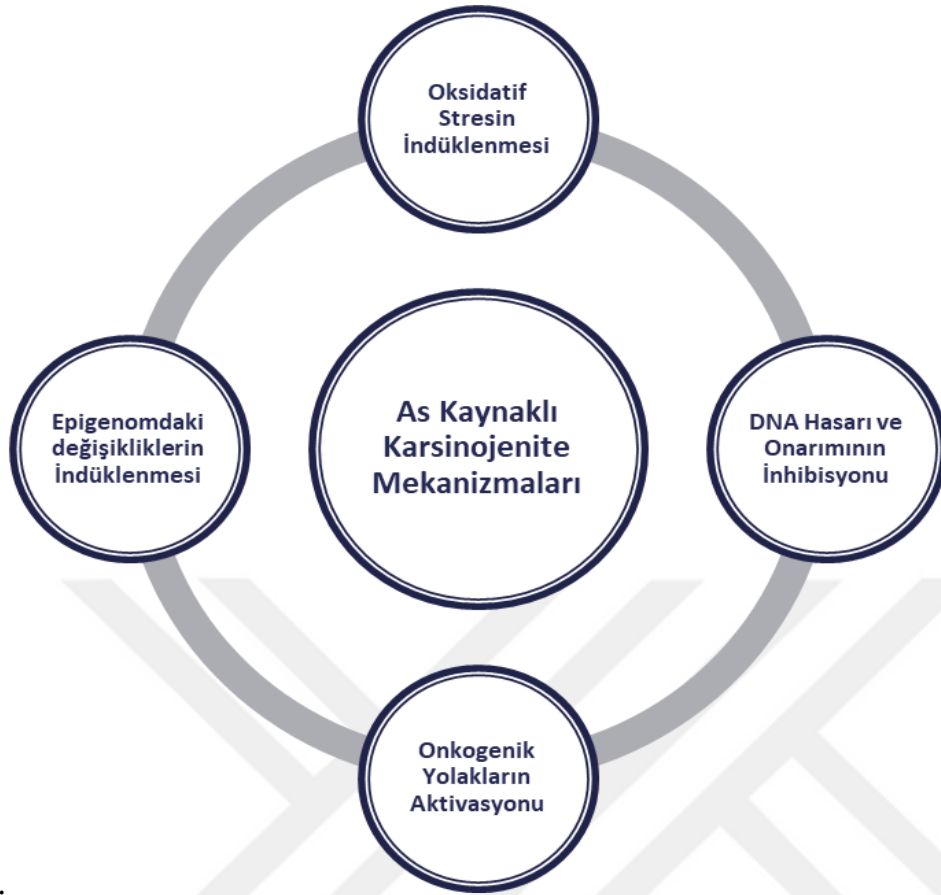
dünya çapında binlerce ölümün önde gelen bir nedeni olduğu bilinmektedir (Sodhi, Kumar, Agrawal ve Singh, 2019).

Çizelge 2.3. Kronik arsenik maruziyetine bağlı kanser dışındaki olumsuz sağlık etkileri

Vücutta Etkilenen Organ/Sistem	Sağlık Üzerine Olumsuz Etkisi
Solunum Sistemi	Kronik Akciğer Hastalığı, Akciğer Fonksiyonlarının Bozulması (Ramsey, 2023)
Sindirim Sistemi	Gastrointestinal Semptomlar (WHO, 2010)
Dolaşım Sistemi	Hipertansiyon, Kemik İliği Depresyonu, Kardiyovasküler Hastalıklar (WHO, 2010), kara ayak hastalığı (Minatel ve diğerleri, 2018)
Sinir Sistemi	Depresyon (Sodhi ve diğerleri, 2019), Periferik Nöropati (WHO, 2010), Alzheimer Ve Parkinson Hastalığı (Tyler ve Allan, 2014)
Endokrin Sistem	Diyabet (Sodhi ve diğerleri, 2019)
Duyu Organları	Cilt Lezyonları (Yu ve diğerleri, 2006), Konjunktivit (WHO, 2010), İşitme kaybı (Demissie ve diğerleri, 2024)
Boşaltım Sistemi	Böbrek Yetmezliği (WHO, 2022)
Üreme ve Gelişim Sistemi	Düşük, Düşük Doğum Ağırlığı, Ölü Doğum Ve Erken Doğum (Mahar ve diğerleri, 2024; WHO, 2022), erkek kısırlığı (Demissie ve diğerleri, 2024)

2.7. Arsenik ve Bileşiklerinin Başlıca Karsinojenik Etki Mekanizmaları

As bileşiklerinin neden olduğu karsinojenik etki As'in metabolize olma kabiliyeti ve etkileştiği birçok hücreyel yolak nedeniyle karmaşık bir süreçtir. İdrardaki yüksek MMA ve daha düşük DMA yüzdesi çeşitli kanser riskindeki artışla ilişkilendirilmiş olup, As'in kanserojenik etki potansiyelinin DMA ve MMA metabolitleri halinde vücuttan atılması nedeniyle As biyotransformasyonu ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Hubaux ve diğerleri, 2012; Shi, Shi ve Liu, 2004). As maruziyetinin organizmada neden olduğu oksidatif stres, DNA hasarı ve onarımındaki etkisi, epigenetik değişiklikler ve As'in proteinlerle etkileşimiyle onkojenik yolların aktivasyonu karsinojenik etkisinde önemli rol oynamaktadır (Speer, Zhou, Volk, Liu ve Hudson, 2023) (Bkz. Şekil 2.3).

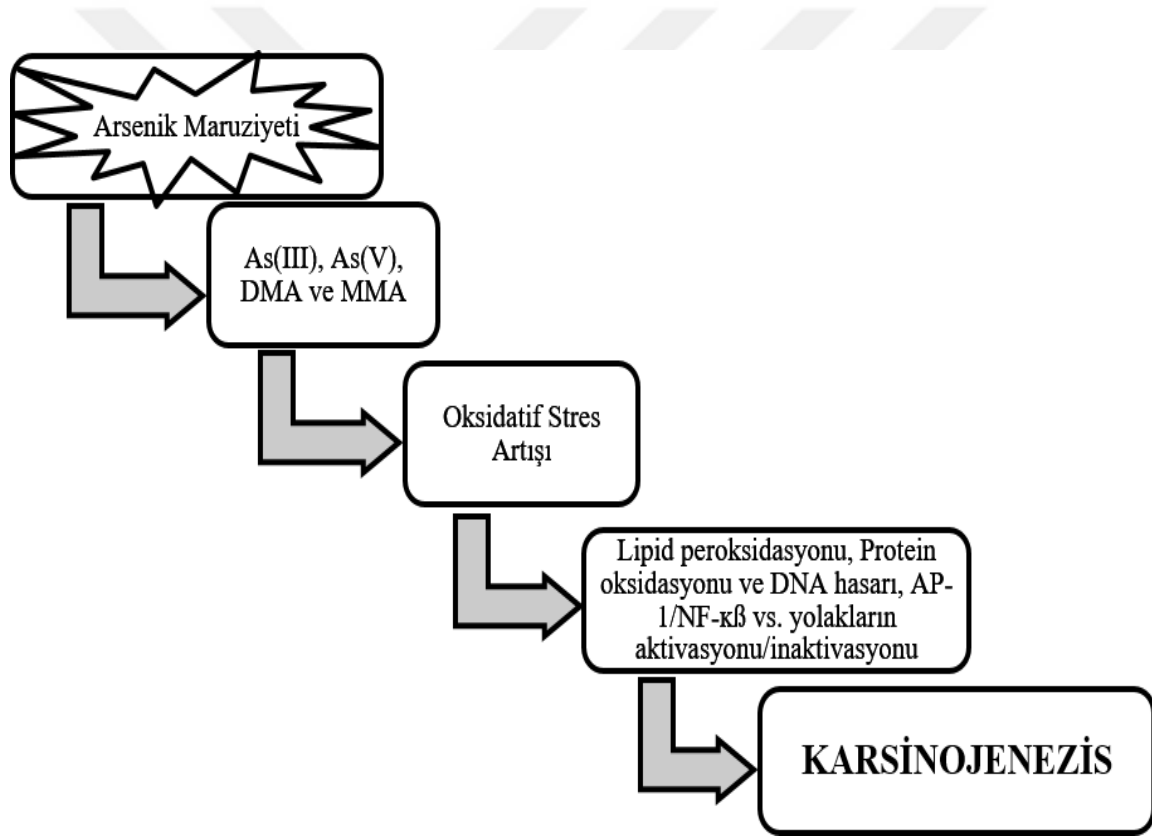


Şekil 2.3. As kaynaklı karsinojenite mekanizmaları (Hubaux ve diğerleri, 2012; Liu ve diğerleri, 2021)’dan uyarlanmıştır

2.7.1. Oksidatif stres

As maruziyeti organizmada süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1O_2$), peroksil radikal ($ROO^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve dimetiltarsinik peroksil [$(CH_3)_2AsOO^{\cdot}$] gibi çeşitli reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumuna yol açmaktadır (Birben, Sahiner, Sackesen, Erzurum ve Kalayci, 2012; Flora, 2011). Süperoksit anyonu, As kaynaklı oksidatif streste birincil tür olarak kabul edilir ve H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ gibi ikincil ROT kaskatına neden olur (Shi ve diğerleri, 2004). Bu reaktif radikaller biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilir; lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı, endotel disfonksiyonu dahil olmak üzere çeşitli yollarla hücre ve doku hasarına yol açabilirler (Diniz ve diğerleri, 2018; Ebadi ve diğerleri, 1996). Oluşan reaktif oksidanlar ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması sonucu meydana gelen oksidatif stres (Birben ve diğerleri, 2012; Etienne ve diğerleri, 2019), arseniğin başlıca toksik etki mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir (Shi ve diğerleri, 2004).

As, oksidatif stres oluşumunu indükleyerek çeşitli hücrel yolakların bozulmasına, lipidlerin oksidasyonuna, hücrel hasara ve organ fonksiyon bozukluğuna neden olarak çeşitli hastalıkların gelişimine yol açabilmektedir (Jomova ve diğerleri, 2011) (Bkz Şekil 2.4). As kaynaklı oksidatif stres, DNA, proteinler ve diğer biyomoleküllerde hasara, genetik mutasyonlara ve malign transformasyona neden olarak karsinogenезin hem başlangıç hem de gelişim aşamalarında rol oynamaktadır. Organizmada kanser gelişimi oksidatif stresin bu dengesiz ve mutajenik ortamına bağlıdır (Andrisic ve diğerleri, 2018). Ayrıca ROT sinyali, karsinogenезi teşvik eden sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu veya inaktivasyonu için kritik öneme sahiptir (Bkz Şekil 2.4) (Shi ve diğerleri, 2004).



Şekil 2.4. Arsenik kaynaklı oksidatif stres ve karsinogenезisin indüklenmesi (Shi ve diğerleri, 2004)'den uyarlanmıştır

As maruziyeti, DNA sentezi, onarımı ve hücrel enerji yollarında görev alan yaklaşık 200 enzimin inhibisyonuna neden olabilir (Demissie ve diğerleri, 2024). As'ın tiyol (sülfidril) içeren moleküller ile etkileşmesinin toksik etkilerinde önemli bir rolü vardır (Huestis ve diğerleri, 2016). iAs toksisitesi, kritik hücrel enzimlerin aktif bölgelerindeki nükleofilik tiyoller veya selenoller ile etkileşiminden kaynaklanmaktadır. iAs(III)

proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanarak enzim fonksiyonlarının inhibe edilmesine ve ROT artışına neden olmaktadır (Marlbrough ve Wilson, 2015; Roggenbeck ve diğerleri, 2019). iAs(III)'e kıyasla daha az toksik olduğu kabul edilen iAs(V); hücrel kinazlar, fosfatazlar veya oksidatif fosforilasyon ile etkileşime girerek fosfoproteinlerin ve ATP üretiminin bozulmasına neden olabilmektedir (Marlbrough ve Wilson, 2015; Roggenbeck ve diğerleri, 2019). As maruziyetinin sebep olduğu ROT üretimi, Nrf2-KEAP1 yolağı gibi antioksidan yanıt yolağındaki transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açarak birçok gen ve proteinin ifadesini etkileyebilmektedir (Klaunig, Kamendulis ve Hocesvar, 2010; Su ve diğerleri, 2023).

Mitokondri hücrede reaktif oksijen türevlerinin ana kaynağıdır (Flora, 2011). As hücrelerde mitokondriyal enzimleri etkileyerek, enzimatik aktivitelerde fosforun yerine geçerek oksidatif fosforilasyonun bozulmasına, hücrel solunumun azalmasına ve serbest radikallerin oluşumuna yol açar (Lu ve diğerleri, 2001; Sodhi ve diğerleri, 2019). Hücrel solunum üzerindeki bu toksik etkisinin tiyol grupları ile etkileşerek mitokondriyumdaki lipoik aside bağlanması ve piruvat dehidrojenazın inhibisyonuna neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Flora, Mittal ve Mehta, 2008; İriş ve Çınar, 2019). As'in hücrel solunum üzerine toksik etkileri ve ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif hasar, As kaynaklı karsinogenez mekanizmalarından olan gen ekspresyon kalıplarını değiştirmektedir (İriş ve Çınar, 2019).

iAs türevleri; glutatyona (GSH) bağlı antioksidan enzimlerin sülfidril (-SH) gruplarına bağlanarak inhibisyonuna neden olurlar ve dolaylı olarak ROT oluşumunu indükleyebilirler (Birben ve diğerleri, 2012). Ayrıca As, indirgenmiş GSH ile etkileşerek mitokondride antioksidan havuzunu tüketir (Rubino, 2015). İndirgenmiş GSH seviyesinde azalma, NADPH oksidaz ve nitrik oksit sentaz enzimlerinin aktivasyonuna neden olarak ROT ve RNT artışına, mitokondride tiyol içeren proteinlerin oksidasyonuna neden olarak mitokondriyal membran geçirgenliğinin bozulmasına yol açar. Bunun sonucunda hücrede apoptoz ve nekroz gözlenir (Hosseini, Shaki, Ghazi-Khansari ve Pourahmad, 2013; Huestis ve diğerleri, 2016). Ayrıca çinko, selenyum gibi metal iyonlarının biyomoleküllerdeki bağlanma bölgeleri ile etkileşerek ve bu moleküller ile yer değiştirerek metabolik yolların bozulmasına neden olur (Huestis ve diğerleri, 2016).

Vücutta dimetil arsinik asitin indirgenmesi ile dimetil arsin oluşmaktadır ve bu reaksiyon sırasında ROT meydana gelmektedir. Ayrıca dimetilarisin ile moleküler oksijenin reaksiyona girmesi dimetilarisinik radikali ve süperoksit anyonu oluşmasına sebep olur (Yamanaka ve Okada, 1994). As maruziyetiyle bu türlerin üretilmesinin, sağlık üzerine olumsuz etkileri bilinmektedir. Hücrelerde dimetil arsin varlığında dimetil arsin peroksil radikal oluşumunun DNA hasarı ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Flora ve diğerleri, 2008).

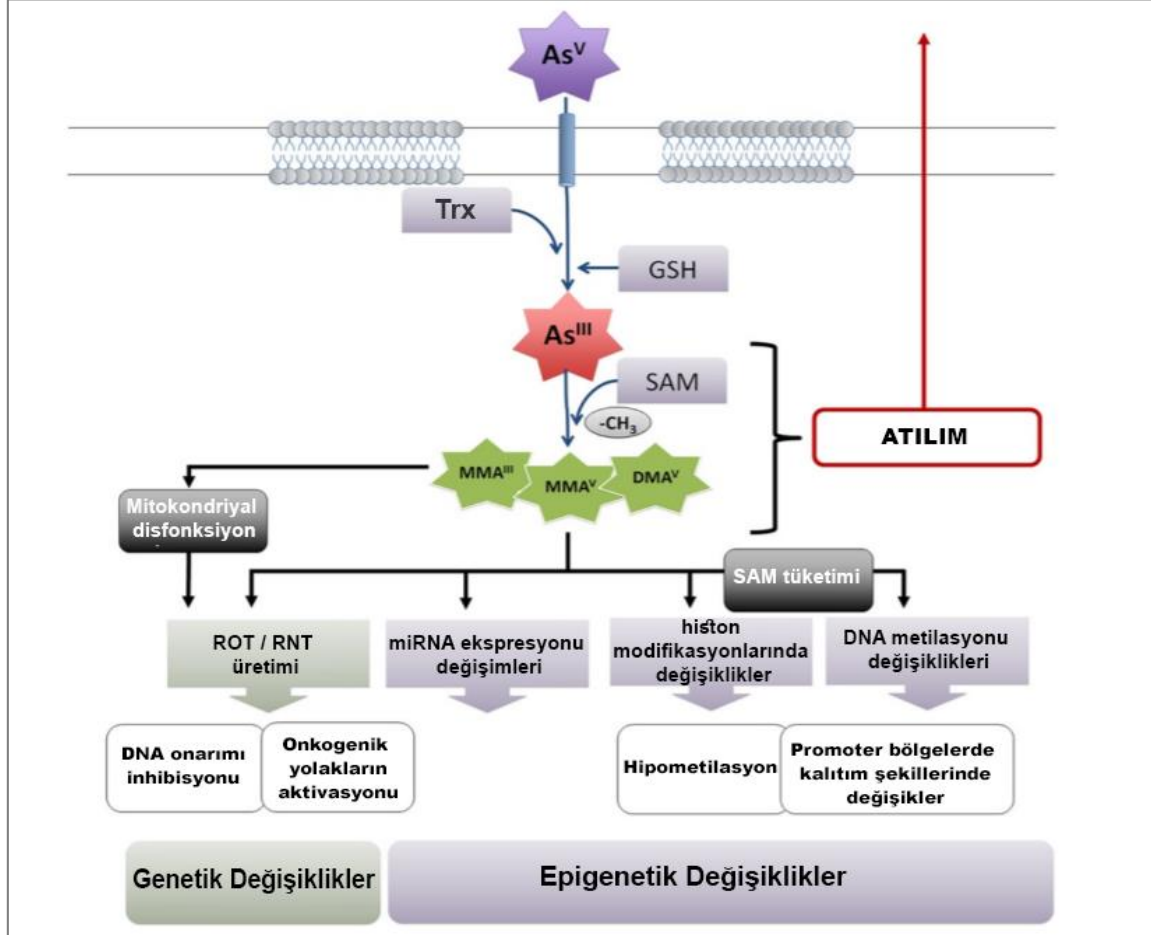
2.7.2. DNA hasarı

İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda As'in genotoksosite açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu gösterilmiştir (Calao-Ramos, Negrete, Cárdenas ve Díez, 2023). Genotoksosite, DNA ile doğrudan etkileşimle ya da mikroçekirdek oluşumu, kardeş kromatid değişimi, kromozomal aberasyonlar gibi DNA'da hataya sebep olan dolaylı etkilerle de meydana gelebilir (Zhou ve Xi, 2018).

As maruziyeti nedeniyle meydana gelen genetik değişiklikler, çoğunlukla mitokondriyal fonksiyon bozukluğu sonucunda oluşan reaktif oksijen ve/veya azot türlerinden kaynaklanmaktadır (Hubaux ve diğerleri, 2012). As maruziyeti ile reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminin artması, oksidatif DNA hasarına ve DNA sarmalında hem tek hem de çift taraflı kopmalara yol açabilmektedir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020). Guaninin C8 hidroksilasyonu, sıklıkla gözlemlenen oksidatif DNA hasarlarından biridir ve arseniğin guaninin C8 hidroksilasyonunu indüklediği tespit edilmiştir. DNA'daki nükleosid 2'-deoksiguanozinin oksitlenmiş formu olan 8-hidroksi-2 deoksiguanozin (8-OHdG) bileşiği DNA hasarının en hassas belirteçlerinden biridir (Wang ve diğerleri, 2023). As maruziyeti ile artan ROT oluşumu; 8- OHdG üretilmesine neden olarak "G>C → T>A" dönüşümlerine ve "G>T" dönüşümlerine yol açmaktadır. As ile ilişkili tümörler için yüksek T>G / A> C oranları ve düşük C>A / G>T transversiyon oranları spesifiktir (Sodhi ve diğerleri 2019).

As zayıf bir mutajendir ancak diğer kanserojen maddelerin neden olduğu DNA lezyonlarının onarım sürecini inhibe ederek mutajenik etkisini artırmaktadır (Costa, 2019). As; DNA onarım genlerinin ekspresyonunu, DNA onarım proteinlerinin katalitik aktivitesini etkileyerek işleyişini bozabilir, PARP-1 gibi oksidatif DNA hasar onarımında görevli enzimlerin inhibisyonuna neden olabilir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020; Su ve diğerleri, 2023) (Bkz. Şekil 2.5). Ayrıca As, belirli proteinlerdeki çinkonun yerini alarak bu

proteinlerin işlevlerini değiştirebilir veya inhibe edebilir (Speer ve diğerleri, 2023). Bu durumlar hücrelerin DNA hasarlarını düzeltme yeteneğini sınırlar, hücrel sinyal yollarını ve gen ekspresyonunu etkileyerek potansiyel olarak karsinojenize yol açabilir.



Şekil 2.5. Arsenik kaynaklı genetik ve epigenetik değişiklikler (Hubaux ve diğerleri, 2012)

As, hücre büyümesi veya apoptozdan sorumlu sinyal yollarını düzenleyerek tümör gelişimini indükler (Wang, Mayo ve Baldwin Jr, 1996). Tümör baskılayıcı protein olarak bilinen p53 yolunun baskılanmasına ve düzensiz proliferasyona yol açabilir. Tüm bu olaylar, tümör oluşumunu ve anjiyojenezi kolaylaştırır ve karsinojeniz gelişimine neden olabilir (Hughes, Beck, Chen, Lewis ve Thomas, 2011) (Bkz. Şekil 2.5).

As maruziyetinden etkilenen bir diğer hücre için sinyal iletim sistemi mitojen aktif protein kinaz (MAPK) sinyal yollarıdır. MAPK'lar, hücre dışı sinyal ile düzenlenen kinazlar (ERK), c-Jun N-terminal kinazlar (JNK) ve p38 olmak üzere üç ana sınıftan oluşmaktadır. As maruziyeti hücre apoptozuna, farklılaşmasına, çoğalmasına ve transformasyonuna

aracılık eden bu yolların aktivasyonuna neden olabilmektedir. (Bode ve Dong, 2002). MAPK türlerinden ERK'lerin As tarafından aktivasyonu, kanserojenleşmeye yol açan hücre çoğalmasını ve transformasyonunu indükleyebilirken, JNK'lerin ve p38'in aktivasyonu, apoptozu indükleyerek ve hücre büyümesini durdurarak karsinogenезin inhibisyonuna yol açabilmektedir. Ayrıca ERKlerin aktivasyonu aktivatör protein 1 (AP-1) transkripsiyon faktörünün indüksiyonuna neden olmaktadır. AP-1 embriyonik gelişim, transformasyon, onkogenез ve apoptozu koordine eden birçok genin ifadesini düzenlemede görevlidir ve As maruziyetinin AP-1 aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Bode ve Dong, 2002). As maruziyetinin aktivasyonuna neden olduğu bir diğer transkripsiyon faktörü NF- κ B'dir. Hücreler arası etkileşim, hücre içi iletişim, primer patojenik sinyallerin amplifikasyonu ve karsinogenезin başlatılması veya hızlanması dahil olmak üzere çeşitli hücre işlemlere aracılık eden NF κ B aktivasyonu çekirdekte lokalize olarak hedef genlerinin promotör bölgesine bağlanır ve gen transkripsiyonunu düzenler (Chen ve Shi, 2002). As maruziyeti sonucu artan NF- κ B aktivasyonu kanser gelişimine katkıda bulunabilmektedir (Bkz. Şekil 2.4).

