



**BENZİN İSTASYONU ÇALIŞANLARINDA GENOTOKSİK ETKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Aylin ELKAMA

**DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2022

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 kayıplarımı kabullendiğimi beyan ederim.

Aylin ELKAMA

28.01.2022

BENZİN İSTASYONU ÇALIŞANLARINDA GENOTOKSİK ETKİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Aylin ELKAMA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2022

ÖZET

Benzin istasyonu çalışanları, benzin buharında bulunan benzen ve araç egzoz emisyonunda bulunan dizel partiküler madde, bazı polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), nitro-PAH'lar, metaller ve aldehitler gibi pek çok genotoksik ve karsinojenik potansiyeli olan kimyasal maddeye maruz kalmaktadır. Benzin Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından Grup 2B “insanlar için olası karsinojen” olarak sınıflandırılmıştır. Olası genotoksik ajanlara mesleki maruziyeti olan çalışanların genetik olarak izlenmesi, kanser gibi hastalıkların erken dönemde tespit edilmesine olanak tanır. Sunulan tez çalışması ile benzin istasyonu çalışanlarının genotoksisite riskinin çeşitli genotoksisite biyogöstergeleri ile araştırılması amaçlanmıştır. Genotoksik etki periferik kan lenfositlerinde Comet, kromozomal aberasyon ve sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testleri ile ölçülmüştür. Comet testi sonucunda elde edilen verilere göre benzin istasyonu çalışanlarında (n=53) kontrol grubuna (n=61) kıyasla kuyruk uzunluğu (sırasıyla $55,47 \mu\text{m} \pm 23,57$ ve $23,91 \mu\text{m} \pm 2,23$; $p<0,001$), kuyruk yoğunluğu (sırasıyla $\%7,55 \pm 2,54$ ve $\%6,62 \pm 1,29$; $p=0,023$) ve kuyruk momenti (sırasıyla $2,04 \pm 1$ ve $1,14 \pm 0,23$; $p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Kromozomal aberasyon testi sonucunda elde edilen verilere göre, benzin istasyonu çalışanlarında (n=46) kontrol grubuna (n=59) kıyasla kromatid gap (sırasıyla $\%1,58 \pm 1,12$ ve $\%1 \pm 0,9$; $p=0,002$), kromozom gap (sırasıyla $\%0,14 \pm 0,21$ ve $\%0,03 \pm 0,14$; $p<0,001$) ve toplam aberasyon (sırasıyla $\%2,09 \pm 1,4$ ve $\%1,4 \pm 1,19$; $p=0,002$) sıklıkları istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Benzin istasyonu çalışanlarında (n=47) kontrol grubuna (n=40) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek mikroçekirdek (sırasıyla $\%15,77 \pm 10,34$ ve $\%8,93 \pm 4,81$; $p<0,001$) ve nükleoplazmik köprü (sırasıyla $\%1,26 \pm 1,55$ ve $\%0,17 \pm 0,43$; $p<0,001$) sıklıkları da sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi sonucunda elde edilmiştir. Yaş, çalışma süresi ve sigara içme alışkanlığı gibi faktörlerin genotoksisite riski üzerinde herhangi bir anlamlı etkisi bulunmamıştır. Yaş, vücut kitle indeksi, çalışma süresi, sigara ve alkol tüketimi ve eşlik eden hastalıklardan bağımsız olarak benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna kıyasla sadece maruziyetin genotoksik hasarı artırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, benzin ve çeşitli kimyasal maddelere kronik olarak maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarının mesleki maruziyete bağlı genotoksisite riskinin arttığı söylenebilir.

Bilim Kodu : 1021
Anahtar Kelimeler : Benzin, Comet, Kromozomal aberasyon, Mesleki maruziyet, Mikroçekirdek
Sayfa Adedi : 187
Danışman : Prof. Dr. Benu KARAHALİL

THE INVESTIGATION OF GENOTOXIC EFFECTS IN GASOLINE STATION

ATTENDANTS

(Ph. D. Thesis)

Aylin ELKAMA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2022

ABSTRACT

Gasoline station attendants are exposed to numerous chemicals that might have genotoxic and carcinogenic potential, such as benzene in gasoline vapor and diesel particulate matter, several polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitro-PAHs, metals and aldehydes remain in vehicle exhaust emissions. Gasoline has been classified as “Group 2B – possibly carcinogenic to humans” by the International Agency for Research on Cancer (IARC). Genetic monitoring of workers with occupational exposure to possible genotoxic agents allows early detection of adverse effects such as cancer. With the presented thesis, it is aimed to investigate the genotoxicity risk of gasoline station attendants with various genotoxicity biomarkers. The genotoxic effect was measured by Comet, chromosomal aberration and cytokinesis-block micronucleus assays in peripheral blood lymphocytes. According to Comet assay results, tail length ($55.47 \mu\text{m} \pm 23.57$ and $23.91 \mu\text{m} \pm 2.23$, respectively; $p < 0.001$), tail intensity ($7.55\% \pm 2.54$ and $6.62\% \pm 1.29$, respectively; $p = 0.023$) and tail moment (2.04 ± 1 and 1.14 ± 0.23 , respectively; $p < 0.001$) were found to be statistically significantly higher in gasoline station attendants ($n=53$) compared to the control group ($n=61$). According to chromosomal aberration assay results, the frequencies of chromatid gap ($1.58\% \pm 1.12$ and $1\% \pm 0.9$, respectively; $p = 0.002$), chromosome gap ($0.14\% \pm 0.21$ and $0.03\% \pm 0.14$, respectively; $p < 0.001$) and total aberration ($2.09\% \pm 1.4$ and $1.14\% \pm 1.19$, respectively; $p = 0.002$) were found to be statistically significantly higher in gasoline station attendants ($n=46$) compared to control group ($n=59$). Statistically significant higher frequencies of micronuclei ($15.77\% \pm 10.34$ and $8.93\% \pm 4.81$, respectively; $p < 0.001$) and nucleoplasmic bridge ($1.26\% \pm 1.55$ ve $0.17\% \pm 0.43$, respectively; $p < 0.001$) were determined in gasoline station attendants ($n=47$) compared to control group ($n=40$) in cytokinesis-block micronucleus assay. Factors such as age, duration of employment and smoking habit did not have any significant impact on the risk of genotoxicity. Regardless of age, body mass index, duration of employment, smoking habit and alcohol consumption and concomitant diseases, it has been shown that only exposure increases genotoxic damage in gasoline station attendants compared to controls. As a result, the risk of genotoxicity due to occupational exposure may increase in gasoline station attendants who are chronically exposed to gasoline and various chemicals.

Science Code : 1021

Key words : Gasoline, Comet, Chromosomal aberration, Occupational exposure, Micronucleus

Page Number : 187

Supervisor : Prof. Dr. Benu KARAHALİL

TEŞEKKÜR

Doktora hayatım boyunca her konuda destek ve emeklerini eksik etmeyen, yeni ufuklar açacak olan çalışmalara beni de dahil edip kendimi geliştirmemin sonuna kadar arkasında duran, deneyleri bizzat kendisi laboratuvara girip bana öğreten, herşeyden önemlisi beni dinleyen ve fikirlerimi önemseyen, çalışkanlığı, başarısı, titizliği, pratik zekası ve iyi kalpliliğiyle kendime rol modeli aldığım ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum çok değerli Canım Danışmanım Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca üzerimde emeği geçen bölümümdeki tüm değerli Hocalarıma çok teşekkür ederim. Doktora tez çalışmama desteklerinden dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne teşekkür ederim.

Tez çalışmam kapsamında numunelerimi toplamamda emeği ve yardımları geçen Serdar SARAÇOĞLU'na, Vet. Aydın ŞAHİN'e ve Et ve Süt Kurumu çalışanlarına çok teşekkür ederim. Çalışma süresince numune toplama aşamasında benimle birlikte işyerlerini gezip, kan örneklerini alan sağlık personeli Canım Seringül KOTAN'a sonsuz teşekkür ederim. Ve oğlu sağlık personeli Emre KOTAN'a teşekkür ederim. Doktora tezimin istatistiksel analizlerini yapan Biyoistatistik Uzmanı Dr. Salih ERGÖÇEN'e teşekkür ederim.

Doktora hayatım boyunca tüm sorularımı yılmadan usanmadan yanıtlayıp sorunlarıma çözüm bulan, kan örneklerimi toplamada unutamayacağım iyilikler yapan, desteğini esirgemeyen güzel kalpli Canım Ece KARAARSLAN'a sonsuz teşekkür ederim. Yüksek lisansın hayatıma kattığı en güzel şey olan Canım arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Ayça AKTAŞ ŞÜKÜROĞLU'na her zaman arkamda hissettiğim desteği için teşekkür ederim. Canım Sevgilim Aziz Şimşek'e bu süreçte beni desteklediği ve mutlu ettiği için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana istediğim sürece herşeyi başarabileceğim konusunda sonsuz desteklerini sunan, bana her konuda sonsuz güvenen, örnek toplamak için benden çok uğraşan haklarını asla ödeyemeyeceğim Canım Anneme, Canım Babama ve Canım Ablama sonsuz teşekkür ederim. Bu süreçte tüm sızlanmalarımı dinleyen Canım Oktay Abi'me çok teşekkür ederim. Sizin yardımınız, desteğiniz ve inancınız olmasaydı bu tezi savunamazdım. İyi ki varsınız Canım Ailem. Doktora tezimi, doktora savunmamı görmeyi çok isteyen ve akademisyen olmamı benden çok isteyen rahmetli Canım Anneanneme ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallar.....	3
2.1.1. Benzin.....	5
2.1.2. Araç motor egzozu	25
2.2. Benzin İstasyonları ve Akaryakıtlarla İlgili Yasal Düzenlemeler.....	46
2.3. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Maruziyeti Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Göstergeler	49
2.4. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Maruziyeti Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler	53
2.5. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasalların Etkisini Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler	59
2.5.1. Genotoksisite testleri	62
2.6. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Duyarlılığı Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler	79
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	83
3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Seçimi	83
3.2. Biyolojik Materyalin Toplanması	83

	Sayfa
3.3. <i>İn Vitro</i> Kromozomal Aberasyon Testi.....	84
3.3.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler	84
3.3.2. Kullanılan kimyasallar	85
3.3.3. Kullanılan çözeltiler	85
3.3.4. Deneyin uygulanması.....	85
3.4. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Testi	86
3.4.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler	86
3.4.2. Kullanılan kimyasallar	87
3.4.3. Kullanılan çözeltiler	88
3.4.4. Deneyin uygulanması.....	88
3.5. Klasik Alkali Comet Testi.....	89
3.5.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler	89
3.5.2. Kullanılan kimyasallar	90
3.5.3. Kullanılan çözeltiler	90
3.5.4. Deneyin uygulanması.....	91
3.6. İstatistiksel Analizler.....	93
4. BULGULAR	95
4.1. Demografik ve Klinik Bulgular	95
4.2. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Comet Testine Ait Bulgular.....	99
4.3. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Kromozomal Aberasyon Testine Ait Bulgular	107
4.4. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Testine Ait Bulgular.....	118
4.5. Korelasyon Bulguları	126
5. TARTIŞMA	131
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	147
KAYNAKLAR	153

	Sayfa
EKLER.....	175
EK-1. Etik Kurul Onayı	176
EK-2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol Grubu)	177
EK-3. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Maruziyet Grubu)	178
EK-4. Kontrol Grubu Anket Formu.....	179
EK-5. Maruziyet Grubu Anket Formu.....	181
ÖZGEÇMİŞ	183



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Araç motor egzozundaki bazı bileşikler ve bileşik sınıfları	26
Çizelge 2.2. Dizel ve benzinli motor egzozunda bulunan kimyasallar ile metaller ve IARC tarafından değerlendirilmesi	34
Çizelge 2.3. Benzin istasyonu çalışanlarının maruziyet potansiyeli olan kimyasallara ait mesleki maruziyet limit değerleri	49
Çizelge 2.4. Mikroçekirdek testleri tipleri.....	70
Çizelge 2.5. Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi ile kromozomal aberasyon testinin avantajları ve dezavantajları	72
Çizelge 4.1. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin demografik ve klinik özellikleri....	95
Çizelge 4.2. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin demografik ve klinik özellikleri.....	98
Çizelge 4.3. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin diğer klinik özellikleri...	99
Çizelge 4.4. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları.....	100
Çizelge 4.5. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları	102
Çizelge 4.6. Alt gruplar içerisinde (sigara ve alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları.....	103
Çizelge 4.7. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre periferik kan lenfositlerindeki DNA hasar sıklıkları	104
Çizelge 4.8. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları üzerine etkisi	106
Çizelge 4.9. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin kromozomal aberasyon sıklıkları.....	107
Çizelge 4.10. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları.....	110
Çizelge 4.11. Alt gruplar içerisinde (hastalık öyküsü, alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları	111

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.12. Alt gruplar içerisinde (sigara tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları.....	112
Çizelge 4.13. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) göre kromozomal aberasyon sıklıkları.....	114
Çizelge 4.14. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine (sigara ve alkol tüketimi) göre kromozomal aberasyon sıklıkları.....	115
Çizelge 4.15. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkisi.....	117
Çizelge 4.16. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları.....	119
Çizelge 4.17. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları.....	121
Çizelge 4.18. Alt gruplar içerisinde (sigara ve alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları.....	122
Çizelge 4.19. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları	124
Çizelge 4.20. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları üzerine etkisi.....	126
Çizelge 4.21. Tüm bireyler içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	127
Çizelge 4.22. Kontrol grubu içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	128
Çizelge 4.23. Maruziyet grubu içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	129
Çizelge 5.1. Benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen sitogenetik çalışmalar	134

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kromozomal aberasyon testinin prensibi	65
Şekil 2.2. Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testinin prensibi.	71
Şekil 2.3. Alkali Comet testinin prensibi.....	75



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı görüntüleri.....	100
Resim 4.2. Işık mikroskopunda x100 objektifle değerlendirilen kromozomal aberasyonlar, a) Kromatid gap, b) ve c) Kromatid kırığı, d) Kromozom kırığı.....	108



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
Al	Alüminyum
As	Arsenik
Ba	Baryum
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Co	Kobalt
CO	Karbon monoksit
COHb	Karboksihemoglobin
CO₂	Karbon dioksit
Cr	Krom
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
g/cm³	Gram/santimetreküp
h/h	Hacim/hacim
HCl	Hidroklorik asit
H₂O₂	Hidrojen peroksit
KCl	Potasyum klorür
l	Litre
Li	Lityum
Log K_{oc}	Organik karbon-su partisyon katsayısı
Log K_{ow}	Oktanöl-su partisyon katsayısı
M	Molar
mA	Miliamper
Mg	Magnezyum
mg/m³	Miligram/metreküp
ml	Mililitre

Simgeler	Açıklama
mM	Milimolar
mmHg	Milimetre civa
Mn	Mangan
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
ng/l	Nanogram/litre
Ni	Nikel
nm	Nanometre
NO	Azot oksit
NO_x	Azot oksitler
NO₂	Azot dioksit
OH•	Hidroksil radikali
O₂	Oksijen
O₂⁻	Süperoksit anyonu
O₃	Ozon
Pb	Kurşun
ppm	Milyonda bir
Se	Selenyum
Si	Silisyum
SO_x	Kükürt oksitler
SO₂	Kükürt dioksit
V	Vanadyum
V	Volt
Zn	Çinko
µg	Mikrogram
µg/m³	Mikrogram/metreküp
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
‰	Binde

Kısaltmalar	Açıklama
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACGIH	Amerikan Hükümeti Endüstriyel Hijyenistler Konferansı
ALAD	δ -aminolevulinik asit dehidrataz
ALDH	Aldehit dehidrogenaz
AP	Apürinik/aprimidinik
B[a]P	Benzo[a]piren
BEI	Biyolojik maruziyet indeksi
BT	Bilgisayarlı tomografi
BTEX	Benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen
BTX	Benzen, toluen ve ksilen
CHO	Çin hamsteri yumurtalık
CYP450	Sitokrom P450
DEB	1,2,3,4-diepoksibütan
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPM	Dizel partiküler madde
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EB	1,2-epoksi-3-büten
EB-diol	1,2-dihidroksi-3-büten
ECHA	Avrupa Kimyasallar Ajansı
ECVAM	Avrupa Alternatif Yöntemlerin Doğrulanması Merkezi
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EROD	Etoksiresorufin-O-deetilaz
ETBE	Etil tersiyer bütıl eter
FBS	Fetal Bovine Serum
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
GC	Gaz kromatografisi
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
HMA	Yüksek erime dereceli agar
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Kısaltmalar**Açıklama**

HPV	İnsan papilloma virüsü
HRGC	Yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi
HUMN	Uluslararası İnsan Mikroçekirdek Projesi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
ILO	Uluslararası Çalışma Örgütü
LMA	Düşük erime dereceli agar
LPG	Sıvılaştırılmış petrol gazı
MDA	Malondialdehit
MS	Kütle spektrometrisi
MSS	Merkezi sinir sistemi
MTBE	Metil tersiyer bütül eter
NIOSH	Mesleki Güvenlik ve Sağlık Ulusal Enstitüsü
NOAEC	Hiçbir Advers Etkinin Gözlenmediği En Yüksek Konsantrasyon
NQO1	NAD(P)H: kinonoksidoredüktaz 1
NTP	Ulusal Toksikoloji Programı
OECD	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
OEL	Mesleki maruz kalma sınırı
OSHA	Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
PBS	Fosfat tamponlu tuz
PEL	İzin verilen maruz kalma sınırı
PET	Pozitron emisyon tomografisi
PM	Partiküler madde
RfC	Referans konsantrasyonu
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
SCE	Kardeş kromatid değişimi
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SPMA	S-fenilmerkaptirik asit
STEL	Kısa süreli maruz kalma sınırı

Kısaltmalar**Açıklama**

TAME	Tersiyer amil metil eter
TLV	Eşik sınır değer
TLV-C	Eşik sınır değeri-Tavan değeri
t,t-MA	Trans,trans-mukonik asit
TWA	Zaman ağırlıklı ortalama
UFP	Ultra ince partiküller
UOB	Uçucu organik bileşikler
U.S. EPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
VKİ	Vücut kitle indeksi
YUOB	Yarı uçucu organik bileşikler
1-OH piren	1-hidroksi piren
8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

1. GİRİŞ

Günümüzde halen bazı meslekler, motorlu araç yakıtlarından kaynaklanan genotoksik olabilecek gaz ve partiküler maddelere yüksek düzeyde maruziyetle iç içedir. Bu mesleki maruziyetler, genellikle kromozomal değişim mekanizmalarının aracılık ettiği çeşitli kanserlere neden olabilmektedir (Moro ve diğerleri, 2017).

Mesleki maruziyetin DNA hasarı üzerindeki etkisi, iş güvenliği ve ilgili regülasyonlar için olduğu kadar biyolojik, fiziksel ve kimyasal mesleki tehlikelerin araştırılması gibi nedenlerle çok sayıda çalışmaya konu olmuştur (Azqueta ve diğerleri, 2020).

Son birkaç on yılda benzinin yaygın kullanımı, işyerinde ve ortam havasında benzin buharı bileşenlerine hava yoluyla maruz kalınmasına yol açmıştır. İnsanlarda kansere neden olduğu bilinen benzen, son yıllarda rafine etme proseslerinde ve formülasyonlarında yapılan değişikliklerle benzindeki benzen içeriği azaltılmış olsa da, tarihsel olarak benzin buharlarının hiç değişmeyen bir bileşeni olmuştur. Benzen maruziyeti, benzin için işçi ve halk sağlığını koruma önlemlerinin ana odak noktası olmaya devam etmektedir (Keenan ve diğerleri, 2013). Benzen, Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) 2010 listesine göre mesleki kanser nedenleri arasında sayılmaktadır (International Labour Organization, 2010).

Benzin istasyonları yoğun araç trafiğine maruz kaldıklarından, açık hava tesislerine sahip olmalarına karşın yüksek miktarda egzoz emisyonu ve dolayısıyla pek çok genotoksik ve karsinogenik potansiyeli olan ajanların açığa çıktığı yerlerdir. Bu istasyonlarda çalışanlar vardiyalı çalışma saatleri boyunca kronik olarak benzin ve bileşenlerinin yanı sıra, bu emisyonda bulunan tehlikeli gazlara ve partiküllere maruz kalmaktadırlar. Dolayısıyla, çalışanlar benzin ve diğer kimyasal ajanların genotoksik etkilerine karşı yüksek risk altındadır.

Genotoksisite biyogöstergeleri, birey ve çevre arasındaki etkileşimden kaynaklanan erken etkilerin saptanmasını sağlar; bu nedenle kanser epidemiyolojisinde önemli araçlardır ve insan biyoizleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Ladeira ve Smajdova, 2017).

Sunulan tez çalışmasının amacı Türkiye’deki benzin istasyonlarında çalışan erkek işçilerde mesleki olarak maruz kaldıkları benzin bileşenlerinin ve araçların egzoz emisyonunda bulunan çeşitli kimyasal maddelerin olası erken etkisini en yaygın kullanılan genotoksisite biyogöstergeleri ile araştırmaktır. Çalışılan genotoksisite testleri arasında Comet testi, kromozomal aberasyon testi ve sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi yer almaktadır. Bu teknikler, insan biyoizleme çalışmalarına dahil edilerek hastalıkların, özellikle kanserin önlenmesi amacıyla önemli bilgiler sunar; bu nedenle moleküler epidemiyolojide genotoksisite deneyleri olarak dahil edilmeleri önemlidir (Ladeira ve Smajdova, 2017).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallar

Akaryakıt istasyonları, Resmi Gazete’de yayımlanan “Akaryakıt İstasyonları – Emniyet Gerekleri” standardında “Akaryakıtların depolandığı ve sabit olarak tesis edilmiş cihaz ve donanım ile motorlu kara ve deniz taşıtlarının yakıt depolarına veya yakıt kaplarına doldurulduğu ve/veya isteğe bağlı olarak oto lastiği, akümülatör ve bazı diğer ihtiyaçlarla ilgili satış ve servis hizmetlerinin verildiği yerlerdir.” şeklinde tanımlanmaktadır. Ayrıca, “Akaryakıt istasyonunda, yıkama-yağlama ve araç muayenesi hizmetlerinin verildiği, ayar ve fren sistemi tamiratları gibi küçük tamiratların yapıldığı bina veya bina kısımları da bulunabilir. Büyük ölçekli tamiratlar, boya ve kaporta işleri bu tarifin dışındadır.” ifadesi yer alır (Resmi Gazete, 2003).

Kentsel gelişim ve artan nüfusla bağlantılı olarak son yıllarda motorlu taşıt kullanımında artış görülmektedir. Bundan dolayı, motor akaryakıtı sağlamak üzere benzin istasyonlarının sayısı da giderek artmaktadır (Soltanpour ve diğerleri, 2021). Ülkemizde 100’ün üzerinde dağıtım şirketi, 102 depo/antrepo ve aktif olarak çalışan yaklaşık 13 000 akaryakıt istasyonu bulunmaktadır. Türkiye, Almanya ve İtalya’dan sonra Avrupa’nın en büyük 3. bayi ağına sahiptir. Yaklaşık 35 milyon tonluk toplam akaryakıt satışı ile Avrupa ülkeleri arasında 6. sırada gelmektedir. Ülkemizdeki akaryakıt sektöründe 45 000 istasyon görevlisi (market ve yıkama/nakliye personeli) ve 95 000 akaryakıt ikmal yapan personel istihdam edildiği tahmin edilmektedir. Ayrıca akaryakıt istasyonları günde yaklaşık 4 milyon araca hizmet vermektedir (Petrol Sanayi Derneği, 2017).

Ülkemizde akaryakıt istasyonları, tüm akaryakıt yükleme işlemlerinin istasyon çalışanları tarafından yapıldığı tam hizmet istasyonlarıdır. Akaryakıt istasyonu çalışanları, otomotiv yakıtında bulunan ve insanlarda hematotoksisite, genotoksisite ve karsinojenik etki gibi çok sayıda advers etkilerden sorumlu çeşitli kimyasallara maruz kalan meslek grupları arasında yer alır (Moro ve diğerleri, 2017). Bu meslek gurubu, İş Sağlığı ve Güvenliğine İlişkin İşyeri Tehlike Sınıfları Tebliği’ne göre, çok tehlikeli işkolları sınıfında yer almaktadır (İş sağlığı ve güvenliğine ilişkin işyeri tehlike sınıfları tebliği, 2012). Bu çalışanlar, vardiyalı çalışma saatleri boyunca, kişisel koruyucu ekipmanların kullanılmaması gibi durumları içeren güvenlik aksiyonlarının eksikliği durumunda, kronik olarak motorlu taşıtlardan buharlaşan

ve yükleme-dağıtım-depolama gibi faaliyetler sırasında benzine, aynı zamanda taşıtların egzozlarından salınan pek çok genotoksik ve karsinojenik potansiyeli olan kimyasala inhalasyon ve/veya dermal yollarla maruz kalmaktadır (Butt ve diğerleri, 2017). Çalışanların çoğu, 12 saatlik vardiyalarda çalışırken, araçlara akaryakıt yükleme veya tamirat faaliyetleri dışında da aynı ortamda bulunmaktadır. Maruz kalma düzeyi, vardiya uzunluğuna, iş rotasyonuna, alınan bireysel önlemlere ve işyeri koşullarına bağlıdır (Becerren ve diğerleri, 2016).

Benzin istasyonlarında kullanılan akaryakıtların içerdiği uçucu organik bileşikler (UOB'ler), kentsel alanlardaki hava kirliliğinin başlıca kaynaklarından biridir. Benzin istasyonları, dünyanın dört bir yanındaki kentsel alanlarda temel UOB kaynakları olarak tanımlanmıştır (Soltanpour ve diğerleri, 2021). Ülkemizdeki benzin istasyonu çalışanlarının benzin buharına ve çeşitli UOB'lere maruz kalmasına ilişkin mesleki senaryo, bazı Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) eyaletlerindeki bir takım farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar arasında iklim koşulları, tam servis istasyonlarının hizmet vermesi ("self-servis" hizmetinin bulunmaması), mesai saatleri ve akaryakıt bileşenlerinin niteliği ve miktarı gibi faktörler yer almaktadır (Alyami, 2017).

Benzin istasyonlarında satışa sunulan başlıca petrol ürünleri sıvılaştırılmış petrol gazı (LPG), dizel yakıt (motorin) ve benzindir. LPG, doğal gaz üretim süreçlerinde veya rafinerilerde petrolün damıtılması sırasında yan ürün olarak elde edilir. Genelde %90 propan, %2,5 bütan, az miktarda etan ve ağır hidrokarbonlu propilen içerir. LPG'deki bu gazların oranı bölgelere ve kullanım alanlarına göre değişiklik gösterebilir. Türkiye'de kullanılan LPG gazı %30 propan ve %70 bütandan oluşmaktadır (Sarıkoc, 2020). Dizel yakıt, yaklaşık %75 alifatik hidrokarbonlardan ve %25 aromatik hidrokarbonlardan (örneğin; benzen ve stiren) oluşan ham petrolden elde edilen bir üründür (Huth ve Helios, 2013). Benzin ise benzen, toluen, etilbenzen, ksilen ve çok sayıda UOB'ler gibi fenolik bileşiklerin bulunduğu 150'den fazla kimyasal madde ihtiva etmektedir. Bu kimyasalların birçoğu çevreye yayılıp işçi sağlığı için büyük bir risk oluşturmaktadır (Shaikh ve diğerleri, 2018). Benzin, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından Grup 2B "insanlar için olası karsinojen" olarak sınıflandırılmıştır (International Agency for Research on Cancer, 1989).

Benzin istasyonları, açık hava tesisleri olmalarına karşın yoğun araç trafiğine maruz kalmalarından dolayı yüksek miktarda egzoz emisyonunun da açığa çıktığı yerlerdir.

Geleneksel dizel motorlar, nispeten büyük miktarlarda havadaki partiküler madde (PM), karbon isi, toksik metaller, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), azot oksitler (NO_x), karbon monoksit (CO), karbon dioksit (CO_2), UOB'ler, formaldehit ve akrolein gibi diğer bileşiklerin salınmasına neden olur. Bu maddelerin insan sağlığı ve çevre için ciddi sorunlar oluşturduğu kabul edilmektedir (Claxton, 2015). IARC, dizel motor egzozuna maruziyetin artan akciğer kanseri riski ile ilişkili olduğuna dair yeterli kanıta dayanarak, dizel motor egzozunu Grup 1 “insanlar için karsinojen” olarak sınıflandırmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2012). Benzin egzozu ise, 1989'dan beri Grup 2B olarak sınıflandırılmıştır. Dünya çapında benzinli araçlardan dizel araçlara geçiş, bu sınıflandırmalarla çelişmektedir. Benzinden dizele geçiş gibi sera gazı emisyonunu azaltmaya yönelik stratejiler, istenmeyen sağlık risklerini de beraberinde getirebilir (Claxton, 2015).

2.1.1. Benzin

Benzin esas olarak yolcu arabalarına ve otobüs, kamyon, motosiklet ve uçak gibi diğer araç türlerine güç sağlamak için içten yanmalı motorlarda kullanılan uçucu ve yanıcı petrol yakıtlarını tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir. Çevrede doğal olarak bulunmayan bir karışımdır. Benzin, hidrokarbonlar, katkı maddeleri ve harmanlama maddelerinin karışımından oluşan rafine bir petrol ürünüdür. Benzinin bileşimi kullanılan ham yağlara, mevcut rafine işlemlerine ve ürün özelliklerine bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik gösterir. Benzin hidrokarbonlarının tipik bileşimi % hacim olacak şekilde şu şekildedir: %4-8 alkanlar, %2-5 alkenler, %25-40 izoalkanlar, %3-7 sikloalkanlar, %1-4 sikloalkenler ve %20-50 toplam aromatikler (%0,5-2,5 benzen). Benzinin performansını ve stabilitesini iyileştirmek için hidrokarbon karışımına katkı maddeleri ve harmanlama maddeleri ilave edilir. Bu bileşikler arasında vuruntu önleyici maddeler, antioksidanlar, metal deaktivatörler, kurşun temizleyiciler, pas önleyici maddeler, üst silindir yağlayıcılar, deterjanlar ve boyalar bulunur. Üretim sürecinin sonunda, bitmiş benzin az miktarda benzen, toluen, ksilen ve bazen kurşun içeren 150'den fazla kimyasal madde içerir, ancak bazı karışımlarda 1 000'e kadar bileşik tanımlanmıştır (Harper ve Liccione, 1995).

Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Benzinin nasıl üretildiği, benzin karışımında hangi kimyasalların bulunduğunu ve her birinden ne kadar bulunduğunu belirler. Gerçek bileşim ham petrolün kaynağına, üreticiye ve yılın zamanına göre değişiklik gösterir. Benzin renksiz, soluk kahverengi veya pembe bir sıvıdır. Çok yanıcıdır; oldukça kolay alev alır, çabuk buharlaşır ve hava ile patlayıcı karışımlar oluşturur. Benzin havada, yeraltı suyunda ve toprakta bulunabilir. Suda kolayca çözünmez; ancak benzini oluşturan bazı kimyasallar suda kolayca çözünebilir (Harper ve Liccione, 1995).

Maruziyet yolları

Herhangi bir bireyin benzine maruz kalmasının en olası yolu, benzin istasyonunda aracın yakıt deposunu doldururken gazın buharını solumaktır. Aracın yakıt deposunu benzin istasyonu çalışanı dahi doldursa araçtaki kişiler de benzin buharına maruz kalabilir. Benzin deposundan gelen hortum sızdırdığı veya depo aşırı doldurulduğunda, daha fazla benzin buharına maruz kalınabilir veya cilde bir miktar benzin dökülebilir. Benzin istasyonunda çalışan kişi, ara sıra aracın yakıt deposunu dolduran birinden daha fazla benzine ve buharına maruz kalacaktır. Bir benzin istasyonunda bir otomobilin deposunun benzinele doldurulması esnasında ortam havasında 99 ppm'e kadar benzin seviyeleri ölçülmüştür (Harper ve Liccione, 1995).

Benzin üretiminden tüketici kullanımına kadar tüm zincir boyunca çalışanlar için benzine mesleki maruziyet meydana gelebilir. Bazı çalışanların benzin buharına maruz kalma riski daha yüksektir. Bunlar arasında benzin istasyonu görevlileri, benzin tankeri sürücüleri, dökme yükleme terminallerinde ve yükleme rıhtımlarında çalışanlar, yeraltı depolama tanklarını ve benzin boru hatlarını söken ve bakımını yapan işçiler, benzin sızıntılarını bulan ve temizleyen işçiler ve rafineri çalışanları yer alır. Bu iş kollarından herhangi birinde çalışan işçiler, her gün mutlaka az miktarda da olsa benzin buharına maruz kalmaktadır (Harper ve Liccione, 1995).

Benzine maruz kalmanın bir başka yolu da benzinin döküldüğü veya toprağa sızdığı bir noktaya yakın olmaktır. Benzin, yeraltı boru hatlarında sızıntı olduğunda veya depolama tanklarından yeraltı suyuna sızabilir. Bir sızıntıdan sonra yeraltı suyunda ne kadar benzin

olabileceğine dair bir bilgi yoktur, ancak bazı durumlarda evlere içme suyu sağlamak için kullanılan yeraltı suyunda benzin varlığına rastlanmıştır. Her yıl 75 000-100 000 kadar yeraltı depolama tankının, milyonlarca galon benzini yeraltı suyuna sızdırdığı tahmin edilmektedir. Benzini oluşturan kimyasallardan bazıları su ile karışır; bu su içildiği veya bu suyla yıkanıldığı takdirde bu kimyasallara maruziyet kaçınılmazdır (Harper ve Liccione, 1995).

Benzinle kirlenmiş hava solunduğunda veya su içildiğinde benzin kolayca vücuda girebilir. Deri yoluyla bulaştığında vücuda ne kadar benzin girdiğine dair herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak benzin gibi ürünler cilde bulaştığında, oral maruziyete kıyasla vücuda daha yavaş girerler (Harper ve Liccione, 1995).

Toksikokinetiği

Benzin çok sayıda kimyasal madde içeren bir karışım olduğu için, toksikokinetik modeli her bileşen için farklılık gösterir. Örneğin, daha yüksek kan/gaz katsayılarına sahip bileşikler (ksilen, benzen ve toluen gibi), daha düşük katsayılı bileşiklere (sikloheksan, etan ve etilen gibi) göre daha yüksek absorpsiyon hızına sahiptir. Benzen gibi benzinde bulunan aromatik hidrokarbonların, alifatik hidrokarbonlardan daha yüksek dermal penetrasyonuna sahip olması beklenir (Harper ve Liccione, 1995).

Benzinde bulunan kimyasalların etkileşimi, metabolizma sonucu oluşan ürünlerin akıbetini etkileyebilir, metabolizmada rol oynayan enzimleri etkileyerek metabolitlerin eliminasyon hızlarını değiştirebilirler. Benzindeki kimyasalların eliminasyon hızları, her bir bileşenin hepatic enzimler tarafından metabolize edilmesinden dolayı farklılık göstermektedir (Harper ve Liccione, 1995).

Benzinin diğer maddelerle etkileşimleri hakkında bazı bilgiler mevcuttur. Örneğin, benzen, alkol, bazı ilaçlar ve endüstriyel kimyasallar gibi metabolizmasını değiştiren bileşiklerden etkilenmektedir. Ayrıca benzenin toksisitesi, radyasyon, metaller, halojenli hidrokarbonlar ve pestisitler gibi diğer miyelotoksik ajanlar tarafından artırılabilir. Benzin 1 000 kadar kimyasal madde içerebileceğinden, bileşenleri arasındaki etkileşimler de dikkate alınmalıdır. Bu karmaşık etkileşimlerin etkilerini güvenilir bir şekilde tahmin etmek mümkün değildir.

Bileşenler arasındaki etkileşimlerin absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve eliminasyon biçimlerini etkileyebileceğini gösteren veriler mevcuttur (Harper ve Liccione, 1995).

Olası sağlık etkileri

Benzindeki hidrokarbonlar oldukça uçucudur ve ortaya çıkan buhar, havadan yaklaşık üç kat daha ağırdır. Benzin istasyonlarındaki bu hidrokarbonların konsantrasyonları 20-200 ppm kadar yüksektir. Bu nedenle akaryakıt istasyonu görevlileri mesai saatleri içinde yüksek konsantrasyonlarda hidrokarbonlara maruz kalmaktadır. Benzin istasyonlarındaki hidrokarbonlar cilt ve solunum yoluyla vücuda girerek önemli sağlık sorunlarına ve uzun vadeli komplikasyonlara yol açabilir (Ahmadi ve diğerleri, 2019).

Yapılan araştırmalar, benzin istasyonu çalışanlarının maruziyet riskinin, muhtemelen yüksek ortam sıcaklıkları ve özellikle tropik ülkelerde benzinin buharlaşmasında görülen artış nedeniyle daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu ülkelerde, benzin istasyonu çalışanlarının ortalama sıcaklığın 30°C'nin altında olduğu diğer ülkelere göre muhtemelen daha fazla benzin buharı soluduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Akaryakıt istasyonlarının konumu da, özellikle otobanlara veya yoğun trafiğe yakın olan benzin istasyonları için maruziyet risklerinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Araştırmalar, yoğun trafik yollarının yakınında bulunan benzin istasyonlarının trafiğin daha az olduğu banliyölerdeki istasyonlara kıyasla daha yüksek maruziyet konsantrasyonlarına sahip olduğunu göstermektedir (Alyami, 2017).

Benzin toksikolojisi karmaşıktır, çünkü bileşimi ham kaynak, harmanlama, rafineri, mevsim ve katkı maddelerine göre değişiklik gösterir. İçerisindeki bileşenlerin fraksiyonlarının buharlaşması, bozunması veya değiştirilmesiyle oluşan bileşimindeki niteliksel ve niceliksel değişiklikler bu durumu daha da zorlaştırır (Jamall ve Willhite, 2008). Bu bireyler arasında farklı kimyasal maddelere farklı düzeylerde maruziyet nedeniyle oluşabilecek toksik etkiler değişiklik gösterebilir.

Benzin bileşenlerinden bazılarının insanlar için oldukça toksik veya insan karsinojeni olduğu bilinmektedir. Benzine maruziyetle ilişkili toksikolojik etkilerin çoğu benzen, toluen, etilbenzen ve ksilen gibi benzinin belirli bileşenlerine atfedilir. Bir dizi çalışma, çeşitli sağlık sorunlarının ortaya çıkmasının mesleki UOB'lere maruziyetle yakından ilişkili olduğunu

göstermiştir (Abubakar ve diğerleri, 2015). UOB'ler, oksidan-antioksidan dengesizliğine yol açabilen hücre içi reaktif oksijen türleri (ROT) seviyelerini yükseltebilir (Ahmadi ve diğerleri, 2019).

Benzin istasyonu çalışanları tarafından benzin ve bileşenlerine maruziyetle ilişkili olduğu düşünülen baş ağrısı, yorgunluk ve boğaz tahrişi gibi sağlık semptomları bildirilmiştir (Alyami, 2017).

Benzin buharının işçilerde hematolojik etkileri hakkında araştırmalar vardır. Benzenden türetilen metabolitlerin kemik iliğindeki hematopoietik bileşenlere zarar verdiği gösterilmiştir. Araştırmalar, benzin istasyonu çalışanlarının benzen ve toluen gibi hidrokarbonlara yüksek oranda maruz kalmalarından dolayı kanser için daha yüksek risk altında olduklarını göstermiştir (Ahmadi ve diğerleri, 2019).

Akut toksik etkileri

Benzinin çok yüksek konsantrasyonlarda inhalasyonu veya yutulması ölümle sonuçlanabilir. 5 000 ppm ve üzeri benzin buharının solunmasının ölümcül olduğu gösterilmiştir. Yüksek konsantrasyondaki benzin solunduğunda akciğerleri, yutulduğunda ise mide zarını tahriş eder. Bu etkiler, solunan veya yutulan benzin miktarı arttıkça ciddi hale gelir. Daha az ciddi sinir sistemi etkileri arasında baş dönmesi ve baş ağrısı bulunurken, daha ciddi etkiler koma ve asfeksiyi içerir. Ölüm nedeninin ya solunum yetmezliğine yol açan asfeksiden kaynaklanan merkezi sinir sistemi (MSS) depresyonu, ya da ölümcül aritmiye yol açan dolaşımdaki katekolaminlere karşı kardiyak duyarlılık olduğu varsayılmıştır (Harper ve Liccione, 1995). Ölümle sonuçlanan benzin buharının kazara veya bilinçli olarak inhalasyonu ile ilgili birkaç vaka raporu yayınlanmıştır (Martínez ve Ballesteros, 2006, 2012; Poklis, 1976).

Benzin aynı zamanda cilt irritanıdır. Benzine maruz kalmış kişilerle ilgili sunulan vaka raporlarında, benzinle temas alanında kimyasal yanıkların oluşumu tanımlanmıştır (Cox ve diğerleri, 1996; Hansbrough ve diğerleri, 1985).

Kronik toksik etkileri

Benzin buharına uzun süre maruz kaldığı bilinen kişilerde, hematolojik etkilerin oluşumunu tanımlayan az sayıda vaka çalışması rapor edilmiştir. Bununla birlikte, tüm bu vakalarda, bildirilen hematolojik etkiler, büyük olasılıkla benzin karışımının kendisinden ziyade benzinin bir bileşeninden kaynaklanmaktadır. Örneğin, kurşunlu benzin buharına maruz kalan kişilerde bazofilik noktalanma, artan eritrosit protoporfirin ve artan δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD) aktivitesi tespit edilmiştir (Boeckx ve diğerleri, 1977; Chessare ve Wodarczyk, 1988). Bu etkilerin kurşuna maruziyet sonucu meydana geldiği bilindiğinden, benzinde organik kurşun bileşiklerinin varlığından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Mesleki olarak benzine maruz kaldığı bilinen bireylerde çeşitli kan diskrazilerinin (anemi, hipokromi, trombositopeni ve nötropeni) insidansında artış gözlenmiştir. Araştırmacılar, bu bozuklukların artan insidansını benzinde bulunan benzene atfetmişlerdir (Niazi ve diğerleri, 1989).

Nörotoksik etkileri

İş yerinde uzun süre benzin buharına maruz kalan çalışanlarda ya da geçici halüsinasyonlara neden olduğu için benzin suiistimal eden kişilerde sinir sistemi etkileri görülmüştür. Benzin istasyonu çalışanları ile yapılan bir çalışmada, baş ağrısı, yorgunluk, uykusuzluk problemleri, hafıza kaybı ve genel halsizlik şikâyetleri bildirilmiştir (Pandya ve diğerleri, 1975). Benzin istasyonu çalışanlarıyla ilgili başka bir çalışmada, görsel bellek ve algının, psikomotor rahatsızlıkların ve görsel motor öğrenme yeteneğinin önemli ölçüde etkilendiği gösterilmiştir. Benzine bir yıldan fazla maruz kalan işçilerde, daha kısa süreli maruz kalan işçilere kıyasla daha düşük görsel bellek ve zihinsel kapasite tespit edilmiştir (Kumar ve diğerleri, 1988).

Mutajenik ve genotoksik etkileri

Kurşunsuz benzine akut ve orta süreli *in vivo* maruziyetinin hepatositlerde, böbrek ve kemik iliği hücrelerinde genotoksik etki oluşturmadığı gösterilmiştir. Ayrıca *in vitro* bakteri ve memeli hücreleri gen mutasyon testlerinde benzin maruziyetine bağlı mutasyon sıklığında herhangi bir artış kaydedilmemiştir (Harper ve Liccione, 1995).

Kurşunsuz benzinle yapılan standart kısa vadeli genotoksisite testlerinden (örneğin; kemik iliğinde sitogenetik analizler, kromozomal aberasyon testleri, L5178Y hücreleri, Salmonella typhimurium suşları ve sıçan böbreğinde DNA onarımı) negatif sonuçlar elde edilmiştir (Jamall ve Willhite, 2008).

Benzin istasyonu çalışanlarından alınan periferik kan lenfositlerinde yapılan sitogenetik biyoizleme çalışmasının sonuçlarına göre, kontrollere kıyasla mikroçekirdek sıklığında anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ancak benzin karışımındaki benzen konsantrasyonunun oldukça yüksek (%5) olması, genotoksik etkilerden benzenin sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Högstedt ve diğerleri, 1991).