2.7.3. Epigenetik değişiklikler

DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve mikroRNA'lar gibi epigenetik mekanizmaları etkileyen As maruziyeti, karsinogenезis sürecini tetikleyebilir (Speer ve diğerleri, 2023). As'ın bu epigenetik düzenleyeciler üzerine olan etkisi, insan karaciğer hücrelerinde onkogenlerin hipometilasyonuna ve tümör baskılayıcı genlerin (örneğin P53 ve P16) hipermetilasyonuna neden olmasıyla ortaya çıkabilir ve gen ifadesi değişiklikleri, kontrolsüz hücre çoğalmasını ve karsinogenезisi teşvik edebilir (Palma-Lara ve diğerleri, 2020).

iAs, idrarla atılmadan önce pentavalent ve trivalent mono ve dimetile edilmiş As türlerine metabolize edilir. Metile edilmiş As bileşiklerinin, iAs'lardan daha fazla genotoksik etki gösterebilmesi sebebiyle As metabolizmasının toksisite açısından rolü oldukça önemlidir (Lee ve Davis, 2023). As'ın biyotransformasyonu, genom seviyesindeki değişikliklere yol açmakta, genetik ve epigenetik değişikliklere neden olmakta, birçok biyolojik reaksiyon için tehdit oluşturmaktadır (Bkz. Şekil 2.5) (Minatel ve diğerleri, 2018; Sodhi ve diğerleri, 2019).

Metilasyon As'e duyarlılık sağlayan spesifik genler ve metiltransferazlar tarafından düzenlenir (Sodhi ve diğerleri, 2019). Aarsenit-3-metiltransferaz (AS₃MT), metil gruplarının

SAM'den As türlerine transferini katalize eden anahtar enzimdir. Yapılan çalışmalarda AS₃MT genindeki polimorfizmler ile yüksek MMA idrar seviyeleri arasında korelasyon olduğu gözlemlenmiştir (Minatel ve diğerleri, 2018). As maruziyeti olan bireylerde yüksek idrar MMA(III) düzeyleri, kanser gelişim riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiş ve DMA(V) düzeylerinin ise ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca MMA/DMA oranı, kanser riskini ve polimorfizmlerin As toksisitesine duyarlılığı üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılmıştır. Çeşitli çalışmalar kanser öncesi cilt lezyonlarının idrarda daha yüksek oranda MMA/DMA ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Minatel ve diğerleri, 2018).

As maruziyeti, DNA metilasyonu, histon değişiklikleri, mikroRNA'lar gibi epigenetik düzenleyicileri etkilemektedir. DNA metilasyonu, insanlarda hücrel farklılaşma, genomik baskılama ve X kromozomu inaktivasyonunda kritik roller oynar. DNA metiltransferazlar SAM molekülünden metil grubunun DNaya aktarımını katalize eder. As maruziyeti, DNA metiltransferazların aktivitesini etkilemekte ve DNA metilasyonunda epigenetik değişikliklere yol açmaktadır Yoğun As metabolizasyonu nedeniyle AS₃MT tarafından SAM gibi metil donörleri tüketilmekte ve DNA metilasyonu zarar görmektedir (Chakraborty ve diğerleri, 2022). Hücrel metil gruplarının azalması spesifik promoterlerin hipermetilasyonuna veya hipometilasyonuna yol açar. Bu nedenle As, tümör baskılayıcı genlerde ve onkogenlerde değişime neden olabilir (Sodhi ve diğerleri, 2019) (Bkz. Şekil 2.5).

Histon modifikasyonları, kromatin yapısını düzenler, transkripsiyon, replikasyon, DNA onarım ve rekombinasyonu gibi süreçleri etkiler. As bileşikleri metiltransferazlar, demetilazlar, asetil transferazlar, kinazlar gibi histon post-translasyonel modifikasyonlarından sorumlu enzimler ile etkileşerek histon modifikasyonlarının indüklenmesine ve kromatin yapılarında bozulmalara neden olarak kromozomal kararsızlığa yol açabilmektedir (Chakraborty ve diğerleri, 2022).

2.8. İçme Suyundaki Arsenik Maruziyeti ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 1953 yılında yayımladığı Uluslararası İçme Suyu Standartlarının ilk versiyonunda içme sularında As için izin verilen maksimum seviyeyi 0.2 mg/l olarak belirlemiştir. 1963'de yapılan düzenleme ile uluslararası standartlarda, bu değer 0,05 mg/l'ye düşürülmüş ve 1971'de yayımlanan üçüncü versiyonunda üst konsantrasyon

olarak 0.05 mg/l seviyesi olarak aynı kalmıştır. Yine 1984 yılında DSÖ tarafından ilk defa yayımlanan İçme Suyu Kalitesi Kılavuzunda bu değer 0,05 mg/l olarak kayıtlara alınmıştır. 1993 yılında DSÖ tarafından yayımlanan kılavuzun ikinci versiyonunda ise içme sularında izin verilen As limiti 0,05 mg/l den 0.01 mg/L'ye düşürülmüştür (Ahmad ve Bhattacharya, 2019). Günümüzde DSÖ tarafından içme suyundaki As seviyesi için geçici kılavuz değeri halen maksimum 0.01 mg/l olarak kabul edilmektedir (WHO, 2022). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar bu limitin altındaki seviyelerde bile As'in potansiyel toksisitesini ortaya koymuştur (Minatel ve diğerleri, 2018). Ülkemizde ise İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik kapsamında içme sularında izin verilen As seviyesi maksimum 0.01 mg/l olarak kabul edilmiştir (İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik, 2005).

2.9. Tioredoksin 1 (Trx1)

2.9.1. Tioredoksin sistemi ve antioksidan mekanizması

Tioredoksin sistemi indirgenmiş bir substrat (NADPH), tioredoksin redüktaz (TrxR) ve tioredoksin (Trx) oluşan oksidatif strese karşı redoks dengesini ve sinyalizasyonunu sağlayan antioksidan bir mekanizmadır (Benhar, 2015) ve hücrel gelişim, proliferasyon, migrasyon, apoptoz, inflamasyon ve metabolizma dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçlerde etkin role sahiptir (Xie ve diğerleri, 2019).

Trx, ditiyol-disülfür değişim reaksiyonu yoluyla indirgen ajanları okside proteinlere aktaran küçük (12 kDa) redoks aktif bir proteindir (Holmgren, 1995). Aktif bölgeleri -CXXC- redoks dizilimi ile karakterizedir (Eklund, Gleason ve Holmgren, 1991). Trx'in Trx1, Trx2 ve Trx3 olmak üzere üç izoforu bulunmaktadır. Trx1, birçok hücre tipinde sitozol ve çekirdekte yaygın olarak bulunan Trx izoformudur. Öte yandan, başka bir izoform olan Trx2, özellikle mitokondrilerde lokalizedir (Nagarajan, Oka ve Sadoshima, 2017). Trx3 ise spermlerinin ve spermatitlerinin golgi aparatlarında sperm olgunlaşmasında rol oynamaktadır (Bkz. Çizelge 2.4) (Branco ve Carvalho, 2019; Xie ve diğerleri, 2019).

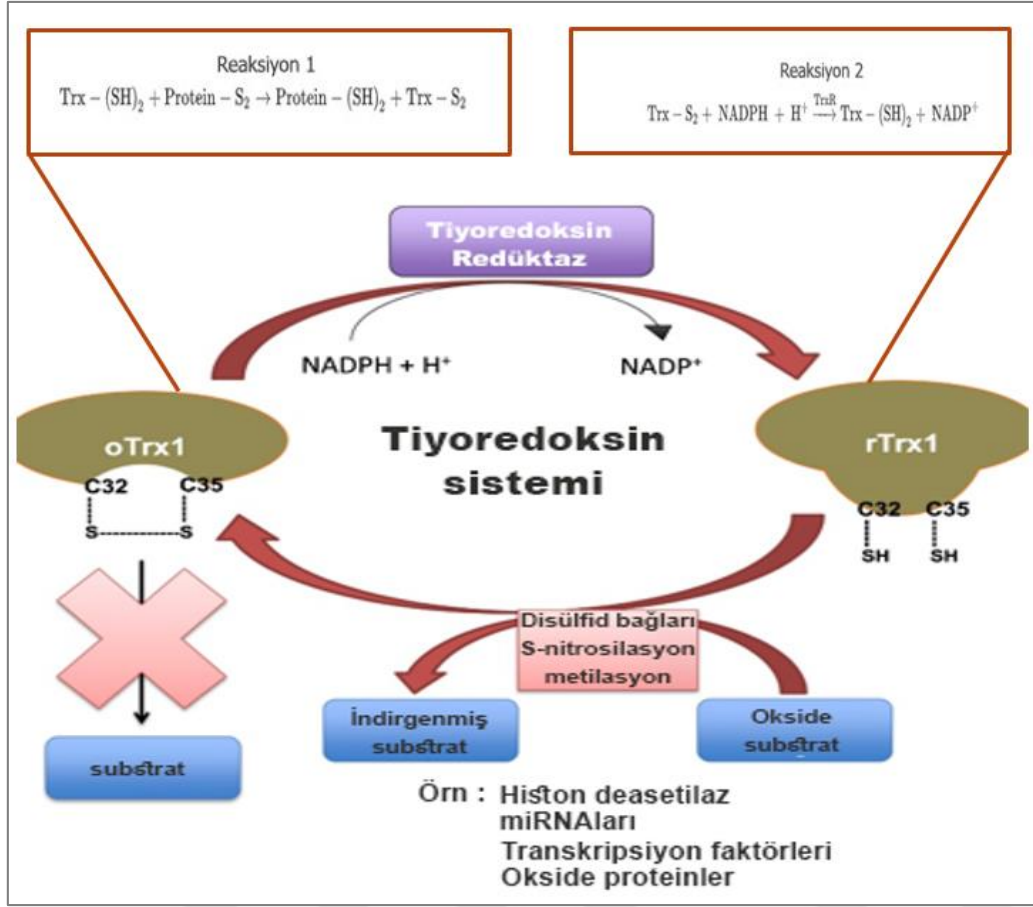
Trx sisteminin bir diğer bileşeni olan TrxR; piridin nükleotid-disülfid oksidoredüktaz ailesinin bir üyesidir (Eklund ve diğerleri, 1991) ve en önemli fonksiyonu, Trx proteininin NADPH'a bağımlı olarak indirgenmesini katalizlemektir (Li ve diğerleri, 2012). TrxR yüksek moleküler ağırlıklı (55 kDa) ve düşük moleküler ağırlıklı (35 kDa) olarak iki sınıfa

ayrılır. Düşük molekül ağırlıklı TrxR grubu, arkea, bakteri, mantar ve bitkilerde bulunmaktadır. Yüksek moleküler ağırlıklı TrxRler gelişmiş ökaryot hücrelerde bulunur (Lennon, Williams Jr ve Ludwig, 2000). Memeli hücrelerinde sitozolik TrxR1, mitokondriyal TrxR2 ve testis spesifik tiyoredoksin redüktaz (TrxR3) olmak üzere üç TrxR formu bulunmaktadır (Bkz. Çizelge 2.4) (Lu ve Holmgren, 2014).

Çizelge 2.4. Tiyoredoksin sisteminin bileşenleri ve majör fonksiyonları (Xie ve diğerleri, 2019)'den uyarlanmıştır

Bileşen	İzorform	Dağılım	Fonksiyon
Trx	Trx1	Sitoplazma, çekirdekte	antioksidan, antiapoptotik, sinyal iletimi, antienflamatuar, immünomodülasyon, gen regülasyonu, kemokin benzeri aktivite
	Trx2	Mitokondri	Redoks homeostazını korumak, apoptozu önlemek
	Trx3	Memeli spermlerinin ve spermatitlerinin golgi aparatları	Yeni bir sperm postobstrüksiyon otoantijeni
TrxR	TrxR1	Sitozol	Trx'in katalitik indirgenmesi, hücre proliferasyonu, antioksidan fonksiyon, redoks sinyalleşmesi
	TrxR2	Mitokondri	
	TrxR3	Testis	
NADPH			Trx için elektron donörü
TXNIP			Trx1'in inhibe edilmesi; apoptozu organize etmek

Trx1'in katalitik aktivitesi ve yapısı, sistein kalıntılarının oksidasyonu ve S-nitrozilasyonu yoluyla düzenlenir (Björklund, Zou, Wang, Chasapis ve Peana, 2021). Trx'in TrxR tarafından indirgenmesi iki aşamalı tiyol-disülfid değişim mekanizmasından oluşur (Nakamura, Nakamura ve Yodoi, 1997). İlk olarak Trx sisteminde indirgenmiş substrattan (NADPH) sağlanan indirgen ajanlar TrxR enziminin prostetik grubu olan FAD aracılığıyla Trx'e aktarılır. Trx'in indirgenmiş ditiyol formu, disülfid grubu içeren okside proteinleri indirger (Li ve diğerleri, 2012). Okside sistein gruplarının indirgenmesiyle proteinlerin yapısal ve fonksiyonel modifikasyonu sağlanır (Balsera ve Buchanan, 2019; Nakamura ve diğerleri, 1997). Sonrasında ise okside Trx formu TrxR tarafından NADPH'dan sağlanan elektronlar ile indirgenerek sıklusa geri katılır (Bkz. Şekil 2.6) (Schürmann ve Buchanan, 2008).



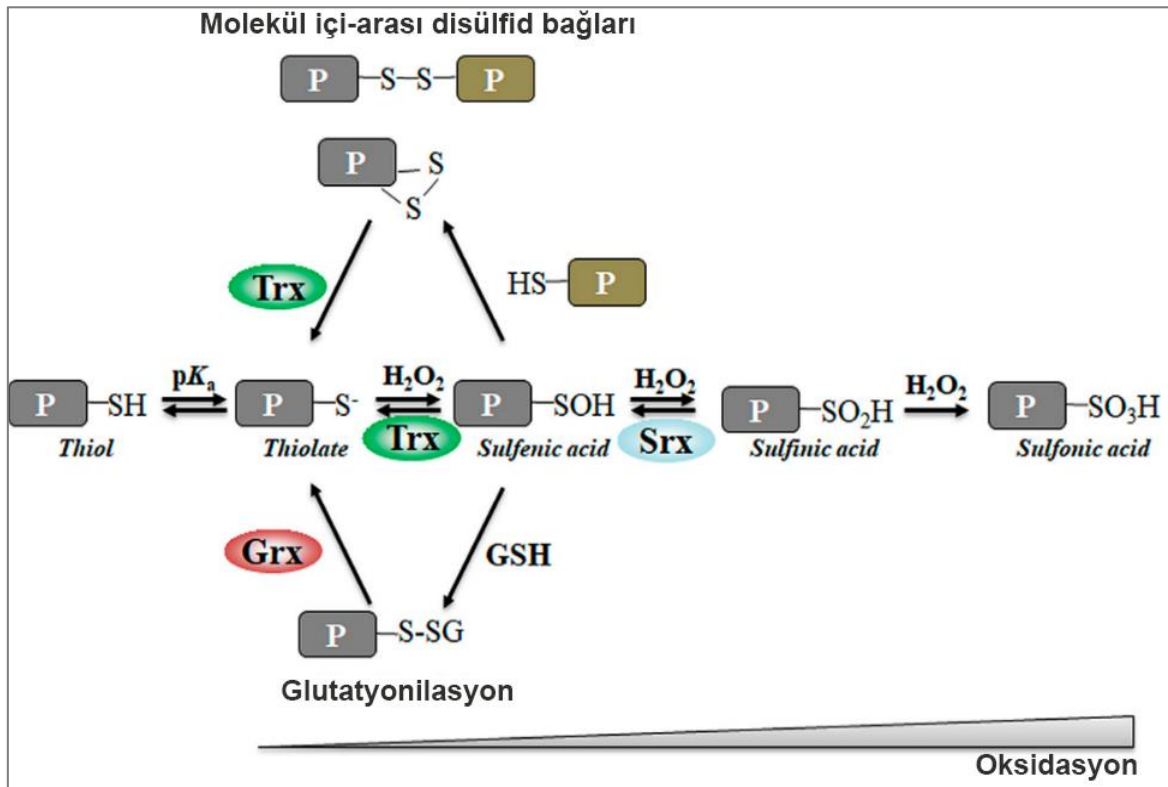
Şekil 2.6. Tiyoredoksin sistemi (Nagarajan ve diğerleri., 2017)’dan uyarlanmıştır

2.9.2. Tiyoredoksin 1 (Trx1)’in antioksidan rolleri ve etkilediği yollar

Trx1, sistein kalıntıları indirgeme kapasitesi sayesinde hedef proteinlerin yapısını ve işlevini değiştirebilir. Trx1, transkripsiyon faktörleri ve diğer sinyal molekülleri dahil olmak üzere birçok protein ile etkileşime girerek hücrel işlevleri düzenler. Bunlar, oksidatif stresi engellemek, gen transkripsiyonu, hücre büyümesi, hücre yaşamı ve ölümü ile protein kalite kontrolünü içerir. Trx1, embriyo büyümesi, gelişimi ve hayatta kalma için hayati bir öneme sahiptir (Nagarajan ve diğerleri, 2017).

Disülfid bağlarının oluşumu ve kopması metabolik süreçlerin düzenlenmesi ve egemen redoks ortama uyum sağlamak için anahtar roldedir. Trx, hücrede proteinlerin disülfid bağlarının indirgenmesini sağlayarak hücrel fonksiyonlarının düzenlenmesini sağlamaktadır (Björklund ve diğerleri, 2021). Artan ROT konsantrasyonu proteinlerdeki sistein tiyol/tiyolat gruplarının oksidasyonuna neden olarak sırasıyla Şekil 2.7’de özetlendiği üzere sülfenik asit, sülfenik asit ve geri dönüşümsüz olarak sülfonik asit oluşumuna yol açar.

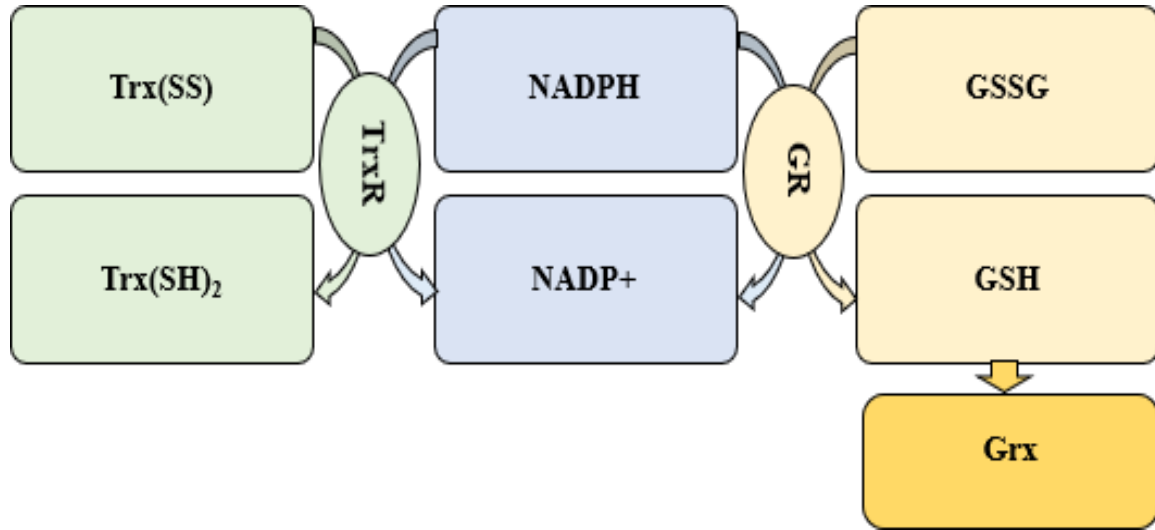
Oluşan sülfenik asit başka bir tiyol ile reaksiyona girerek hücre içi/arası disülfidler oluşturabilir veya glutatyon (GSH) ile reaksiyona girerek, glutatyon-protein disülfidler oluşturabilir (Balsera ve Buchanan, 2019). Proteinlerde meydana gelen geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz oksidatif modifikasyonlar protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirmektedir. Bu oksidatif modifikasyonlar intra-protein disülfid bağlarına özgül Trx veya GSH-protein disülfidlere yüksek özgülüğe sahip Grx ile geri dönüştürülebilmektedir (Bkz. Şekil 2.7) (Balsera ve Buchanan, 2019; Bjørklund ve diğerleri, 2021).



Şekil 2.7. Proteinlerde sisteinin oksidatif modifikasyonu (Balsera ve Buchanan, 2019)
Protein (P), tiyol/tiyolat (SH/S⁻), sülfenik asit (SOH), sülfenik asit (SO₂H), sülfonik asit (SO₃H), glutatyonilasyon; SSG, sülfiredoksin (Srx)

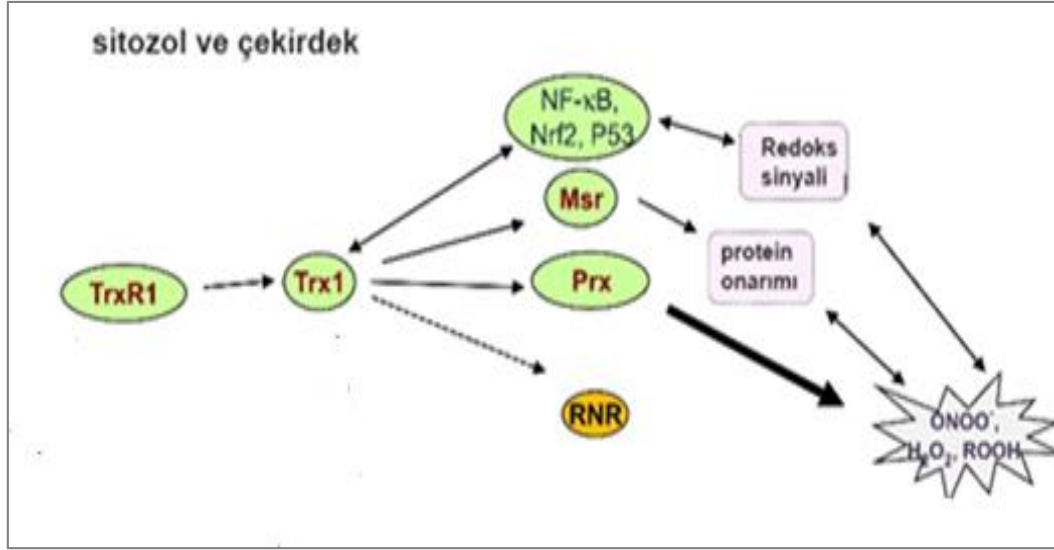
Tiyol redoks homeostazisini sürdürmede görevli olan Trx ve Grx'in özgül olduğu disülfid bağları dışında indirgenme mekanizmaları da farklılık gösterir. Trx doğrudan tiyoredoksin redüktaz (TrxR) ve NADPH ile redüksiyona uğrarken, Grx ise GSH ile indirgenir. Oluşan okside olmuş GSH daha sonra glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH aracılığı ile indirgenir (Bkz. Şekil 2.8) (Lillig ve Holmgren, 2007). Hücrede tiyol redoks dengesini sağlayan Trx ve Grx sistemlerinin her ikisi de elektron sağlayıcısı olarak NADPH' kullanmaktadır (Arodin, Miranda-Vizuet, Swoboda ve Fernandes, 2014) (Bkz. Şekil 2.8). Hücresel

oksidatif stresin aşırı seviyelere ulaştığı durumlarda NADPH, sırasıyla GSH peroksidaz ve TrxR gibi antioksidan enzimler tarafından oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) ve Trx-S2'nin indirgenmesi için hızla tüketilebilir. Oksidatif stresin aşırı arttığı durumlarda NADPH'nin aşırı derecede tüketimi bu sistemlerin işleyişinin bozulmasına yol açabilmektedir (Yang, Lin, Huang, Shen ve Chen, 2024).



Şekil 2.8. Tiyoredoksin ve glutatyon antioksidan sistemleri

Trx1, okside proteinlerin indirgemensinin yanı sıra indirgeyici ribonükleotit redüktaz (RNR), peroksiredoksinler (Prx) ve metiyonin sülfoksit redüktazların (Msr) enzimlerinin rejenerasyonu için elektron sağlayıcısı olarak işlev görür (Harris-Gauthier ve diğerleri, 2022; Michelet, Zaffagnini ve Lemaire, 2009). RNR enzimi organizmada DNA sentezi için gerekli ribonükleotitlerin, deoksiribonükleotitlere indirgenme reaksiyonu katalize edilir. İndirgenmiş halde bulunan Trx1 ditiyol-disülfür değişim reaksiyonları ile elektronlarını RNRye transfer ederek indirgenmesini sağlamaktadır (Lillig ve Holmgren, 2007; Miller, Holmgren, Arnér ve Schmidt, 2018) (Bkz. Şekil 2.9). Okside Trx1 konsantrasyonunun artması RNR enziminin aktivitesini engelleyerek DNA sentezi ve onarımında aksaklıklara yol açabilmektedir.