Karsinojenik etkileri

İki yıl boyunca sürekli olarak yüksek konsantrasyonda kurşunsuz benzin buharı soluyan bazı laboratuvar hayvanlarında karaciğer ve böbrek tümörleri oluşumu gözlenmiştir (Harper ve Liccione, 1995). Yaşam boyu çalışmalarda bildirilen hayvanlardaki tümörlerin büyük olasılıkla epigenetik (genotoksik olmayan) bir etki şekline bağlı olduğu düşünülmektedir (Jamall ve Willhite, 2008).

Petrol ürünlerine ve hidrokarbonlara mesleki olarak maruz kalan işçilerdeki kanser riski ile ilgili çok sayıda epidemiyolojik çalışma yapılmıştır (Chaiklieng ve diğerleri, 2019; Cocco ve diğerleri, 2010; Keenan ve diğerleri, 2013; Lagorio ve diğerleri, 1994). Özellikle petrol rafinerisi işçilerinde olmak üzere benzine maruz kalan işçilerde malign melanom kaynaklı artan ölüm riski gösterilmiştir (Infante, 1993). Benzin istasyonu çalışanları da çeşitli kanser riski altında görünmektedir (Lagorio ve diğerleri, 1994). Benzin istasyonu çalışanlarında kanser riskinin arttığı ve işçilerin %70'inin ömür boyu kanser riski taşıdığı tespit edilmiştir. Yakıt ikmali yapan işçilerde kasiyerlere göre ve kentlerdeki benzin istasyonlarındaki çalışanlarda kırsal bölgelerdekilere göre anlamlı şekilde daha yüksek risk bulunmuştur (Chaiklieng ve diğerleri, 2019). Akciğer kanseri ile ilişkili olduğu şüphelenilen meslekler arasında sadece benzin istasyonu çalışanlarında (erkek) belirgin bir yüksek risk bulunmuştur (Consonni ve diğerleri, 2010). Ancak, bu çalışmalarda, benzin maruziyeti ile kanser arasında bir ilişki olduğuna dair kanıt olarak kullanılmalarını engelleyen çeşitli doğal sınırlamalar vardır. Bunlar arasında, benzin buharına maruziyet seviyeleri hakkında bilgi eksikliği, diğer potansiyel karsinojen maddelere eşzamanlı maruz kalma (örneğin, benzin istasyonu

Çalışanları aynı anda motor yağına, dizel yakıtı, zclre ve araç motor egzoz emisyonuna maruz kalır) ya da olası karıştırıcı faktörler (rneğin, sigara içmek) için düzeltme yapılmaması yer alır (Harper ve Liccione, 1995; Infante, 1993; Lagorio ve diğerleri, 1994). Bu ilişkinin benzen/benzin maruziyetinin, güneş işığına maruz kalmanın veya her ikisinin kombinasyonunun sonucu olup olmadığı mevcut verilerle belirlenemez (Infante, 1993).

Nüfus sayımı verilerinden elde edilen mesleki bilgiler doğrultusunda Danimarka'daki benzin istasyonlarında çalışan erkeklerde akut lösemi riskinin (Olsen ve Jensen, 1987) ve Finlandiya'daki benzin istasyonlarında çalışan erkeklerde akut miyeloid lösemi riskinin arttığı bildirilmiştir (Jakobsson ve diğerleri, 1993). Ayrıca Danimarka, Finlandiya ve İsveç'teki nüfus sayımlarından tespit edilen 19 000 benzin istasyonu çalışanından oluşan bir kohort 20 yıl boyunca takip edilmiş ve 1 300 kanser vakası rapor edilmiştir. Böbrek, faringeal, gırtlak ve akciğer kanseri insidansının yüksek olduğu ve burun kanseri riskinin 3,5 kat arttığı tespit edilmiştir (Lynge ve diğerleri, 1997). Ancak, nüfus sayımı verilerine dayanarak belirli kimyasallara maruziyetin ve buna bağlı kanser riskinin tahminini içeren sonuçların, yanlış sınıflandırmadan dolayı hatalı olabileceği ve güvenilir olmadığı düşünülmektedir (Raabe ve Wong, 1996).

Epidemiyolojik bulgular, son 30 yılda benzin formülasyonları ile ilişkili nispeten düşük mesleki benzen buharına maruziyeti gösteren bulgularla birleştirildiğinde, mevcut benzin formülasyonlarının, benzenle ilişkili artmış lenfatik/hematopoietik kanser riskleri ile ilişkili olmadığını göstermektedir (Keenan ve diğerleri, 2013). ABD evre Koruma Ajansı (U.S. EPA) kurşunsuz benzine maruz kalan popülasyonlarla ilgili 55 adet çalışmayı inceleyip, kurşunsuz benzin ve kanser arasında nedensel çıkarımlar yapmak için kanıtların yetersiz olduğu sonucuna varmıştır (Harper ve Liccione, 1995). Bununla birlikte, IARC alışma Grubu da benzin maruziyetinin insanlarda kansere neden olduğuna dair yeterli kanıt olmadığına karar verip, benzini Grup 2B olarak sınıflandırmıştır (International Agency for Research on Cancer, 1989).

Benzinde bulunan majör kimyasallar

Kurşunsuz benzine maruziyetin neden olduğu sağlık risklerini değerlendirmeye yönelik standart uygulama, tüm yakıtı maruziyetin vekilleri olarak benzen, toluen, etilbenzen ve ksilenleri (BTEX olarak kısaltılır) kullanmak olmuştur. Bu dört BTEX bileşiğinin, benzine

maruziyetin neden olabileceği karsinojen ve karsinojen olmayan sağlık risklerinin büyük bir kısmını oluşturduğu öne sürülmüştür (Jamall ve Willhite, 2008).

Genotoksik/karsinojen kimyasallar

Benzen

Benzen berrak renksiz bir sıvıdır. 80°C’lik kaynama noktasına sahip uçucu ve oldukça yanıcı bir kimyasaldır. Benzen aromatik yapısı nedeniyle çok kararlı bir moleküldür. Benzenin kimyasal reaksiyona girmesini sağlamak için genellikle katalizörlere ihtiyaç duyulur (International Agency for Research on Cancer, 2018).

Benzen sudaki çözünürlüğü nedeniyle, yağmurla çok az bir miktar uzaklaştırılabilir ve yüzey sularını ve toprağı kirletebilir. Bununla birlikte, yüzey sularında veya toprakta kalıcı değildir; ya havaya karışır ya da bakteriler tarafından parçalanır (World Health Organization, 2019).

Benzen çevrede doğal olarak bulunabildiği gibi benzin, egzoz, endüstriyel emisyonlar ve sigara dumanı gibi antropojenik kaynaklardan açığa çıkan bir hava kirleticisidir. Günümüzde, benzenin çözücü olarak kullanımı birçok ülkede kısıtlanmasına rağmen, kimyasal ara ürün olarak kullanımına yönelik yüksek hacimlerde üretimine devam edilmektedir. Benzene mesleki maruziyet petrol ve kimya sanayi gibi endüstriyel alanlarda olabilmektedir. Taşımacılık ve akaryakıt (benzin) ikmali de önemli mesleki benzen maruziyet kaynakları arasında gelir. Halen bazı ülkelerde, geçmiş yıllardaki ayakkabı tamiri, boyacılık, matbaa ve kauçuk imalatındaki kullanımlarına bağlı olarak yüksek düzeylerde saptanmaktadır. İşyeri ve dış ortam havasındaki benzen konsantrasyonları zamanla azalmıştır, ancak bazı düşük ve orta gelir düzeyindeki ülkelerde yüksek düzeyler kaydedilmektedir (Loomis ve diğerleri, 2017).

Benzen bir dizi insan yapımı kaynaktan salınır. Çevresel benzenin birincil kaynakları otomobil egzoz emisyonları, buharlaşma kayıpları ve akaryakıt ikmali emisyonlarıdır. Otomotiv egzozundaki benzen, toluen ve ksilenlerin dealkilasyonu yoluyla yanma sırasında motorda üretilen, tam olarak yanmamış benzen ve benzenin bir karışımıdır. Endüstriyel kaynaklardan, öncelikle endüstriyel ara üretim ve işleme operasyonlarından kaynaklanan kaçak emisyonlar ve atık su arıtma tesislerinden kaynaklanan hava emisyonları yoluyla

çevreye salınır. Volkanlar ve orman yangınları gibi doğal benzen emisyon kaynakları mevcuttur. Karayolu trafiğinin benzen hava emisyonlarının önemli bir kısmını oluşturduğu kabul edilmektedir (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzen, petrol ürünlerinde (ham petrol ve benzin) doğal olarak bulunur ve ayrıca oktan artırıcı ve vuruntu önleyici özellikleri için kurşunsuz benzine eklenir. Genellikle, bu yakıtlardaki benzen konsantrasyonu hacimce %1-2'dir (International Agency for Research on Cancer, 2018). Benzin içindeki benzenin varlığı, konsantrasyonun birçok ülkede sınırlandırılmasına rağmen, ciddi boyutta mesleki maruziyete neden olabilir (Verma ve des Tombe, 2002; World Health Organization, 2019). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), çalışanların solunum bölgesinde 1 ppm benzen konsantrasyonlarının bulunduğunu ve hatta havadaki benzen konsantrasyonlarının yakıt ikmali sırasında daha da yüksek çıktığını bildirmiştir (Rianto ve diğerleri, 2018).

Benzen vücutta kolayca absorbe olur, geniş çapta dağılım gösterir ve kapsamlı bir şekilde metabolize olur, bu da kemik iliği dahil olmak üzere çeşitli dokularda çoklu metabolik yollar aracılığıyla reaktif elektrofillerin oluşmasına neden olur. Karsinojenlerin temel özelliklerinin çoğunu sergiler. İnsan maruziyet çalışmaları da dahil olmak üzere mevcut veriler, benzenin metabolizma sonucu aktive olduğunu, oksidatif stresi indüklediğini, genotoksik olduğunu ve hematotoksositeye neden olduğunu göstermektedir (Loomis ve diğerleri, 2017).

İnsanlarda benzene temel maruz kalma yolu inhalasyondur. Solunan benzen alveollerden difüzyon yoluyla alınır. Oral maruziyetten sonra benzenin absorpsiyon oranını gösteren insan çalışmaları mevcut değildir; kazara veya kasıtlı oral maruziyet vakalarına dayanarak, benzenin oral alımı takiben kolayca absorbe edildiği anlaşılmıştır. *İn vivo* deneylerden elde edilen sonuçlar, sıvı benzenin insan derisi tarafından absorbe olduğunu göstermektedir. Veriler, dermal absorpsiyonun, inhalasyon ve oral maruziyet sonrası absorpsiyon kadar önemli olmadığını gösterir. Genel olarak, veriler benzenin kana absorpsiyonunu takiben vücuda dağıldığını gösterir. Benzen lipofildir ve lipitten zengin dokularda en yüksek konsantrasyonlara ulaştığı gösterilmiştir. Ayrıca, benzen plasentadan geçebilir; kordon kanında anne kanındakine eşit veya daha fazla miktarlarda olduğu saptanmıştır (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzenin toksisitesinde metabolizması önemli bir belirleyicidir. Benzen karsinogenisitesinin en önemli özelliği, ana bileşiğin kemik iliği kök hücreleri için doğrudan toksik olmaması, hem kronik toksisiteden hem de kemik iliği depresyonundan metabolitlerin sorumlu olmasıdır (Jamall ve Willhite, 2008). Karaciğer, benzen metabolizmasının gerçekleştiği temel organdır. Benzen, sitokrom P450'ye (CYP450) bağlı karma fonksiyonlu oksidaz sistemi tarafından bir dizi metabolitine dönüştürülür. CYP450 enzimi CYP2E1, benzen için en büyük afiniteyi gösterir ve benzen metabolizmasında en aktif olan enzimdir. Ayrıca, CYP2B1 benzeni hidroksilleme yeteneğine sahiptir, ancak metabolizmaya sadece daha yüksek konsantrasyonlarda katkıda bulunur. Benzenin hematotoksik ve genotoksik etkilerinin ortaya çıkması için CYP2E1 tarafından oksidatif metabolizması gereklidir. Benzenin toksisitesi, etanolün CYP2E1'i indüklemesiyle artırılır, böylece benzenin indüklediği anemi ve lenfositopeni şiddeti artabilir (European Union Risk Assessment Report, 2008).

CYP450 enzimleri, benzen halkasına tek bir oksijen atomunun eklenmesini katalize ederek monoepoksiti, benzen oksidi oluşturur. Benzen oksit metabolizmasının dört olası yolu vardır. Birinci yolak, merkaptürik asit oluşturmak üzere glutatyon (GSH) ile konjugasyonunu içerir, bu da daha sonra böbrekte detoksifiye edilmiş ürüne, S-fenil merkaptürik asite (S-PMA), metabolize olur ve idrarla atılır. Diğer yolakta benzen oksit, fenol oluşturmak üzere enzimatik olmayan bir şekilde izomerizasyona uğrar. Fenolün hidroksilasyonu hidrokinon, kateşol veya 1,2,4-trihidroksibenzen (benzenetriol) verir. Üçüncü bir yolak, benzen okside su ilavesiyle benzen dihidrodiol oluşmasıdır. Dihidrodiol dehidrojenazla kateşole oksitlenebilir. Sonuncu yolakta, benzen halkası açılarak önce ara ürün mukonaldehiti ardından idrarla atılan mukonik asit metabolitini verir (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzenin kemik iliği toksisitesinde, kemik iliğine taşındıktan sonra peroksidaz aracılı reaksiyonlarla elektrofilik bileşiklere dönüşen fenol, kateşol ve hidrokinon metabolitlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Örneğin, kemik iliğinde fenol, peroksidazlar tarafından bifenoller ve bifenokinonlar gibi reaktif, protein bağlayıcı türlere hızla oksitlenir. Hidrokinon ayrıca, son derece kısa ömürlü bir semikinon radikal ara ürününe peroksidaz katalizli reaksiyon yoluyla kemik iliğinde oksitlenir. Bu, benzene maruz kalan deney hayvanlarında DNA hasarına ve sitotoksik etkilere neden olduğu bilinen reaktif bir metabolit olan p-benzokinonu oluşturur (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzene inhalasyon maruziyetini takiben, insanlarda ve hayvanlarda metabolize olmamış benzenin başlıca eliminasyon yolu, solunan havadır. Benzenin büyük bir kısmı metabolize edilir ve metabolitler ağırlıklı olarak idrarla atılır. Fenolik metabolitler sülfat veya glukuronik asit ile konjuge edilir (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzen metabolizması sırasında bazı DNA reaktif metabolitleri oluşur; lezyonların tipi ve sıklığı, lezyonların ortadan kaldırılmasında yer alan ilgili DNA onarım sistemleri ve hedef organın onarım kapasitesi farklı metabolitlerden etkilenir. Mesleki ve çevresel konsantrasyonlarda benzen maruziyetinin, *in vivo* insan çalışmalarında DNA onarım sistemlerini etkilediği gösterilmiştir (International Agency for Research on Cancer, 2018).

Benzen oksit, benzenin mikrozomlar tarafından oksidasyonundan sonra fenole kendiliğinden dönüşebilen elektrofilik bir metabolittir. Benzen oksit GSH, proteinlerdeki sisteinlerle ve DNA ile katım ürünleri oluşturabilir. Benzenin halka açılması sonucu oluşan son metaboliti trans,trans-mukonik asit (t,t-MA), benzen maruziyetinin biyogöstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. *In vitro* veya deney hayvanı çalışmalarında, t,t-MA oluşumunda olası metabolik ara ürünleri tanımlanmıştır. Bu ara ürünlerden biri olan mukonaldehit (t,t-MA dialdehit), nükleik asitlerle etkileşime giren reaktif elektrofilik bir bileşiktir. Benzenin majör metabolitlerinden olan fenolik metabolitleri arasında yer alan kinonlar da tiyoller, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşime giren elektrofilik bileşiklerdir. Benzene maruz kalan işçilerde, 1,4-benzokinon protein katımları varlığı gösterilmiştir (International Agency for Research on Cancer, 2018).

İnsanların benzene maruziyeti, kanser ve hematolojik etkiler dahil olmak üzere bir dizi akut ve uzun vadeli advers sağlık etkileri ve hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Maruziyet, motor yakıtları ve çözücüler dahil olmak üzere benzen içeren petrol ürünlerinin kullanımının bir sonucu olarak, genel çevrede ve evlerde meydana gelebilir. Sigara dumanına aktif ve pasif maruziyet de önemli bir maruziyet kaynağıdır. Benzen oldukça uçucu olmasından dolayı, maruziyet çoğunlukla inhalasyon yoluyla meydana gelir. Hem çalışanların hem de genel nüfusun benzene maruziyetini azaltmak için halk sağlığı çalışmalarına ihtiyaç vardır (World Health Organization, 2019).

Benzen genotoksik Grup 1 insan karsinojenidir (International Agency for Research on Cancer, 2018; Moro ve diğerleri, 2013). Benzenin metabolizması sonucu oluşan süperoksit

anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) gibi ROT, biyomoleküllere zarar verip, DNA zincir kırıklarına, mikroçekirdek ve kromozomal aberasyonların oluşumuna yol açabilir. Bu nedenle benzenin genotoksik etkileri oksidatif DNA hasarı ile ilişkilendirilebilir (Moro ve diğerleri, 2013).

Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek konsantrasyonlarda benzene tekrarlayan maruziyetin sitogenetik hasara ve benzene bağlı lösemi, aplastik anemi ve pansitopeniye neden olduğunu göstermiştir. Benzen, kemik iliğinde doğrudan etkili bir ajan değildir, ancak hematotoksositeye neden olan metabolitlerine dönüştürülür. Petrolün hematolojik parametreler ve kemik iliği üzerindeki olumsuz etkilerinin mekanizması, iki şekilde açıklanabilir. Bazı çalışmalar, benzen metabolitlerinin DNA, RNA ve protein gibi hücresel makromoleküllerle kovalent etkileşime girebildiğini ve ayrıca protein ve RNA sentezini inhibe ettiğini göstermiştir. Diğer olası mekanizma, benzen metabolitlerinin DNA yapısında değişikliklerle sonuçlanan oksidatif stresi indüklemeye yeteneğinden kaynaklanabilir. Bu mekanizmaların her ikisinin de mutajenezeye yol açtığı ve bunun da normal hematopoietik süreci engellediği düşünülmektedir (Abubakar ve diğerleri, 2015).

Benzen, insanlarda iyi karakterize edilmiş bir kanser nedenidir. İnsanlardaki kanıtlar, akut miyeloid lösemi dahil olmak üzere akut lenfositik olmayan lösemi için yeterli kabul edilirken, Hodgkin dışı lenfoma, kronik lenfoid lösemi, multipl miyelom, kronik miyeloid lösemi, çocuklarda akut miyeloid lösemi ve akciğer kanseri için sınırlıdır. Benzen ayrıca, deney hayvanlarında da çok çeşitli kanserlere neden olmuştur (World Health Organization, 2019).

Benzen aynı zamanda hematotoksositeye neden olur ve immünsüpresiftir. Benzene kronik maruziyet, insanlarda kemik iliğinden hem kırmızı hem de beyaz kan hücrelerinin üretiminin azalmasına neden olabilir; daha yüksek maruziyetler aplastik anemi ve pansitopeniye yol açabilir. Benzen maruziyetinin neden olduğu hematotoksosite, hematolojik malignite veya ilgili bozuklukların gelişme riski ile ilişkilidir (World Health Organization, 2019).

Benzen, inhalasyon yoluyla maternal maruziyeti takiben farelerde, sıçanlarda ve tavşanlarda fetotoksiktir ve düşük doğum ağırlığına neden olur. Bununla birlikte, deney hayvanlarında benzene maternal maruziyette maternal olarak toksik dozlarda bile teratojenik değildir (World Health Organization, 2019).

Benzen, elektrofilik metabolitlere metabolik olarak aktive edilir, oksidatif stresi indükler ve genotoksiktir. DNA hasarına ve kromozomal değişikliklere neden olur. Mesleki olarak benzene maruziyet, oksidatif DNA hasarı, DNA zincir kırıkları, gen mutasyonları, kromozomal aberasyonlar ve mikroçekirdekler dahil bir dizi genotoksik etki ile ilişkilendirilmiştir. Deney hayvanlarında *in vivo* maruziyet sonucu DNA katım ürünleri, kromozomal aberasyonlar, mikroçekirdek, kardeş kromatid değişimi ve sperm başı anomalileri görülmüştür. İnsan hücrelerinde *in vitro* DNA katım ürünleri, DNA hasarı ve kromozomal aberasyonlar görülmüştür (World Health Organization, 2019).

Benzene mesleki maruziyetin akut miyeloid lösemi ve Hodgkin dışı lenfomalarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Aksoy, 1985; Hayes ve diğerleri, 2000).

Havadaki benzen için özel bir kılavuz değer geliştirilmemiştir. 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık fazladan yaşam boyu lösemi riski ile ilişkili havadaki benzen konsantrasyonları sırasıyla 17, 1,7 ve 0,17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 'tür (World Health Organization, 2019).

Benzenin neoplastik olmayan etkileri için Hiçbir Advers Etkinin Gözlenmediği En Yüksek Konsantrasyon (NOAEC) değeri 3,2 mg/m^3 (1 ppm) olarak belirlenmiştir (European Union Risk Assessment Report, 2008).

Benzene akut mesleki maruziyet narkoza neden olabilir; baş ağrısı, baş dönmesi, uyuşukluk, kafa karışıklığı, tremor ve bilinç kaybı gelişebilir. Alkol kullanımı toksik etkileri artırabilir. Benzen gözleri, cildi ve solunum yollarını tahriş eder (World Health Organization, 2019).

Olası karsinojen kimyasallar

Etilbenzen

Etilbenzen, petrolde doğal olarak bulunan, havacılık ve otomotiv yakıtlarının bileşeni olan aromatik bir hidrokarbondur. Çözücü olarak, sentetik kauçuk ve stiren üretiminde kullanılmaktadır. Araç motor egzozunda, gıdada, toprakta, suda ve sigara dumanında eser miktarda bulunmaktadır, ancak deney hayvanları veya insan maruziyet çalışmalarında toksik etkinin gözlemlendiği seviyelerin çok altındadır (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2010).

Vuruntu önleyici özelliklerinden dolayı motor ve havacılık yakıtlarına etilbenzen ilave edilmektedir. Benzin içerisinde %15'e kadar bulunabilir (International Agency for Research on Cancer, 2000).

Etilbenzen akciğerlerden, gastrointestinal sistemden ve deriden absorbe olur. Absorbe olan etilbenzen metabolize olarak metabolitlerine dönüşür ve hızla eliminasyona uğrar. Ana metabolizma yolları, yan zincir ve halka hidroksilasyonunu takiben O-glukuronidasyon ve sülfat konjugasyonudur. Mandelik asit ve fenilglioksilik asit konjugatları vücuttan atılan başlıca metabolitlerdir (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2010).

İnsanlarda 10 000 ppm etilbenzene birkaç saniye maruziyetten sonra göz irritasyonu gözlenmiştir. 2 000 ppm etilbenzene akut olarak maruziyette bireylerde irritasyon ve göğüs sıkışması meydana gelmiş, konsantrasyon 5 000 ppm'e yükseldiğinde bu semptomlar kötüleşmiştir. 2 000 - 5 000 ppm etilbenzen maruziyetleri baş dönmesi ve vertigo ile ilişkilendirilmiştir. Bu semptomların hepsinin maruziyet kesildikten sonra geri dönüşümlü olduğu bildirilmiştir. 1 000 ppm etilbenzene maruz kalan insanlarda oküler irritasyon, yanma hissi ve aşırı lakrimasyon gözlenmiştir. Etilbenzenin de bulunduğu çözücülere bir yıl kronik olarak maruz kalan işçilerde ortalama lenfosit sayısında artış ve hemoglobin düzeylerinde düşüş görülmüştür. Bununla birlikte, 20 yıl boyunca etilbenzene maruz kalan işçilerde herhangi bir olumsuz hematolojik etki gözlenmemiştir. Etilbenzene maruz kalan işçilerde hiçbir karaciğer lezyonu veya karaciğer fonksiyon testlerinde herhangi bir anormallik saptanmamış ve hiçbir malignite vakası rapor edilmemiştir. İnsanlarda etilbenzene mesleki maruziyet ile kanser oluşumu arasında bir ilişki bulunmamıştır (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2010).

Etilbenzene maruz kalan işçilerde genotoksik etkilerin bildirildiği iki adet çalışma bulunmaktadır. Çalışmalardan birinde periferik kan lenfositlerinde kromozomal aberasyonlar görülürken, diğerinde mikroçekirdek sıklığında artış olmuştur. Benzen gibi başka kimyasallara maruziyet söz konusu olduğundan ve önceki uzun süreli maruziyete ilişkin bilgi eksikliği nedeniyle, bu çalışmalar etilbenzenden kaynaklanan etkilerin uygun bir şekilde değerlendirilmesine izin vermemektedir. Etilbenzen, bakteri gen mutasyon testlerinde negatif sonuçlar vermiştir. *In vivo* ve *in vitro* genotoksisite test sistemlerinde etilbenzene ait genotoksisite gözlenmemiştir. Sonuç olarak etilbenzenin DNA ile etkileştigiğine dair ilgili bir gösterge bulunmamaktadır (European Chemicals Agency).

Etilbenzen, farelerde inhalasyon yoluyla karaciğer ve akciğer adenom insidansını artırırken, sıçanlarda böbrek adenom ve karsinom insidansını artırmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2000). Standart batarya genotoksisite testlerinden elde edilen veriler, fare ve sıçanlarda etilbenzen ile indüklenen karaciğer, akciğer ve böbrek tümörleri oluşumunun herhangi bir genotoksik mekanizma aracılı olmadığını desteklemektedir (Henderson ve diğerleri, 2007).

İnsanlarda etilbenzenin karsinojen olduğuna dair yeterli bulgu yokken, deney hayvanlarında karsinojen olduğuna dair yeterli bulgu mevcuttur. Bu nedenle etilbenzen IARC tarafından Grup 2B olarak sınıflandırılmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2000).

Diğer majör kimyasallar

Alkilbenzenler bir (toluen) veya daha fazla (ksilenler) doymuş alifatik yan zincir içeren tek halkalı aromatik bileşiklerdir. Oktan işleminin bir sonucu olarak benzin karışımlarında ve standart benzin formülasyonlarında az miktarlarda bulunan toluen ve ksilenler, esas olarak inhalasyon ve deri yoluyla absorbe olur. Bu alkilbenzenlere doğrudan cilt teması vazodilatasyon, eritem ve kuru, pullu dermatit ile keratin tabakasının yağdan arınmasını tetikler. Ksilenler, toluenden daha güçlü deri irritanı maddelerdir. İnhalasyon maruziyeti de gözlerde ve solunum yollarında akut irritasyona neden olur. Karaciğer, böbrek ve kalp hasarı dışında MSS'deki fonksiyon bozukluğu, alkilbenzenlere maruziyetin başlıca sağlık sorunudur. Etkiler, şiddetli nörolojik bozukluktan (suiistimal nedeniyle akut inhalasyon) mesleki olarak maruz kalanlarda nörodavranışsal fonksiyondaki eksikliklere kadar değişiklik gösterir (Caprino ve Togna, 1998).

Toluen

Toluen, belirgin bir kokusu olan uçucu, berrak ve renksiz bir sıvıdır. Benzinin karıştırılmasında ve çözücü olarak kullanılan, yüksek hacimde üretilen endüstriyel bir kimyasaldır. Toluen esas olarak petrol yakıtlarının ve toluen bazlı çözücülerin ve incelticilerin buharlaşmasından ve motorlu araç egzozlarından atmosfere salınır. Ayrıca yanardağlardan, orman yangınlarından ve ham petrolden kaynaklanan emisyonlarda da bulunur. Yüzey suyu, yeraltı suyu, içme suyu ve toprak örneklerinde düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Toluene mesleki maruziyet kapsamlıdır, üretiminde ve toluen içeren ürünlerin

üretimi ve kullanımı sırasında açığa çıkar. Genellikle ortam havasında tespit edilir (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Toluenin absorpsiyonu öncelikle sonulum bölgesi aracılı gerçekleşir. Deney hayvanları ile yapılan inhalasyon çalışmalarında, beyaz adipoz dokusu, adrenal bezleri, deri, böbrekler, karaciğer, akciğer ve beyne önemli miktarlarda toluenin dağıldığı gösterilmiştir. Farelerde, toluenin inhalasyon sonrası fetüse geçtiği gözlenmiş, insan fetüsüne transplasental geçişi olduğu bildirilmiştir. Çok yüksek konsantrasyonlara maruz kalan sıçanlarda beyindeki en düşük seviyeler hipokampus ve serebral kortekste bulunurken, en yüksek konsantrasyonlar beyin sapı bölgelerinde bulunmuştur. Dağılımın, kan konsantrasyonları ve beyin lipid içeriği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (World Health Organization Regional Office for Europe, 2000).

Hem insanlarda hem de deney hayvanlarında toluen metabolizmasının majör yolağı, CYP450, alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenazın (ALDH) sıralı etkisi ile yan zincir oksidasyonunu ve sonucunda benzoik asit oluşumunu içerir, bu da glisin ile konjugasyona girerek toluenin majör idrar metaboliti olan hippürik asidi oluşturur. Minör metabolitler arasında orto- ve para-krezol bulunur. Toluen maruziyetine özgü minör metabolit, S-benzil-N-asetil-L-sisteindir. İnsanlarda absorbe edilen dozun yaklaşık %70-80'i benzoik aside dönüştürülürken, %7-20'si solunan havada değişmemiş toluen olarak atılır. Toluen metabolizmasına diyet, tür, yaş, ırk ve cinsiyete göre ekspresyonu değişen birkaç izoenzim aracılık eder. ALDH izoenziminden ALDH2'nin Japon nüfusunun yaklaşık yarısında eksik olduğu bulunmuştur. Bu izoenzim, düşük karaciğer benzaldehit seviyelerinde baskındır ve bu nedenle metabolizmada ALDH1'den daha önemli bir rol oynar. CYP450 polimorfizminin toluen metabolizması üzerindeki etkisi belirsizdir. İşyerindeki veya ortam havasındaki toluen konsantrasyonları, CYP450 izoformlarını indükleyemeyecek kadar düşüktür (World Health Organization Regional Office for Europe, 2000).

Toluen, majör metabolik yolakta benzil alkolü oluşturup benzaldehite ve ardından benzoik aside oksitlenir. Benzoik asidin çoğu hippürik aside dönüştürülür, ancak bir kısmı UDP-glukuronat ile konjuge edilerek açıl-glukuronidi oluşturur. Toluen dozunun çok daha küçük bir kısmı, sülfat veya glukuronid konjugatları olarak idrarla atılan orto- ve para-krezol'e dönüştürülür. Toluen metabolizmasında yer alan bazı enzimlerin polimorfik olduğu gösterilmiştir. ALDH2 enzim eksikliği olan, toluene maruz kalan işçilerde, yüksek düzeyde

benzil alkol bulunmuştur, ancak benزالdehit saptanmamıştır. Düşük ALDH2 enzim aktivitesine sahip bireylerde hippüratın idrarla atılımının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca, *CYP1A1* polimorfizmi, alkol tüketimi ve sigara kullanımının da hippürat atılımını azaltan faktörler olabileceği gösterilmiştir (Kawamoto ve diğerleri, 1995).

Uzun süreli dermal toluen maruziyeti, alerjik olmayan kontakt dermatite neden olabilir. Toluen maruziyeti ayrıca sinir sistemi semptomlarına neden olur ve aşırı maruziyeti böbrek ve karaciğer üzerinde advers etkilere neden olabilir (International Agency for Research on Cancer, 1999) .

Toluen, farelerde ve sıçanlarda karsinogenisitesi açısından test edilmiş ve tümör insidansında anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Birçok insan çalışmasında çoklu maruziyet koşulları ve bulguların zayıf tutarlılığı göz önüne alındığında, toluenin karsinogenisite ile ilişkili olduğu sonucuna varmak için bulgular yeterince güçlü değildir. Mesleki olarak maruz kalan popülasyonlarda yapılan yakın tarihli sitogenetik çalışmalarda, kromozomal aberasyon, mikroçekirdek ve DNA zincir kırığı sıklıklarında artışlar tespit edilmiştir (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Toluen maruziyetinin birincil endişe kaynağının yapılan çalışmalar doğrultusunda MSS bozukluğu olduğu görülmektedir. Nörodavranışsal fonksiyondaki eksiklikler, MSS toksisitesinin daha ciddi belirtilerinin öncülleri olduğu düşünülmektedir. Toksisitenin maruziyetle korelasyonunu sağlamak için yaş, alkol veya uyuşturucu kullanımı ve eğitim durumu gibi olası karıştırıcı faktörlerin değerlendirilmesi gerekir. Uzun süre boyunca yüksek konsantrasyonlarda toluene maruz kalan işçilerin hafif kronik toksik ensefalopati belirtileri gösterdiği bildirilmiştir. Toluen aynı zamanda gelişimsel gerilemelere ve konjenital anomalilere neden olabilir ve bu etkiler hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların bulgularıyla (örneğin; fetal gelişim geriliği, iskelet anomalileri, düşük doğum ağırlığı ve gelişimsel nörotoksisite) desteklenmektedir. Genellikle, çalışanların toluene maruziyeti karaciğer toksisitesi ile ilişkilendirilmemiştir. Yapılan çalışmalarda örneklem büyüklüğünün küçük olması ve kromozom hasarına neden olan diğer ajanlara olası maruziyet hakkında yetersiz bilgi olması nedeniyle mesleki toluen maruziyetinin genotoksik etkilerinin kesin bir değerlendirmesi yapılamaz. Toluenin karsinogenik potansiyele sahip olduğunu gösteren insan çalışmalarından elde edilen hiçbir bulgu yoktur (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2017; World Health Organization Regional Office for Europe, 2000).

Ancak, halihazırda var olan immünolojik bir bozukluğun toluene maruz kalan bireylerde Hodgkin dışı lenfoma riskini artırdığı düşünülmektedir (Miligi ve diğerleri, 2006; Vineis ve diğerleri, 2007).

Özetle, toluenin karsinojen olduğu konusunda insanda yeterli kanıt yoktur. Deney hayvanlarında toluenin karsinojen olmadığını gösteren bulgular vardır. IARC, bu veriler ışığında tolueni Grup 3 insanlar için karsinojen olarak sınıflandırılmaz olarak kategorize etmiştir (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Ksilenler

Ksilen terimi, üç ksilen izomerinin (orto-, meta- ve para-) karışımlarını belirtir. Ticari preparatlarda en baskın olan bileşen m-ksilendir (%40-77), diğer bileşenlerin her biri kütlenin yaklaşık %20'sini oluşturur. Ksilenlerin çözücü olarak, boya ve kaplamalarda ve benzinde kullanımı yaygındır. Ksilenler, endüstriyel kaynaklardan, araç egzozundan ve çözücü olarak kullanımlarından kaynaklanan uçucu özelliği sayesinde kaçak emisyonlar olarak atmosfere salınır. Ksilenler havada, toprakta, yağmur suyunda, yüzey sularında, tortularda, içme suyunda ve suda yaşayan organizmalarda tespit edilmiştir. İnsanlarda ksilenlere akut inhalasyon maruziyeti göz, burun ve boğaz irritasyonuna, gastrointestinal etkilere ve nörolojik etkilere neden olur. İnsanların ksilenlere kronik inhalasyon maruziyeti başlıca baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk, titreme ve koordinasyon bozukluğu gibi MSS etkileriyle sonuçlanır; solunum, kardiyovasküler ve böbrek etkileri de belirtilmiştir (Integrated Risk Information System (IRIS), 2003).

Ksilenler öncelikle metilbenzil alkollere oksidasyonla metabolize edilir, ardından metilbenzoik asitlere (toluik asitler) ileri oksidasyonu gerçekleşir. Bunlar da metilhippüratlar oluşturmak için glisin ile veya açıl glukuronidler oluşturmak için UDP-glukuronat ile konjuge edilir (International Agency for Research on Cancer, 1999). İnsanlarda CYP2E1, ksileni metabolitlerine dönüşümünü sağlayan ve sonunda hippürik asit oluşturan karaciğerdeki en önemli enzimdir; diğer enzimler 2,4-dimetil fenol oluşturan ksilen izomerinin hidroksilasyonuna yol açar (Niaz ve diğerleri, 2015).

Ksilenlerin karsinogenisitesi hakkında yeterli insan verisi mevcut değildir ve mevcut deney hayvanı verileri, ksilenlerin karsinojen olduğu konusunda yetersizdir. Ksilenlerin genotoksik

etkilerine ilişkin değerlendirmeler sürekli olarak olumsuz sonuçlar vermiştir. GENE-TOX veri tabanında atıfta bulunulan tüm çalışmalar, bir çalışma dışında olumsuzdur. Ayrıca ksilenlerin, Salmonella typhimurium ve Echerichia coli içeren bakteri test sistemlerinde ve fare lenfoma hücre kültüründe mutajenik etkileri gözlenmemiştir (Integrated Risk Information System (IRIS), 2003).

IARC, ksilenlerin karsinojen olduğuna dair insanlarda ve deney hayvanlarında yeterli kanıt olmadığına ve ksilenlerin Grup 3 olarak sınıflandırılmasına karar vermiştir (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Oksijenatlar

Benzin karışımlarındaki kurşunu ve birçok potansiyel toksik hidrokarbonu çıkartarak motorlu taşıt kirliliğini azaltma stratejisinde, oksijenatların (alkoller ve alkolden türetilen eterler) eklenmesi, ağır metal katkı maddelerinin yer almadığı ve daha düşük miktarlarda benzen ve aromatik içeren yeniden formüle edilmiş yakıtların geliştirilmesine yol açmıştır (Caprino ve Togna, 1998). Dizel yakıtta katkı maddesi olarak oksijenatların kullanılmasına artan bir ilgi vardır. Bunun siyasi bir nedeninin de olabileceği düşünülmektedir; hem Avrupa Birliği (AB) hem de ABD, biyoenerji kullanımını teşvik etme konusundaki çıkarlarını beyan etmişlerdir. Çok sayıda çalışma, dizel yakıtta eklenen oksijen içeren bileşiklerin dizel partiküler maddeleri (DPM) azalttığını göstermiştir. Buna karşılık, oksijenatların eklenmesiyle aldehitlerin emisyon düzeylerinde artış kaydedilmeye başlanmıştır. NO_x emisyonlarının ise oksijenatların ilavesiyle azaldığı rapor edilmiştir (Nord ve Haupt, 2005).

Metil tersiyer bütil eter (MTBE), motor vuruntusunu azaltmak ve araç egzozundaki CO ve aromatik hidrokarbon seviyesini en aza indirmek için benzine eklenen bir oksijenattır. Bu oksijenatın giderek yaygınlaşan kullanımı, araç yakıt ikmali ve servis işlemleriyle uğraşan çok sayıda işçinin MTBE'ye maruz kalmasına neden olmaktadır. MTBE toksisitesi üzerine çeşitli deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları potansiyel karsinojenik etkilerini araştırmaya odaklanmıştır, ancak bu araştırmaların sonuçları çelişkilidir. Fareler ve sıçanlar üzerinde yapılan üç ayrı biyoanaliz çalışmasından elde edilen bulgular, inhalasyon ve oral yolla MTBE'ye kronik maruziyetin hayvanlarda tümör oluşumuna neden olabileceğini göstermiştir. Ancak aynı deney hayvanı modellerinde benzer dozların kullanıldığı başka çalışmalarda tümör oluşumu gözlenmemiştir. IARC,

deney hayvanlarında sınırlı bulgu ve insanlarda yetersiz kanıt varlığına dayanarak, MTBE'nin Grup 3 olarak sınıflandırılmasına karar vermiştir. Ayrıca, ABD Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) Bilimsel Danışma Kurulu, MTBE'yi karsinojen olmayan maddeler arasında yer almasını onaylamıştır (Iavicoli ve Carelli, 2003).

Buna karşın, MTBE'nin intraselüler ROT seviyelerinde artışa neden olarak oksidatif strese ve genotoksisiteye yol açabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Chen ve diğerleri, 2008; Salimi ve diğerleri, 2016). İnsan lenfosit hücrelerinde MTBE ve BTEX'in Comet testi ile genotoksisite potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, MTBE ve BTEX'in tek ve çift zincir kırıkları ve oksidatif baz modifikasyonu gibi çeşitli DNA hasarını indüklediği gösterilmiştir (Chen ve diğerleri, 2008). MTBE'ye maruz bırakılan insan lenfosit hücrelerinin kullanıldığı başka bir çalışmada da, MTBE'nin lipit peroksidasyonuna neden olup mitokondri ve lizozom hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Salimi ve diğerleri, 2016).

Başka bir oksijenat olan etil tersiyer bütül eter (ETBE) yapısının kemirgenlerde karsinojen olduğu bilinen yapılarla karşılaştırıldığı *in silico* çalışmada, ETBE'nin genotoksisite ve karsinogenisite potansiyelinin olmadığı gösterilmiştir. Tersiyer amil metil eter (TAME) oksijenatı ile yapılan Ames testi ve fare mikroçekirdek testinde herhangi bir genotoksisite bulgusu gözlenmemiştir (Caprino ve Togna, 1998).

2.1.2. Araç motor egzozu

Dizel ve benzinli motorlar, motorlu taşıtlarda kullanılan başlıca güç kaynaklarıdır. Her ikisi de içten, aralıklı yanmalı motorlardır, ancak karışımlarının hazırlanma ve ateşleme yöntemleri açısından temel farklılıklar gösterir. Motorlarda kullanılan yakıtlar da farklılık göstermektedir. Dizel yakıt, daha yüksek kaynama aralığına sahip petrol fraksiyonlarından oluşur, daha yüksek yoğunluğa sahiptir ve birim benzin başına yaklaşık %13 daha fazla enerji içerir. Motor egzozunda bulunan bazı bileşikler ve bileşik sınıfları Çizelge 2.1'de listelenmiştir (International Agency for Research on Cancer, 2014).

Egzoz emisyon oranı ve tam bileşimi motorun tipine, yaşına, çalışma performansına ve bakımına, yakıtın bileşimi ve özelliklerine, yanma sürecine, egzozda yanmamış yakıtın varlığına (yakıtta oluşan türler için) ve bazı hidrokarbonları tercihen çıkarabilen katalitik konvertörün verimliliğine bağlıdır (Taxell ve Santonen, 2017; Ye ve diğerleri, 1997).

Çizelge 2.1. Araç motor egzozundaki bazı bileşikler ve bileşik sınıfları

Gaz fazı	Partikül fazı
Akrolein	Heterosiklikler ve türevleri*
Amonyum	Hidrokarbonlar (C ₁₄ -C ₃₅) ve türevleri*
Benzen	İnorganik sülfatlar ve nitratlar
1,3-Bütadien	Metaller (örneğin, kurşun ve platin)
Formaldehit	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve türevleri*
Formik asit	
Heterosiklikler ve türevleri*	
Hidrokarbonlar (C ₁ -C ₁₈) ve türevleri*	
Hidrojen siyanür	
Hidrojen sülfür	
Metan	
Metanol	
Nitrik asit	
Nitröz asit	
Azot oksitler	
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve türevleri*	
Kükürt dioksit	
Toluen	

*Türevler asitler, alkoller, aldehytler, anhidritler, esterler, ketonlar, nitriller, kinonlar, sülfonatlar, halojenli ve nitratlı bileşikler ve multifonksiyonel türevleri içerir.

Benzin egzozu ve kanser riski sadece birkaç epidemiyolojik çalışmada araştırılmıştır. Dizel ve benzin egzozunun etkisini ayırmanın zorluğu nedeniyle benzin egzozuna yönelik karsinojenik bulgular “yetersiz” olarak değerlendirilmiştir. IARC Çalışma grubu, benzinli motor egzoz emisyonunun hayvan karsinogenesis çalışmalarını maruziyet türüne göre, tüm benzinli motor egzozunu ve benzinli motor egzoz kondensat ekstraktlarını değerlendirmiştir. Benzinli motor egzoz kondensatının organik ekstraktları, farelerde akciğer karsinomlarında ve deri papillomlarında anlamlı bir artışa neden olmuştur. Sıçanlarda da, benzin egzoz kondensatı ile ilişkili akciğer karsinomlarında anlamlı artış görülmüştür. IARC Çalışma Grubu, benzinli motor egzoz kondensatlarının deney hayvanlarında karsinojen olduğu konusunda “yeterli kanıt” olduğu sonucuna varmıştır. Benzinli motor egzozunun farelerde kromozomal hasara ve sıçan akciğerinde ksenobiyotik metabolizması ve inflamasyonla ilgili yolları içeren gen ekspresyonunda değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Memeli

hücrelerinde, benzinli motor egzoz partikülleri ve bunların organik ekstraktları DNA katımlarını, DNA zincir kırıklarını, oksidatif DNA hasarını, kromozomal aberasyonları ve morfolojik hücre transformasyonunu ve ayrıca bakterilerde gen mutasyonlarını indüklemiştir. Memeli hücrelerinde, benzin egzoz partiküllerinin ekstraktları inflamasyon, ksenobiyotik metabolizma, tümör ilerlemesi ve hücre döngüsü ile ilgili genlerin ekspresyonunu değiştirmiştir. IARC Çalışma Grubu, benzinli motor egzozundan çıkan partiküllerin organik çözücü ekstraktlarının karsinojenisitesine ilişkin genotoksik bir mekanizma için “güçlü kanıtlar” olduğu sonucuna varmıştır (Benbrahim-Tallaa ve diğerleri, 2012).