Şekil 2.9. Trx1 ve antioksidan etkileri (Lu ve Holmgren, 2014)

Peroksiredoksinler (Prx), Trx1 tarafından sağlanan elektronları kullanarak ROT'ların indirgenmesini katalizlemektedir (Michelet ve diğerleri, 2009). Trx1 sitozol ve çekirdekte, hidrojen peroksiti veya organik peroksitleri nötralize eden Prxlerin indirgenmesini ve geri dönüşümünü sağlayarak oksidatif stresi dolaylı olarak azaltmaktadır (Harris-Gauthier ve diğerleri, 2022) (Bkz. Şekil 2.9). Metiyonin sülfoksit redüktazlar (Msr), elektronlarını Trx'den sağlayan diğer antioksidan enzimlerdendir. Serbest veya proteine bağlı bulunan metiyonin oksidatif stres altında "metiyonin sülfoksit"e oksitlenebilir ve protein işlevi etkilenebilir. Protein onarımında görev alan Msr enzimleri, Trx1'e bağımlı olarak proteinlerdeki "metiyonin sülfoksit" kalıntılarını indirgeyerek stabiliteyi sağlar (Dagnell, Schmidt ve Arnér, 2018; Lu ve Holmgren, 2014) (Bkz. Şekil 2.9).

Oksidatif stresin Trx ekspresyonu ve aktivitesi üzerindeki etkisi, çeşitli mekanizmalar yoluyla ortaya çıkabilir. Oksidatif stres, antioksidan tepkinin önemli bir düzenleyicisi olan Nrf2'yi aktive ederek Trx ve TrxR genlerinin transkripsiyonunu indükleyebilir. Nrf2, Trx ve TrxR genlerinin promotör bölgelerindeki antioksidan yanıt elemanına bağlanarak bunların ekspresyonunu uyarır. Bu fenomen tipik olarak Trx'in indirgeme yeteneğinin yeterli olduğu oksidatif stresin ve meydana gelen oksidatif stresin telafi edilebildiği hafif oksidatif stres koşullar altında meydana gelir (Yang ve diğerleri, 2024). Trx1 ayrıca NF-κB, aktivatör protein 1 (AP-1), veya p53 gibi birçok transkripsiyon faktörünün sinyalizasyonunun düzenlenmesinde de rol oynar (Lillig ve Holmgren, 2007; Yang ve diğerleri, 2024). Trx1, transkripsiyon faktörlerinin sistein rezidüeleri ile etkileşime girerek bu molekülleri indirger.

Böylece transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya bağlanması ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi sağlanır (Matthews, Wakasugi, Virelizier, Yodoi ve Hay, 1992) (Bkz. Şekil 2.9).

Trx1 transkripsiyon faktörlerini, ayrıca Trx'e duyarlı sinyal moleküllerden olan Apoptoz Sinyal Düzenleyici Kinaz-1 (ASK-1) gibi apoptoz faktörlerini düzenlemektedir. ASK-1, mitojenle aktiveleşen protein kinaz (MAPK) ailesinin bir üyesidir ve JNK ve p38 MAPK yollarının aktivasyonu yoluyla oksidatif stres koşullarında çeşitli hücrel tepkileri ortaya çıkarır. Trx, normal koşullar altında ASK-1'e doğrudan bağlanarak ASK-1 kinaz aktivitesini inhibe eder ancak oksidatif koşullar altında Trx ASK-1'den ayrılır ve ASK-1 aktivasyonuna neden olur böylelikle Trx ASK-1'in düzenleyici bir mekanizması olarak da oksidatif strese karşı görev alır (Katagiri, Matsuzawa ve Ichijo, 2010). Trx1'in redoks durumu ve etkinliği durumuna göre hücrede DNA sentezi, onarımı, redoks dengesi, apoptoz dahil olmak üzere çok çeşitli hücrel fonksiyonlar etkilenmektedir ve özellikle artmış ROT dengelenmesinde rol alarak hücreleri olumsuz etkilere karşı korumaktadır.

Oksidatif stres ayrıca Trx'in fonksiyonunu inhibe ederek negatif düzenleyicisi olarak görev yapan TXNIP arasındaki etkileşimi modüle edebilir. TXNIP'in ekspresyonunun artması NADPH oksidaz aktivitesini ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu teşvik ederek ROS ile pozitif bir geri bildirim döngüsü oluşturur. Sonuç olarak, oksidatif stres TXNIP seviyelerinde bir artışa yol açar, böylece Trx'e bağlanmayı arttırır, bu da Trx aktivitesinin azalmasına ve ROS üretiminin artmasına neden olur. Bu düzenleyici mekanizma ağırlıklı olarak, şiddetli oksidatif stres durumlarında Trx'in indirgeme gücünü oksidatif stresi telafi edemediğinde hücrel yaşlanmanın sürdürülmesi sırasında ortaya çıkar (Yang ve diğerleri, 2024).

2.9.3. Arseniğin Trx1 üzerine etkisi

Oksidatif stres, As zehirlenmesinin patogenezinin ana mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir. As maruziyeti reaktif oksijen türlerinin artmış üretimi, antioksidan yollarının inhibisyonu, antioksidan rezervlerin tükenmesine neden olarak ve hücrel hasar, inflamasyon ve apoptoz süreçlerini etkileyek toksik etkilere neden olmaktadır. Trx1, antioksidan özelliklere sahip olduğu için, As tarafından indüklenen oksidatif stresle

mücadelede rol oynayabilir. Trx1, okside olan proteinleri indirgeyebilir ve hücreleri oksidatif hasardan korumaya yardımcı olabilir.

Arsenik (III) metiltransferaz (AS_3MT), metil donörü olarak S-adenosil-l-metiyonin kullanarak bir metil grubunun üç değerlikli arseniklere transferini katalize ederek iAs metabolizasyonunu katalize eder. As metilasyon kapasitesi oksidatif stres ile bağlantıdır ve AS_3MT enzimi tarafından katalize edilen biyotransformasyonda Trx1'e ihtiyaç vardır (Li ve diğerleri, 2012). Her oksidatif metilasyondan sonra enzimin indirgenme kapasitesi, Trx veya GSH tarafından sağlanır (Roggenbeck ve diğerleri, 2019) (Bkz Şekil 2.1). As metabolizması süreçlerinde Trx1'in rol oynadığı ve aynı zamanda oksidatif stresin azaltılmasında bu proteinin etkili olabileceği öne sürülmüştür.

Ayrıca, TrxR1 inhibisyonunun As'in sitotoksik etkilerini ortaya çıkmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2015). Arsenik trioksit (As_2O_3 , ATO), özellikle akut promiyelositik lösemi'de olmak üzere kanser tedavisinde yardımcı olarak bilinen bir inorganik bileşiktir (Sodhi ve diğerleri, 2019). TrxR1, ATO'nun başlıca bir hedefi olup enzimin inhibisyonuna neden olmaktadır ve ATO tarafından indüklenen apoptotik hücrelerde Trx1'in redoks durumu değişmektedir. Bu durumun kanser tedavisinde kullanılan ATO'nun tedavi temelini oluşturduğu düşünülmektedir (Zhang ve diğerleri, 2015). Arsenik bileşiği olan ATO ile ilgili tedavi stratejilerinde Trx1 fonksiyonu önem arz etmektedir. Ancak, bu konular üzerindeki araştırmalar devam etmektedir ve moleküler detayların daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

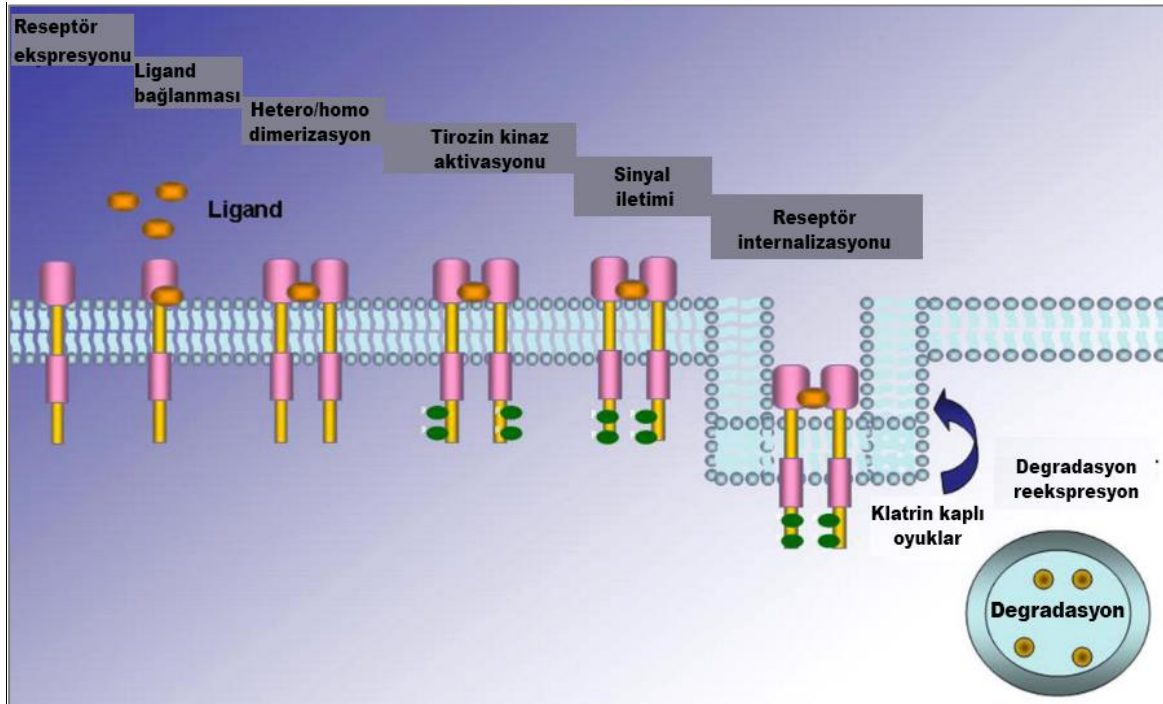
Trx1 seviyeleri ile As mauziyeti arasındaki ilişkiye araştıran bir çalışmada hem su ile alınan toplam As miktarı hem de idrardaki As türleri seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon gözlemlenmiş ve özellikle arsenikozis gelişen bireylerde serum Trx1 seviyeleri belirgin şekilde yüksek bulunmuştur (Li ve diğerleri, 2012). Özetle As ve Trx1 arasındaki ilişki, As metabolizması ve hücrel redoks dengesinin düzenlenmesine dayanmaktadır. Trx1, As ile ilişkili oksidatif stresin önlenmesine ve hücrelerin redoks homeostazını sürdürmesine yardımcı olabilir. Ayrıca As bileşiği olan ATO ile ilgili tedavi stratejilerinde Trx1 fonksiyonu önem arz etmektedir. Ancak, bu konular üzerindeki araştırmalar devam etmektedir ve moleküler detayların daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

2.10. Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR)

2.10.1. EGFR yapısı ve aktivasyon mekanizması

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), hücre büyümesi, bölünmesi, farklılaşması ve göçü gibi birçok fonksiyonda görev alan HER (c-erB) reseptör tirozin kinaz ailesinden bir transmembran reseptörüdür. EGFR 7p12 kromozomu üzerinde bulunan c-neu geni tarafından kodlanır (Ceresa ve Peterson, 2014; Gonzalez-Conchas ve diğerleri, 2018). EGFR, epitelyal, mezenkimal ve nöronal kökenli türetilmiş dokularda eksprese edilir ve hücre büyümesinde, cildin epitel katmanları, akciğerler, karaciğer ve bağırsaklar gibi dokuların yenilenmesinde, erken embriyonik gelişimde önemlidir (Normanno ve diğerleri, 2006; Venkataraman ve Frieman, 2017).

Deri keratinositlerinde EGFR aktivasyonu, yara iyileşmesi için gerekli olan hücre çoğalmasına, göçüne ve hücre sağ kalımını sağlar. Akciğerlerde ve bağırsakta EGFR sinyalleri hücre dönüşümünü ve mukus üretimini kontrol etmede rol oynar (Venkataraman ve Frieman, 2017). Ayrıca EGFR, epitelyal hücrelerin ve epitelyal hücre kaynaklı tümörlerin davranışını yönlendiren sinyalizasyonun başlatılmasında etkilidir (Ceresa ve Peterson, 2014).



Şekil 2.10. EGFR aktivasyon aşamaları (Capdevila ve diğerleri, 2009)

EGFR aktivasyonundaki ilk adım, bir ligandın reseptör tarafından tanınmasıdır. Epidermal büyüme faktörü (EGF), Transforme büyüme faktörü alfa (TGF- α), amphiregulin (AR), epiregulin (EREG), heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF), epitel mitojen veya epigen (EPGN) ve betacellulin (BTC) olmak üzere bilinen yedi EGFR ligandı vardır (Venkataraman ve Frieman, 2017). EGFR, otokrin veya parakrin sekresyon ile üretilen EGFR ligandlarının bağlanmasıyla aktive edilir (Normanno ve diğerleri, 2006). EGFR aktivasyonu, EGFR'nin dimerizasyonuna yol açan bir konformasyonel değişikliğe neden olur. Reseptör dimerizasyonunun ardından intrinsik protein tirozin kinaz aktivitesiyle tirozin otofosforilasyonu meydana gelir. Bu da hücre içi mitojenik sinyalleri ve diğer hücreyel aktiviteleri başlatır. EGFR'nin aktivasyonu, ayrıca, klatrin kaplı girintilerde endositoza yol açarak reseptör internalizasyonunu tetikler. İnternalize olmuş reseptörler endozomal bölmeler içinde parçalanır ya da geri dönüştürülür ve hücre yüzeyine geri döndürülür (Bkz. Şekil 2.10) (Capdevila ve diğerleri, 2009).

2.10.2. Karsinogenezis ve EGFR arasındaki ilişki

EGFR'nin aktivasyonu proliferasyon, anjiyogenez, metastaz ve apoptozun inhibisyonu dahil olmak üzere tümör büyümesinden ve ilerlemesinden sorumlu olan süreçleri etkilemektedir (Ciardiello ve Tortora, 2008). EGFR, malign transformasyonda, kanser kök hücrelerinin ve çeşitli kanser türlerinin patogenezinde ve ilerlemesinde kritik rol oynamaktadır (Fitzgerald ve diğerleri, 2015; Normanno ve diğerleri, 2006). EGFR'nin aktivasyonu sonrasında sitoplazmik tirozin kinaz otofosforilasyonu sonucu daha sonraki kademeler olan (i) ras/mitojenle aktive protein kinaz (MAPK), (ii) fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3-K)/AKT ve (iii) JAK/STAT yolu olmak üzere üç ana sinyal ağı uyarılır. Bunlar hücre çoğalması, proliferasyonu, apoptozun inhibisyonu, hücre büyümesinde etkilidirler ve bu yolların aktive edilmesi tümör gelişimini desteklemektedir (Ciardiello ve Tortora, 2008). Bu yolları düzenleyen birçok gende ve mikroRNA'larda meydana gelen mutasyonlar ve genetik değişiklikler, kanser hücrelerinde bu yolları ve sinyalizasyon bileşenlerini etkileyerek anormal ekspresyona yol açabilir (Fitzgerald ve diğerleri, 2015).

Normal hücrelerde EGFR'nin ekspresyonu, hücre başına 40.000 ila 100.000 reseptör arasında değişir. Buna karşılık EGFR, meme kanseri, baş-boyun kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, böbrek kanseri, yumurtalık kanseri ve kolon kanseri dahil olmak üzere tümörlerin çoğunda aşırı eksprese durumdadır. Aşırı ekspresyon; daha agresif büyüme

ve istilacı özelliklere sahip hücrelere neden olacak şekilde, yoğun sinyal üretimi ve daha sonraki sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde yapılan çalışmalar, vakaların %40 ile %80'inde EGFR'nin sürekli olarak aşırı eksprese edildiği ve çoğu epitelyal tümörde, hücre yüzeyleri yüksek seviyelerde EGFR bulunduğu bilinmektedir (Bethune, Bethune, Ridgway ve Xu, 2010; Herbst, 2004). Çeşitli kanser türlerinde EGFR'nin aşırı ekspresyonuna ilişkin yaklaşık oranlar Çizelge 2.5'te yer almaktadır.

Çizelge 2.5. Çeşitli kanser türlerinde EGFR'nin aşırı ekspresyonu (Yewale, Baradia, Vhora, Patil ve Misra, 2013)

	Tümör Tipi	EGFR ekspresyonu (%)
1	Baş ve Boyun	80-100
2	Meme	14-91
3	Böbrek	50-90
4	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri	40-80
5	Kolon	22-75
6	Yumurtalık	35-70
7	Glioma	40-63
8	Pankreas	30-50
9	Mesane	31-48

Çeşitli tümör tiplerinde yüksek EGFR ekspresyon düzeylerinin agresif hastalıklar, tedaviye zayıf yanıt ve sitotoksik ajanlara direnç gelişimi ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Capdevila ve diğerleri, 2009). Ayrıca kanser tedavisinde EGFR'nin anormal aktivasyonunu engellemek için EGFR'nin tirozin kinaz inhibitörleri kullanılmaktadır (Bethune ve diğerleri, 2010).

2.10.3. Arseniğin EGFR üzerine etkisi

As maruziyeti, hücre içinde ROT üretimini artırmasıyla hücre sinyal iletimini ve yolaklarını etkileyebilir, protein tirozin fosfatazları inhibe ederek EGFR'nin fosforilasyon sürecini uzatabilir ve EGFR gen ekspresyonunu indükleyebilir. As ve EGFR arasındaki çeşitli etkileşimler, hücre büyümesi, hayatta kalması, kanser oluşumu ve gelişimi üzerinde etkiler oluşturmaktadır (Soza-Ried ve diğerleri, 2019).

As'ın kanserojen etkilerine tirozin kinaz reseptörleri özellikle EGFR'nin aracılık ettiği düşünülmektedir (Bode & Dong, 2002). As maruziyetiyle artan oksidatif stres koşullarında

hücrede meydana gelen aktivite değişiklikleri, EGFR'nin hücreSEL yanıtını etkilemektedir. ROT ve diğer serbest radikal türlerinin üretimi, EGFR'nin temel aktivasyonu olan Ras/Raf/MEK/ERK sinyalizasyonunun indüklenmesine ve hücre çoğalması, göç ve sağ kalımında aktivasyona yol açmaktadır (Soza-Ried ve diğerleri, 2019). As maruziyetinin özellikle insan solunum yolu epitel hücrelerinde, hücreSEL büyümenin düzenlenmesi ile ilgili gen ekspresyonuna aracılık eden EGFR-ERK (hücre dışı sinyal düzenleyici protein kinaz) sinyal yolunu aktive ettiği bulunmuştur (Andrew ve diğerleri, 2009). Yapılan bir çalışmada As'ın insan üroepitel hücre hattında EGFR/ERK yolağını aktive edebildiği belirtilmiş ve içme suyu ile As'e maruz bırakılan farelerde EGFR ve ERK aktivasyonunun indüklendiği bildirilmiştir (Simeonova, Wang, Hulderman ve Luster, 2002). EGFR ve ERK sinyal yolları, kanser gelişimi ve ilerlemesiyle sıkça ilişkilendirilmektedir ve As maruziyetinin bu sinyal yolları üzerindeki etkisi aracılığıyla kanser riskini artırabileceği düşünülmektedir.

Normal koşullarda hücre çoğalması, büyümesi ve sağ kalımı ile ilgili intraselüler sinyal yollarından olan PI3K/AKT yolu, EGFR aktivasyonu ile sinyal iletimini sağlayarak sinyalizasyon kaskadı sonucunda hedef proteinin aktivasyonunu sağlar (Templeton, Miyamoto, Babu, Munshi ve Ramesh, 2014). As(III), PI3K/AKT yolunun inhibisyonunu sağlayan bir fosfataz olan PTEN'in etkisini baskılamaktadır (Hubaux ve diğerleri, 2012). Bu durum PI3K/AKT yolunun indüklenmesine, hücre siklusunun durmasını sağlayan p53'ün inhibisyonuna ve sonucunda hücre proliferasyonu, apoptoz inhibisyonu, anjiyogenez, protein sentezi ve gen transkripsiyonu gibi tümörjeneseze katkıda bulunan çeşitli işlemlere yol açabilmektedir (Soza-Ried ve diğerleri, 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

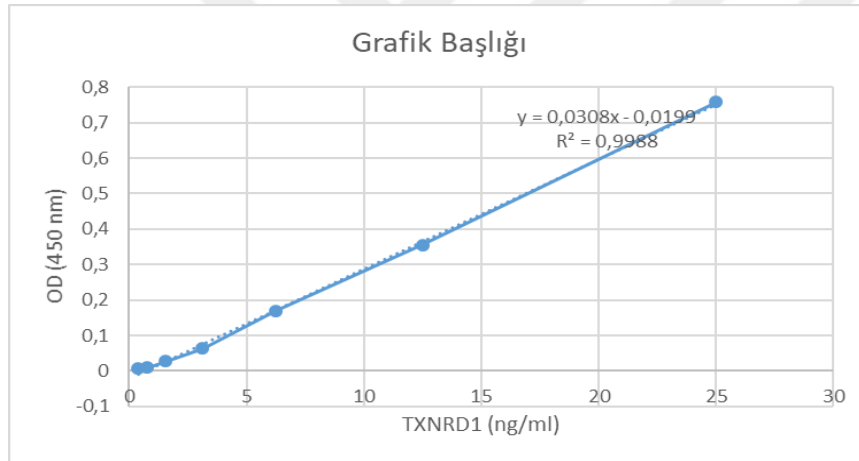
3.1. Çalışma ve Kontrol Grubunun Seçimi

Nevşehir kent sınırları içerisinde yaşayan ve içme suyu yoluyla düşük ve orta düzeylerde kronik As maruziyeti olan bireylerde maruziyet (idrara ve saçtaki As konsantrasyonları), etki (lenfosit ve epitel hücrelerde mikroçekirdek) ve duyarlılık (GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTO1 ve AS₃MT genetik polimorfizmleri) biyogöstergelerini ve içme suyu As düzey ölçümelerini kapsayan bir saha çalışması, 2010- 2014 yılları arasında yürütülmüştür. (İçme Sularında Arsenik Kirliliği Olan Bölgelerde Yaşayan Bireylerdeki Sağlık Risklerinin Moleküler Epidemiyolojik Yöntemlerle Araştırılması, TÜBİTAK Proje no:109S419SBAG-109S419). Bu proje yürütülürken alınan kan örneklerinin serumları ayrılmış ve -80 °C’de muhafaza edilmiştir. Bu tez çalışmasında; söz konusu örneklerden kontrol ve çalışma gruplarına dahil edilen bireyler, yaş ve cinsiyet yönünden birbiri ile uyumlu Trx1 ve EGFR seviyelerini etkileyebilecek herhangi bir hastalığı bulunmayan bireylerden rastgele seçilmiştir.