Dizel motor egzozu

Dizel egzozu, gaz veya parçacık fazında yüzlerce bileşenin kompleks bir karışımıdır. Tüm dizel egzozu üç temel bileşen içerir: çapı 1 μm 'den küçük olan solunabilir boyutlardaki temel karbon parçacıkları, organik çözücüler ile kolayca ekstraksiyonu yapılabilen karbon parçacıklarının yüzeyine adsorbe olabilen organik madde ve UOB'leri içeren gaz ve buhar fazlarının karışımı (Hesterberg ve diğerleri, 2005). Dizel egzozunun gaz halindeki bileşenleri arasında CO_2 , oksijen (O_2), azot, su buharı, CO, azot bileşikleri, kükürt bileşikleri ve düşük molekül ağırlığındaki hidrokarbonlar bulunur. Dizel egzozunun toksisitesinde önemli rolü olan gaz halindeki bileşenleri arasında aldehitler (örneğin; formaldehit, asetaldehit ve akrolein), benzen, 1,3-bütadien, PAH'lar ve nitro-PAH'lar bulunur. Dizel egzozunda bulunan partiküller (DPM), elementel karbon, adsorbe edilmiş organik bileşikler ve az miktarda sülfat, nitrat, metaller ve diğer eser elementlerden oluşur. Dizel kamyon egzozlarında çok az miktarda dioksin ölçülmüştür. Parçacık üzerinde ve gazlarda bulunan organik bileşiklerin birçoğunun mutajenik ve karsinojenik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Motorlu taşıt emisyonları, ortam hava kirliliğinin önemli kaynaklarından biridir ve kanser ve kanser dışı sağlık etkileri ile ilişkilendirilmiştir. Dizel emisyonlarında bulunan PM fraksiyonu, birçok bilimsel çalışmanın odak noktası olmuştur. Ayrıca bu emisyonlar, buhar fazında yarı uçucu organik bileşikleri (YUOB'ler) ve gaz bileşenlerini yani UOB'leri içermektedir (Zielinska ve diğerleri, 2004). IARC, dizel motor egzozuna maruziyetin artan akciğer kanseri riski ile ilişkili olduğuna dair yeterli kanıta dayanarak, dizel motor egzozunu Grup 1 olarak sınıflandırmıştır (IARC: Diesel engine exhaust carcinogenic, 2012). Ayrıca,

IARC Çalışma Grubu artan mesane kanseri riski ile pozitif bir ilişki (sınırlı kanıt) olduğunu belirtmiştir (Claxton, 2015). Dizel egzoz emisyonu aynı zamanda inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin yanı sıra insanlarda kanser oluşumu ile ilişkilendirilmektedir (Lankoff ve diğerleri, 2017).

Geçtiğimiz yıllarda, Kuzey Amerika ve Avrupa’da karayolu taşıtları için giderek daha sıkı bir şekilde uygulanan emisyon standartları, dizel teknolojisinde daha düşük PM, azot oksit ve hidrokarbon emisyonu ile sonuçlanan ilerlemelerin kaydedilmesine neden olmuştur. Ancak halen birçok az gelişmiş ülkede dizel ve benzinli motorların hem yolda hem de yol dışı kullanımı için standartlar mevcut değildir (Benbrahim-Tallaa ve diğerleri, 2012). Geleneksel dizel egzozu, PM bakımından benzin, LPG veya yeni teknoloji dizellerden kaynaklanan emisyonlardakine kıyasla çok daha zengindir (Hesterberg ve diğerleri, 2005). Dizel motorlardan kaynaklanan CO₂ emisyonları sera etkisinin artmasına katkıda bulunarak dünyanın iklimini ve küresel ısınmayı şekillendirmede önemli bir rol oynamaktadır. Standart fosil dizel yakıtlara alternatif olarak biyodizel, sera gazlarının azaltılması için olası bir çözüm sunar (Lankoff ve diğerleri, 2017). Tipik olarak bitkisel yağlardan hazırlanan, saf veya dizel yakıtla karıştırılmış yağ asitlerinin n-alkilesterlerinin bir karışımı olan biyodizel, dizel motorlar için en yaygın kullanılan alternatif yakıttır (Novotna ve diğerleri, 2019). Katkısız biyodizelin ve fosil dizel yakıtlarla biyodizel karışımlarının Avrupa’da yaygın şekilde kullanımı olmasa da, yakın gelecekte biyoyakıtların kullanımını artırmaya yönelik vizyon planları önerilmektedir (Lankoff ve diğerleri, 2017). Günümüzde dizel motorlar, yakıt tasarrufu ve yüksek güç çıkışı potansiyeli nedeniyle yaygın şekilde kullanılmaya devam ederken, halen yüksek düzeyde NO_x ve partikül emisyonları kaydedilmektedir. Avrupa’da emisyonlarla ilgili yeni bir mevzuatın yürürlüğe girmesi, şimdiye kadar dizel motorlarda dizel partikül filtreleri ve diğer egzoz arıtma sistemlerinin dahil edilmesiyle NO_x ve partikül seviyelerinin azaltılmasına yardımcı olmuş olsa da, partikül emisyonları sağlık etkileri açısından halen büyük bir endişe kaynağıdır. Dizel partiküllerinin sağlığa etkisi, esas olarak PAH’lardan kaynaklanmaktadır. PAH’lar doğrudan dizel emisyon regülasyonları tarafından düzenlenmezler ve insanlar için karsinojen olduğu bilinmektedir (Dandajeh ve diğerleri, 2019).

Olası sağlık etkileri

Dizel partiküllerinin karakterizasyonu ve bunların solunması sonucu oluşabilecek olumsuz sağlık etkilerinin derecesini belirlemeye yönelik çalışmalar, on yıllardır süregelmektedir. Günümüzün modern yeni dizel motorları, genotoksik maddelerin ve karsinojenlerin seviyelerini düşürebilir; ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Claxton, 2015). Mevcut veriler, dizel egzozuna günlük çevresel maruziyet kaynaklı advers sağlık etkilerinin oluşabileceğini göstermektedir. Dizel egzozu maruziyeti, akut ve kronik kanser dışı solunum etkilerine neden olabilir ve insanlarda akciğer kanserine neden olma potansiyeline sahiptir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Akut toksik etkileri

Dizel egzozunun akut maruziyeti ile ilgili olası sağlık etkilerini karakterize etmek için mevcut bilgiler sınırlıdır. İnsan ve deney hayvanı verilerine dayanarak, dizel egzozunun akut irritasyona ( rneğin; göz, boğaz ve bronş irritasyonu), nörofizyolojik semptomlara ( rneğin; baş dönmesi, sersemlik hissi ve mide bulantısı) ve solunum semptomlarına ( ks r k ve balgam) neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Bilinen alerjenlere karşı olası immünolojik etkiler ve/veya alerjik yanıtların alevlenmesine yönelik bulgular mevcuttur. Maruziyet-cevap bilgisinin eksikliği, bu etkiler için koruyucu olabilecek maruziyet seviyeleri hakkında önerilerin geliştirilmesini engellemektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

İnsanların yaşamları boyunca herhangi bir istenmeyen veya olumsuz kanser dışı sağlık etkisi yaşamadan maruz kalabilecekleri havadaki dizel egzozu maruziyet seviyesi, sıçanlarda kronik inhalasyon çalışmasından elde edilen doz-yanıt verilerinden türetilmiştir. Dizel egzozu için referans konsantrasyonu (RfC) olarak bilinen bu maruziyet seviyesi, 14 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ DPM'dir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Bir dizi gaz halindeki bileşiğin ( rneğin; aldehitler, alkanlar, alkenler, NO_x ve kükürt oksitler (SO_x)), yeterli maruziyet durumunda solunum yolu tahrişine neden olduğu bilinmektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Kronik kanser dışı toksik etkileri

Mevcut insan araştırmalarındaki bilgiler, dizel egzozuna kronik maruziyetten kaynaklanan olası kanser dışı sağlık etkilerinin kesin bir değerlendirmesi için yetersizdir. Bununla birlikte, kapsamlı deney hayvanı bulgularına dayanarak dizel egzozunun insanlar için kronik bir solunum tehlikesi oluşturabileceği söylenebilir. Kronik deney hayvanı inhalasyon çalışmaları, sıçanlar, fareler, hamsterlar ve maymunlar dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinde akciğerde doza bağlı kronik inflamasyon ve histopatolojik değişikliklere yol açtığını göstermektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002). Epidemiyolojik çalışmalarda motor egzoz kaynaklarına maruziyetin artan astım ve diğer akciğer hastalıkları, kalp krizi ve diğer kronik sağlık sorunları riskleri ile ilişkilendirilmiştir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Mutajenik ve genotoksik etkileri

1978 yılından beri dizel emisyonları uçucu ve partikül fraksiyonları veya dizel emisyonlarında bulunan kimyasallar ile genotoksisite deneylerinin yürütüldüğü 100'den fazla çalışma yayınlanmıştır. Çalışmaların çoğu (Brooks ve diğerleri, 1984; Claxton, 1981; Dukovich ve diğerleri, 1981; Lu ve diğerleri, 1999), dizel emisyonlarından elde edilen gaz fazı veya partikül ekstraktlarının mikrobiyal ve memeli hücre analizlerinde mutajenik aktiviteye sahip olup olmadığını araştırmıştır. Dizel emisyonlarında bulunan çok sayıdaki kimyasalın birçoğunun çeşitli analiz sistemlerinde mutajenik aktivite sergilediği belirlenmiştir (Hou ve diğerleri, 1995; Jacobsen ve diğerleri, 2008; Ross ve diğerleri, 2015). Gaz fazında bulunan mutajen bileşiklerin arasında benzen, 1,3-bütadien, akrolein, PAH'lar (4 halkalı olanlar) ve nitro-PAH'lar (2-3 halkalı olanlar) yer alır (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Dizel motor emisyonlarının DPM ekstraktlarına maruz bırakılan Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücrelerinde (Brooks ve diğerleri, 1984) ve insan periferik lenfosit kültüründe (Tucker ve diğerleri, 1986) kardeş kromatid değişimlerinde artış tespit edilmiştir. Memeli hücre biyolojik tayarları (Comet testi, *in vitro* sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi ve etoksiresorufin-O-deetilaz (EROD)- mikrobiyolojik testi) analitik ölçümlerle birlikte kullanılarak, dizel egzoz partiküllerindeki mutajenler tanımlanmıştır. Deneylerden elde edilen sonuçlar, dizel egzoz partiküllerinin aromatik ve polar ekstraktlarının sitotoksik

olmayan bir dozda kromozomal hasara ve DNA kırıklarına neden olduklarını göstermiştir. Aromatik fraksiyon içinde dibenzo(a,h)antrasen, krizen ve 1,2-benzantrasen gibi mutajenik PAH'lar, GC-MS ile tespit edilmiştir. Aromatik fraksiyonda bulunan dolaylı etkili mutajenlerin, dizel egzoz partikül ekstraktlarının genotoksitesinin önemli nedenleri olabileceği sonucuna varılmıştır (Oh ve Chung, 2006).

Özetle, Salmonella ile yapılan kapsamlı çalışmalar, dizel egzozunun hem partikül hem de gaz fraksiyonlarında mutajenik aktiviteyi kesin olarak göstermiştir. DPM ekstraktlarına maruz kaldıktan sonra birkaç *in vitro* memeli hücre hattında gen mutasyonlarının indüklendiği rapor edilmiştir. Dizel partikülleri ve ekstraktları tarafından memeli hücrelerinde yapısal kromozom anomalileri ve kardeş kromatid değişimleri indüklenmiştir (United States Environmental Protection Agency, 2002). Dizel egzozuna mesleki olarak maruz kalan trafik polislerinin periferik kan lenfositlerinde de kardeş kromatid değişimi artışının gösterildiği çalışmalar mevcuttur (Burgaz ve diğerleri, 2002; Chandrasekaran ve diğerleri, 1996; Sreedevi ve diğerleri, 2006).

Dizel emisyonların potansiyel karsinogenisitesinin araştırılmasında mutajenite verilerinin kullanılması, tüm kanserlerde genetik değişikliklerin bulunduğu ve dizel emisyonlarında bulunan kimyasalların birçoğunun çeşitli genetik analizlerle belirlenen mutajenik aktiviteye sahip olduğu ön kabulüne dayanır. Bu genetik değişiklikler gen mutasyonları, delesyonlar, translokasyonlar, anöploidi veya genlerin amplifikasyonu sonucu oluşabilir; bu nedenle tek bir genotoksite testinin kemirgen karsinogenisitesini nitelik veya nicelik olarak öngörmesi beklenmemelidir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Karsinogenik etkileri

Dizel emisyonlarının karsinogenik potansiyeli, motor egzoz emisyonu aseton ekstraktının farelerin ciltlerine uygulanması sonrası deri papillomaları ve kanser gelişiminin gösterildiği çalışmanın (Kotin ve diğerleri, 1955) yayınlandığı 1995 yılına kadar bilinmemekteydi. Ancak bu araştırmanın bulguları, U.S. EPA'nın dizel egzozunu Salmonella mutajenite testi (Ames testi) ile incelemesine kadar rağbet görmedi. Dizel partikül emisyonlarında öngörülen artış, U.S. EPA'yı ek bilimsel veriler geliştirmeye ve dizel partikül emisyonlarının potansiyel olarak neden olduğu akciğer kanseri için risk değerlendirmesi yapmaya sevk etmiştir (Claxton, 2015).

İnsan, deney hayvanı ve diğer destekleyici çalışmalardan elde edilen kanıtların toplamına dayanarak dizel egzozunun herhangi bir maruziyet koşulunda solunması halinde insanlar için karsinojen olabileceği sonucuna varılmıştır. Farklı mesleklerdeki işçiler arasında dizel egzozu maruziyeti ile artan akciğer kanseri riski arasında bir ilişki olduğunu gösteren önemli bulgular vardır. İnsan verilerine ek olarak, sıçanlarda yüksek konsantrasyonlarda dizel egzozuna kronik inhalasyon maruziyeti ile akciğer kanserinin indüklendiğine, sıçanlarda ve farelerde inhalasyon dışındaki maruziyet yollarıyla DPM ve ilişkili organik bileşiklerin karsinojenisitesine dair kapsamlı bulgular vardır. Diğer destekleyici kanıtlar, dizel egzozunun ve organik bileşenlerinin mutajenik ve kromozomal etkilerini içermektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Dizel emisyonlarına maruz kalan popülasyonlarda akciğer, mesane ve lenf dokusunun malignite riskinde artış bildirilmiştir. Ayrıca testis kanseri, gastrointestinal kanser ve prostat kanseri dahil olmak üzere başka maligniteler de bildirilmiştir (United States Environmental Protection Agency, 2002). Bireysel çalışmaların çoğu ve tüm meta analizler, dizel egzoz emisyonuna maruz kalan mesleklerde akciğer kanseri riskini artırdığını gösterse de, DPM konsantrasyonlarına maruziyetin miktar ölçümü mümkün olmamıştır (Wichmann, 2007). Ayrıca, işyerinde dizel ve benzin egzozuna sürekli yüksek seviyede maruziyetin rektum kanseri riskini artırabileceği gösterilmiştir (Kachuri ve diğerleri, 2016).

Dizel motor egzozu, dizel egzoz partikülleri, dizel egzoz kondensatları ve dizel motor egzoz partiküllerinin organik çözücü ekstraktları *in vitro* ve *in vivo* olarak, büyük katım ürünleri, oksidatif hasar, zincir kırıkları ve programsız sentez dahil olmak üzere çeşitli DNA hasarı tiplerini, mutasyonları, kardeş kromatid değişimleri, memeli hücrelerinde morfolojik hücre transformasyonunu ve bakterilerde mutasyonu indüklemişlerdir. Memeli hücrelerinde ksenobiyotik metabolizma, oksidatif stres, inflamasyon, antioksidan yanıt, apoptoz ve hücre döngüsünde yer alan genlerin ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Dizel motor egzozuna maruz kalan insanlarda da maruziyetin ve etkinin genotoksik biyogöstergeleri gözlenmiştir. IARC Çalışma Grubu, tüm dizel motor egzozunun genotoksisite yoluyla insanlarda kansere yol açma potansiyeline dair “güçlü kanıtlar” olduğu sonucuna varmıştır (Benbrahim-Tallaa ve diğerleri, 2012).

Son epidemiyolojik çalışmalar, dizel egzozuna maruziyeti, nispeten düşük kümülatif maruziyetlerde (mesleki) artan akciğer kanseri riski ile ilişkilendirmektedir. Dizel egzozuna

ve DPM'ye maruziyet, doğrudan genotoksisiteye ek olarak, inflamatuvar reaksiyonlar, ROT ve reaktif azot türlerinin oluşumu ve oksidatif DNA hasarı ile sonuçlanmıştır. Bu nedenle, DPM'ye bağlı veya gaz fazında bulunan mutajenlerin neden olduğu doğrudan genotoksisiteyle birlikte, kronik inflamasyon ve oksidatif stresin indüklenmesinin insanlarda genotoksisiteye, hücre proliferasyonuna ve son olarak akciğer karsinogenezine katkıda bulunabileceği varsayılır (Nauss, 1995; Taxell ve Santonen, 2017). Son araştırmalar, mutajen içermeyen karsinojen partiküllerin, maruz bırakılan hayvanlarda muhtemelen p53 baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin mutasyonlarına neden olduğu bilinen oksidatif mekanizma ile mutasyonları indükleyebildiğini göstermektedir (Rosenkranz, 1996).

İyi tanımlanmış oksidatif potansiyel ve inflamatuvar etkilerin yanı sıra, genotoksisitenin indüklenmesi, dizel egzozunun hücresel yanıtı olması açısından daha da önemlidir. DPM, YUOB ve uçucu olmayan organik bileşiklerin akciğerlerin derinliklerine taşınmasında aracılık eder ve bu organik DPM bileşenleri partiküllere bağlı genotoksik bileşikler ve karsinojen PAH'ları içermektedir. Bununla birlikte, DPM'nin genotoksisitesi de kısmen oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkilidir. Genotoksisite, mutajenite ile yakından ilişkilidir ve sabit mutasyonlar kimyasal karsinogenez sürecini başlatabilir (Novotna ve diğerleri, 2019).

Dizel egzozunun kanser gelişiminde birincil etki şekline ilişkin çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Başlangıçta, kanserin genotoksik bir mekanizma yoluyla hareket eden PM'lere bağlı organik bileşikler tarafından indüklendiği düşünülüyordu. Bununla birlikte, 1980'li yılların sonlarında yapılan araştırmalar, neredeyse organiklerden yoksun karbon parçacıklarının, yeterli inhalasyon konsantrasyonlarında akciğer kanserine neden olabileceğini gösterdi. Bu bulgu, yüksek konsantrasyonlarda dizel egzozuna maruz kalan sıçanlarda ortaya çıkan akciğer tümörlerinin indüksiyonunun, normal akciğer temizleme mekanizmalarının aşırı yüklenmesi, DPM'lerin birikmesi ve hücre hasarının ardından rejeneratif hücre çoğalması ile ilgili olduğu hipotezine katkıda bulunmuştur. Bu nedenle DPM'lerin etkisine, karsinogenez sürecin başlangıç aşamalarından daha çok teşvik ile karakterize edilebilen epigenetik mekanizmaların da aracılık ettiği düşünülmektedir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Sonuç olarak, epidemiyolojik çalışmalar mesleki olarak dizel egzozuna maruz kalmanın akciğer kanseri riskini artırdığını doğrulamıştır (Claxton, 2015). IARC Çalışma Grubu dizel

motor egzozunu Grup 1 “insan karsinojeni”, benzinli motor egzozunu ise Grup 2B “insanlar için olası karsinojen” olarak sınıflandırmıştır (Benbrahim-Tallaa ve diğerleri, 2012).

Motor egzozunda bulunan kimyasalların IARC sınıflandırması ve yer aldıkları monograflar Çizelge 2.2’de listelenmiştir (International Agency for Research on Cancer, 2014).

Çizelge 2.2. Dizel ve benzinli motor egzozunda bulunan kimyasallar ile metaller ve IARC tarafından değerlendirilmesi

Bileşikler	Grup	Monograf Sayısı
Metaller		
Antimon bileşikleri	2B	47
Arsenik ve inorganik arsenik bileşikleri	1	100C
Berilyum ve berilyum bileşikleri	1	100C
Kadmiyum ve kadmiyum bileşikleri	1	100C
Krom (VI)	1	100C
Kobalt ve kobalt bileşikleri	2B	52
Kurşun bileşikleri	2A/3	87
Nikel	2B/1	100C
Organik Kimyasallar		
1,3-Bütadien	1	100F
Asetaldehit	2B	71
Benzen	1	100F
Bis(etilhekzil)ftalat	2B	101
Etilbenzen	2B	77
Formaldehit	1	100F
Propilen oksit	2B	60
Halojenli ve Diğer Kimyasallar		
Dioksin/dibenzofuranlar	1	100F
Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar		
Benz[a]antrasen	2B	92
Benzo[b]floranten	2B	92
Benzo[k]floranten	2B	92
Benzo[a]piren	1	100F
Krizen	2B	92
Dibenz[a,h]antrasen	2A	92
3,7-Dinitrofloranten	2B	105
3,9- Dinitrofloranten	2B	105
1,3-Dinitropiren	2B	105
1,6-Dinitropiren	2B	105
1,8-Dinitropiren	2B	105
İndeno[1,2,3-cd]piren	2B	92
Naftalin	2B	82
3-Nitrobenzantron	2B	105
6-Nitrokrizen	2A	105
2-Nitrofloren	2B	105
1-Nitropiren	2A	105
4-Nitropiren	2B	105
Stiren	2B	82

Araç motor egzoz emisyonunda bulunan genotoksik/karsinojenik potansiyeli olan kimyasallar

Dizel partiküler madde

DPM emisyonları, egzozun seyreltilmesinden sonra 52°C veya daha düşük bir sıcaklıkta bir filtrede toplanan malzeme kütlesi olarak tanımlanır. Egzoz seyreltilip soğutuldukça çekirdeklenme, yoğunlaşma ve adsorpsiyon uçucu malzemeyi katı ve sıvı DPM'ye dönüştürür. Bu işlemin bir sonucu olarak dizel egzoz partikülleri, katı karbonlu malzeme ve külden oluşan ve diğer yoğunlaştırılmış malzemelerle birlikte adsorbe edilmiş organik ve kükürt bileşikleri (sülfat) içeren küresel partiküllerin kümeleridir (United States Environmental Protection Agency, 2002). Organikler, genel olarak partikül kütlesinin yaklaşık %20-40'ını oluşturur. Partikül üzerinde ve gazlarda bulunan organik bileşiklerin birçoğunun ayrı ayrı mutajenik ve karsinojenik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Wichmann, 2007).