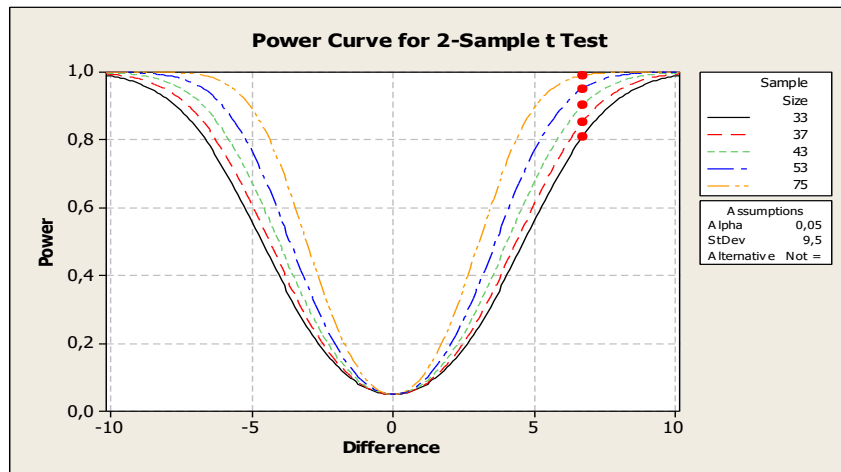
Serum Trx1 ölçümü için $>50\mu\text{g/l}$ As konsantrasyonunda içme suyunu kullanan bireyler (çalışma grubu; $n=10$) ile içme suyunda izin verilen As konsantrasyonu olan $<10\mu\text{g/l}$ konsantrasyonunda içme suyunu kullanan bireylerde (kontrol grubu; $n=10$) örneklem analizi yapılabilmesi için ön çalışma yapılmıştır, elde edilen sonuçlar Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1’de yer almaktadır. Serum Trx1 seviyesinin çalışma grubu ve kontrol grubundaki ölçüm farkları incelenerek, ön çalışmadan elde edilen ortalama ve standart sapma sonuçları değerlendirilmiştir. İki grubun arasındaki ortalama fark minimum 6.73 olduğunda anlamlı farklılık olduğu kabul edilmiştir. Minitab 16.0 programı kullanılarak yapılan örneklem analizinde; çalışmada elde edilen standart sapma maksimum değeri 9.50 olarak kabul edildiğinde %95 güven düzeyinde ($\alpha=0.05$) ve %95 güçte her grupta alınması gereken ve analize dahil edilebilecek en az örnek sayısı 53 olarak bulunmuştur (Bkz Şekil 3.2). Buna göre tez çalışmamızda serum Trx1 seviyesini ölçmek amacıyla çalışma grubu içme suyu As konsantrasyonu $>50\mu\text{g/l}$ olan Dadağı, Küçükayhan ve Emmiler köyünde yaşayan bireylerden ($n=63$), kontrol grubu ise içme suyu As konsantrasyonu $<10\mu\text{g/l}$ olan Civelek, Alkan, Eski Yaylacık ve Altıpınar ($n=65$) köylerinde yaşayan bireylerden seçilmiştir.

Çizelge 3.1. Trx1 örneklem analizi çalışması konsantrasyonları

örneklem analizi için yapılan ön çalışmaya dahil edilen bireylerdeki TRX1 ölçümleri			
örnek numarası	kontrol grubu (ng/mL)	örnek numarası	çalışma grubu(ng/mL)
630	24,83442	59	25,28896
611	25,41883	62	32,46429
628	35,79221	63	23,60065
627	42,59416	66	20,07792
635	28,21104	67	32,35065
623	27,20455	68	21,71753
636	25,22403	58	43,30844
626	24,46104	65	41,26299
616	23,74675	69	46,99351
661	34,76948	22	28,63312



Şekil 3.1. Trx1 örneklem analiz çalışması regresyon grafiği



Şekil 3.2. Trx1 örneklem çalışması sonuçları

Serum EGFR ölçümü için $>50\mu\text{g/l}$ As konsantrasyonunda içme suyunu kullanan bireyler (çalışma grubu; $n=40$) ile içme suyunda izin verilen As konsantrasyonu olan $<10\mu\text{g/l}$ konsantrasyonunda içme suyunu kullanan bireylerde (kontrol grubu; $n=40$) örneklem analizi yapılabilmesi için ön çalışma yapılmıştır. Serum EGFR seviyesinin çalışma grubu ve kontrol grubundaki ölçüm farkları incelenerek, ön çalışmadan elde edilen ortalama ve standart sapma sonuçları değerlendirilmiştir. İki grubun arasındaki ortalama fark minimum 101 olduğunda anlamlı farklılık olduğu kabul edilmiştir. Minitab 16.0 programı kullanılarak yapılan örneklem analizinde; çalışmada elde edilen standart sapma maksimum değeri 302 olarak kabul edildiğinde %95 güven düzeyinde ($\alpha=0,05$) ve %95 güçte her grupta alınması gereken ve analize dahil edilebilecek en az örnek sayısı 234 olarak bulunmuştur. As maruziyeti olan bireylerde serum EGFR seviyelerinin artıp artmadığını değerlendirmek amacıyla Tayvan'da 100 karaciğer kanseri hastası ve yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 100 kontrol bireyi arasında serumdaki EGFR seviyeleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Çalışma sonucunda hasta bireylerde daha yüksek EGFR seviyeleri bulunmuştur. Yine bu çalışmada As endemik bölgede yaşayan 22 hasta ile bu bölge dışında yaşayan yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 22 hastayı karşılaştırıldığında endemik bölgeden gelen hastaların daha yüksek EGFR seviyeleri tespit edilmiştir (Sung, Wang, Chen, Hung ve Guo, 2012). Örneklem analizinde tespit edilen sayı fazla olduğundan ve bütçemizin yetersiz gelmesi sebebi ile örnek çalışmalara bakılmıştır ve her bir grupta 100 örnek sayısı ile çalışmaya karar verilmiştir. Bu tez çalışmasında serum EGFR seviyesini ölçmek için içme suyu As konsantrasyonu $>50\mu\text{g/l}$ olan Dadağı, Küçükayhan, Emmiler, Gülpınar köyünde yaşayan bireyler ($n=100$) çalışma grubu olarak ve $<10\mu\text{g/l}$ olan Civelek, Alkan, Eski Yaylacık, Altıpınar ($n=99$) kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Araştırmaya katılan tüm bireylere gönüllü onam formları imzalatılmış, yaş, cinsiyet, sigara, Tip II diyabet ve hipertansiyon öyküsü, ikamet süresi gibi parametreleri içeren anket formlarının doldurulması sağlanarak bireylerin temel özelliklerine ilişkin veriler elde edilmiştir. Tez çalışmasındaki içme suyu As konsantrasyonları, bireylere ait idrar total As ve As türleri, DMA/MMA oranı, saç örneklerindeki total As düzeyleri, dermal bulgular için TÜBİTAK projesinde (Proje no:109S419SBAG-109S419) yer alan veriler kullanılmıştır. Söz konusu proje kapsamında alınan idrar örnekleri analizinde organik As bileşiklerinin katkısını önlemek için bireylerden idrar örneği toplanmadan önceki hafta deniz ürünleri yenmemesi istenmiştir. İdrar örnekleri toplandıktan hemen sonra refraktometre ile spesifik gravite değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. İdrar As konsantrasyonlarının spesifik gravite

değerlerine göre düzeltilmesinde, idrar As düzeyi $\times (1.012-1)$: ölçülen SG-1 formülü kullanılmıştır. Araştırmamıza dahil edilen bireylere ait idrar örneklerinde bu elde edilen düzeltilmiş toplam As ve As metabolitleri değerleri kullanılmıştır. Ayrıca içme suyu kaynaklarının ve bireylerin tüketim sürelerinin çeşitliliği nedeniyle bireylerde As maruziyetinin bir ölçütü olarak zaman ağırlıklı içme suyu As konsantrasyonları kullanılmıştır ve her birey için zaman ağırlıklı içme suyu As konsantrasyonları $(TWA-As-\mu g/l), (\sum C_i \times T_i / \sum T_i; C_i = \text{şebeke, çeşme ya da özel kuyudaki As konsantrasyonu}; T_i = \text{su içme süresi})$ formülü ile her birey için hesaplanmıştır (Proje no:109S419SBAG-109S419).

3.2. Çalışma ve Kontrol Grubunda serum Trx1 Analizi

3.2.1. Analiz için kullanılan materyaller ve aletler

Analiz için “Abcam / ab192150 – Thioredoxin Reductase 1 (TXNRD1) Human SimpleStep ELISA Kit” kullanılmıştır.

- 10X TXNRD1 Capture Antibody (Abcam)
- 10X TXNRD1 Detector Antibody (Abcam)
- TXNRD1 Human Lyophilized Recombinant Protein (Abcam)
- Antibody Diluent CPI (Abcam)
- 10X Wash Buffer PT (Abcam)
- 5X Cell Extraction Buffer PTR (Abcam)
- TMB Substrate (Abcam)
- Stop Solution (Abcam)
- Pre-Coated 96 Well Microplate (12x8 well strips) (Abcam)
- Plate Seal (Abcam)
- Deiyonize Su
- Çalkalayıcı
- Santrifüj aleti
- Mikroplate okuyucu (450 nm-600 nm)
- Çoklu ve tek kanallı pipet
- Pipet ucu
- Kapaklı plastik kap
- Deney tüpü

- Tüplük
- Eldiven
- Absorbent kağıt
- Alüminyum folyo

3.2.2. Reaktiflerin hazırlanması

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirilir. Her ELİSA kiti 96 kuyucuk içermektedir. Aşağıda verilen reaktiflerin hacim hesaplamaları 48 kuyucuk sayısına göre yapılmıştır (6x8 kuyucuk şeriti). Analizde kullanılacak şerit sayılarına göre gerekli reaktif çözeltilerin hacim ayarlamaları yapılmıştır.

1X Cell Extraction Buffer PTR

8.0 ml deiyonize su ve 2 ml 5X Cell Extraction Buffer PTR karıştırılarak 10 ml 1X Cell Extraction Buffer PTR hazırlanmıştır.

1X Wash Buffer PT

10X Wash Buffer PT, deiyonize su ile dilüe edilerek 1X Wash Buffer PT hazırlanmıştır. 5 ml 10X Wash Buffer, 45 ml deiyonize su ile homojen olarak karıştırılarak 50 ml 1X Wash Buffer PT hazırlanmıştır.

Antibody Cocktail

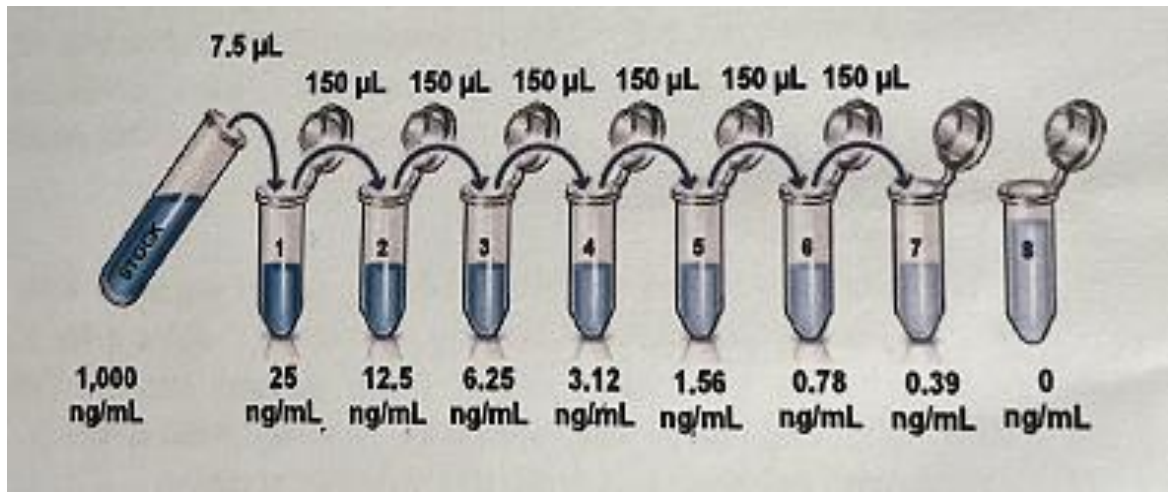
Antikor karışımı hazırlamak için capture ve detector antikorları Antibody Diluent CPI içinde dilüe edilmiştir. 300µl 10X Capture Antibody, 300 µl 10X Detector Antibody 2,4 ml Antibody Diluent CPI ile homojen olarak karıştırılarak 3 ml antikor karışımı hazırlanmıştır.

3.2.3. Standartların hazırlanması

Seri olarak seyreltilmiş standartlar kullanımdan hemen önce ve her kullanım için yeni bir pozitif kontrol serisi olarak hazırlanmıştır.

Çift ölçümler için standart bir eğri hazırlanışı aşağıdaki basamaklara göre yapılmıştır.

1. TXNRD1 standart örneği pipet ile 500 µl su ekleyerek hafifçe karıştırılarak ve homojen olacak şekilde çözündürülür. 3 dk oda sıcaklığında karıştırılmaya devam edilir. Hazırlanan solüsyon '1,000ng/ml Stok Standart Çözelti'dir.
2. Tüpler 1'den 8'e kadar numara verilerek etiketlenir.
3. 1 numaralı tüpe 292,5 µl 1X Cell Extraction Buffer PTR, 2-8 numaralı tüplere 150µl 1X Cell Extraction Buffer PTR eklenir.
4. Hazırlanan Stok Standart kullanılarak Şekil 3.3'te belirtilen şekilde dilüsyon serisi hazırlanır. Standart 8 kör kontroldür.



Şekil 3.3. Trx1 standartların hazırlanması

3.2.4. Serum örneklerinin hazırlanması

Analizi yapılacak numuneler, oda sıcaklığına getirilmiş 30 µl serum numunesinin 120 µl 1X Cell Extraction Buffer PTR ile 1/5 oranında dilüe edilmesiyle hazırlanmıştır.

3.2.5. Deney prosedürü ve analiz işlemi

ELISA veya enzim bağlantılı immünosorbent testi, biyokimya ve immünoloji alanında yaygın olarak kullanılan bir analitik tekniktir. Biyolojik örneklerde proteinler, hormonlar ve antikorlar gibi çok çeşitli analitleri saptamak ve ölçmek için kullanılabilen hassas ve spesifik bir testtir. Bir ELISA deneyinde, capture antibody tipik olarak ilgilenilen analite özgüdür ve bir mikropłaka kuyusunun yüzeyi üzerinde immobilize edilir. Analiti içeren numune veya standart eklendiğinde Capture Antibody'e bağlanır. Bağlanmayan malzeme yıkanır ve mikropłate kuyularına yine analite özgü olan bir rapörtör konjuge detector antibody eklenir.

Detector Antibody, halihazırda Capture Antibody'ye bağlı olan analite bağlanarak bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin tamamı (Capture antibody/analit/detector antibody), kuyuyu kaplayan bir anti-tag antikorunun immünoafinitesi yoluyla immobilize edilmiş olur.

Deney prosedüründe örnekler ve standartların mikrolaka kuyularına eklenmesini takiben antikor karışımı eklenir. İnkübasyon işlemi sonrası, yıkama işlemi gerçekleştirilerek bağlanmayan metaryal mikrolaka kuyularından uzaklaştırılır. TMB substratı eklenir ve inkübasyon sırasında Horseradish Peroxidase (HRP) tarafından katalize edilen reaksiyon ile mavi renk oluşturulur. Bu reaksiyon durdurma solüsyonu (Stop Solution) eklenerek durdurulur ve maviden sarıya bir renk değişimi gözlenir. Rengin yoğunluğu, numunede bulunan analit miktarı ile orantılıdır ve belirli bir dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak ölçülebilir. Standart eğriden konsantrasyonu bilinmeyen numuneler için değerlendirme yapılır. Numuneler seyreltilmişse, bulunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpılmalıdır.

Serum örneklerinde Trx1 ölçümü aşağıdaki analiz basamakları izlenerek yapılmıştır: Kullanımdan önce tüm materyaller ve reaktifler oda sıcaklığına getirilmiş ve her bir numune için çift ölçüm (duplikant) yapılmıştır.

1. Analize hazır serum örnekleri ve standartlardan 50 µl ELİSA plakasındaki uygun kuyucuk içine eklendi
2. Her bir kuyucuk içine antikor karışımından 50 µl eklendi
3. Plaka kapatılır ve 270 rpm'e ayarlanmış plaka çalkalayıcıda oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edildi.
4. Her bir kuyucuk 3x350 µl 1xWash Buffer PT ile yıkandı. Aspire edilen ya da dikkatlice boşaltılan her bir kuyucuk 1x 350 µl Wash Buffer PT uygulanarak yıkandı. Her yıkama arasında kuru kağıt havlu üzerine plaka hafifçe vurularak çözelti uzaklaştırıldı.
5. Her bir kuyucuk içine 100 µl TMB Substrate eklenir, 270 rpm'e ayarlanmış plaka çalkalayıcıda karanlıkta 10 dk boyunca inkübe edildi.
6. Her bir kuyucuk içine 100 µl Stop Solution eklendi. Plaka, çalkalayıcıda 1 dk boyunca karıştırıldı. 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutularak sonuçlar kaydedildi.

3.3. Çalışma ve Kontrol Grubunda Serum EGFR Analizi

3.3.1. Analiz için kullanılan materyaller ve aletler

Analiz için “Cloud – Clone Corp. / SEA757Hu 96 Tests Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)” kullanılmıştır.

- Pre-coated, ready to use 96-well strip plate (Cloud – Clone Corp.)
- Standard (Cloud – Clone Corp.)
- Detection Reagent A (Cloud – Clone Corp.)
- Detection Reagent B (Cloud – Clone Corp.)
- TMB Substrate (Cloud – Clone Corp.)
- Wash Buffer (30X) (Cloud – Clone Corp.)
- Plate sealer for 96 wells (Cloud – Clone Corp.)
- Standard Diluent (Cloud – Clone Corp.)
- Assay Diluent A (Cloud – Clone Corp.)
- Assay Diluent B (Cloud – Clone Corp.)
- Stop Solution (Cloud – Clone Corp.)
- Microplate okuyucu ($450 \pm 10\text{nm}$)
- Kapaklı plastik kap
- Çalkalayıcı
- Santrifüj aleti
- Tek veya çok kanallı pipetler
- Pipet ucu
- Mikrosantrifüj tüpü
- Deiyonize su
- Absorbent kağıt
- Eldiven
- Alüminyum folyo

3.3.2. Reaktiflerin hazırlanması

Tüm kit bileşenleri ve serum örnekleri kullanılmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirilmiştir. Her ELİSA kiti 96 kuyucuk içermektedir. Aşağıda verilen reaktiflerin hacim hesaplamaları 96 kuyucuk sayısına göre yapılmıştır.

Detection Reagent A and Detection Reagent B

Kullanmadan önce Detection A ve Detection B santrifüj edilmiştir. Daha sonra 120 µl “Detection A” ve 120 µl “Detection B” sırasıyla 11.880 µl “Assay Diluent A” ve 11.880 µl “Assay Diluent B” ile 100 kat seyreltilerek analiz konsantrasyonu elde edilmiştir.

Wash Solution

20 ml Wash Solution concentrate (30X), 580 mL deiyonize su ile seyreltilerek ve 600 mL Wash Solution (1X) elde edilmiştir.

TMB Substrate

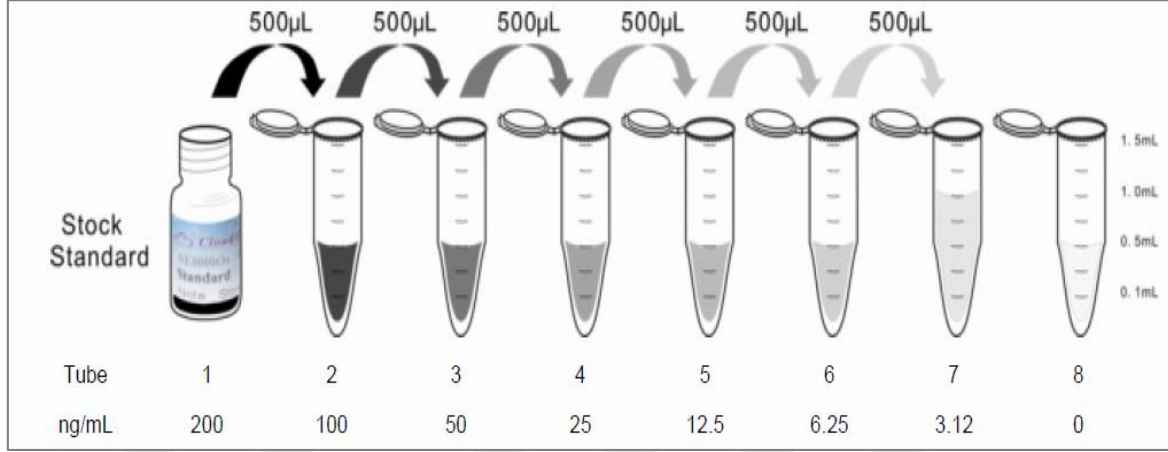
Steril bir uçla gereken miktar çekilerek kullanılmıştır, çözelti artması durumunda arta kala kısım flakona geri konulmadan atılmıştır.

3.3.3. Standartların hazırlanması

Seri olarak seyreltilmiş standartlar kullanımdan hemen önce ve her kullanım için yeni bir pozitif kontrol serisi olarak hazırlanmıştır. Ölçümler için standart bir eğri hazırlanışı aşağıdaki basamaklara göre yapılmıştır:

1. Kit bileşenlerinden “Standard” yine kit içeriğinde bulunan 1.0 mL “Standard dilüent” ile rekonstitüe edilerek oda sıcaklığında 10 dakika boyunca köpürtmeden hafifçe çalkalanmıştır. Elde edilen çözelti 200 ng/mL “konsantrasyonda Stok Standard”tır.
2. 7 adet tüp etiketlenerek tüplerin her birine 0.5 mL Standard Dilüent eklenmiştir.
3. Daha sonra aşağıda belirtilen şekilde her bir tüpten sonrakine transfer sağlanarak standart dilüsyon serisi hazırlanmıştır (200 ng/mL, 100 ng/mL, 50 ng/mL, 25 ng/mL, 12.5 ng/mL,

6.25 ng/mL, 3.12 ng/mL). Ekleme yapılmayan son tüp sadece Standard Dilüent içermektedir ve kör kontrol (0 ng/mL)dür (Bkz. Şekil 3.4).



Şekil 3.4. EGFR standartın hazırlanması

3.3.4. Serum örneklerinin hazırlanması

Serum örneklerine ait değerler standart eğrinin aralığında bulunması sebebiyle dilüe edilmeden oda sıcaklığına getirilerek analizi yapılmıştır.

3.3.5. Deney prosedürü ve analiz işlemi

Bu kitin içinde bulunan mikropilaka EGFR'ye özgü bir antikor ön kaplama yapılmıştır. Ardından standartlar veya örnekler, EGFR'ye özgü bir biyotinle konjuge edilmiş antikor içeren uygun mikropilakın kuyularına eklenir. Daha sonra, her bir kuyucuğun Horseradish Peroxidase (HRP) ile konjuge edilmiş Avidin eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat çözeltisi ekledikten sonra, sadece EGFR, biyotinle konjuge edilmiş antikor ve enzimle konjuge edilmiş Avidin içeren kuyular renkte değişiklik gösterecektir. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve renk değişikliği $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$ dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerin O.D. (Optik Yoğunluk) değerleri, standart eğriye göre karşılaştırılarak EGFR'nin konsantrasyonu belirlenir. Serum örneklerinde EGFR ölçümü aşağıdaki analiz basamakları izlenerek yapılmıştır. Kullanımdan önce tüm materyaller ve reaktifler oda sıcaklığına getirilmiş ve her bir numune için çift ölçüm (duplikant) yapılmıştır.