DPM kütlesinin yaklaşık %80-90'ı, ortalama partikül çapı yaklaşık 0,2 µm olan ince partikül boyutu aralığındadır (0,05-1 µm). Çapı yaklaşık 0,02 µm olan ve boyutu 0,005-0,05 µm aralığında değişen ultra ince partiküller (UFP), DPM kütlesinin yaklaşık %1-20'sini ve DPM'deki toplam partikül sayısının %50-90'ı oluşturur. Parçacık boyutu birkaç nedenden dolayı önemlidir. 2,5 µm'den daha büyük aerodinamik çapa sahip olan partiküller (>PM_{2,5}), solunum yolunun üst kısımlarında tutulma eğilimi gösterirken, 2,5 µm'den küçük çaplı partiküller (<PM_{2,5}) özellikle akciğerlerin derinliklerine de dahil olmak üzere solunum yolunun alt kısımlarına ve hatta kan dolaşımına ulaşma potansiyeline sahiptir (United States Environmental Protection Agency, 2002; Wichmann, 2007). Bu partiküllerin kütle başına çok geniş yüzey alanına sahip olmaları, onları adsorbe olmuş inorganik ve organik bileşiklerin akciğerlerin en alt hava yollarına ulaşabilmeleri için mükemmel bir taşıyıcı haline getirir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

DPM, ortama ait PM'in bir parçasıdır. DPM'yi PM'den ayıran başlıca özellikler şunlardır: (1) yüksek oranda elementel karbon içermesi, (2) 0,2 µm sınırındaki karbonlu partiküllerle ilişkili geniş yüzey alanı, (3) bazı PAH'larca zengin olması ve (4) büyük oranda UFP içermesidir. DPM genellikle birim kütle başına yüksek oranda elementel karbon içerir ve bu durum, PM_{2,5}'un diğer kaynaklarından ayırt edici bir özelliği olarak kullanılabilir (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Partiküller üzerine adsorbe olan bileşikler arasında PAH'lar, nitro-PAH'lar ve oksitlenmiş PAH türevleri yer alır. PAH'lar ve türevleri DPM kütesinin yaklaşık %1'ini veya daha azını oluşturur (United States Environmental Protection Agency, 2002).

1978'de iki grup araştırmacı (Huisinğh ve diğlerleri, 1978; Wang ve diğlerleri, 1978) DPM'nin organik çözücü ekstraktlarının bakterilerde mutasyon oluşturduğunu göstermiştir (Claxton, 2015). Dizel motorların yanma sırasında, 10 nm ila 2-3 nm boyut aralığında nanopartiküller (yani, UFP) ürettiğı belirtilmiştir. Bu çalışma, aynı zamanda mutajen/genotoksik olan bazı PAH bileşiklerinin bu nanopartiküllerde bulunduğunu göstermiştir (Dobbins, 2007).

Doğal bağışıklığın temel elemanları olan fagositler, dizel egzoz partiküllerine yanıt olarak yüksek seviyede oksidan reaktanlar üretirler; fagosit edilmiş bir parçacığın fizikokimyasal özellikleri, oksidan üreten tepkinin büyüklüğünü belirlemede ana faktördür. Makrofajlar ve lenfatik hücreler tarafından salınan ROT, akciğer epitel hücrelerinin zarında lipit peroksidasyonuna neden olabilir. Bu lipit peroksidasyon ürünleri, hücreden çekirdeğe doğru ilerleyen ve burada DNA'ya hasar veren oksijen serbest radikalleri zincirini başlatabilir. Bu hasar, epitelyal hücrenin DNA sentezi süreci sırasında meydana gelirse, DNA'nın onarılmadan kopyalanması olasılığı vardır. $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ gibi fagositik oksidatif metabolizma ürünlerinin tümör hücrelerini öldürmelerine ve ROT'un lipitleri perokside etmesi sonucu malondialdehit (MDA) gibi sitotoksik metabolitlerin oluşmasını sağlamalarına karşın, bazı oksidatif metabolizma ürünlerinin DNA ile etkileşerek mutasyonlara neden olması kaçınılmazdır (United States Environmental Protection Agency, 2002).

ROT, DPM'e adsorbe olan organik bileşiklerden de üretilebilir. DPM'lerin enzimatik olmayan bir şekilde ROT üretebildiğı belirtilmiştir. Metanolle yıkandıktan sonra DPM'lerin bu radikalleri üretmediğı gözleendiğinden, reaktif bileşenlerin organik çözücülerle ekstrakte edilebilen bileşikler olduğı sonucuna varılmıştır (Sagai ve diğlerleri, 1993).

Oksijen serbest radikalleri tarafından üretilen DNA bazlarının kritik lezyonlarından biri 8-hidroksideoksiguanozindir (8-OHdG). Oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak 8-OHdG birikimi, akciğer kanserine yol açan mutasyon oranını artırmada önemli bir faktördür. 8-

OHdG katımlarının oluşumu, replikasyondan önce onarılmadıkça G:C-T:A transversiyonlarına yol açar (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Oksijen serbest radikallerin DPM ilişkili organiklerden üretilebileceğinin, bunların varlığının DNA katım ürünü oluşumu ve onarılmadığı takdirde DNA hasarına yol açacağı, deney hayvanlarında tümör indüksiyonun 8-OHdG katım ürünleri ile korelasyon gösterdiğinin ve antioksidan tedavisinin akciğer hasarını sınırladığının gösterilmesi, dizel egzozuna verilen toksikolojik ve karsinojen yanıtta serbest oksijen radikallerinin katılımını destekler (United States Environmental Protection Agency, 2002).

DPM ekstraktlarının mutajenitesinden nitroarenler de sorumlu tutulmuştur. Memeli hücrelerinde, kardeş kromatid değişimleri, mikroçekirdekler, hipoksantin fosforibozil transferaz, timidin kinaz lokus mutasyonları ve DNA iplik kopmalarının indüklendiği gösterilmiştir (Taxell ve Santonen, 2017).

Almanya’da yıllık ölümlerin %1-2’si karayolu taşıtlarından kaynaklanan DPM’ye atfedilmiştir. DPM’yi azaltmanın en kolay ve hızlı yolu, tüm dizel motorlarda partikül filtre bulunmasının zorunlu hale getirilmesidir. Partikül filtresi olmayan mevcut araba modellerinde bulunan dizel motor gazı emisyonunun karsinojen etkisi, benzinli motor egzozundan 10 kat daha fazladır. Partikül filtrelerinin ince partikülleri ve UFP’leri tutmada çok etkili olması nedeniyle DPM kaynaklı sağlık sorunlarını çözme potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Partikül filtreleri kullanımının, DPM kaynaklı erken ölümlerin çoğunu önleyeceği ve yaşam beklentisinde tahmini ortalama 1-3 aylık artışa yol açacağı düşünülmektedir (Wichmann, 2007).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar

PAH’lar kömür, ham petrol ve benzinde doğal olarak bulunan kimyasal sınıfıdır. Ayrıca, kömür, petrol, gaz, odun, çöp ve tütün yandığında da oluşurlar. Bu kaynaklardan açığa çıkan PAH’lar havada küçük partiküllere bağlanabilir. Sigara dumanı da birçok PAH bileşiği içermektedir. Motorlu araç egzozu, sigara dumanı, odun dumanı veya asfalt yollardan çıkan dumanlarla kirlenmiş havanın solunması başlıca maruziyet yollarıdır (The Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2009). PAH emisyonlarına en büyük katkıyı kentlerdeki yoğun trafiğin yaptığı bilinmektedir (Ramos de Rainho ve diğerleri, 2013;

Vojtisek-Lom ve diğerkleri, 2015). Çeşitli işyeri ortamlarında PAH'lara mesleki maruziyet, maruz kalan işçilerde genel popülasyondakinden önemli ölçüde daha yüksek vücut yüklerine yol açabilir (International Agency for Research on Cancer, 2010).

Motorlu taşıtlar, atmosferdeki en önemli PAH kaynağıdır ve kentsel hava ve karayollarında ölçülen partikül fazındaki PAH'ların solunabilir boyut aralığında olduğu bulunmuştur. PAH'lar, PAH'ın buhar basıncına bağlı olarak hem gaz hem de partikül fazlarında bulunabilirler. Daha küçük PAH'lar ağırlıklı olarak gaz fazında bulunurken, dört veya daha fazla halkalı PAH'lar esas olarak partikül fazında bulunur (Marr ve diğerkleri, 1999).

Dizel egzozundaki PAH içeriğinin motorun çalışma moduna bağlı olduğu gösterilmiştir. Karsinojen PAH'ların emisyonlarının düşük hızda kullanımda, sıkışık kentsel alanlarda ve daha düşük hızlarda çalışma sırasında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Novotna ve diğerkleri, 2019).

Literatürdeki araştırmalar yakıtların poli-aromatik içeriğinin mono-aromatiklere göre egzoz PAH oluşumu üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Yakıt karışımlarında bulunan toluen seviyesinin artırılması, 2-4 halkalı PAH düzeylerinin düşmesine neden olmaktadır (Dandajeh ve diğerkleri, 2019).

LPG ve saf metanol ile çalışan araçlarda, standart benzinli araçlara kıyasla PAH emisyonu önemli ölçüde azaltılır. Benzin ve dizel emisyonu arasındaki toplam PAH emisyonundaki fark, esas olarak dizel yakıtlarda daha düşük moleküler ağırlıklı PAH'ların daha fazla miktarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bu maddeler, benzin egzozlarına kıyasla dizel emisyonunda önemli ölçüde daha fazla partikül ile ilişkilidir (Stenberg ve diğerkleri, 1983).

Biyodizelin, temel PAH öncüllerini daha düşük oranda içermesi nedeniyle PAH ve nitro-PAH emisyonunu düşürmesi beklenirken, alternatif yakıtlarla ilgili diğerk regüle edilmemiş emisyonlarla ilgili bilgiler sınırlı ve tutarsızdır. Biyodizel karışımlarından kaynaklanan tüm regüle edilmiş ve edilmemiş egzoz emisyonlarından yalnızca DPM'deki azalma dikkat çekicidir (Lankoff ve diğerkleri, 2017).

Hem araç egzoz emisyonlarında hem de araç yakıtlarında PAH'ların oluşumu karmaşıktır. PAH türlerinin aralığı çok geniştir ve analitik teknikler her bir bileşik tipini tanımlamada

yetersizdir. Bu nedenle, araştırmalar sadece belirli türleri hedeflemektedir. PAH oluşum mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca,  rnekleme ve ölçümdeki zorluklarla birleşen deneysel tasarımın yetersizlikleri, olası kaynakların emisyonlara bireysel katkılarını  l  meyi zorlaştırmaktadır. PAH'ları  l  mek için standart teknikler yoktur, farklı doğruluk ve duyarlılıkta farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu nedenle bulguların karşılaştırılması zordur (Doel ve diğerleri, 1998).

Dizel motorların egzozunda en az 32 adet PAH tespit edilmiştir. Bunlar arasında Grup 1 insan karsinojeni benzo[a]piren (B[a]P), Grup 2B insanlar için olası karsinojenler naftalin, benz[a]antrasen, krizen ve indeno[1,2,3-cd]piren yer alır. B[a]P emisyon oranları, benzin emisyonlarına kıyasla dizel emisyonlarında daha yüksektir (United States Environmental Protection Agency, 2002). Tüm B[a]P emisyonlarının %90'ından fazlasının 180 nm'den küçük partiküllerde olduğu bildirilmiştir (Vojtisek-Lom ve diğerleri, 2015).

PAH bileşiklerinin metabolik aktivasyonlardan sonra DNA ile etkileşime girerek DNA katım ürünlerini oluşturduğu bilinmektedir (Pohjola ve diğerleri, 2003).

Bronş epitel hücreleri, solunabilir partiküllerin hedefidir. Egzoz partikülleri ve partiküle bağlı organik bileşiklerin, sitokin ekspresyonunu indüklediği ve bronş epitel hücrelerinde pro-inflamatuar yanıtı neden olduğu gösterilmiştir. Bronş epitel hücreleri, B[a]P ile ind klediğinde PAH'ı aktive eden *CYP1A1* ve *CYP1B1*'i etkili bir şekilde eksprese eder ve bu nedenle partikül türevli PAH, bu hücrelerdeki reaktif ara ürünlere metabolik olarak aktive edilir. PAH metabolitlerini ve B[a]P'ı detoksifiye eden glutatyon S-transferaz (GST) gibi Faz II enzimleri, bronş hücrelerinde eksprese edilir, bu hücrelerde aktif DNA onarımına yol açan programlanmamış DNA sentezini indükler. Ayrıca bu hücrelerde B[a]P konsantrasyonu ve DNA katımları seviyeleri arasında g   l  bir doğrusal korelasyon olduğu gösterilmiştir (Pohjola ve diğerleri, 2003).

Dizel yakıtların emisyon olarak benzinden daha fazla PAH+DNA katım ürünü oluşturduğu gösterilmiştir, partikül olarak ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Dizel yakıtın genotoksitesinin, benzin emisyonuna kıyasla daha yüksek partikül emisyon oranlarına ve DPM ekstraktlarındaki PAH bileşiklerinin konsantrasyonunun daha yüksek olmasına dayandığı düşünülmektedir (Pohjola ve diğerleri, 2003).

PAH'ların hematit, karbon siyahı, alüminyum (Al) veya titanyum dioksit gibi bir taşıyıcı partiküle adsorpsiyonu karsinojenik potansiyeli artırır (United States Environmental Protection Agency, 2002).

Nitro-polisiklik aromatik hidrokarbonlar (nitroarenler)

Aromatik nitro bileşikleri, evrensel olarak atmosferik ortamda kirletici maddeler olarak kabul edilir ve özellikle otomobil egzoz partiküllerinde, havadaki partiküllerde ve odun yanmasından sonra oluşan kurumda (is) bulunur (Takamura-Enya ve diğerleri, 2006). Atmosferdeki azot dioksit (NO₂), kükürt dioksit (SO₂), ozon (O₃) ve peroksiasetil nitrat varlığı, PAH'ın nitrasyonunu artırır ve oluşan kararlı nitrosubstitüeleri göz ardı edilemeyecek toksik ajanlar olarak kabul edilmektedir. Nitroarenler, tamamlanmamış bir yanma işleminin yan ürünleridir; çevresel materyaldeki varlıkları, insan faaliyetlerinden kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Bazı karbon siyahı ve kurumlar dışında, bu bileşiklere esas olarak otomobil egzoz partiküllerinde rastlanır. Bununla birlikte, gazyağı ısıtıcıları, gaz brülörleri ve sıvılaştırılmış petrol brülörlerinden yayılan kirleticiler, potansiyel mutajeniteye sahip çok sayıda nitroaren içerir (Tokiwa ve diğerleri, 1987). Tamamlanmamış yanma proseslerinin emisyonlarında bulunmalarına bağlı olarak geniş bir alana yayıldıklarından, nitro-PAH'larla kaplanmış partiküllerin (örneğin; dizel egzozu ve kurum) solunması veya çeşitli gıdaların (örneğin; ızgara etler ve kontamine bitkiler) yutulması yoluyla geniş bir insan maruziyeti potansiyeli vardır (Rosenkranz, 1996). Dizel egzozunda bulunan nitro-PAH'lar ve dinitro-PAH bileşiklerinin, dizel emisyonunun mutajenitesinin yaklaşık yarısını oluşturduğu düşünülmektedir (Pohjola ve diğerleri, 2004).

Dizel egzozunda PAH'lara ilaveten 16 adet nitro-PAH da tanımlanmıştır (United States Environmental Protection Agency, 2002). Yapılan analizler, 1-nitropiren, 1,3- ve 1,8-dinitropirenin DPM'deki başlıca nitroaren bileşikleri olduğunu göstermiştir (Kovacic ve Somanathan, 2014). Bunlardan IARC tarafından Grup 2A insanlar için muhtemel karsinojen olarak sınıflandırılan 1-nitropiren başlıca bileşendir (United States Environmental Protection Agency, 2002). 1-nitropirenin mutajenite ve karsinojenisite potansiyeline dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır. 1-nitropiren aynı zamanda pro-inflamasyon ile ilişkili genlerin ekspresyonunu indükler, ROT üretiminin artmasına ve GSH'ın azalmasına neden olur. Araştırmalar 1-nitropirenin O₂^{•-} oluşumunu katalize ettiğini göstermiştir. 1-nitropiren,

DPM'nin oksidatif stresle ilgili toksik etkilere neden olan ve inflamatuvar hastalıklarda rol oynayan önemli bir bileşenidir (Kovacic ve Somanathan, 2014).

Sadece birkaç çalışma olmasına rağmen, dizel motor egzozuna maruz kalan popülasyonlardan toplanan kan örneklerinde birkaç nitroaren metaboliti bulunmuştur. Bu bileşik grubu için iki ana metabolik yolak tanımlanmıştır. İlk yolda, nitro grubunun hidroksilamini üretmek için indirgenmesinden sonra - ya kendiliğinden ya da sülfotransferazlar tarafından bir sülfatla konjugasyon veya N-asetiltransferazlar tarafından bir asetatla konjugasyon ile - DNA'ya katım oluşturmak üzere kovalent olarak bağlanan son ("ultimate") karsinojen aril nitrenyum iyonu oluşur. Dinitroarenler (iki nitro grubu taşıyan nitroarenler) için bu şekilde sadece bir nitro grubu metabolik olarak aktive edilir. İkinci yolak ise, birçoğu sülfat veya glukuronik asitle konjuge edilmiş detoksifikasyon ürünleri olarak bulunan oksitler, fenoller ve dihidrodioller oluşturmak üzere halka oksidasyonudur. Bazı nitroarenler hem halka oksidasyonu hem de nitroredüksiyon yoluyla ürünler oluşturur (International Agency for Research on Cancer, 2014).

Bu kimyasalların çoğunun bakteri ve memeli hücrelerinde mutasyonları indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, nitro-PAH'lar, memeli hücre kültürlerinde kromozomal aberasyonları ve kardeş kromatid değişimlerini indüklemektedir. Genel olarak dinitro-PAH'lar, mono-nitro analoglarından daha mutajeniktir. Nitro-PAH'ların mutajenitesinin, bunların hidroksilaminoarenlere indirgenmesinin ardından O-esterifikasyonuna ve daha sonra DNA'daki C-8 guanin atomu ile etkileşime giren arilnitrenyum iyonlarının oluşumuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu katımlar, ³²P post-labelling tekniklerle kolayca tespit edilebilir (Rosenkranz, 1996).

Biyozleme çalışmaları, çalışanların ve genel nüfusun dizel motor egzozunda tespit edilen bazı nitroaren bileşiklerine maruz kaldığını göstermiştir. Bu bileşiklerin farkı analizlerde genotoksik olduğu tespit edilmiştir. IARC Çalışma Grubu, dizel egzozunda bulunan nitroaren bileşiklerinden 7 tanesinin Grup 2B sınıflandırmasını yeniden onaylarken, 3-nitrobenzantranonu Grup 2B'ye yükseltirken, 1-nitropiren ve 6-nitrokrizenin insan hücrelerinde gösterilen güçlü kanıtlar nedeniyle Grup 2A'ya yükseltilmesine karar vermiştir (Benbrahim-Tallaa ve diğerleri, 2012).

1,3-Bütadien

1,3-bütadien, kimya endüstrisinde (örneğin, sentetik kauçuk üretiminde) yaygın olarak kullanılmakta olan ve ayrıca motorlu taşıt egzozunda ve sigara dumanında bulunan bir kimyasaldır. U.S. EPA tarafından araç kaynaklı hava toksikanı olarak listelenmiştir ve inhalasyon maruziyeti yoluyla insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma, genel popülasyona kıyasla kauçuk endüstrisindeki işçilerde mesleki maruziyete bağlı olarak daha yüksek görülen lösemi, lenfatik ve hematopoietik kanser insidansına dayanmaktadır (Walker ve diğerleri, 2009). Çok sayıda epidemiyolojik çalışmanın 1,3-bütadien inhalasyonunun artan kanser riski ile ilişkili olduğunu ortaya koyması sayesinde IARC, 1,3-bütadieni Grup 1 insan karsinojeni olarak sınıflandırmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2008). 1,3-bütadienin karsinojenik ve mutajenik özellikleri birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla da ortaya çıkarılmıştır. 1,3-bütadienin azot oksitlerin varlığında genotoksik ürünlere fotokimyasal dönüşümü gösterilmiştir. U.S. EPA tarafından yapılan ömür boyu kanser riski için nicel değerlendirme, 1,3-bütadien için birim risk faktörünün benzenden 30 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu nedenlerle 1,3-bütadien önemli bir toksik kirletici olarak kabul edilir (Ye ve diğerleri, 1997).

1,3-bütadienin deneysel sistemlerdeki genotoksisite çalışmaları, bu ajanın mutajenite ve karsinojenisitesinin, çeşitli DNA-reaktif epoksitlerine biyoaktivasyonu ile ilgili olduğunu göstermektedir (Swenberg ve diğerleri, 2011; Walker ve diğerleri, 2009). 1,3-bütadienin kendisi biyolojik olarak aktif değildir ve genotoksik madde olarak aktif hale gelebilmesi için elektrofilik ara ürünlere *in vivo* metabolizmasını gerektirir. 1,3-bütadien metabolitleri, DNA ile farklı bölgeleriyle kovalent bağlar oluşturmak üzere etkileşime girebilir. Bu metabolitler tarafından oluşturulan spesifik DNA katımlarının birçoğu, mutajenik aktivite göstermiştir. DNA reaktivitesi ve genel genotoksisite profilleri göz önüne alındığında, bu metabolitler doğrudan etkili DNA-reaktif genotoksik ajanlar olarak sınıflandırılmalıdır (Albertini ve diğerleri, 2010).

Ana bileşik başlangıçta, öncelikle CYP2E1 aracılı 1,2-epoksi-3-büten'e (EB) oksitlenir, ancak bu reaksiyona CYP2A6 gibi diğer izozimlerin de dahil olduğu gösterilmiştir. EB'nin ileri oksidasyonu 1,2,3,4-diepoksibütan (DEB) oluşturur. EB'nin detoksifikasyonu GST aracılı GSH ile konjugasyon veya epoksit hidrolaz aracılı hidroliz yoluyla ilerler; ikincisi 1,2-dihidroksi-3-büten (EB-diol) metabolitini oluşturur. Hem DEB hem de EB-diol, 1-2-

dihidroksi-3,4-epoksibütan (epoksibütan diol) metabolitini oluşturmak üzere ilki epoksit hidrolaz ikincisi de CYP2E1 oksidasyonu ile metabolize olur (Kirman ve diğerleri, 2010). Sonuç olarak, 1,3-bütadienin epoksit metabolitleri GST tarafından detoksifiye edilebilir veya DNA, RNA ve proteinler gibi çeşitli hücrel makromoleküllerle katımlar oluşturmak üzere nükleofilik bölgelerine atak yapabilirler (Walker ve diğerleri, 2009), böylece muhtemelen karsinojenik etki şekliyle ilgili bir veya daha fazla genotoksik etkiyle sonuçlanır (Kirman ve diğerleri, 2010).

DEB, üç epoksit metabolitinin en mutajenik ve genotoksik olanıdır. DEB, EB'den 100 kat daha fazla, EB-diolden 200-500 kat daha fazla mutajeniktir (Swenberg ve diğerleri, 2011). DEB, iki farklı hücrel makromoleküle (DNA-protein çapraz bağlanmaları) veya aynı moleküle iki kez (DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma) bağlanabilen iki işlevli bir alkilleyici ajan olarak işlev görürken, diğer metabolitlerin tümü tek işlevli ajanlardır. DNA çapraz bağlanma, diğer hasarlara göre nispeten zayıf bir şekilde onarılır (Kirman ve diğerleri, 2010; Swenberg ve diğerleri, 2011).

Aldehitler

Aldehitler regülasyona tabi olmayan kirleticilerdir, ancak insanlar için zararlı etkilere neden olabilirler. Aldehitler, atmosferdeki karmaşık reaksiyonlara katılarak, O₃ gibi solunum problemlerine neden olan gaz halindeki oksidanları üretebilirler. Bazı ülkelerdeki mevzuatlar, etanolün büyük ölçüde yakıt olarak kullanılmasından dolayı ve potansiyel bir aldehit kaynağı olduğu bilindiğinden, araçlardan yalnızca formaldehit ve asetaldehit emisyonlarını sınırlandırmaktadır. Son yıllarda özellikle biyodizelin dizel yakıtlara ilavesi ile birlikte, dizel araçlardan kaynaklanan aldehit emisyonlarının daha fazla araştırılmasına ihtiyaç vardır (Zarante ve diğerleri, 2010). Asetaldehit, atmosferde yaygın olarak bulunan hidrokarbonların yanması ve foto oksidasyonunun doğal bir ürünüdür. Önemli bir endüstriyel kimyasaldır ve üretimi ile kullanımı sırasında havaya veya atık sulara salınabilir. İçme suyu, yüzey suyu, yağmur suyu, atık sular, motor egzozu ile iç ve dış ortam havası örneklerinde düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Asetaldehit, *in vivo* hayvan deneyleri ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda IARC tarafından Grup 2B olarak sınıflandırılmıştır. (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Araç egzozu, ortam havasındaki formaldehitin önemli bir kaynağıdır. Son veriler, formaldehit emisyonlarının, sıkıştırılmış doğal gazla çalışan araçlardan etanolle çalışan araçlara kıyasla daha yüksek olabileceğini ve bu emisyonların dizel yakıt yerine etanol-biyodizel-dizel karışımının kullanılmasıyla azaltılabileceğini göstermektedir (International Agency for Research on Cancer, 2012a).

Dizel motorlar tarafından yayılan gaz halindeki bileşenler arasında yer alan aldehitler, kanser dışı sağlık etkilerine de neden olan olası insan karsinojenleri olduklarından gaz emisyonlarının önemli bileşenleridir. Formaldehit, aldehit emisyonlarının çoğunu (%65-80) oluşturur, ikinci olarak asetaldehit takip eder (United States Environmental Protection Agency, 2002). Formaldehit IARC tarafından Grup 1 insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2012a).

Akrolein, akrilaldehit, doymamış aldehit yapısında olup oldukça reaktif uçucu organik bir kimyasaldır. Dış ortamdaki başlıca akrolein kaynakları motorlu taşıtlardan çıkan egzozdur, akrolein araç egzozundan doğrudan ortam havasına salınır. Ayrıca, 1,3-bütadien ve diğer hidrokarbonların foto-oksidasyonu ile oluşur. Benzinli ve dizel motorlu kara taşıtları, dış havadaki en önemli akrolein kaynağıdır. Akrolein aynı zamanda sigara, nargile dumanında ve elektronik sigara emisyonlarında bulunmaktadır. Akrolein elektrofildir, genotoksiktir, DNA onarımını değiştirir veya genomik kararsızlığa neden olur ve oksidatif strese neden olur. Ayrıca immünoşüpresiftir, kronik inflamasyonu indükler ve hücre çoğalması ve hücre ölümü proseslerinde değişikliğe neden olur. Akroleinin bu temel özelliklerine dair veriler, hücre kültürü çalışmaları ile insanlarda DNA katım ürünlerinin ölçümüne dayalı çalışmalar sonucu elde edilmiştir. Akrolein IARC tarafından Grup 2A “insanlar için muhtemel karsinojen” olarak sınıflandırılmıştır (International Agency for Research on Cancer, 2012b).

Metaller

Kentsel alanlarda ve yol kenarlarındaki havada bulunan partiküllerdeki metaller, DNA hasarlarını indükleyen ve solunum bölgesindeki inflamasyonu artıran ROT oluşumuna katkıda bulunabilir. Birçok antropojenik kaynak, partiküllere adsorbe olmuş bu metallerden sorumludur. Bu emisyon kaynakları arasında, araçların egzoz partikülleri havadaki metallere önemli bir katkı sağlar (Lim ve diğerleri, 2009).

DPM'lerde tanımlanan metaller arasında en fazla miktarda yağlama yağlarında katkı maddesi olarak kullanılan demir (Fe), Al, silisyum (Si), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve çinko (Zn) gibi yerkabuğuna ait elementler bulunmaktadır; emisyonlardaki bakır (Cu), kurşun (Pb), krom (Cr) ve nikel (Ni) içerikleri yakıt tipine bağlıdır (Coufalik ve diğerleri, 2019). Fe tüm ölçülebilir metallerin %43'üne tekabül etmektedir (Lim ve diğerleri, 2009). Bu metallerin ardından vanadyum (V) (%10-11) ve lityum (Li) (%9-17) gelir. Arsenik (As) ve kadmiyumun (Cd), DPM'deki toplam metallerin %2'sinden daha azını oluşturduğu görülmüştür (Lim ve diğerleri, 2009). Çeşitli motor yükü koşullarında DPM ve dizel yakıtta Fe, Mg, Cr, Ni, Pb, Zn, Ca, baryum (Ba) ve Cd metalleri ölçülmüştür. Fe, Mg, ve Ca (yerkabuğu elementleri) konsantrasyonlarının Cr, Ni, Pb, Zn, Ba ve Cd (antropojenik elementler) konsantrasyonlarından çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Bharathi ve diğerleri, 2004). Dizel egzozundan çıkan antropojenik elementlerin emisyonları, yerkabuğu elementlerinininkinden çok daha az olmasına rağmen, çevreye etkisi çok daha önemlidir (Wang ve diğerleri, 2003).

Biyodizel yakıtlı araç motorlarından dizel yakıtlı motorlara kıyasla daha düşük partikül emisyonu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca biyodizel egzozundaki partiküllerdeki Cd, Pb ve Ni gibi metallerin dizel egzozunkinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Biyodizel egzozundaki partikül ve metallerdeki bu azalmanın, bileşenler arasında aromatik bileşiklerin ve kükürtün yer almamasına bağlanmıştır (Dwivedi ve diğerleri, 2006).

Emisyonlardaki metallerin, özellikle Fe ve Cu, alt solunum yollarında birikmesi önce H_2O_2 varlığında $OH\cdot$ radikallerinin oluşumunu daha sonra pulmoner inflamasyona ve akciğer kanserine neden olabilen ROT üretimini tetikler (Coufalik ve diğerleri, 2019). Suda çözünen Fe, Cr, kobalt (Co) ve mangan (Mn) ROT oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Coufalik ve diğerleri, 2019).

Mn, insanlarda beslenme için esansiyel bir metaldir, ancak işyerlerinde yüksek düzeyde hava kaynaklı Mn'ye maruz kalmak manganizme neden olabilir ve nörodejeneratif esktrapiramidal sendromu indükleyebilir. Mn içeren benzin havada buharlaşarak veya fotoliz yoluyla Mn'yi serbest bırakabilir. Motorlu taşıtta yanma sonrası Mn'nin %30'u serbest parçacıklar halinde havaya salınabilir (Xia ve diğerleri, 2017).

Dizel egzozundaki organik içerikler ve PM'lerin yanı sıra metal içeriğinin araştırılmasının dizel emisyonlarıyla ilişkili sağlık etkilerinin değerlendirilmesi açısından önemlidir (Wang ve diğerleri, 2003).

Araç akaryakıt egzozunda bulunan metallerin IARC tarafından belirlenen karsinogenizasyon sınıflandırması Çizelge 2.2'de verilmiştir (International Agency for Research on Cancer, 2014).

Ülkemizde 2004 yılından beri insan ve çevreye verdiği zararlardan dolayı benzin içerisinde Pb bulunması yasaklanmıştır.

2.2. Benzin İstasyonları ve Akaryakıtlarla İlgili Yasal Düzenlemeler

Son yıllarda, benzine maruziyet ile ilgili güvenlik ve sağlık tehlikeleri konusunda artan endişeler sonucu, toksisite potansiyeli taşıyan bileşiklerin benzin karışımından çıkarılmasına yönelik çeşitli stratejiler uygulamaya konmuştur. Örneğin kurşunlu benzinin yerini kurşunsuz yakıtlar almıştır. Bu stratejiler, zararlı ağır metal katkı maddeleri içermeyen ve nispeten daha az miktarda benzen gibi zararlı bileşenler içeren yeniden formüle edilmiş benzin karışımlarının üretilmesiyle sonuçlanmıştır (Abubakar ve diğerleri, 2015).

Hükümetler, benzin için düzenlemeler ve yönergeler geliştirmiştir. U.S. EPA, hava kirliliğini kontrol etmek adına birçok düzenleme oluşturmuştur. Bunlar, halkı benzinin olası zararlı sağlık etkilerinden korumak için tasarlanmıştır. İşçileri korumak için, Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi (OSHA), işyeri havası için 300 ppm'lik yasal bir sınır belirlemiştir. OSHA, işyerindeki benzin seviyelerini düzenlemektedir. Günde 8 saat ve haftada 40 saatlik bir çalışma boyunca işyeri havasında izin verilen maksimum benzin miktarı, 900 mg/m³ veya 300 ppm'dir. Ancak bu seviyenin işyeri dışındaki kirleticiler için bir standart olarak kullanılması amaçlanmamıştır (Harper ve Liccione, 1995).

Avrupa mevzuatı, hava kalitesi hedeflerine ulaşmak için otomotiv emisyonlarını ve yakıt bileşimini düzenler: 98/70/EC yakıt kalitesi yönergesi, tüm AB ülkelerinin kurşunsuz benzin kullanmasını zorunlu kılan ilk direktiftir. Daha yakın tarihli bir direktif, 2009/30/EC, sera gazı emisyonlarını izlemek ve azaltmak adına uygulamaya konmuştur, ayrıca benzin, dizel ve gaz yağı spesifikasyonlarına ilişkin 98/70/EC sayılı direktif değiştirilmiştir ve molekül

başına 5 veya daha fazla karbon atomlu eterlere izin verilmiştir. Bu kimyasallar arasında MTBE, ETBE ve TAME yer alır ve bunların akaryakıt içerisinde hacimce maksimum %22 oranında bulunmasına izin verilmiştir. Ayrıca, bu yönerge yakıtın hacimce maksimum %35'e kadar toluen, etilbenzen ve ksilenler gibi aromatik hidrokarbonlar içermesine izin verir, ancak benzenin %1'den (h/h) az olması gerekir (Campo ve diğerleri, 2016).

Benzindeki benzen yüzdesi, rafineri ve kaynaklandığı süreye göre değişiklik göstermiştir (International Agency for Research on Cancer, 2018). Benzen maruziyeti sıkı bir şekilde düzenlenmiştir; işyerlerinde kullanımının azaltılması mesleki maruziyeti ve buna bağlı advers sağlık etkilerini de azaltmaktadır. Ancak halen, mesleki ve çevresel ortamlarda düşük seviyelerde benzene uzun süre maruz kalmaya ilişkin endişeler devam etmektedir (Moro ve diğerleri, 2013).

Benzenin her yerde bulunması ve özel toksisitesi nedeniyle, bu bileşiğe mesleki maruziyet birçok ülkede düzenlenmektedir. AB'de, benzen için mesleki maruz kalma sınırı (OEL) değeri $3\ 200\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'tür (1 ppm). Amerikan Hükümeti Endüstriyel Hijyenistler Konferansı (ACGIH), 8 saatlik bir iş vardiyası sırasında zaman ağırlıklı ortalama (TWA) olarak $1,6\ \text{mg}/\text{m}^3$ (0,5 ppm) eşik sınır değeri (TLV) önermektedir. Almanya'da, Tehlikeli Maddeler Komitesi, 40 yıllık çalışma hayatı boyunca geçerli olmak üzere 4:1 000 tolere edilebilir risk ve 40 yıllık çalışma hayatı boyunca her iş günü maruz kalma ile 4:100 000 kabul edilebilir risk (2018'den itibaren) önermiştir. Benzen için tolere edilebilir risk, $1,9\ \text{mg}/\text{m}^3$ 'lük bir konsantrasyona, kabul edilebilir risk ise $20\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'lük bir konsantrasyona karşılık gelir. Hollanda'da yakın zamanda havadaki $700\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'lük bir konsantrasyona karşılık gelen mesleki maruziyet sınırı tavsiye edilmiştir (Campo ve diğerleri, 2016).

AB'de ksilen ve toluen için, sırasıyla 221 ve $192\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ olmak üzere, 8 saatlik maruziyet için OEL belirlenmiştir. ACGIH tarafından toluen, etilbenzen ve ksilenler (sırasıyla $74,5$; 87 ve $434\ \text{mg}/\text{m}^3$) ve ayrıca MTBE, ETBE ve TAME (sırasıyla 180 , 21 ve $83\ \text{mg}/\text{m}^3$) için TLV-TWA tavsiye edilmiştir (Campo ve diğerleri, 2016). Birçok ülkede ksilenler için benzer standart değerler kullanılmaktadır. Toluene için 100 - $380\ \text{mg}/\text{m}^3$ değerleri standart veya kılavuz olarak (ILO) başka ülkeler tarafından kullanılmaktadır (International Agency for Research on Cancer, 1999).

Avrupa Kimyasallar Ajansı (ECHA) Risk Değerlendirme Komitesi ise benzen için OEL değerinin 0,05 ppm olması gerektiği tavsiyesinde bulunmuştur (Committee for Risk Assessment, 2018).

OSHA'nın benzen için belirlediği izin verilen maruz kalma sınırı (PEL) 1 ppm'dir (8 saatlik TWA). Bu standart değerden daha yüksek konsantrasyonlarda havadaki benzen tekrarlayan maruziyet sonrasında lösemi, özellikle akut miyeloid lösemi, indüklenebilir (Jamall ve Willhite, 2008).

DSÖ, benzenin bilinen bir insan karsinojeni olduğunu ve bu nedenle güvenli bir maruziyet seviyesinin tavsiye edilemeyeceğini belirtmektedir (World Health Organization, 2019).

İnsanlarda dizel egzozuna bağlı akciğer kanseri gelişiminin doğrudan genotoksisite, DPM'nin neden olduğu oksidatif stres ve pulmoner inflamasyonu içeren çok faktörlü mekanizmalar aracılığı olması, karsinojenisite için bir eşik seviyesinin belirlenmesini güçleştirir. Bu nedenle dizel egzozu için OEL'in en güncel epidemiyolojik bulgular doğrultusunda hesaplanan kanser risk seviyesine dayanması önerilmektedir (Taxell ve Santonen, 2017).

Çalışanların dizel egzozuna maruziyetini düzenleyen tek bir standart olmamasına rağmen, dizel egzozundaki her bir kimyasal maruziyet limitleri ile düzenlenir (Michigan Department of Labor and Economic Opportunity, 2021). Dizel egzozundaki kimyasallar için mesleki maruziyet limit değerleri Çizelge 2.3'te yer almaktadır.

Çizelge 2.3. Benzin istasyonu çalışanlarının maruziyet potansiyeli olan kimyasallara ait mesleki maruziyet limit değerleri

	OSHA			ACGIH			NIOSH		
	PEL-TWA	PEL-STEL	PEL-C	TLV-TWA	TLV-STEL	TLV-C	REL-TWA	REL-STEL	REL-C
Benzen	1	5	-	0,5	2,5	-	0,1	1	-
Toluen	200	-	300 500 (pik)	20	-	-	100	150	-
Etilbenzen	100	-	-	20	-	-	100	125	-
Ksilen	100	-	-	100	150	-	100	150	-
Asetadehit	200	150	-	-	-	25	-	-	-
Akrolein	0,1	-	-	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	-
CO	50	-	-	25	-	-	35	-	200
Formaldehit	0,75	2	-	0,1	0,3	-	-	-	0,1
Azot oksit (NO)	25	-	-	25	-	-	25	-	-
NO ₂	-	-	5	0,2	-	-	-	1	-
SO ₂	-	5	-	2	5	-	2	5	-

Tüm değerler ppm cinsinden verilmiştir.

OSHA: Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi; ACGIH: Amerikan Hükümeti Endüstriyel Hijyenistler Konferansı; NIOSH: Ulusal İş Sağlığı ve Güvenliği Enstitüsü; PEL: izin verilen maruz kalma sınırı; TWA: zaman ağırlıklı ortalama; STEL: kısa süreli maruz kalma sınırı; C: tavan değeri; TLV: eşik sınır değeri; REL: tavsiye edilen maruziyet limiti; CO: karbon monoksit; NO₂: azot dioksit; SO₂: kükürt dioksit.

2.3. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Maruziyeti Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Göstergeler

Benzin istasyonu çalışanları, öncelikle benzin buharındaki, ikincil olarak da müşterilerin araçlarından ve yoldaki trafikten kaynaklanan egzoz emisyonlarındaki UOB'lere maruz kalmaktadır. Bu maruziyet kaynakları, hem kişisel hava örnekleme hem de biyoizlemenin kullanıldığı çalışmalarda araştırılmıştır. Hava örnekleme, çevresel konsantrasyonlar ve olası insan maruziyetleri hakkında değerli bilgiler sağlar. Ancak, hava örnekleme internal dozla ilgili bilgi sağlamaz (Naufal ve diğerleri, 2010).

Havadaki ölçülen benzin buharı ve hidrokarbon bileşenlerinin konsantrasyonlarını birkaç değişken etkileyebilir. Bunlar arasında rüzgârın yönü ve hızı, buhar kaynağından uzaklık, ortam sıcaklığı, numune alınma zamanı, buhar geri kazanım ekipmanının varlığı ve benzin bileşimi sayılabilir (Harper ve Liccione, 1995). Havadaki benzeni izlemeye yönelik testler ilk olarak, çalışanların kişisel maruziyetleri de dahil olmak üzere işyerindeki hava konsantrasyonunu ölçmek ve mesleki sınırlara uygunluğu değerlendirmek için geliştirilmiştir. 8 saatlik maruziyeti ölçmek için, tüm çalışma vardiyası boyunca aktif kömür

veya diğ er uygun sorbentleri (emici maddeleri) iç eren kartuş lardan hava pompalanır. Laboratuvar da benzen, karbon disü lfit veya yüksek sıcaklıkta termal desorpsiyon gibi ç özü cü ler kullanılarak sorbentten desorbe edilir ve alev iyonizasyon dedektö rü (FID) ile donatılmış bir gaz kromatografisi (GC) veya bir kü tle spektrofotometrisi (MS) ile analiz edilir. Alternatif olarak, pasif ö rnekleme bir pompaya ihtiya ç duymadan, hava difü zyonu yoluyla benzen numunesi alımına olanak sağı lar (International Agency for Research on Cancer, 2018).

Bugü ne kadar, benzin istasyonlarında ortam havasındaki BTEX konsantrasyonlarının ö lç ümünün yapıldığı ve bu kimyasalların benzin istasyonu ç alış anlarının sağı ğ ı üzerindeki etkilerine dikkat ç eken ç ok sayıda ç alış ma yapılmış tır (Alyami, 2017; Campo ve diğ erleri, 2016; Correa ve diğ erleri, 2012; Lagorio ve diğ erleri, 1993; Olgun, 2014; Patton ve diğ erleri, 2021; Periago ve Prado, 2005; Rekhadevi ve diğ erleri, 2010; Salem ve diğ erleri, 2018; Scheepers ve diğ erleri, 2019; Soltanpour ve diğ erleri, 2021; Xia ve diğ erleri, 2017; Xiong ve diğ erleri, 2016).