1. Standartlardan ve analiz edilecek serum örneklerinden uygun kuyucuğa 100µL eklenerek plakanın üzeri plaka kapatıcı ile kapatıldı ve 37°C’de 1 saat boyunca inkübe edildi.
2. İnkübasyon sonrası yıkama yapılmadan, plaka içindeki sıvı boşaltıldı
3. Her kuyucuya 100µL Detection Reagent A çalışma çözeltisini eklendi ve plaka kapatıcı ile kapatılarak 1 saat boyunca 37°C’de inkübe edildi.
4. Çözelti aspire edilerek, her bir kuyucuk 3x350 µl 1xWash Buffer PT ile yıkandı. Her yıkamadan sonra 1-2 dakika beklenir ve her yıkama arasında kuru kağıt havlu üzerine plaka hafifçe vurularak kalan çözelti uzaklaştırıldı.
5. Her bir kuyuya 100µL Detection Reagent B çalışma çözeltisini eklendi ve plaka kapatıcı ile kapatılarak 30 dakika boyunca 37°C’de inkübe edildi.
6. 4. Adımda gerçekleştirilen aspirasyon/yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.
7. Her bir kuyucuğa 90µL Substrate Solution ekleyin. Yeni bir plaka kapatıcı ile kapatılarak ve alüminyum folyo ile kapatılarak ışıktan korunacak şekilde 37°C’de 10-20 dakika boyunca inkübe edildi (30 dakikayı aşılmamalıdır). Substrate Solution eklenmesiyle sıvı mavi renge döndü.
8. Her bir kuyuya 50µL Stop Solution eklendi. Stop Solution eklenmesiyle sıvı sarı renge döndü. Sıvı plakanın yanına vurarak karıştırılır. Renk değişikliği homojen görünmüyorsa, tam karışımı sağlamak için plakaya hafifçe vurularak karışması sağlandı.
9. Mikroplaka 450 nm dalga boyunda okutularak ölçüm yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın veri analizlerinde IBM SPSS Statistics V25.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) paket programı kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler sayı (*n*), yüzde (%), ortalama $\pm$ standart sapma, en küçük değer (*min*), en büyük değer (*maks*), ortanca (*medyan*), değerleri kullanılarak sunulmuştur. Sürekli değişkenlere verilerin normal dağılımı Kolmogorov Smirnov/Shapiro Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin normallik varsayımını sağladığı durumlarda iki grup karşılaştırması için bağımsız örneklem *t* testi, verilerin normal dağılmaması durumunda Mann-Whitney *U* testi ile değerlendirmeler yapılmıştır. Kategorik verilerin değerlendirilmesinde X^2 analizi uygulanmış ve beklenen değerlerin düşük olması durumunda Fisher’in kesin testi ile düzeltmeli istatistikler sunulmuştur. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Sürekli değişkenler arası ilişkiler için Spearman rank korelasyon analizi

kullanılmıştır, istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığına ilişkin korelasyon aralıkları ve ilişki düzeyleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Spearman korelasyon aralıkları ve ilişki düzeyleri

Korelasyon aralığı	İlişki düzeyi
$(-0,25) - 0,00$ ve $0,00 - (0,25)$	Çok Zayıf
$(-0,49) - (-0,26)$ ve $(0,26) - (0,49)$	Zayıf
$(-0,69) - (-0,50)$ ve $(0,50) - (0,69)$	Orta
$(-0,89) - (0,70)$ ve $(0,70) - (0,89)$	Yüksek
$(-1,00) - (-0,90)$ ve $(0,90) - (1,00)$	Çok Yüksek

4. BULGULAR

4.1. Kontrol ve Çalışma Gruplarındaki Bireylerin Temel Özellikleri

Araştırmaya 116 kişi çalışma grubu, 106 kişi kontrol grubu olmak üzere toplamda 222 kişi dahil edilmiştir. 116 kişilik çalışma grubunun 63'ünde Trx1, 100'ünde EGFR, 47'sinde hem Trx1 hem EGFR ölçümü yapılmıştır. 106 kişilik kontrol grubunun 65'inde Trx1, 99'unda EGFR, 58'inde hem Trx1 hem EGFR ölçümü yapılmıştır.

Trx1 için örneklem analizinde en az 53 kişilik çalışma grubu oluşturulması gerektiği tespit edilmiştir. Örneklem analizi sonrası 53 bireyde Trx1 ölçümü yapılmıştır, örneklem analizi için yaptığımız ön deneyde araştırmaya dahil edebileceğimiz 10 bireye ait sonuçlarla birlikte Trx1 için 63 kişilik çalışma grubumuz oluşturulmuştur. EGFR ölçümü için ise 100 bireye ait serum örnekleri seçilmiştir. Seçilen serum örneklerinden Trx1 ölçümü yapıp, EGFR ölçümü yapılmayan 16 birey bulunmaktadır. Bu sebeple çalışma grubumuz 116 kişiye ulaşmıştır.

Trx1 için örneklem analizinde en az 53 kişilik kontrol grubu oluşturulması gerektiği tespit edilmiştir. Örneklem analizi sonrası 53 bireyde Trx1 ölçümü yapılmıştır, örneklem analizi için yaptığımız ön deneyde araştırmaya dahil edebileceğimiz 12 bireye ait sonuçlarla birlikte Trx1 için 65 kişilik kontrol grubumuz oluşturulmuştur. EGFR ölçümleri için ise 100 kişilik kontrol grubu belirlenmiştir. Ancak 1 bireye ait ölçümün yapılamaması nedeni ile birey sayısı 99'a düşmüştür. Seçilen serum örneklerinden Trx1 ölçümü yapıp, EGFR ölçümü yapılmayan 7 birey bulunmaktadır. Bu sebeple kontrol grubu toplamda 106 kişiye ulaşmıştır.

Araştırmaya gönüllü olarak katılan çalışma ve kontrol grubundaki bireyler, anket formundaki soruların yanıtlarına göre cinsiyet, yaş, ikamet süresi, sigara kullanımı, tip II diyabet ve hipertansiyon öyküsü açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1'de yer alan bulgulara göre çalışma ve kontrol grubundaki bireyler değerlendirilen özellikler açısından benzer bulunmuştur ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. Araştırmaya katılan bireylerin temel özellikleri

Değişkenler	Kontrol grubu (n=106)	Çalışma grubu (n=116)	p-değeri
Cinsiyet [n (%)]			
Erkek [n (%)]	53 (46,9)	60 (53,1)	X ² =0,066
Kadın[n (%)]	53 (48,6)	56 (51,4)	p=0,893
Yaş [yıl;ortalama±ss]	49,9±9,1	49,8±11,0	t=0,085 p=0,932
İkamet Süresi (yıl; ortalama±ss) ortanca (min-max)	37,4±19,5 42,0 [1,0-79,0]	39,5±17,7 43,5 [2,0-72,0]	U=5790,5 p=0,454
Sigara Kullanma [n (%)]			
Yok [n (%)]	61 (47,3)	68 (52,7)	X ² =0,068
Var[n (%)]	31 (47,7)	34 (52,3)	p=0,967
Tip II diyabet öyküsü [n (%)]			
Var [n (%)]	6 (31,6)	13 (68,4)	X ² =2,18 p=0,140
Yok [n (%)]	100 (49,3)	103 (50,7)	
Hipertansiyon öyküsü [n (%)]			
Var [n (%)]	19 (54,3)	16 (45,7)	X ² =0,712
Yok[n (%)]	87 (46,5)	100 (53,5)	p=0,399

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum, U: Mann Whitney U test istatistiği, t: bağımsız örneklem test istatistiği, X²: Ki kare test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

4.2. Kontrol ve Çalışma Gruplarında İçme Sularında Zaman Ağırlıklı As Düzeyleri (TWA-As)

Araştırmaya dahil edilen her bir bölgeden şebeke içme suyu, yörede ortak kullanılan çeşme suyu ve özel kuyu suyu örnekleri toplanarak total As (AsIII + AsV) düzeyleri ölçülmüştür. Bu ölçüm sonuçları Çizelge 4.2’de özetlenmiştir (Proje no:109S419SBAG-109S419).

Çizelge 4.2’de görüleceği üzere içme suyu kaynakları ve bireylerin tüketim süreleri çeşitlilik göstermektedir. Bu nedenle bireylerde As maruziyetinin bir ölçütü olarak içme suyu zaman ağırlıklı As (TWA-As) değerleri kullanılmıştır.

Çalışma ve kontrol grubundaki bireylerin içme suyu TWA-As düzeylerinin ortalama ve ortanca değerleri Çizelge 4.3’de yer almaktadır. Çizelge 4.3’de görüldüğü üzere içme suyu TWA-As ortanca değeri kontrol grubunda 0,50 [0,40 - 20,9] ve çalışma grubunda 98,7 [23,3 – 300,6] olarak saptanmıştır. Kontrol ve çalışma grubu olarak seçilen bölgedeki bireylerde hesaplanan içme suyu TWA-As düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir (**p<0,001**).

Çizelge 4.2. Seçilen bölgelerdeki içme suyu örneklerinin total arsenik düzeyleri

Köyler (örneklem tarihi)	Şebeke suyunun; sayısı total As düzeyi (ss) kullanım süresi	Çeşme suyunun; sayısı total As düzeyi (ss) kullanım süresi	Özel su kuyusunun; sayısı total As düzeyi (ss)
Dadağı (27.03.2011)	2 adet 107.4(3.7), 113.4(1.5) µg/l 12 yıl	3 adet 23.3(0.4), 63.0(1.1), 87.3(2.3) µg/l 10 yıl	3 adet 51.5(1.0), 220.0(7.7), 300.6(9.7) µg/l belirtilmemiştir
Gülpınar (01.05.2011)	2 adet 29.7(2.3), 30.5(2.1) µg/l,	Köy içerisinde herhangi bir çeşme bulunmamaktadır.	
Küçükayhan (18.06.2011)	1 adet 139.9(5.4) µg/l 14 yıl	2 adet 139.4(2.6), 123.5(3.1) µg/l 40 yıl	3 adet 122.0(3.2), 153.0(6.1), 159.2(2.1) µg/l
Emmiler (15.10.2011)	2 adet 72.1(1.8); 52.1(3.4) µg/l, 27 yıl	1 adet 119.6(1.1) µg/l Çeşmenin genelde hayvanların içmesi için olduğu ve bazen yakınındaki yaşayanlar tarafından tüketilebildiği bildirilmiştir.	belirtilmemiştir
Civelek (10.12.2011)	1 adet <0.4 µg/l 15 yıl	Köy içerisinde herhangi bir çeşme bulunmamaktadır.	2 adet 0.6(0.2), <0.4 µg/l
Alkan (11.12.2011)	1 adet <0.4 µg/l 15 yıl	Köy içerisinde herhangi bir çeşme bulunmamaktadır.	
Eskiyaylacık (20.11.2011)	1 adet 0.9(0.2) µg/l 2 yıl	Köy içerisinde herhangi bir çeşme bulunmamaktadır.	1 adet 1.5(0.1) µg/l
Altıpınar 08.04.2012	1 adet 0.60(0.1) µg/l Belirtilmemiştir	3 adet 60(0.1), 0.90(0.1), 0.80(0.1) µg/l Belirtilmemiştir	belirtilmemiştir

Çizelge 4.3. Çalışma ve kontrol gruplarında içme suyu zaman ağırlıklı As düzeyleri (TWA-As)

Gruplar	İçme suyu TWAA's (µg/l)			
	n	ortalama ± ss	ortanca (min - maks)	p-değeri
Kontrol	106	0,68 ± 1,99	0,50 [0,40 - 20,9]	U=0,001 p<0,001
Çalışma	116	98,5 ± 39,2	98,7 [23,3 – 300,6]	

n:olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

4.3. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Arsenik ve Türlerinin Düzeyleri

Çizelge 4.4'de kontrol ve çalışma grubundaki bireylerde iAs'e bireysel maruziyetin bir göstergesi olan idrardaki iAs türlerinin [iAs(III), iAs(V), DMA ve MMA] ve toplam As türlerinin seviyelerinin karşılaştırması yer almaktadır. Yapılan istatistiksel analize göre çalışma grubundaki bireylerin hem toplam As hem de iAs türlerinin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. (p<0,05).

Çizelge 4.4. Çalışma ve kontrol gruplarında idrar örneklerinde total As (tAs), iAs türleri[As(III), As(V), MMA, DMA] düzeyleri($\mu\text{g/l}$)

Ölçümler	Grup	n	Ortalama $\pm$ ss	Ortanca [min- maks]	p-değeri
tAs _{sg}	Kontrol	106	15,23 $\pm$ 17,97	11,39 [0-108,59]	U=173 p<0,001
	Çalışma	116	146,49 $\pm$ 101,33	131,58 [21,35-875,3]	
iAs(III) _{sg}	Kontrol	106	0,16 $\pm$ 0,2	0,1 [0,03-1,12]	U=1921 p<0,001
	Çalışma	116	5,48 $\pm$ 6,5	2,79 [0,07-30,61]	
iAs(V) _{sg}	Kontrol	106	0,41 $\pm$ 0,22	0,34 [0,12-1,84]	U=4685,5 p=0,004
	Çalışma	116	1,8 $\pm$ 5,98	0,37 [0,22-56,03]	
MMA _{sg}	Kontrol	106	0,54 $\pm$ 0,41	0,36 [0,09-2,06]	U=2257,5 p<0,001
	Çalışma	116	13,04 $\pm$ 18,51	5,88 [0,17-133,79]	
DMA _{sg}	Kontrol	106	1,16 $\pm$ 1,08	1,24 [0,03-5,41]	U=162 p<0,001
	Çalışma	116	80,97 $\pm$ 82,26	70,65 [0,14-708,48]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum, U: Mann Whitney U test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

4.4. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Arsenik Metilasyon Etkinliği

İdrardaki As metabolitlerinin oranları As metilasyon etkinliğini göstermekte olup, Çizelge 4.5’de kontrol ve çalışma gruplarındaki bireylerin ikincil metilasyon indeksi olan DMA/MMA oranları karşılaştırılmıştır. DMA/MMA ortanca değeri kontrol grubunda 1,87 [0,40 – 15,8] ve çalışma grubunda 6,59 [0,40 – 1680,0] olarak saptanmıştır. Grupların DMA/MMA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark (**p<0,001**) saptanmış olup, çalışma grubunda ölçüm medyanının kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5. Çalışma ve kontrol gruplarında DMA/MMA oranı

Gruplar	DMA/MMA oranı			
	n	Ortalama (ss)	Ortanca (min-maks)	p – değeri
Kontrol	106	2,67 $\pm$ 3,34	1,87 [0,40 – 15,8]	U=2266,0 p<0,001
Çalışma	116	106,9 $\pm$ 251,1	6,59 [0,40 – 1680,0]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

4.5. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Saç Örneklerinde Total As Düzeyleri

Çizelge 4.6’de kontrol ve çalışma gruplarındaki bireylerin ortalama saç tAs konsantrasyonları yer almaktadır. Saç tAs ölçümlerinde kontrol grubunda 3 bireye ait saç ölçümü yapılamamış olup bu sebeple kontrol grubu n=103 bireyden, çalışma grubu n=116 bireyden oluşmaktadır. Saç total As ölçüm ortanca değeri kontrol grubunda 0,15 [0,008 – 0,98] ve çalışma grubunda 1,30 [0,29 – 5,72] olarak saptanmıştır. Grupların saç total As

ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup, çalışma grubunda ölçüm medyanının kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$) (Bkz. Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Kontrol ve çalışma gruplarında saç örneklerindeki total As düzeyleri

Gruplar	Saç total As ($\mu\text{g/g}$)			
	n	Ortalama (ss)	Ortanca (min-maks)	p-değeri
Kontrol	103	0,19 $\pm$ 0,16	0,15 [0,008 – 0,98]	U=145,0 $p<0,001$
Çalışma	116	1,50 $\pm$ 0,97	1,30 [0,29 – 5,72]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, $p<0,05$ Anlamlılık düzeyi

4.6. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Dermal Lezyon Sıklığı

Araştırmaya dahil edilen bireylerde çalışma ($n=116$) ve kontrol ($n=106$) grubunun her birinde dermal lezyon verilerinde 1 adet kayıp veri olması nedeni ile 115 kişi çalışma grubu, 105 kişi kontrol grubu olmak üzere 220 kişide dermal lezyon sıklığı incelenmiştir.

As'e maruziyet durumuna göre bireylerdeki dermal lezyonların sıklığı değerlendirildiğinde; kontrol grubundaki bireylerin %24,6'sında (17) ve çalışma grubundaki bireylerin %75,4'ünde (52) dermal lezyon varlığı saptanmıştır. Çalışma grubundaki bireylerde dermal bulgu sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$) (Bkz. Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Kontrol ve çalışma gruplarında dermal lezyonların sıklığı

Dermal Lezyon [n(%)]	Kontrol grubu n=105	Çalışma grubu n=115	p-değeri
Yok [n(%)]	88 (58,3)	63 (41,7)	$X^2=21,5$ $p<0,001$
Var [n(%)]	17 (24,6)	52 (75,4)	

n: olgu sayısı, X^2 : Ki kare test istatistiği, $p<0,05$ Anlamlılık düzeyi

4.7. Kontrol ve Çalışma Gruplarında Trx1 Düzeyleri

Araştırmaya dahil edilen kontrol ve çalışma grubundaki bireylerde serum Trx1 düzeylerinin karşılaştırması Çizelge 4.8'de yer almaktadır. Trx1 ortanca değeri kontrol grubunda 9,547 [3,897 - 47,989], çalışma grubunda 8,315 [2,639 - 61,056] olarak bulunmuştur. Grupların Trx medyanı benzer saptanmış olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,279$) (Bkz. Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Kontrol ve çalışma gruplarında serum Trx1 düzeyleri

Gruplar	Trx1 Seviyeleri			
	n	ortalama $\pm$ ss	Ortanca (min - maks)	p-değeri
Kontrol	65	14,53 $\pm$ 11,186	9,547 [3,897 - 47,989]	U=1820,5 p=0,279
Çalışma	63	14,169 $\pm$ 13,122	8,315 [2,639 - 61,056]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

Araştırmamızda genel popülasyon, çalışma grubu ve kontrol grubunda ayrı ayrı dermal lezyon varlığına göre Trx1 seviyeleri karşılaştırılmıştır. Araştırmaya katılan tüm bireyler birlikte değerlendirildiğinde dermal lezyon görülenlerde Trx1 seviyesi görülmeyen bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,025**). Çalışma ve kontrol gruplarında ise dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireylerin Trx1 seviyeleri kıyaslanmış ve benzer bulunmuştur (p>0,05) (Bkz. Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Genel popülasyon ve gruplarda dermal lezyonların varlığına göre Trx1 düzeyleri

Gruplar	Dermal lezyon	N	Trx1		
			Ortalama $\pm$ ss	ortanca (min - maks)	p-değeri
Genel popülasyon	Var	33	17,53 $\pm$ 14,1	10,51 [3,73 - 61,06]	U=1143,5 p=0,025
	Yok	94	13,15 $\pm$ 11,26	8,25 [2,64 - 47,99]	
Çalışma grubu	Var	23	20,13 $\pm$ 15,84	12,66 [3,73 - 61,06]	U=579 p=0,304
	Yok	39	10,44 $\pm$ 9,9	7,11 [2,64 - 47,11]	
Kontrol grubu	Var	10	11,54 $\pm$ 6,04	10,03 [5,2 - 26,75]	U=271 p=0,942
	Yok	55	15,07 $\pm$ 11,84	9,43 [3,9 - 47,99]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği , p<0,05 anlamlılık düzeyi

Dermal lezyon görülen bireylerde Trx1 seviyesi çalışma ve kontrol grubunda kıyaslanmış ve elde edilen bulgulara gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05). Dermal lezyon görülmeyen bireylerde ise Trx1 seviyesi kontrol grubunda çalışma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (**p=0.013**) (Bkz Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Dermal lezyonların varlığına göre çalışma ve kontrol gruplarında Trx1 düzeyleri

Trx1	Dermal lezyon (var)		Dermal lezyon (yok)	
	Çalışma n=23	Kontrol n=10	Çalışma n=39	Kontrol n=55
ort $\pm$ ss	20,13 $\pm$ 15,84	11,54 $\pm$ 6,04	10,44 $\pm$ 9,9	15,07 $\pm$ 11,84
Ortanca [min- max]	12,66 [3,73-61,06]	10,03 [5,2-26,75]	7,11 [2,64-47,11]	9,43 [3,9-47,99]
p-değeri	U=92,0 p=0,368		U=749,0 p=0,013	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

4.8. Kontrol ve Çalışma Gruplarında EGFR Düzeyleri

Araştırmaya dahil edilen kontrol ve çalışma grubundaki bireylerde serum EGFR düzeylerinin karşılaştırılması Çizelge 4.11’de yer almaktadır. EGFR ortanca değeri kontrol grubunda 39,2 [9,914 - 175,914], çalışma grubunda 44,883 [5,495 - 157,629] olarak bulunmuştur. Grupların EGFR medyanı benzer saptanmış olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,079$) (Bkz. Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Kontrol ve çalışma gruplarında EGFR düzeyleri

Gruplar	EGFR Seviyeleri			
	n	ortalama $\pm$ ss	ortanca (min - maks)	p-değeri
Kontrol	99	46,904 $\pm$ 32,143	39,2 [9,914 - 175,914]	U=4235,5 p=0,079
Çalışma	100	50,689 $\pm$ 27,909	44,883 [5,495 - 157,629]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, $p<0,05$ Anlamlılık düzeyi

Araştırmamızda genel popülasyon, çalışma grubu ve kontrol grubunun her birinde kendi içerisinde dermal lezyon varlığına göre EGFR seviyeleri kıyaslanmış ve elde edilen bulgular Çizelge 4.12’de gösterilmiştir. Araştırmaya katılan tüm bireylerde genel popülasyon olarak bir arada değerlendirildiğinde dermal lezyon görülenlerde ve dermal lezyon olmayanlarda EGFR seviyeleri benzer bulunmuştur. ($p>0,05$).

Çalışma grubunda dermal lezyon görülen bireylerin EGFR seviyeleri görülmeyen bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,038$). Kontrol grubunda ise dermal lezyon görülmeyen bireylerin EGFR seviyeleri dermal lezyon görülen bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,002$) (Bkz. Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Genel popülasyonda ve gruplarda dermal lezyonların varlığına göre EGFR düzeyleri

Gruplar	Dermal lezyon	n	EGFR		
			Ortalama $\pm$ ss	ortanca (min - maks)	p-değeri
Genel popülasyon	Var	63	51,82 $\pm$ 28,31	44,02 [12,62-128,06]	U=3711,0 p=0,149
	Yok	135	46,66 $\pm$ 29,71	41,11 [5,49-175,91]	
Çalışma grubu	Var	46	57,34 $\pm$ 30,01	49,38 [12,73 -128,06]	U=942 p=0,038
	Yok	54	45,03 $\pm$ 24,88	41,13 [5,49 -157,63]	
Kontrol grubu	Var	17	36,88 $\pm$ 15,72	34,16 [12,62 -74,06]	U=239 p=0,002
	Yok	81	47,75 $\pm$ 32,64	40,13 [9,91 -175,91]	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği , $p<0,05$ anlamlılık düzeyi

Araştırmaya katılan tüm bireyler dermal lezyon varlığına göre iki kategoriye ayrılarak, her kategoride çalışma ve kontrol gruplarında EGFR seviyeleri karşılaştırılmıştır. Dermal lezyon görülen bireylerde çalışma ve kontrol grubu karşılaştırıldığında EGFR seviyesi çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (**p=0,011**), dermal lezyon görülmeyen bireylerde ise kontrol ve çalışma grubunda EGFR seviyeleri benzer bulunmuştur ($p>0,05$) (Bkz. Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Dermal lezyonların varlığına göre kontrol ve çalışma gruplarında EGFR düzeyleri

EGFR	Dermal lezyon (var)		Dermal lezyon (yok)	
	Çalışma n=46	Kontrol n=17	Çalışma n=54	Kontrol n=81
ort ±ss	57,34±30,01	11,54±6,04	45,03±24,88	47,75±32,64
Ortanca [min- max]	49,38 [12,73-128,06]	10,03 [5,2-26,75]	41,13 [5,49-157,63]	40,13 [9,91-175,91]
p-değeri	U=227,0 p=0,011		U=2116,5 p=0,752	

n: olgu sayısı, ss: standart sapma, U: Mann Whitney U test istatistiği, $p<0,05$ Anlamlılık düzey

4.9. Korelasyon Analizleri

Kontrol ve çalışma grubundaki bireylerin serum Trx1 düzeyleri ile As maruziyet parametreleri [iAs(III), DMA, MMA, iAs(V), tAs, saç tAs, TWA-As], ikincil metilasyon indeksi (DMA/MMA), yaş, ikamet süresi ve EGFR arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışma grubunda; Trx1 ile EGFR, iAs(III) , MMA, iAs(V), tAs, saç tAs, yaş , ikamet süresi ve TWA-As arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmazken ($p>0,05$), DMA/MMA (**rs=0,333, p=0,008**) ve DMA (**rs=0,375, p=0,002**) ile arasında anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü bir korelasyon saptanmıştır. Kontrol grubunda; Trx1 ile iAs(III), DMA/MMA, MMA, iAs(V), tAs, saç tAs, yaş ve ikamet süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmazken ($p>0,05$), EGFR (**rs= 0,286 p=0,030**) ile zayıf düzeyde pozitif yönlü ve TWA (**rs=-0,276 p=0,026**) ile arasında anlamlı zayıf düzeyde negatif yönlü bir korelasyon saptanmıştır (Bkz. Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Çalışma ve kontrol grubunun Trx1 düzeylerinin EGFR, As maruziyet parametreleri, DMA/MMA, yaş, ikamet süresi ile korelasyonu

Değişkenler		Trx1 (Çalışma grubu)	Trx1 (Kontrol grubu)
EGFR	Rs	0,121	0,286
	P	0,420	0,030
iAs(III)sg	Rs	-0,163	-0,027
	P	0,203	0,835
DMAsg	Rs	0,375	-0,020
	P	0,002	0,878
MMAsg	Rs	-0,026	0,135
	P	0,837	0,293
iAs(V) sg	Rs	0,067	0,023
	P	0,603	0,860
DMA/MMA	Rs	0,333	-0,087
	P	0,008	0,496
tAssg	Rs	0,157	-0,086
	P	0,218	0,498
Saç (tAs)	Rs	0,240	0,036
	P	0,058	0,778
Yaş	Rs	0,222	0,118
	P	0,080	0,350
ikamet süresi	Rs	-0,041	0,052
	P	0,748	0,683
TWA-As	Rs	-0,011	-0,276
	P	0,935	0,026

rs: Spearman rank korelasyonu, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

Kontrol ve çalışma grubundaki bireylerin serum EGFR düzeyleri ile As maruziyet parametreleri [iAs(III), DMA, MMA, iAs(V), tAs, saç tAs, TWA-As], ikincil metilasyon indeksi (DMA/MMA), yaş, ikamet süresi ve Trx1 arasındaki ilişki incelenmiş ve Çizelge 4.15’de gösterilmiştir. Çalışma grubunda; EGFR ile Trx1, DMA, MMA, iAs(V), DMA/MMA, tAs, saç tAs, ikamet süresi ve TWA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmazken ($p>0,05$), iAs(III) (**rs= -0,201 p=0,045**) ile anlamlı zayıf düzeyde ters yönde korelasyon ve yaş (**rs=0,326, p=0,001**) ile anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. Kontrol grubunda; EGFR ile iAs(III), DMA, MMA, iAs(V), DMA/MMA, saç tAs, yaş ve ikamet süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmazken ($p>0,05$), Trx1 (**rs= 0,286 p=0,030**) ile anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü ve tAs (**rs= -0,210 p=0,038**) ile arasında anlamlı zayıf düzeyde negatif yönlü bir korelasyon saptanmıştır (Bkz. Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Çalışma ve kontrol grubunun EGFR düzeylerinin Trx1, As maruziyet parametreleri, DMA/MMA, yaş, ikamet süresi ile korelasyonu

Değişkenler		EGFR (Çalışma grubu)	EGFR (Kontrol Grubu)
Trx1	Rs	0,121	0,286
	P	0,420	0,030
iAs(III) _{sg}	Rs	-0,201	-0,025
	P	0,045	0,806
DMA _{sg}	Rs	0,077	-0,158
	P	0,449	0,123
MMA _{sg}	Rs	-0,084	-0,120
	P	0,404	0,243
iAs(V) _{sg}	Rs	-0,047	-0,028
	P	0,644	0,783
DMA/MMA	Rs	0,160	-0,170
	P	0,113	0,095
tAs _{sg}	Rs	-0,063	-0,210
	P	0,532	0,038
Saç (tAs)	Rs	0,189	0,082
	P	0,060	0,429
Yaş	Rs	0,326	0,133
	P	0,001	0,188
ikamet süresi	Rs	0,136	0,079
	P	0,179	0,435
TWA-As	Rs	0,088	-0,077
	P	0,386	0,449

rs: Spearman rank korelasyonu, p<0,05 Anlamlılık düzeyi

5. TARTIŞMA

Çevrede As kirliliği, hem doğal süreçler hem de insan faaliyetleri sonucunda ortaya çıkmaktadır. Doğal süreçler arasında hava koşulları, minerallerin çözünmesi ve biyokimyasal reaksiyonlar yer alırken, madencilik, As bazlı pestisitlerin veya herbisitlerin kullanımı gibi antropojenik faaliyetler de As kirliliğine yol açan önemli etkenlerdir (Sevak ve Pushkar, 2024). As ile kontamine yeraltı suyunun kullanımı, dünya genelinde As maruziyetinin başlıca yollarından biridir ve bu suların uzun süreli tüketimi kanser dahil olmak üzere ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir (Farzan ve diğerleri, 2022).

As'e en önemli çevresel maruziyet, iAs yönünden zengin coğrafi bölgelerde içme sularının kirlenmesi nedeniyle olmaktadır. Ülkemizin jeolojik yapısı ve tektonik özellikleri dikkate alındığında birçok bölgede yeraltı suyunun yüksek değerlerde iAs içermesinin mümkün olduğu belirtilmektedir. Çalışmamıza konu olan Nevşehir yöresindeki içme sularında yapılan iAs analizlerine göre bazı alanlarda 500 µg/l'ye varan iAs seviyeleri ölçülmüştür. İçme sularındaki As kontaminasyonunun bölgedeki volkanik kayalar, özellikle siyah şeyller gibi jeojenik kökenlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Atabey, 2013; Mutlu, 2020).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, As maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkan sağlık risklerinin tespit edilmesine yardımcı olmakla birlikte konuya ilişkin çok sayıda bilinmeyen husus vardır ve araştırmalar iAs'in etki mekanizması ile özellikle düşük dozlardaki etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Dünya nüfusunun çoğunluğunun düşük doz As maruziyeti riski altında olduğu düşünüldüğünde, bu araştırmaların önemi daha da artmaktadır. Maruziyetin potansiyel sağlık etkilerini daha iyi anlamak ve bu etkileri önleyici tedbirler geliştirmek, toplum sağlığını koruma açısından kritik bir role sahiptir. Dolayısıyla çok yüksek dozda iAs'e maruz kalan bölgelerde yapılan çalışmaların yanısıra düşük dozda maruziyetin klinik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar, As maruziyetinin uzun vadeli etkilerini belirlememizi ve etkili müdahale stratejileri oluşturmak için gerekli verileri elde etmemizi sağlamaktadır. Çalışmamızda araştırma bölgesi olarak seçilen Nevşehir yöresinde yaşayanların çoğunlukla doğduklarından itibaren aynı bölgede yaşamış olmaları ve iAs'e düşük dozlarda maruz kalmaları nedeniyle bahsi geçen çalışmalar kapsamında değerlendirilebilir.

Özellikle çevresel maruziyetlerin değerlendirildiği epidemiyolojik çalışmalarda, çalışma ve kontrol gruplarının araştırılan bileşiğe maruziyetleri açısından uygun bireyler arasından

seçilmesi oldukça önemlidir. Bireysel As maruziyetinin belirlenmesinde biyolojik belirteçlerin kullanılmadığı epidemiyolojik çalışmalarda, TWA-As hesaplamasının maruziyet gruplarını sınıflandırmak için tercih edilen bir yaklaşım olduğu bilinmektedir (Alshana ve diğerleri, 2022). Araştırmamıza dahil edilen bireylerin içme suyu kaynaklarının ve tüketim sürelerinin çeşitlilik göstermesi nedeniyle, As maruziyetinin bir göstergesi olarak her birey için “zaman ağırlıklı içme suyu As (TWA-As, $\mu\text{g/l}$)” konsantrasyonları hesaplanmıştır. Kontrol ve çalışma grubu olarak seçilen bölgedeki bireylerin genel olarak ve yaşadığı yerlere göre hesaplanan içme suyu TWA-As düzeylerinin çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasında gözlenen farklılık, seçilen grupların kümülatif As maruziyeti açısından uygun olduğunu göstermektedir.

iAs maruziyetini belirlemede birçok çalışmada toplam idrar As seviyeleri kullanılmış olup, iAs ve metabolitleri ile organik formları arasında ayırım yapmak önemlidir (Alshana ve diğerleri, 2022). Özellikle deniz ürünlerinin tüketimi, bulundurduğu organik As varlığı nedeniyle iAs maruziyetinin tahminini karıştırabilmektedir ve idrar numunesi alınmadan 2-3 gün önce bu tür yiyeceklerden kaçınılmalıdır. İdrarda iAs veya metabolitlerin toplamı yakın zamanda absorbe edilen As dozunun en iyi niceliksel tahminini sağlamaktadır (WHO, 2001). Toplam idrar iAs ölçümlerinin yanı sıra, iAs türlerinin [As(III), As(V), DMA ve MMA] ölçümleri de yakın zamanda maruz kalınan iAs düzeylerinin daha iyi tanımlanmasını sağlamaktadır (Alshana ve diğerleri, 2022). Biz araştırmamızda hem toplam As konsantrasyonu (tAs) hem de idrardaki iAs türlerinin ölçümlerini kullandık. Bireylere ait tAs ve iAs türlerinin konsantrasyonları [As(III), As(V), DMA ve MMA] incelendiğinde, çalışma grubunun iAs maruziyetinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir ve bu durum iAs maruziyetinin incelenmesi açısından seçilen grupların uygun olduğunu ayrıca çalışma grubunun yakın zamanda As’e maruz kaldığını yansıtmaktadır.

As’e kronik maruziyetin biyogöstergeleri ise, As’in birikme eğilimi gösterdiği saç ve tırnak gibi keratenize dokulardaki ölçümleridir. Saç örneklerindeki As düzeyleri, As maruziyeti sonrası 100 kata kadar artabilmektedir (ATSDR, 2007). Çalışmamızda uzun süreli As maruziyetini ortaya koymak amacıyla kontrol ve çalışma grubundaki bireylerin saç örneklerinde iAs ölçümlerini kıyasladığımızda çalışma grubunda saç tAs konsantrasyonunun, kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 8 kat yüksek ve istatistiksel açıdan

anlamalı olduğunu gözlemledik. Dolayısıyla çalışma grubundaki bireylerin iAs'e kronik olarak maruz kaldığını tespit etmiş olduk.

As maruziyetinin neden olduğu kanser ve kanser öncesi evrelerde görülen cilt lezyonları da kronik As toksisitesinin biyogöstergeleri olarak kabul edilmektedir (Giri ve Banerjee, 2024). Maruziyete bağlı olarak cilt hiperpigmentasyonu ve palmoplantar hiperkeratoz gibi lezyonlar uzun yıllar sonra oluştuğundan, As'e bağlı cilt lezyonları saç ve tırnaktaki As seviyelerine göre As maruziyetinin daha uzun vadeli bir biyolojik belirteci olduğu söylenebilir (Cheng, Weng, Chiang, Lai, 2016). Araştırmalar cilt lezyonlarının sıklığının, içme suyundaki As seviyeleri ile pozitif olarak ilişkili olduğunu göstermektedir (Cheng ve diğerleri, 2016; Somé ve diğerleri, 2012; Wei ve diğerleri, 2018). Bizim çalışmamızda da cilt lezyonlarının sıklığı diğer çalışmalarla benzer şekilde çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ve bu sonuçlar çalışma grubunun kronik olarak As'e maruz kaldığını desteklemektedir. Ancak bu lezyonlar, çalışma bölgesinde maruz kalınan As konsantrasyonunun nispeten daha düşük olması nedeniyle hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon ve keratozis ile sınırlı kalmıştır. Oysa ki Hint-Bangladeş Bölgesi'nde (800 µg/l), Hindistan'ın Bihar Eyaleti'nde (1929 µg/l), Tayvan'da (50-1980 µg/l), Meksika'da (400 µg/l) gibi As'e çok yüksek konsantrasyonlarda maruz kalan bölgelerde bu lezyonlar çok daha ciddi boyutlarda gözlenmektedir (Flora, 2011; Kumar ve diğerleri, 2021).

As metabolizasyonu sürecinde metilasyon işlemi, iAs bileşiklerinin vücuttan daha kolay atılabilen organik formları olan MMA ve DMA'ya dönüşümünü sağlayarak iAs birikimini ve toksik etkilerini azaltır. İdrar As metabolitlerinin bileşimi bireysel farklılık göstermekte olup, idrar birincil metilasyon indeksi (MMA/iAs) ve ikincil metilasyon indeksi (DMA/MMA), bireysel metilasyon kapasitesinin tahmininde yaygın olarak kullanılan göstergelerdir (Alshana ve diğerleri, 2022). İkincil metilasyon indeksinin baskın işlevi toksik olmayan veya daha az toksik metabolitler üretmektir (Chen ve diğerleri, 2003). Yapılan çalışmalarda yüksek As maruziyetinde iAs metilasyon yolağının doyumluğa ulaşması ya da inhibisyonu nedeniyle DMA/MMA oranı ile iAs maruziyeti arasında negatif bir ilişki gösterilmiştir (Ahsan ve diğerleri, 2007, Chen ve diğerleri, 2003, McCarty ve diğerleri, 2007). Cilt lezyonlarının görülme sıklığının da As metilasyon kapasitesi ve As metabolizmasının etkinliği ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bilinmektedir (Wei ve diğerleri, 2018). Deri lezyonu olan ve olmayan bireyler arasında idrar As metabolitleri ve

metilasyon kapasitesi farklarını inceleyen çalışmalarda, dermal lezyon oluşma riskinin idrardaki iAs ve MMA oranıyla pozitif, DMA/MMA ile negatif ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Wei ve diğerleri, 2018; Zhang ve diğerleri, 2014). Ayrıca As metilasyonu ve cilt kanseri riski üzerine yapılan bir çalışmada yüksek DMA/MMA değerlerinin cilt kanseri riski üzerine zararlı etkisinin azaldığı yönünde bulgular elde edilmiştir. (Chen ve diğerleri, 2003). Tayvan, Bangladeş ve Arjantin gibi yüksek As maruziyeti olan popülasyonlarda daha yüksek MMA yüzdesi ve daha düşük DMA yüzdesi seviyeleri belirlenmiş ve bu durum çeşitli kanserlerin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Kuo ve diğerleri, 2017). Çevresel iAs'e maruz kalan bireylerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda deri lezyonları, deri kanseri, mesane kanseri, akciğer kanseri ve kardiyovasküler hastalık görülme sıklığının da artan MMA/iAs ya da azalan DMA/MMA değerleri ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (McCarty ve diğerleri, 2007). İkincil metilasyon indeksinin DMA/MMA azalması, iAs'in DMA'e yetersiz metilasyonu ve MMA'nın birikimini göstermektedir. Enzimatik bir süreç olan metilasyonun maruziyet dozuna bağlı olarak doyumluğa ulaşması, organizmada As'in toksik etkileri ile sonuçlanabilmektedir. Biz araştırmamızda metilasyon indeksi olarak DMA/MMA değerini kullandık. Elde edilen bulgularda As maruziyeti yüksek olan çalışma grubunda, idrar DMA/MMA değerinin arttığını gözlemledik. Bu durum, içme suyu iAs düzeyleri >50 µg/l olan çalışma grubundaki bireylerin etkin bir metilasyon kapasitesine sahip olduklarını, maruz kaldıkları iAs seviyesinin metilasyon yolağının inhibisyonuna neden olmadığını göstermektedir.

Özellikle karsinogen etkili bileşiklerin etki mekanizmalarının aydınlatılması, uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesinin yanı sıra erken dönemde kullanılabilecek biyogöstergelerin geliştirilmesi açısından da önemlidir. As'in neden olduğu toksik etkilerin mekanizması da pek çok çalışmada araştırılmıştır (Bode ve Dong, 2002, Cheng ve diğerleri, 2016; Huestis ve diğerleri, 2016; Jin ve diğerleri, 2022; Lu ve diğerleri, 2001; Roggenbeck ve diğerleri, 2019; Marlborough ve Wilson, 2015). Bu çalışmaların sonuçları, oksidatif stresin, As kaynaklı toksisite ve ilgili hastalıkların moleküler mekanizmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. As ve oksidatif stres ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda, As kaynaklı oksidatif stresin, hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalar nedeniyle meydana geldiği ve As'in hücrede pro-oksidanlar ve endojen antioksidanlar arasında bir dengesizliğe neden olduğu belirtilmektedir (Flora ve Pachauri, 2013; Flora, 2011; Zargari, 2021). Bazı çalışmalarda; As maruziyetinin süperoksit dismutaz, katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini azalttığı, GSH gibi antioksidan proteinleri tükettiği ve ROT seviyelerini

artırdığı bildirilmiştir (Zahara ve diğerleri, 2024; Zhao, Yi ve Sang, 2022). Çin'in Wuhan ve Zhuhai şehirlerini kapsayan, As maruziyeti ile sistemik oksidatif hasar arasındaki ilişkiyi araştıran ve 3 yıl süren çift tekrarlı kohort bir çalışmada; artan As maruziyeti ile DNA, protein ve lipid oksidatif hasarı arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. (Zhang ve diğerleri, 2025). Dişi farelerde yapılan bir araştırmada ise As'e maruz bırakılan farelerde 8-okso-2'-deoksiguanozin (8-okso-dG) seviyeleri arttığı ve artan oksidatif stres ile uyumlu şekilde antioksidan aktiviteye sahip serum bileşiklerinin düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (Chi ve diğerleri, 2019).

Çalışmamızda, Nevşehir bölgesinde yaşayan ve içme suyu yoluyla As'e maruz kalan çalışma grubu ($>50 \mu\text{g/l}$) ile yasal limit olan $10 \mu\text{g/l}$ altında As maruziyeti söz konusu olan kontrol grubunda oksidatif stres ve kanser gelişimi ile ilgili erken dönemde biyogöstergeler olabileceğini düşündüğümüz serum Trx1 ve serum EGFR konsantrasyonları ölçülmüştür. Diğer taraftan, grupların Trx1 ve EGFR ölçümleri ile As maruziyetinin biyogöstergeleri olarak kabul edilen TWA-As, idrar As türleri (AsIII, AsV, DMA ve MMA), total As miktarı (tAs), saç tAs ve DMA/MMA oranı ile korelasyonları araştırılmıştır. Uzun süreli As maruziyetinin insanlar üzerindeki en önemli sağlık etkileri başlıca deri lezyonları ve deri kanseri olduğundan, bu tez çalışması kapsamında çalışma ve kontrol gruplarında deri lezyonları varlığı ile serum Trx1 ve EGFR düzeylerinin ilişkisi de araştırılmıştır.

Oksidatif stres, As toksisitesinin ana mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir. Antioksidan bir protein olan Trx1 ise hücre içi redoks dengesinin düzenlenmesi, oksidatif stresin neden olduğu apoptoz ve tümör gelişiminde etkili bir rol oynamaktadır (Li ve diğerleri, 2012). Trx hücrede proteinlerin disülfid bağlarını indirgeyerek hücre fonksiyonlarının düzenlenmesini sağladığı bilinmektedir (Björklund ve diğerleri, 2021). As ve Trx1 arasındaki ilişki, As metabolizması ve hücre redoks dengesinin düzenlenmesine dayanmaktadır. As, hücre düzeyde oksidatif stres ve toksisiteye yol açarken, Trx1, bu stresi azaltmada ve hücre redoks dengesini korumada kritik bir rol oynar. Aynı zamanda As metabolizasyonunda AS₃MT enziminin indirgenmesinde rol alarak As'in toksik etkilerinin azaltılmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Bu ilişki, As toksisitesi mekanizmalarının anlaşılması açısından büyük önem taşır.

As'in karaciğer toksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada, As maruziyetinin insan karaciğer HHL-5 hücrelerindeki apoptotik sinyal yolları ve tiyoredoksin üzerindeki etkisi

incelenmiştir. 24 saat boyunca 0, 2, 5 ve 10 μ M sodyum arsenite maruz bırakılan hücrelerde Trx1, TrxR, hücre içi ROT ve apoptozdaki değişiklikler gözlemlenmiştir. As'e maruz bırakılan hücrelerde Trx1 ve TrxR1 gen ekspresyonunda As konsantrasyonuna bağlı bir artış gözlenmiş olup, hücre içi ROT seviyeleri ve apoptozun da As konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde arttığı görülmüştür (Li ve diğerleri, 2018). As bileşiklerinin fonksiyon ve yapısı ile Trx1, TrxR1 ve hücre toksisitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir araştırmada ise; Trx1 proteininin indirgenmesini sağlayan TrxR1 enziminin inhibisyonunun As'in sitotoksik etkilerinin ortaya çıkmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2015). Başka bir çalışmada, insan GM847 fibroblast hücrelerinde de düşük doz arsenite kısa ve uzun süreli maruziyetin Trx1'in ekspresyonunu artırdığı gözlemlenmiştir (Hu, Jin ve Snow, 2002). Çin'in As endemik bölgelerinde yaşayan farklı dozlarda içme suyu ile As'e maruz kalmış bireyler ile yapılan bir araştırmada ise, bireylerin serum Trx1 seviyeleri arasındaki farklılıklar araştırılmıştır. Kişiler önce deri lezyonları görülen arsenikozisli grup (toplam As maruziyeti: 8.68–45.71 mg/yıl) ve deri lezyonları olmayan grup olarak ikiye ayrılmıştır. Deri lezyonları olmayan grup; yüksek (4.26–48.13 mg/yıl), orta (1.37–3.55 mg/yıl) ve düşük (0.00–1.06 mg/yıl) seviyelerde olmak üzere As maruziyetlerine göre üçe ayrılmıştır. Trx1 seviyesi arsenikozisli grupta yüksek/orta/düşük As maruziyet gruplarına göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Deri lezyonları görülmeyen yüksek/orta/düşük maruziyet gruplarında ise Trx1 seviyelerinde düşük ve orta maruziyet grubu arasında farklılık görülmemiş olup, yüksek maruziyet grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Li ve diğerleri, 2012). Aynı çalışmada idrar As seviyeleri (tAs, iAs, MMA ve DMA), ile Trx1 seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (Li ve diğerleri, 2012). Ayrıca As metilasyon kapasitesinin de oksidatif stres ile ilişkili olduğunu, AS₃MT enzimi tarafından katalize edilen biyotransformasyonda Trx1'e ihtiyaç duyulduğunu gösterilmiştir (Li ve diğerleri, 2012). As metabolizasyonunu konu alan bir araştırmada; Trx sisteminin As'in oksidatif metilasyonunda endojen bir indirgeyici olarak görev aldığı belirtilmiştir (Thomas, Waters ve Styblo, 2004).

Bizim araştırmamızda elde edilen bulgulara göre, Trx1 seviyeleri açısından çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olup, >50 μ g/l konsantrasyonunda As maruziyetinin Trx1 konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir. Bulgularımız çalışmamızdaki bireylerin maruz kaldıkları iAs dozunda metilasyon kapasitelerinin yeterli olduğu ve As'in etkin bir şekilde metabolize edildiğini göstermektedir. Etkin metilasyon kapasitesi ve yapılan diğer araştırmaların genel olarak As

endemik bölgeleri konu alması ve bizim araştırmamızın yapıldığı bölgenin maruziyet seviyelerinin bu bölgelere kıyasla önemli düzeyde düşük olması göz önüne alındığında, çalışma ve kontrol grupları arasındaki benzer Trx1 düzeyleri anlaşılabilir bir durumdur ve düşük As maruziyetinin Trx1 seviyesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Çalışmamız kapsamında yapılan korelasyon analizlerinde, çalışma grubunda As'in idrarla atılan başlıca formu olan DMA metaboliti ve As metilasyon kapasitesinin göstergesi olan DMA/MMA ile Trx1 arasında anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Bu bulgu, yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermekte olup, As metilasyon kapasitesi ile Trx1'in ilişkili olduğunu desteklemektedir. Kontrol grubunda yapılan korelasyonlarda ise, içme suyu TWA-As değerleri ile Trx1 arasında istatistiksel olarak zayıf düzeyde anlamlı negatif yönlü bir korelasyon saptanmıştır. Ancak, kontrol grubunda TWA-As seviyesi düşerken Trx1 seviyesinin artış eğilimi göstermesi, tespit edilen ilişkideki Trx1 seviyesinin As maruziyetinden bağımsız olduğunu düşündürdüğünden kontrol grubunda tespit edilen bu korelasyon, As ile Trx1 arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi açısından anlamlı bulunmamıştır.

Araştırmamızda ayrıca deri lezyonları görülme sıklığına göre Trx1 seviyeleri de incelenmiştir. Öncelikle genel popülasyon, çalışma ve kontrol grubu olmak üzere üç kategori belirlenmiştir ve her biri kendi içerisinde dermal lezyon varlığı açısından ikiye ayrılmıştır. Her bir kategoride dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireylerdeki Trx1 seviyelerinin değişimi kendi içerisinde incelenmiştir. Sonuçlarımız yapılan diğer çalışmalarla benzer şekilde genel popülasyonda dermal lezyon görülen bireylerin Trx1 seviyesinin görülmeyen bireylere göre anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, dermal lezyon görülme sıklığı ile Trx1 seviyesinin arttığı hipotezini desteklemektedir. Ancak hem çalışma hem de kontrol grubunda dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireyler arasında Trx1 seviyesi benzer bulunmuştur. Daha sonra genel popülasyon dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireyler olarak iki kategoriye ayrılmış ve her iki kategoride de çalışma ve kontrol grubu arasındaki Trx1 seviyeleri incelenmiştir. Dermal lezyon görülen bireylerde çalışma ve kontrol grubunda Trx1 seviyeleri benzer bulunurken, dermal lezyon görülmeyen bireylerde kontrol ve çalışma grubu karşılaştırıldığında; kontrol grubunda Trx1 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, As maruziyetinin Trx1 seviyesi üzerine incelenmesi açısından yapılan çalışmalarda bulgulardan farklılık göstermektedir. Vücutta Trx1'in çok çeşitli mekanizmalarla aktivasyonu ve ifadesi değişmekte olup, Trx1

seviyesinin kontrol grubunda dermal lezyonu olmayanlarda anlamlı olarak yüksek bulunması göz önünde bulundurulduğunda; bireylerdeki Trx1 düzeyinin artışında As maruziyeti dışında farklı bir etken olduğu düşünülebilir.

As, IARC tarafından Sınıf-I (insan karsinojeni) olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2012a). As'ın kanserojen etkilerine tirozin kinaz reseptörlerinin özellikle de EGFR'nin aracılık ettiği düşünülmektedir (Bode & Dong, 2002). Hücre büyümesi, replikasyonu ve doku homeostazında görev alan EGFR, insanlarda kanser ile doğrudan ilişkisi tanımlanan ilk reseptördür (Andrew ve diğerleri, 2009). EGFR'nin hücrel proliferasyonu aktive ederek, tümör gelişimini indüklediği bildirilmiştir (Soza-Ried ve diğerleri, 2019; Medda, De ve Maiti, 2021). EGFR'nin aşırı ifadesi ve hiperaktivasyonu, çeşitli kanser türlerinin karakterize edilmiş bir belirtidir ve kötü hasta prognozuyla ilişkilendirilmiştir (Kim, States ve Ceresa, 2020). Artmış veya anormal EGFR aktivitesi/ekspresyonunun insanlarda meydana gelen kanserler üzerindeki klinik anlamı kapsamlı olarak araştırılmıştır (Aggarwal ve diğerleri, 2015). Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde, kanserli olmayan komşu dokuyla karşılaştırıldığında %89'unda EGFR'nin aşırı ekspresyonu ve hiperaktivasyonu tespit edilmiştir (Kim ve diğerleri, 2020). Baş ve boyun tümörleri, gliomlar, göğüs, yumurtalıklar, serviks, özofagus, mesane, prostat ve böbrek tümörlerinde aşırı miktarda EGFR ekspresyonu gözlemlenmiştir (Aggarwal ve diğerleri, 2015).

Çeşitli çalışmalarda, As maruziyetine bağlı olarak gelişen deri kanserinde EGFR ekspresyonundaki ve seviyesindeki değişimler *in vitro* veya *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların pek çoğunda hem akut hem de kronik As maruziyetinin çeşitli moleküler mekanizmalarla EGFR ekspresyonunda artışa neden olduğu, EGFR'nin fosforilasyonunu aktive ettiği ve fosforilasyon sürecinin uzamasına neden olduğu gösterilmiştir. (Kim ve diğerleri, 2020). Yapılan *in vitro* bir çalışmada, akut sodyum arsenit (5 μ M 24 saat) veya kronik sodyum arsenit (100 nM, 24 hafta) maruziyeti ile BEAS-2B hücrelerinde EGFR ekspresyonunun ve aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Kim ve diğerleri, 2020). Andrew ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmanın sonuçlarına göre, As maruziyetinin özellikle insan solunum yolu epitel hücrelerinde, hücrel büyümenin düzenlenmesi ile ilgili gen ekspresyonuna aracılık eden EGFR-ERK (hücre dışı sinyal düzenleyici protein kinaz) sinyal yolunu aktive ettiği gözlenmiştir (Andrew ve diğerleri, 2009). Yapılan başka bir çalışmada ise As'ın insan üroepitel hücre hattında EGFR/ERK yolağını aktive edebildiği

belirtilmiş ve içme suyu ile As'e maruz bırakılan farelerde EGFR ve ERK aktivasyonunun indüklendiği bildirilmiştir (Simeonova ve diğerleri, 2002).

As maruziyeti ile EGFR seviyesi ve ekspresyonu arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli epidemiyolojik çalışmalar da bulunmaktadır. Serum EGFR düzeyleri ile karaciğer kanser riski arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, yaş ve cinsiyet bakımından eşleştirilmiş karaciğer kanseri olan (n=100) ve olmayan (n=100) bireylerde, EGFR düzeyleri kıyaslanmış ve kanserli bireylerde daha yüksek EGFR seviyeleri bulunmuştur. Aynı çalışmada kanser hastalarından As endemik bölgede yaşayan (n=22) ve bu bölge dışında yaşayan (n=22) yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş kanserli bireyler karşılaştırıldığında endemik bölgeden gelen hastaların daha yüksek EGFR seviyeleri tespit edilmiştir. Sonuçlarda EGFR'in karaciğer kanseri hastalarında, özellikle As maruziyeti olanlarda aşırı ifade edildiği görülmüştür (Sung ve diğerleri, 2012).

EGFR aktivasyonu reseptörün hücre dışı alanına ligandlarının bağlanması sonucu meydana gelmektedir. Bangladeş'te içme suyu ile As maruziyeti olan 574 katılımcılı bir takip çalışmasında, EGFR'nin hücre dışı alanı'nın As maruziyeti ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif ilişkili olduğu ve bu ilişkinin As kaynaklı cilt lezyonları olan bireylerde daha güçlü olduğu ve belirli bir As seviyesi için cilt lezyonları riskinin, artan EGFR hücre dışı alanı seviyeleriyle birlikte arttığı gözlenmiştir (Li ve diğerleri, 2007).

Araştırmamızda, çalışma grubu ($>50 \mu\text{g/l}$) ile kontrol grubu ($<10 \mu\text{g/l}$) serum EGFR konsantrasyonları açısından karşılaştırıldığında, iki grupta da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu bulgular, $>50 \mu\text{g/l}$ konsantrasyonda As maruziyetinin EGFR konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Kanser gelişiminin yüksek EGFR seviyeleri, düşük DMA/MMA indeksi ve yüksek MMA/iAs seviyeleri ile ilişkilendirildiği bilinmektedir. Bulgularımızda DMA/MMA oranı çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Bu durumda As metilasyonunun yeterli olduğu ve çalışma bölgemizdeki As maruziyet dozunun EGFR üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı söylenebilir. Korelasyon analizlerimizde, çalışma grubunda iAs(III) ile EGFR arasında anlamlı ve zayıf düzeyde ters yönde bir korelasyon saptanmış, iAs(III) seviyesi arttıkça EGFR seviyesinin azalma eğilimi gösterdiği görülmüştür. Kontrol grubunda yapılan korelasyon analizinde ise EGFR ile tAs arasında anlamlı ve zayıf düzeyde negatif yönlü bir korelasyon saptanmıştır. As maruziyetinin bir göstergesi olan iAs(III) ve

tAs ile EGFR arasında tespit edilen bu ilişkiler, As maruziyetinin EGFR üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi açısından anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca çalışma grubunda yaş ve EGFR arasında anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda da benzer şekilde bireylerin yaşı ve EGFR arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur ancak bu durum kanser gelişimi ile ilişkilendirilememiştir (Fox ve diğerleri, 1994; Ueno ve diğerleri, 2012). Bu durum EGFR düzeylerindeki artışın benzer şekilde yaşa bağımlı olarak arttığını düşündürmektedir.

Araştırmamızda dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireylerdeki EGFR seviyelerinin değişimi de incelenmiştir. Öncelikle genel popülasyon, çalışma ve kontrol grubu olmak üzere üç kategori belirlenmiş ve her biri kendi içerisinde dermal lezyon varlığı bakımından ikiye ayrılmıştır. Her bir kategoride dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireylerdeki EGFR seviyelerinin değişimi kendi içerisinde incelenmiştir. Genel popülasyonda dermal lezyon görülmeyen ve görülmeyen bireyler arasındaki EGFR seviyeleri benzer bulunmuşken, çalışma grubunda dermal lezyonu olanlarda EGFR seviyesi anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda ise dermal lezyon gözlenmeyenlerin EGFR seviyesi, gözlenenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Daha sonra genel popülasyon dermal lezyon görülen ve görülmeyen bireyler olarak iki kategoriye ayrılmış ve her iki kategoride de çalışma ve kontrol grubu arasındaki EGFR seviyeleri incelenmiştir. Buradaki sonuçlarda ise dermal lezyonu bulunan sınıfta çalışma grubunda kontrol grubuna göre EGFR seviyesi anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dermal lezyon olmayan sınıfta ise kontrol ve çalışma grubu EGFR seviyesi bakımından benzer bulunmuştur. Bulgularımız sonucunda As maruziyetinin neden olduğu dermal lezyon görülen bireylerde EGFR seviyesinin arttığını tespit edilmiş olup bu durum yapılan araştırmalarla benzerlik göstermektedir ve EGFR'nin As maruziyetinin etkisinin potansiyel bir biyolojik belirteci olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda ayrıca çalışma ve kontrol grubunda EGFR ve Trx1 arasındaki korelasyon incelenmiştir. EGFR sinyalizasyonunun hücrenin redoks durumundan etkilendiği ve bu süreçte sistein oksidasyonunun kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. EGFR aktivasyonu NADPH bağımlı oksidazlar tarafından lokal olarak H_2O_2 'nin üretilmesine neden olmaktadır. H_2O_2 ikincil bir haberci olarak belirli redoks duyarlı protein hedeflerindeki sistein kalıntılarının modifikasyonu yoluyla işlev görerek hücresel sinyal iletim kademelerini düzenler. EGFR sinyalizasyonunun redoks düzenlenmesini ve sistein oksidasyonunun bu süreçteki etkilerini inceleyen bir çalışmada; EGFR sinyalizasyonuna yanıt olarak fizyolojik

H₂O₂ üretiminin özellikle Trx1 sisteminin oksidasyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Truong ve Carroll, 2012). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda EGFR ve Trx1 arasında anlamlı zayıf düzeyde pozitif yönlü korelasyon olduğu gözlenmiştir. Ancak elde edilen korelasyon EGFR ve Trx1'in birbiri ile ilişkili olduğunu desteklese de söz konusu ilişkinin kontrol grubunda saptanması bu durumun As'in indüklediği oksidatif stres ile ilgili olmadığını düşündürmektedir.





6. SONUÇ

As maruziyetinde bazı biyolojik değişiklikler cilt lezyonları ve diğer sağlık sorunları ortaya çıkmadan önce tespit edilebilir. Bu nedenle, As maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkan toksik etkilerin erken teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için etkin biyogöstergelerin bulunması çok önemlidir. Bu tür çalışmalar, As kontaminasyonunun halk sağlığı üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza ve gerekli önlemleri almamıza yardımcı olacaktır. Nevşehir bölgesinde yapılan bu çalışmada serum Trx1 ve/veya serum EGFR düzeyinin As maruziyetinde bir biyogösterge olup olamayacağı incelenmiştir. Sonuçlarımız düşük doz As maruziyetinde serum Trx1 düzeyinin erken aşamada bir biyogösterge olarak kullanılması yönünde potansiyelinin olmadığını göstermiştir. Diğer taraftan kontrol ve çalışma grubunda EGFR seviyeleri benzer olsa da, dermal lezyonlar ve EGFR arasında elde edilen sonuçlar EGFR'nin As maruziyetinde bir biyogösterge olarak kullanılabileceğini desteklemektedir. As ve EGFR arasındaki ilişki kompleks ve çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir ve spesifik etkileşimlerinin tam anlamıyla anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. As maruziyetinin hem EGFR hem de Trx1 üzerine etkisinde As metilasyon kapasitesi önemli bir faktör olarak öne çıkmaktadır. As toksisitesine ilişkin yapılan çalışmaların çoğu As maruziyetinin çok yüksek seviyelerde olduğu Bangladeş, Tayvan gibi As endemik bölgelerde yapılmış olup, düşük dozda As maruziyetine ilişkin veriler sınırlıdır. Bulgularımız bir ön değerlendirme niteliğinde olup özellikle, kronik maruziyetin uzun vadeli etkilerini anlamak ve düşük doz maruziyetin sağlığa olan etkilerini daha net bir şekilde ortaya koymak için daha fazla çalışma gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Aggarwal, S., Sinha, D., Tiwari, A. K., Pooja, P., Kaul, A., Singh, G., Mishra, A. K. (2015). Studies for development of novel quinazolinones: new biomarker for EGFR. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 143, 309-318.
- Ahmad, A., Bhattacharya, P. (2019). Arsenic in drinking water: is 10 µg/L a safe limit? *Current Pollution Reports*, 5(1), 1-3.
- Ahsan, H., Chen, Y., Kibriya, M. G., Slavkovich, V., Parvez, F., Jasmine, F., Gamble, M. V., Graziano, J. H. (2007). Arsenic metabolism, genetic susceptibility, and risk of premalignant skin lesions in Bangladesh. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(6), 1270-1278.
- Akgül, S. T., Bekaroğlu, Ş. Ş. K. (2022). Düşük Maliyetli ve Çevre Dostu Adsorbentler ile Sulardan Arsenik Giderimi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(3), 1395-1404.
- Alshana, U., Altun, B., Ertaş, N., Çakmak, G., Kadioglu, E., Hisarlı, D., Aşık, E., Atabey, E., Çelebi, C. R., Bilir, N. (2022). Evaluation of low-to-moderate arsenic exposure, metabolism and skin lesions in a Turkish rural population exposed through drinking water. *Chemosphere*, 304, 135277.
- Andrew, A. S., Mason, R. A., Memoli, V., Duell, E. J. (2009). Arsenic activates EGFR pathway signaling in the lung. *Toxicological sciences*, 109(2), 350-357.
- Andrisic, L., Dudzik, D., Barbas, C., Milkovic, L., Grune, T., Zarkovic, N. (2018). Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer. *Redox biology*, 14, 47-58.
- Arodin, L., Miranda-Vizuete, A., Swoboda, P., Fernandes, A. P. (2014). Protective effects of the thioredoxin and glutaredoxin systems in dopamine-induced cell death. *Free Radical Biology and Medicine*, 73, 328-336.
- Atabey, E. (2009). *Arsenik ve Etkileri*. Ankara: Maden Tetkikve Arama Genel Müdürlüğü.
- Atabey, E. (2013). *Nevşehir İli Tıbbi Jeolojik Unsurları ve Halk Sağlığı*. Ankara: Nevşehir Belediyesi.
- Atabey, E., Ünal, H. (2008). Batı Anadoludaki Jeolojik Unsurlar ve Halk sağlığı Projesi, 2006-2007 yılı araştırmaları Tıbbi Jeoloji Etüt raporu. *MTA Raporu*(11067).
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR]. (2007). *Toxicological profile for Arsenic*. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Balsera, M., Buchanan, B. B. (2019). Evolution of the thioredoxin system as a step enabling adaptation to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 140, 28-35.

- Benhar, M. (2015). Nitric oxide and the thioredoxin system: a complex interplay in redox regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1850(12), 2476-2484.
- Bethune, G., Bethune, D., Ridgway, N., Xu, Z. (2010). Epidermal growth factor receptor (EGFR) in lung cancer: an overview and update. *Journal of thoracic disease*, 2(1), 48.
- Bilici Çalışkan, M., Pala, A. (2009). İçme sularında arsenik kirliliği: Ülkemiz açısından bir değerlendirme. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 15(1).
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5(1), 9-19.
- Björklund, G., Zou, L., Wang, J., Chasapis, C. T., Peana, M. (2021). Thioredoxin reductase as a pharmacological target. *Pharmacological Research*, 174, 105854.
- Bode, A. M., Dong, Z. (2002). The paradox of arsenic: molecular mechanisms of cell transformation and chemotherapeutic effects. *Critical reviews in oncology/hematology*, 42(1), 5-24.
- Bonini, M. G., Sargis, R. M. (2018). Environmental toxicant exposures and type 2 diabetes mellitus: two interrelated public health problems on the rise. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 52-59.
- Branco, V., Carvalho, C. (2019). The thioredoxin system as a target for mercury compounds. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1863(12), 129255.
- Burgaz S., Ertaş N., Çakmak Demircigil G., Kadioğlu E., Alshana U., Aşık E., Hisarlı N. D., Altun B., Bora S., Çelebi Rumi C., Atabey E., Ataman O. Y., Serçe H., Bilir N., Tuncer A. M. (2015). “İçme Sularında Arsenik Kirliliği Olan Bölgelerde Yaşayan Bireylerdeki Sağlık Risklerinin Moleküler Epidemiyolojik Yöntemlerle Araştırılması, TÜBİTAK Proje no:109S419SBAG-109S419
- Bustaffa, E., Stoccoro, A., Bianchi, F., Migliore, L. (2014). Genotoxic and epigenetic mechanisms in arsenic carcinogenicity. *Archives of toxicology*, 88(5), 1043-1067.
- Calao-Ramos, C. R., Negrete, J. L. M., Cárdenas, I. U., Díez, S. (2023). Genotoxicity and mutagenicity in blood and drinking water induced by arsenic in an impacted gold mining region in Colombia. *Environmental research*, 233, 116229.
- Capdevila, J., Elez, E., Macarulla, T., Ramos, F. J., Ruiz-Echarri, M., Tabernero, J. (2009). Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer treatment. *Cancer treatment reviews*, 35(4), 354-363.
- Ceresa, B. P., Peterson, J. L. (2014). Cell and molecular biology of epidermal growth factor receptor. *International review of cell and molecular biology*, 313, 145-178.
- Chakraborty, A., Ghosh, S., Biswas, B., Pramanik, S., Nriagu, J., Bhowmick, S. (2022). Epigenetic modifications from arsenic exposure: A comprehensive review. *Science of The Total Environment*, 810, 151218.

- Chen, F., Shi, X. (2002). Signaling from toxic metals to NF-kappaB and beyond: not just a matter of reactive oxygen species. *Environmental health perspectives*, 110(suppl 5), 807-811.
- Chen, Y.-C., Guo, Y.-L. L., Su, H.-J. J., Hsueh, Y.-M., Smith, T. J., Ryan, L. M., Lee, M.-S., Chao, S.-C., Lee, J. Y.-Y., Christiani, D. C. (2003). Arsenic methylation and skin cancer risk in southwestern Taiwan. *Journal of occupational and environmental medicine*, 45(3), 241-248.
- Chen, Y., Santella, R. M., Kibriya, M. G., Wang, Q., Kappil, M., Verret, W. J., Graziano, J. H., Ahsan, H. (2007). Association between arsenic exposure from drinking water and plasma levels of soluble cell adhesion molecules. *Environmental health perspectives*, 115(10), 1415-1420.
- Cheng, T. J., Wang, Y. J., Kao, W.-W., Chen, R. J., Ho, Y. S. (2007). Protection against arsenic trioxide-induced autophagic cell death in U118 human glioma cells by use of lipoic acid. *Food and chemical toxicology*, 45(6), 1027-1038.
- Cheng PS, Weng SF, Chiang CH, Lai FJ, 2016. Relationship between arsenic-containing drinking water and skin cancers in the arseniasis endemic areas in Taiwan. *The Journal of Dermatology* 10.1111/1346-8138.13058, 43, 181–186
- Chi, L., Tu, P., Liu, C.-w., Lai, Y., Xue, J., Ru, H., Lu, K. (2019). Chronic arsenic exposure induces oxidative stress and perturbs serum lysolipids and fecal unsaturated fatty acid metabolism. *Chemical research in toxicology*, 32(6), 1204-1211.
- Ciardiello, F., Tortora, G. (2008). EGFR antagonists in cancer treatment. *New England Journal of Medicine*, 358(11), 1160-1174.
- Costa, M. (2019). Review of arsenic toxicity, speciation and polyadenylation of canonical histones. *Toxicology and applied pharmacology*, 375, 1-4.
- Cui, Y. X., Dong, L., Zhang, M., Liu, Y. N., Chen, Y. H., Jia, M. Z., Chen, K. P., Wang, H., Shi, Y. W., Ma, T. Y. (2023). Long-term exposure to arsenic in drinking water leads to myocardial damage by oxidative stress and reduction in NO. *Toxicology*, 492, 153529.
- Dagnell, M., Schmidt, E. E., Arnér, E. S. (2018). The A to Z of modulated cell patterning by mammalian thioredoxin reductases. *Free Radical Biology and Medicine*, 115, 484-496.
- Demissie, S., Mekonen, S., Awoke, T., Teshome, B., Mengistie, B. (2024). Examining carcinogenic and noncarcinogenic health risks related to arsenic exposure in Ethiopia: A longitudinal study. *Toxicology Reports*, 12, 100-110.
- Diniz, B. S., Mendes-Silva, A. P., Silva, L. B., Bertola, L., Vieira, M. C., Ferreira, J. D., Nicolau, M., Bristot, G., da Rosa, E. D., Teixeira, A. L. (2018). Oxidative stress markers imbalance in late-life depression. *Journal of Psychiatric Research*, 102, 29-33.
- Drobna, Z., Styblo, M., Thomas, D. J. (2009). An overview of arsenic metabolism and toxicity. *Current protocols in toxicology*, 42(1), 4.31. 31-34.31. 36.

- Ebadi, M., Srinivasan, S. K., Baxi, M. D. (1996). Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*, 48(1), 1-19.
- Eklund, H., Gleason, F. K., Holmgren, A. (1991). Structural and functional relations among thioredoxins of different species. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 11(1), 13-28.
- Environmental Protect Agency (EPA). (2000). Arsenic occurrence in public drinking water supplies. *United States Environmental Protection Agency Available from: Office of Groundwater and Drinking Water*, 1200
- Etienne, I., Magalhães, L. V. B., Cardoso, S. A., de Freitas, R. B., de Oliveira, G. P., Palotás, A., Lima, L. M. (2019). Oxidative stress markers in cognitively intact patients with diabetic neuropathy. *Brain Research Bulletin*, 150, 196-200.
- Evans, A. E., Mateo-Sagasta, J., Qadir, M., Boelee, E., Ippolito, A. (2019). Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. *Current opinion in environmental sustainability*, 36, 20-27.
- Farzan, S. F., Eunus, H. M., Haque, S. E., Sarwar, G., Hasan, A. R., Wu, F., Islam, T., Ahmed, A., Shahriar, M., Jasmine, F. (2022). Arsenic exposure from drinking water and endothelial dysfunction in Bangladeshi adolescents. *Environmental research*, 208, 112697.
- Fitzgerald, T. L., Lertpiriyapong, K., Cocco, L., Martelli, A. M., Libra, M., Candido, S., Montalto, G., Cervello, M., Steelman, L., Abrams, S. L. (2015). Roles of EGFR and KRAS and their downstream signaling pathways in pancreatic cancer and pancreatic cancer stem cells. *Advances in biological regulation*, 59, 65-81.
- Flanagan, S. V., Johnston, R. B., Zheng, Y. (2012). Arsenic in tube well water in Bangladesh: health and economic impacts and implications for arsenic mitigation. *Bulletin of the World Health Organization*, 90, 839-846.
- Flora, S., Mittal, M., Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 501.
- Flora, S., Pachauri, V. (2013). Arsenic, free radical and oxidative stress. *Encyclopedia of metalloproteins*. New York: Springer, 149-159.
- Flora, S. J. (2011). Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(2), 257-281.
- Fox, S. B., Smith, K., Hollyer, J., Greenall, M., Hastrich, D., Harris, A. L. (1994). The epidermal growth factor receptor as a prognostic marker: results of 370 patients and review of 3009 patients. *Breast cancer research and treatment*, 29, 41-49.
- Giri, A. K., Banerjee, N. (2024). The probable reasons of arsenic susceptibility in a chronically exposed population of West Bengal. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 894, 503725.
- Gonzalez-Conchas, G. A., Rodriguez-Romo, L., Hernandez-Barajas, D., Gonzalez-Guerrero, J. F., Rodriguez-Fernandez, I. A., Verdines-Perez, A., Templeton, A. J.,

- Ocana, A., Seruga, B., Tannock, I. F. (2018). Epidermal growth factor receptor overexpression and outcomes in early breast cancer: A systematic review and a meta-analysis. *Cancer treatment reviews*, 62, 1-8.
- González, N., Esplugas, R., Marquès, M., Domingo, J. L. (2021). Concentrations of arsenic and vanadium in environmental and biological samples collected in the neighborhood of petrochemical industries: A review of the scientific literature. *Science of The Total Environment*, 771, 145149.
- Harris-Gauthier, N., Traa, A., Alokda, A., Moldakozhayev, A., Anglas, U., Soo, S. K., Van Raamsdonk, J. M. (2022). Mitochondrial thioredoxin system is required for enhanced stress resistance and extended longevity in long-lived mitochondrial mutants. *Redox biology*, 53, 102335.
- Herbst, R. S. (2004). Review of epidermal growth factor receptor biology. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 59(2), S21-S26.
- Holmgren, A. (1995). Thioredoxin structure and mechanism: conformational changes on oxidation of the active-site sulfhydryls to a disulfide. *Structure*, 3(3), 239-243.
- Holmgren, A., Lu, J. (2010). Thioredoxin and thioredoxin reductase: current research with special reference to human disease. *Biochemical and biophysical research communications*, 396(1), 120-124.
- Hosseini, M.-J., Shaki, F., Ghazi-Khansari, M., Pourahmad, J. (2013). Toxicity of arsenic (III) on isolated liver mitochondria: a new mechanistic approach. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(Suppl), 121.
- Hu, Y., Jin, X., Snow, E. T. (2002). Effect of arsenic on transcription factor AP-1 and NF- κ B DNA binding activity and related gene expression. *Toxicology letters*, 133(1), 33-45.
- Huang, L., Wu, H., van der Kuijp, T. J. (2015). The health effects of exposure to arsenic-contaminated drinking water: a review by global geographical distribution. *International journal of environmental health research*, 25(4), 432-452.
- Hubaux, R., Becker-Santos, D. D., Enfield, K. S., Lam, S., Lam, W. L., Martinez, V. D. (2012). Arsenic, asbestos and radon: emerging players in lung tumorigenesis. *Environmental health*, 11(1), 1-12.
- Huestis, J., Zhou, X., Chen, L., Feng, C., Hudson, L. G., Liu, K. J. (2016). Kinetics and thermodynamics of zinc (II) and arsenic (III) binding to XPA and PARP-1 zinc finger peptides. *Journal of inorganic biochemistry*, 163, 45-52.
- Hughes, M. F. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicology letters*, 133(1), 1-16.
- Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicological sciences*, 123(2), 305-332.
- Hwang, O. (2013). Role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Experimental neurobiology*, 22(1), 11.

International Agency for Research on Cancer [IARC]. (2012a). Agents classified by the IARC monographs, volumes 1-135.

International Agency for Research on Cancer [IARC] (2012b). Arsenic, metals, fibres, and dusts. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 100 c.

İnternet: Anonim (2012, Temmuz) Clinical and Research Information on Drug-Induced liver injury. *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548692/> adresinden 05.12.2023'de alınmıştır.

İnternet: Kumar, A., Ali, M., Kumar, R., Kumar, M., Sagar, P., Pandey, R. K., Akhouri, V., Kumar, V., Anand, G., Niraj, P. K., Rani, R., Kumar, S., Kumar, D., Bishwapriya, A., Ghosh, A.K. (2021). Arsenic exposure in Indo Gangetic plains of Bihar causing increased cancer risk. *Scientific Report* 2021; 11: 2376. Web: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-81579-9> adresinden 08.06.2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: World Health Agency (WHO). (2022). Arsenic, WHO Fact Sheet. Web: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic> adresinden 12.10.2023'de alınmıştır.

İriş, C., Çınar, M. (2019). Antioksidan vitaminler ve ağır metal toksisitesi üzerine etkileri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 10(3), 135-151.

Jin, P., Zhou, Q., Xi, S. (2022). Low-dose arsenite causes overexpression of EGF, TGF α , and HSP90 through Trx1-TXNIP-NLRP3 axis mediated signaling pathways in the human bladder epithelial cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 247, 114263.

Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., Rhodes, C., Valko, M. (2011). Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *Journal of Applied Toxicology*, 31(2), 95-107.

Jovanovic, B., Eiermann, N., Talwar, D., Boulougouri, M., Dick, T. P., Stoecklin, G. (2021). Thioredoxin 1 is a stress granule component important for cell survival upon arsenic exposure. *Free Radical Biology and Medicine*, 177, S79.

Katagiri, K., Matsuzawa, A., Ichijo, H. (2010). Regulation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in redox signaling *Methods in enzymology* (Vol. 474). Elsevier, s. 277-288.

Kenyon, E. M. (2021). Arsenic toxicokinetic modeling and risk analysis: Progress, needs and applications. *Toxicology*, 457, 152809.

Kim, C., States, J. C., Ceresa, B. P. (2020). Chronic and acute arsenic exposure enhance EGFR expression via distinct molecular mechanisms. *Toxicology in Vitro*, 67, 104925.

Klaunig, J. E., Kamendulis, L. M., Hocevar, B. A. (2010). Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. *Toxicologic pathology*, 38(1), 96-109. Kuo, C.-C., Moon, K. A., Wang, S.-L., Silbergeld, E., Navas-Acien, A. (2017). The association of arsenic metabolism with cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a systematic review of the epidemiological evidence. *Environmental health perspectives*, 125(8), 087001.

- Lee, J. S., Davis, J. A. (2023). Arsenic risk assessment *Handbook of Arsenic Toxicology*. Elsevier, s. 101-131.
- Lennon, B. W., Williams Jr, C. H., Ludwig, M. L. (2000). Twists in catalysis: alternating conformations of Escherichia coli thioredoxin reductase. *Science*, 289(5482), 1190-1194.
- Li, S., Zhao, H., Wang, Y., Shao, Y., Wang, B., Wang, Y., Xing, M. (2018). Regulation of autophagy factors by oxidative stress and cardiac enzymes imbalance during arsenic or/and copper induced cardiotoxicity in Gallus gallus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 125-134.
- Li, Y., Chen, Y., Slavkovic, V., Ahsan, H., Parvez, F., Graziano, J., Brandt-Rauf, P. (2007). Serum levels of the extracellular domain of the epidermal growth factor receptor in individuals exposed to arsenic in drinking water in Bangladesh. *Biomarkers*, 12(3), 256-265.
- Li, Y., Gao, Y., Zhao, L., Wei, Y., Feng, H., Wang, C., Wei, W., Ding, Y., Sun, D. (2012). Changes in serum thioredoxin among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. *Toxicology and applied pharmacology*, 259(1), 124-132.
- Lillig, C. H., Holmgren, A. (2007). Thioredoxin and related molecules—from biology to health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 9(1), 25-47.
- Liu, G., Song, Y., Li, C., Liu, R., Chen, Y., Yu, L., Huang, Q., Zhu, D., Lu, C., Yu, X. (2021). Arsenic compounds: the wide application and mechanisms applied in acute promyelocytic leukemia and carcinogenic toxicology. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 221, 113519.
- Liu, Z. G., Huang, X. J. (2014). Voltammetric determination of inorganic arsenic. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 60, 25-35.
- Lu, J., Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology and Medicine*, 66, 75-87.
- Lu, T., Liu, J., LeCluyse, E. L., Zhou, Y.-S., Cheng, M. L., Waalkes, M. P. (2001). Application of cDNA microarray to the study of arsenic-induced liver diseases in the population of Guizhou, China. *Toxicological sciences*, 59(1), 185-192.
- Mahar, H., Memon, A. R., Ishfaq, A., Soomro, S. A. (2024). The surveillance of arsenic levels in the drinking water of primary schools and the assessment of the potential cancer-related health risks of children in Multan, Pakistan. *Emerging Contaminants*, 10(1), 100252.
- Majumder, S., Joardar, M., Das, A., De, A., Mridha, D., Ghosh, S., Lama, U., Dey, A., Chowdhury, N. R., Majumdar, A. (2023). Arsenic toxicity, biomarkers of exposure and risk assessment among different aged young population from endemic areas of West Bengal, India. *Groundwater for Sustainable Development*, 101022.
- Marlborough, S. J., Wilson, V. L. (2015). Arsenic speciation driving risk based corrective action. *Science of The Total Environment*, 520, 253-259.

- Matthews, J. R., Wakasugi, N., Virelizier, J. L., Yodoi, J., Hay, R. T. (1992). Thioredoxin regulates the DNA binding activity of NF- χ B by reduction of a disulphid bond involving cysteine 62. *Nucleic acids research*, 20(15), 3821-3830.
- McCarty, K. M., Chen, Y.-C., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Mahiuddin, G., Hsueh, Y.-M., Su, L., Smith, T., Ryan, L., Christiani, D. C. (2007). Arsenic methylation, GSTT1, GSTM1, GSTP1 polymorphisms, and skin lesions. *Environmental health perspectives*, 115(3), 341-345.
- Medda, N., De, S. K., Maiti, S. (2021). Different mechanisms of arsenic related signaling in cellular proliferation, apoptosis and neo-plastic transformation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111752.
- Michelet, L., Zaffagnini, M., Lemaire, D. (2009). Thioredoxins and related proteins *The Chlamydomonas Sourcebook*. Elsevier, s. 401-443.
- Miller, C. G., Holmgren, A., Arnér, E. S., Schmidt, E. E. (2018). NADPH-dependent and-independent disulfide reductase systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 248-261.
- Minatel, B. C., Sage, A. P., Anderson, C., Hubaux, R., Marshall, E. A., Lam, W. L., Martinez, V. D. (2018). Environmental arsenic exposure: from genetic susceptibility to pathogenesis. *Environment international*, 112, 183-197.
- Bissen, M., Frimmel F. H. (2003). Arsenic - a Review. Part I: Occurrence, Toxicity, Speciation, Mobility. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 31(1), 9 - 18.
- Mutlu, Ü. (2020). *Farklı seviyede arsenik içeren yurtbaşı şifalı sularını içen ratlarda biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdeki değişimlerinin incelenmesi*, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Nagarajan, N., Oka, S., Sadoshima, J. (2017). Modulation of signaling mechanisms in the heart by thioredoxin 1. *Free Radical Biology and Medicine*, 109, 125-131.
- Nakamura, H., Nakamura, K., Yodoi, J. (1997). Redox regulation of cellular activation. *Annual review of immunology*, 15(1), 351-369.
- Normanno, N., De Luca, A., Bianco, C., Strizzi, L., Mancino, M., Maiello, M. R., Carotenuto, A., De Feo, G., Caponigro, F., Salomon, D. S. (2006). Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene*, 366(1), 2-16.
- Özbolet, G., Abdullah, T. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 502-521.
- Öztürk, E., Akın, O., Çıkım, G., Şahin, İ.E. . (2013). *Biyokimya*. (6). Klinisyen Tıp Kitapevleri, 37, 39.
- Palma Lara, I., Martínez Castillo, M., Quintana Pérez, J., Arellano-Mendoza, M., Tamay Cach, F., Valenzuela-Limón, O., García-Montalvo, E., Hernández Zavala, A. (2020). Arsenic exposure: A public health problem leading to several cancers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 110, 104539.

- Powis, G., Montfort, W. R. (2001). Properties and biological activities of thioredoxins. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 30, 421.
- Putila, J. J., Guo, N. L. (2011). Association of arsenic exposure with lung cancer incidence rates in the United States. *PloS one*, 6(10), e25886.
- Ramsey, K. (2023). Arsenic and respiratory disease *Handbook of arsenic toxicology*. Elsevier, s. 381-394.
- Ratnaike, R. N. (2003). Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate medical journal*, 79(933), 391-396.
- Ravenscroft, P. (2007). *Special session: Arsenic in the natural environment; the geography of a global problem*. Annual Conference of the Royal Geographical Society, London, August.
- Rehman, U. u., Khan, S., Muhammad, S. (2020). Ingestion of arsenic-contaminated drinking water leads to health risk and traces in human biomarkers (hair, nails, blood, and urine), Pakistan. *Exposure and Health*, 12(2), 243-254.
- Richards, L. A., Casanueva-Marenco, M. J., Magnone, D., Sovann, C., van Dongen, B. E., Polya, D. A. (2019). Contrasting sorption behaviours affecting groundwater arsenic concentration in Kandal Province, Cambodia. *Geoscience Frontiers*, 10(5), 1701-1713.
- Robles-Osorio, M. L., Sabath-Silva, E., Sabath, E. (2015). Arsenic-mediated nephrotoxicity. *Renal failure*, 37(4), 542-547.
- Roggenbeck, B. A., Leslie, E. M., Walk, S. T., Schmidt, E. E. (2019). Redox metabolism of ingested arsenic: Integrated activities of microbiome and host on toxicological outcomes. *Current Opinion in Toxicology*, 13, 90-98.
- Roshni, P., Aiswarya, P., Remya, R., Meenu, V. (2015). Environmental and occupational risk factors associated with lung cancer. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)*, 4(5), 722-730.
- Rubino, F. M. (2015). Toxicity of glutathione-binding metals: a review of targets and mechanisms. *Toxics*, 3(1), 20-62.
- İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik, 17 C.F.R. (2005). URL: <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=7510&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>
- Sattar, A., Xie, S., Hafeez, M. A., Wang, X., Hussain, H. I., Iqbal, Z., Pan, Y., Iqbal, M., Shabbir, M. A., Yuan, Z. (2016). Metabolism and toxicity of arsenicals in mammals. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 48, 214-224.
- Schürmann, P., Buchanan, B. B. (2008). The ferredoxin/thioredoxin system of oxygenic photosynthesis. *Antioxidants & redox signaling*, 10(7), 1235-1274.

- Sevak, P., Pushkar, B. (2024). Arsenic pollution cycle, toxicity and sustainable remediation technologies: A comprehensive review and bibliometric analysis. *Journal of Environmental Management*, 349, 119504.
- Shi, H., Shi, X., Liu, K. J. (2004). Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Molecular and cellular biochemistry*, 255(1), 67-78.
- Simeonova, P. P., Wang, S., Hulderman, T., Luster, M. I. (2002). c-Src-dependent activation of the epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase pathway by arsenic: Role in carcinogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 277(4), 2945-2950.
- Sodhi, K. K., Kumar, M., Agrawal, P. K., Singh, D. K. (2019). Perspectives on arsenic toxicity, carcinogenicity and its systemic remediation strategies. *Environmental Technology & Innovation*, 16, 100462.
- Somé, I., Sakira, A., Ouédraogo, M., Ouédraogo, T., Traoré, A., Sondo, B., Guissou, P. (2012). Arsenic levels in tube-wells water, food, residents' urine and the prevalence of skin lesions in Yatenga province, Burkina Faso. *Interdisciplinary toxicology*, 5(1), 38-41.
- Soza-Ried, C., Bustamante, E., Caglevic, C., Rolfo, C., Sirera, R., Marsiglia, H. (2019). Oncogenic role of arsenic exposure in lung cancer: A forgotten risk factor. *Critical reviews in oncology/hematology*, 139, 128-133.
- Speer, R. M., Zhou, X., Volk, L. B., Liu, K. J., Hudson, L. G. (2023). Arsenic and cancer: Evidence and mechanisms *Advances in Pharmacology* (Vol. 96). Elsevier, s. 151-202.
- Su, Q., He, Y., Pan, H., Liu, H., Mehmood, K., Tang, Z., Hu, L. (2023). Toxicity of inorganic arsenic to animals and its treatment strategies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 109654.
- Sung, T. I., Wang, Y. J., Chen, C. Y., Hung, T. L., Guo, H. R. (2012). Increased serum level of epidermal growth factor receptor in liver cancer patients and its association with exposure to arsenic. *Science of The Total Environment*, 424, 74-78.
- Şentürk, M. (2013). *Saroz Körfezi balık türlerinde arseniğin hidrür oluşturmali atomik absorpsiyon ve grafit fırın atomik absorpsiyon spektrometri ile tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 14-17.
- Templeton, A. K., Miyamoto, S., Babu, A., Munshi, A., Ramesh, R. (2014). Cancer stem cells: progress and challenges in lung cancer. *Stem cell investigation*, 1.
- Thomas, D. J., Waters, S. B., Styblo, M. (2004). Elucidating the pathway for arsenic methylation. *Toxicology and applied pharmacology*, 198(3), 319-326.
- Truong, T. H., Carroll, K. S. (2012). Redox regulation of epidermal growth factor receptor signaling through cysteine oxidation. *Biochemistry*, 51(50), 9954-9965.
- Tyler, C. R., Allan, A. M. (2014). The effects of arsenic exposure on neurological and cognitive dysfunction in human and rodent studies: a review. *Current environmental health reports*, 1(2), 132-147.

- Ueno, T., Toyooka, S., Suda, K., Soh, J., Yatabe, Y., Miyoshi, S., Matsuo, K., Mitsudomi, T. (2012). Impact of age on epidermal growth factor receptor mutation in lung cancer. *Lung cancer*, 78(3), 207-211.
- Uppal, J. S., Zheng, Q., Le, X. C. (2019). Arsenic in drinking water—recent examples and updates from Southeast Asia. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 7, 126-135.
- Ünlü, A., Çoban, F., Tunç, M. S. (2008). Hazar Gölü su kalitesinin fiziksel ve inorganik kimyasal parametreler açısından incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 23(1).
- Venkataraman, T., Frieman, M. B. (2017). The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in SARS coronavirus-induced pulmonary fibrosis. *Antiviral research*, 143, 142-150.
- Vergara-Gerónimo, C. A., Del Río, A. L., Rodríguez-Dorantes, M., Ostrosky-Wegman, P., Salazar, A. M. (2021). Arsenic-protein interactions as a mechanism of arsenic toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 431, 115738.
- Wang, C. Y., Mayo, M. W., Baldwin Jr, A. S. (1996). TNF and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF- κ B. *Science*, 274(5288), 784-787.
- Wang, D., Liang, Q., Tai, D., Wang, Y., Hao, H., Liu, Z., Huang, L. (2023). Association of urinary arsenic with the oxidative DNA damage marker 8-hydroxy-2 deoxyguanosine: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 166600.
- Wang, X., Wu, Y., Sun, X., Guo, Q., Xia, W., Wu, Y., Li, J., Xu, S., Li, Y. (2021). Arsenic exposure and metabolism in relation to blood pressure changes in pregnant women. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 222, 112527.
- Wei, B., Yu, J., Kong, C., Li, H., Yang, L., Xia, Y., Wu, K. (2018). A follow-up study of the development of skin lesions associated with arsenic exposure duration. *Environmental geochemistry and health*, 40, 2729-2738.
- Wei, B., Yu, J., Wang, J., Yang, L., Li, H., Kong, C., Xia, Y., Wu, K. (2017). The relationships between arsenic methylation and both skin lesions and hypertension caused by chronic exposure to arsenic in drinking water. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 53, 89-94.
- World Health Organization (WHO). (2000). *Air quality guidelines for Europe*. World Health Organization. Regional Office for Europe.
- World Health Organization (WHO). (2001). *Arsenic and arsenic compounds*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). (2010). Preventing Disease Through Healthy Environments Exposure to Arsenic: A Major Public Health Concern. . *Public Health and Environment World Health Organization*, 20.
- Xie, W., Ma, W., Liu, P., Zhou, F. (2019). Overview of thioredoxin system and targeted therapies for acute leukemia. *Mitochondrion*, 47, 38-46.

- Yamanaka, K., Okada, S. (1994). Induction of lung-specific DNA damage by metabolically methylated arsenics via the production of free radicals. *Environmental health perspectives*, 102(suppl 3), 37-40.
- Yang, B., Lin, Y., Huang, Y., Shen, Y.-Q., Chen, Q. (2024). Thioredoxin (Trx): A redox target and modulator of cellular senescence and aging-related diseases. *Redox biology*, 103032.
- Yewale, C., Baradia, D., Vhora, I., Patil, S., Misra, A. (2013). Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies. *Biomaterials*, 34(34), 8690-8707.
- Yu, H. S., Liao, W. T., Chai, C. Y. (2006). Arsenic carcinogenesis in the skin. *Journal of biomedical science*, 13(5), 657-666.
- Zahara, S. S., Khalil, M., Batool, M., Hayat, M. F., Almutairi, B. O., Riaz, M. N. (2024). Pachypodol attenuates arsenic triggered cardiac damage via rectifying oxidative stress, inflammation, apoptosis and histopathological alterations. *Journal of King Saud University-Science*, 103260.
- Zargari, F. (2021). Arsenic and Oxidative Stress: An Overview. *Arsenic Toxicity: Challenges and Solutions*, 27-63.
- Zhang, Q., Li, Y., Liu, J., Wang, D., Zheng, Q., Sun, G. (2014). Differences of urinary arsenic metabolites and methylation capacity between individuals with and without skin lesions in Inner Mongolia, Northern China. *International journal of environmental research and public health*, 11(7), 7319-7332.
- Zhang, X., Lu, J., Ren, X., Du, Y., Zheng, Y., Ioannou, P. V., Holmgren, A. (2015). Oxidation of structural cysteine residues in thioredoxin 1 by aromatic arsenicals enhances cancer cell cytotoxicity caused by the inhibition of thioredoxin reductase 1. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 192-200.
- Zhang, Y., Zhou, M., Wang, D., Liang, R., Liu, W., Wang, B., Chen, W. (2025). Arsenic exposure and oxidative damage to lipid, DNA, and protein among general Chinese adults: A repeated-measures cross-sectional and longitudinal study. *Journal of Environmental Sciences*, 147, 382-391.
- Zhao, D., Yi, H., Sang, N. (2022). Arsenic intake-induced gastric toxicity is blocked by grape skin extract by modulating inflammation and oxidative stress in a mouse model. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 233, 113305.
- Zhou, Q., Xi, S. (2018). A review on arsenic carcinogenesis: epidemiology, metabolism, genotoxicity and epigenetic changes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 99, 78-88.
- Zhu, Y., Yang, Q., Wang, H., Yang, J., Zhang, X., Li, Z., Martín, J. D. (2023). A hydrochemical and isotopic approach for source identification and health risk assessment of groundwater arsenic pollution in the central Yinchuan basin. *Environmental research*, 231, 116153.

Zuo, Z., Liu, Z., Gao, T., Yin, Y., Wang, Z., Hou, Y., Fu, J., Liu, S., Wang, H., Xu, Y. (2019). Prolonged inorganic arsenic exposure via drinking water impairs brown adipose tissue function in mice. *Science of The Total Environment*, 668, 310-317.







EKLER

EK-1. Etik Kurul İzni

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON	0312 202 69 58
	FAKS	0312 202 46 73
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Arseniğe maruz kalan bireylerde serum Tiyoredoksin-1 ve Epidermal Büyüme Faktör Reseptör seviyelerinin araştırılması			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ela KADIOĞLU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniv. Eczacılık Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Bireysel Araştırma Projesi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	23.05.2018	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	25.04.2018	1	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐		
	DİĞER	☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 396	Toplantı tarihi: 28.05.2018
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Canan ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki		Katılım *		İmza	
Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐		

EK-1. (devam) Etik Kurul İzni

Prof. Dr. Birol DEMİREL BAŞKAN YARD.	Adli Tıp AD.	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Öznur L.BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya A.D	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐
Prof. Dr. Aslı KURUOĞLU ÜYE	Psikiyatri AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒
Doç. Dr. Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	COMMAT Ltd.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Doç. Dr. Mutlu DOĞAN ÜYE	İç Hast. AD. Tıbbi Onkoloji BD.	Ank. Numune Eğt. ve Araşt. Hast.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Doç. Dr. N.Arda DEMIRKAN ÜYE	Genel Cerrahi AD.	A.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Doç. Dr. Anıl TAPISIZ ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast. AD. Ç. Nör. BD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Doç. Dr. Pınar ÖZDEMİR ÜYE	Biyoistatistik AD.	H.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Yrd. Doç. Dr. Mustafa GÖKSU ÜYE	Hukukçu	G.Ü. Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐
Aysel ÖZER ÜYE	Sivil Temsilci	Emekli Öğr. Üyesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐

* :Araştırma ile İlişki
 ** :Toplamda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞENGEZER, Ummahan Sinem
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri :
Medeni hali :
Telefon :
e-mail :

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Ünivesitesi / Toksikoloji Ana Bilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Anadolu Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	2013
Lise	Mürşide Ermumcu Anadolu Öğretmen Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
Kasım/2013-Halen	Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu- İlaç Ruhsatlandırma Daire Başkanlığı	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-

Hobiler

Tenis, Tiyatro, Aromaterapi



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..



Gazili olmak ayıcalıktır