Bu ç alış malar arasında, Tü rkiye’de yüksek lisans tezi kapsamında yapılan bir araştı rmada, Ankara’daki benzin istasyonlarında iş yeri ortamı ö lç ümleri, kiş isel gaz maruziyeti ö lç ümleri (57 ç alış anda) ve laboratuvar tetkikleri yapılmış tır. Ortam ö lç ümlerinde CO ve SO₂ seviyeleri limit değ erlerin üzerinde tespit edilmiş tir. Ç alış an erkeklerin %42,5’unda ve kadınların yarısında anemi saptanmış tır. Kiş isel maruziyet ö lç ümlerinde toluen ve ksilen değ erleri limit değ erlerin altındayken, benzen 3 ç alış anda, etilbenzen 1 ç alış anda, formaldehit 8 ç alış anda, idrarda fenol 16 ve idrarda hippü rik asit 4 ç alış anda referans değ erlerden yüksek bulunmuş tur (Olgun, 2014).

İ ran’daki benzin istasyonlarında BTEX konsantrasyonlarının maruziyet standartlarından daha yüksek olduğ u tespit edilmiş tir. Ayrıca BTEX’e maruziyetin nö rolojik etkileri gibi kanser dış ı sağı lk riskleri, maruziyet standardı için hesaplananlardan daha yüksek ç ı kmış tır; bu veriler doç rultusunda benzin istasyonu ç alış anlarının sağı lklarının risk altında olduğ u kabul edilmiş tir (Soltanpour ve diğ erleri, 2021).

Sri Lanka’da yapılan bir ç alış ma, ortam havası ö lç ümleri sonucunda benzin istasyonu ç alış anlarının ofis ç alış anlarına kıyasla benzen, toluen ve ksilenlere (BTX) daha fazla maruz kaldığı nı göstermiş tir. Ö lç ülen bileş iklerin kaynağı nın fosil yakı tlar ve karayolu taşı tları

egzoz emisyonundan kaynaklanan tam yanmama olduğu anlaşılmıştır. Benzin istasyonu çalışanlarının uzun çalışma saatleri göz önüne alındığında, ölçülen maruziyetlerin %28'inin, ACGIH'in benzen için belirlediği 1,6 mg/m³'lük TLV'yi aştığı tespit edilmiştir (Scheepers ve diğerleri, 2019).

Çin'de trafiğin yoğun olduğu kentsel alanlardaki benzin istasyonlarında yapılan bir çalışmada, yakıt ikmal alanlarındaki BTEX ve Mn konsantrasyonlarının ofis alanlarından önemli ölçüde yüksek olduğu ancak ulusal iş sağlığı standartlarını aşmadığı gösterilmiştir. BTEX ve Mn değerlerinin limit değerleri aşmamasına karşın, araştırmacılar tarafından bu kimyasalların sinerjistik etkisinin göz ardı edilmemesi gerektiği savunulmuştur (Xia ve diğerleri, 2017).

Çin'in aynı şehrinde yapılan başka bir çalışmada, havadaki ortalama BTEX konsantrasyonları, mevcut mesleki sınır değerlerinden çok daha düşük çıkmıştır. Ancak, yakıt ikmal alanlarındaki günlük ortalama BTEX konsantrasyonları, ofis alanlarındakine göre daha yüksek bulunmuştur (Xiong ve diğerleri, 2016).

Hindistan'da yürütülen bir çalışmada, akaryakıt dolum istasyonları ortam havasında BTX seviyelerinin kontrol yerlerine göre 10 kat daha yüksek olduğu, 0,41 ppm olarak ölçülen benzen düzeylerinin ise NIOSH tarafından önerilen maruziyet limitinden yüksek ancak ACGIH ve OSHA'ninkinden düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca kişisel solunum bölgesi havasında ortam havasına kıyasla daha yüksek seviyelerde BTEX ölçülmüştür (Rekhadevi ve diğerleri, 2010).

Mısır'daki bir çalışmada, benzin istasyonu çalışma ortamındaki BTEX seviyelerinin kontrol alanlarından ve izin verilen limit değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda mesleki olarak benzene maruz kalan bu çalışanların, tespit edilen yüksek DNA hasarı ve mikroçekirdek sıklığıyla ilişkili olarak genotoksik etkilere daha hassas olduğu gösterilmiştir (Salem ve diğerleri, 2018).

İspanya'da aromatik hidrokarbonlara mesleki maruziyetin benzin istasyonu çalışanlarında kişisel hava örnekleme ile değerlendirildiği bir çalışmada, popülasyonun %20'sinin ACGIH tarafından önerilen TLV'nin üzerinde benzene maruz kaldığı anlaşılmıştır. Ayrıca, düşük ortam sıcaklıklarında (14-15°C) ve yüksek ortam sıcaklıklarında (28-30°C) ölçülen

BTEX konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Yaz aylarında yüksek sıcaklıklara sahip ülkelerin iklim koşullarının, benzin istasyonlarında benzine maruz kalma riskini artırabileceği gösterilmiştir (Periago ve diğerleri, 1997).

Suudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada, benzin buharında ölçülen BTEX ve MTBE'nin OEL ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Yüksek hava sıcaklıklarının, benzin istasyonu çalışanlarının maruziyet seviyelerini çok az artırdığı gözlenmiş, ancak benzin istasyonlarının konumunun, rüzgâr hızının ve dağıtılan benzin miktarının maruziyet seviyeleri üzerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Alyami, 2017).

İtalya'daki bir çalışmada, benzin istasyonlarında limit değerleri aşmamasına karşın kış aylarında daha yüksek benzen konsantrasyonları ölçülmüştür, bu da mevsim değişikliklerinin çalışanların maruziyet seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bu artışın, yoğun trafiğe bağlı karayolu taşıtı egzoz emisyonunun artışı ile ilişkili olabileceği varsayılmıştır (Lagorio ve diğerleri, 1993).

Brezilya'da benzin istasyonları ortam havası ölçümlerinin yürütüldüğü bir çalışmada, BTEX değerlerinin istasyonlara 150 metre uzaklıkta bile yüksek olduğu gösterilmiş ve yakınlarında bulunan hastane ve okulların etkilenebileceği öne sürülmüştür. Araştırmacılar, Brezilya'daki benzin istasyonlarının yer seçiminin sadece mevcut mevzuatta belirtildiği üzere kazalara (yangınlar, toprak ve yeraltı sularına sızma) göre değil, atmosfere salınan emisyonlara da dikkat edilerek yapılması gerektiğini savunmaktadır (Correa ve diğerleri, 2012).

Baltimore, ABD'de benzin istasyonlarında BTEX maruziyeti ve risk değerlendirmesinin sonuçlarına göre, yakıt pompalama nedeniyle benzen maruziyet kaynaklı kanser riski hem tüketiciler hem de çalışanlar için düşük çıkmıştır. Tüketici senaryolarının 1:1 000 000 fazladan risk eşiğine yaklaşmadığı ve mesleki senaryonun 1:10 000 fazladan risk eşiğini aşmadığı tespit edilmiştir (Patton ve diğerleri, 2021).

Tüm bu çalışmalar, benzinde izin verilen maksimum benzen yüzdesinin düşürülmesi gibi maruziyeti sınırlamaya yönelik önleyici faaliyetlere rağmen otoritelerce izin verilen mevcut mesleki maruziyet limitlerinden daha yüksek mesleki maruziyetlerin oluşabileceğini göstermektedir (Campo ve diğerleri, 2016).

PAH maruziyet seviyeleri de hava örnekleme ile tahmin edilebilir (Naufal ve diğerleri, 2010). Ancak benzin istasyonlarında PAH maruziyetinin çalışma ortam havası örnekleme ya da bireysel örnekleme aracılığıyla belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmaktadır.

2.4. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Maruziyeti Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler

Maruziyetin biyolojik olarak izlenmesi, vücuttaki kimyasalın akıbeti hakkındaki bilgilere dayanarak internal dozu belirleyeme çalışır. Internal doz, yakın zamanda absorbe edilen kimyasal maddenin miktarı anlamına gelir (World Health Organization, 1996). Internal doz, kan veya idrar gibi vücut sıvılarında ana bileşiğin veya metabolitlerin belirlenmesiyle ölçülebilir (Naufal ve diğerleri, 2010). Biyolojik izleme kanda, idrarda veya solunan havada değişmemiş ana bileşiğin veya metabolitlerinin belirlenmesi veya organizma içinde olası bir sağlık etkisi veya hastalıkla ilişkili ölçülebilir bir değişikliğin belirlenmesi yoluyla bir maddeye maruziyetin değerlendirilmesidir. Biyolojik izleme yalnızca çevresel maruziyeti değil, aynı zamanda kişisel yaşam tarzından kaynaklanan varsayımları da dikkate alır ve bu nedenle daha eksiksiz bir ölçümdür (Senzolo ve diğerleri, 2001).

Kimyasal maddelere maruziyet nedeniyle insan sağlığına yönelik risklerin değerlendirilmesi için biyozileme esastır. Biyogöstergeler, geniş anlamda biyolojik sistemlerdeki veya örneklerdeki olayları işaret eden belirteçler olarak tanımlanır. Maruziyet, etki ve duyarlılık biyogöstergeleri olarak sınıflandırılmışlardır. Maruziyetin biyogöstergeleri, bir kompartman içinde ölçülen ksenobiyotik veya metabolitleri veya ksenobiyotik ile bazı hedef molekül ya da hücre arasındaki bir etkileşimin ürünü olabilir. Maruziyetin tercih edilen biyogöstergeleri, genellikle maddenin kendisi veya kolayca elde edilebilen vücut sıvılarındaki maddeye özgü metabolitlerdir. Bununla birlikte, çeşitli faktörler maruziyetin biyogöstergelerinin kullanımında ve yorumlanmasında karışıklığa yol açabilir. Bir maddenin vücut yükü, birden fazla kaynaktan maruz kalmanın sonucu olabilir. Ölçülen madde, başka bir ksenobiyotik maddenin metaboliti olabilir; örneğin, yüksek idrar fenol seviyeleri, birkaç farklı aromatik bileşiğe maruz kalmaktan kaynaklanabilir. Maddenin özelliklerine (örneğin, biyolojik yarı ömrü) ve çevresel koşullara (örneğin, maruz kalma süresi ve maruziyet yolu) bağlı olarak, biyolojik numunelerin alınabileceği zamana kadar madde ve tüm metabolitleri vücudu terk etmiş olabilir. Vücut dokularında ve sıvılarında da yaygın olarak bulunan maddelere (örneğin; Cu, Zn ve selenyum; Se gibi temel mineraller) maruz kalan bireyleri belirlemek

zor olabilir (Harper ve Liccione, 1995). Biyogöstergeler, çevresel etkenlerin veya diğer maruziyetlerin neden olduğu sağlık etkilerinin risk değerlendirilmesinde araçlar olarak uygulanmadan önce titizlikle valide edilmelidir (Moller, 2006).

İnsan kan hücrelerinden, biyoizleme çalışmalarında sıklıkla yararlanılır; çoğu çalışmada taze tam kan hücreleri veya izole edilmiş lökositler veya lenfositler kullanılmaktadır. Tipik somatik hücreler olarak kabul edilemezler, ancak vücutta dolaştıkları için hücresel, nükleer ve metabolik durumları (DNA dahil) genel maruziyeti yansıtmaktadır (Dusinska ve Collins, 2008).

Biyolojik materyalde, genellikle idrar ve kanda, benzindeki başlıca hidrokarbon bileşenlerini tespit etmek için en yaygın kullanılan yöntemler arasında GC ve FID ile birlikte yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi (HRGC) bulunur. GC-MS, benzindeki hidrokarbon bileşenlerinin hem tanımlanmasında hem de miktar tayini için kullanılmıştır ve tekniğin güvenilirliğini artırmaktadır (Harper ve Liccione, 1995).

Biyoizleme, UOB'lere mesleki maruziyetin değerlendirilmesi için uygun bir yöntemdir. Bununla birlikte biyoizleme, kimyasalların maruziyet miktarlarındaki değişken absorpsiyon, metabolizma ve eliminasyon özellikleri nedeniyle bireyler arası farklılık gösterebilir (Azari ve diğerleri, 2012). Benzen ve toluen için mesleki maruziyetin biyoizlenmesi, benzen için t,t-MA ve S-fenilmerkaptirik asit (SPMA), toluen için hippürik asit ve o-krezol gibi valide edilmiş idrar biyogöstergelerinin analizine dayanır (Lovreglio ve diğerleri, 2016). Benzin istasyonu çalışanlarından alınan kan veya idrar örneklerinde benzin bileşenlerinin ve/veya metabolitlerinin analizinin yapıldığı çok sayıda çalışma yer almaktadır (Bahrami ve diğerleri, 2007; Campo ve diğerleri, 2016; Costa ve diğerleri, 2016; Fracasso ve diğerleri, 2010; Fustinoni ve diğerleri, 2005; Geraldino ve diğerleri, 2021; Lovreglio ve diğerleri, 2010; Manini ve diğerleri, 2010; Moro ve diğerleri, 2013; Navasumrit ve diğerleri, 2005; Raghavan ve Basavaiah, 2005; Rekhadevi ve diğerleri, 2011; Rekhadevi ve diğerleri, 2010; Romieu ve diğerleri, 1999; Scheepers ve diğerleri, 2019; Tunsaringkarn ve diğerleri, 2013; Wiwanitkit ve diğerleri, 2001).

Benzene yakın zamanda maruziyeti tespit ve/veya tahmin etmek için idrar inorganik ve organik sülfat konjugatları, t,t-MA ve S-PMA ölçümü yoluyla yapılabilir. Bu amaçla idrar fenol seviyeleri ölçümü de kullanılmasına karşın, bu ölçümün daha sınırlı olduğu kabul edilir

(World Health Organization, 2019). Biyoizleme benzen maruziyetini ölçmenin alternatif yöntemi 1980'lere dayanmaktadır; fenol gibi biyogöstergeler yerini daha spesifik biyogöstergelere bırakmıştır. Günümüzde işyerlerinde benzen maruziyetinin değerlendirilmesi için önerilen biyogöstergeler arasında idrardaki t,t-MA, S-PMA ve benzen yer alır (International Agency for Research on Cancer, 2018).

ACGIH, t,t-MA'yı benzen maruziyetinin biyolojik maruziyet indeksi (BEI) olarak kabul etmiştir (Campo ve diğerleri, 2016). Benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen birçok çalışma, istasyonlarda yüksek benzen seviyelerinin yayıldığını ve idrar t,t-MA düzeylerinin, benzene maruz kalan çalışanlarla maruz kalmayan grupları ayırmada etkili olduğunu göstermektedir (Bahrami ve diğerleri, 2007; Chanvaivit ve diğerleri, 2007; Costa ve diğerleri, 2016; Hassan ve diğerleri, 2013; Lovreglio ve diğerleri, 2010; Moro ve diğerleri, 2013; Navasumrit ve diğerleri, 2005; Raghavan ve Basavaiah, 2005; Rekhadevi ve diğerleri, 2011; Wiwanitkit ve diğerleri, 2001). Benzin istasyonu çalışanlarının idrar t,t-MA seviyelerinin, ACGIH'nin t,t-MA için belirlediği BEI değerinden daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Raghavan ve Basavaiah, 2005). Ayrıca benzin istasyonu çalışanlarında, idrar t,t-MA konsantrasyonu ile hemoglobin seviyesi, eozinofil sayısı ve hematokrit arasında bulunan ters korelasyon sonucunda benzenin kemik iliği depresyonuna neden olabileceği gösterilmiştir (Tunsaringkarn ve diğerleri, 2013).

Benzin içerisindeki hidrokarbonların çoğu, karma fonksiyonlu oksidaz sistemi tarafından metabolize edilir ve metabolitler daha sonra GSH ile konjugasyona uğrar, ardından merkaptüratlar (tiyoeterler) olarak idrarla atılır. Benzin pompacılarında ve tamirhane işçilerinde, günün sonunda normal idrar tiyoeter seviyelerinden daha fazla atılım görülür. Bu atılım farkının, görevli tarafından işletilen servis noktalarında, self-servis noktalarına kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, benzine mesleki maruziyetin artan idrar tiyoeter üretimini indüklediğini göstermektedir (Stock ve Priestly, 1986). Bununla birlikte, artan idrar tiyoeter çıkışı, benzine maruziyete özgü değildir ve bir dizi kimyasala maruziyeti gösterebilir. Sigara dumanının karma fonksiyonlu oksidaz aktivitesini indüklediği bilinmektedir ve bu nedenle GSH ile konjuge olan metabolitlerin oluşumunu değiştirebilir (Harper ve Liccione, 1995).

Meksika'daki benzin istasyonu çalışanlarında birkaç PAH'ın ve MTBE gibi benzine özgü bazı kimyasalların solunum bölgesinde artan konsantrasyonları bildirilmiştir.

Popülasyondaki sigara içen ve içmeyen bireylerde 2,5-dimetilfuran gibi sigara için kullanılan kimyasal göstergelerin seviyeleri benzer olduğundan, verilerin benzin ve egzozundaki kimyasallara maruziyeti yansıttığı sonucuna varılmıştır (Romieu ve diğerleri, 1999). İtalya’da kasiyerler, self-servis görevlileri ve pompacılar olmak üzere üç alt gruba ayrılan benzin istasyonu çalışanlarıyla ilgili ayrıntılı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Havadaki MTBE’ye ortalama maruziyet, pompacılar için diğer iki grupta çalışanlara göre önemli ölçüde yüksek çıkmıştır. Bu maruziyet, kasiyer ve self-servis görevlilerine kıyasla pompacıların idrarında anlamlı şekilde daha yüksek MTBE seviyelerine yansımıştır. Pompacıların benzen maruziyetinin de diğer iki gruba kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir, bu da benzenin metabolitleri S-PMA ve t,t-MA’nın yüksek idrar atılım değerleri ile doğrulanmıştır (Ghittori ve diğerleri, 2005).

Deneysel çalışmalar, benzenin, redoks döngüsü yoluyla ROT üretebilen reaktif ara maddelere (kateşol, hidrokinon ve fenol) enzimatik olarak biyoaktif hale gelebildiğini bulmuştur. Buna dayanarak, son zamanlarda oksidatif stres değerlendirmesinde biyogöstergeler olarak serum reaktif oksijen metabolitleri önerilmiştir. ROT, benzen toksisitesine yol açan önemli yollara aracılık eder, ayrıca ileri oksidasyon protein ürünleri, ileri oksidasyon glikasyon ürünleri ve 8-OHdG dahil olmak üzere peroksiteleşmiş türevlerden kaynaklanan hücresel biyomoleküller ile etkileşime girer. Benzene maruz kalan işçilerde bireysel riski değerlendirmek için bu yan ürünleri biyolojik göstergeler olarak benimsemeyi öneren birkaç çalışma bulunmaktadır (Fenga ve diğerleri, 2017). Bu çalışmalar arasında yer alan, İtalya’daki benzin istasyonu çalışanlarında yapılan bir çalışma, çalışanların serum reaktif oksijen metabolitleri ve ileri oksidasyon protein ürünleri seviyelerinin kontrollere kıyasla yüksek olduğunu bulmuştur. Araştırmacılar bu göstergelerin benzin istasyonu çalışanları veya düşük doz benzene mesleki maruziyeti olan bireylerde tarama amaçlı kullanılabileceğini savunmuşlardır (Costa ve diğerleri, 2016). İtalya’da yapılan çalışmalarda, benzin istasyonu çalışanlarında tespit edilen idrar S-PMA düzeylerindeki artış ve oksidasyon göstergelerinin varlığı, benzen maruziyetini doğrulamaktadır (Carrieri ve diğerleri, 2019; Fracasso ve diğerleri, 2010).

8-OHdG, guaninin OH• radikal saldırısına bağlı olarak ROT ile indüklenen bir DNA baz modifikasyonudur; onarılmadığı takdirde bu hasarın aynı zamanda mutajenite ve kanser gelişiminde de rol oynadığı görülmektedir. 8-OHdG, endojen oksidatif DNA hasarının bir göstergesi olarak kanser ve dejeneratif hastalıkların risk değerlendirmesine katkıda bulunur.

Son zamanlarda, benzen, Cr VI, PAH'lar ve nanopartiküllere maruz kalan işçilerde yüksek idrar 8-OHdG seviyelerinin gösterildiği çalışmaların sayısındaki artış nedeniyle, 8-OHdG'nin toksik bileşiklere mesleki maruziyetten kaynaklanan DNA hasarının uygun bir belirteci olabileceği öne sürülmüştür (Fenga ve diğerleri, 2017). İtalya'daki bir çalışma, kronik olarak düşük seviyelerde benzene maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarında erken genotoksik hasarın belirlenmesinde idrar 8-OHdG seviyelerinin kullanılabileceğini göstermiştir (Fenga ve diğerleri, 2017). İtalya'da yapılan diğer bir çalışmada ise, çalışanlarla kontrol grubu arasında idrar 8-OHdG seviyeleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Lovreglio ve diğerleri, 2016).

Benzin istasyonu çalışanlarının çalışma süreleri artıkça, t,t-MA ve MDA seviyelerinde artış olduğu ve antioksidan enzimlerden süperoksit dizmutaz (SOD) seviyelerinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu veriler, uzun çalışma saatleri ve artan maruziyet süreleri nedeniyle çalışanların önemli derecede benzene maruz kaldıklarını ve bunun da ROT oluşumuna yol açtığını, antioksidan aktiviteyi azalttığını ve dolayısıyla oksidatif stresin arttığını göstermektedir (Hassan ve diğerleri, 2013; Uzma ve diğerleri, 2010; Xia ve diğerleri, 2017).

Benzin istasyonu çalışanlarının maruz kaldığı kimyasalların sağlık otoriteleri tarafından belirlenen limit değerleri aşıp aşmadığına dair yapılan çalışmalar çelişkilidir. Sri Lanka'da yapılan bir çalışmada, benzin istasyonu çalışanlarının uzun mesai saatleri dikkate alındığında, ölçülen maruziyetlerin %28'inin, benzen için belirlenen TLV değerini aştığı gözlenmiştir. Ayrıca, çalışanlarda kontrollere kıyasla daha yüksek idrar S-PMA seviyeleri tespit edilmiştir (Scheepers ve diğerleri, 2019). İran'da yürütülen bir çalışmada ise, benzin istasyonu çalışanlarının toluen ve ksilen bileşiklerine mesleki maruziyetlerinin, ilgili TLV'lerden daha yüksek olmadığı gösterilmiştir (Azari ve diğerleri, 2012).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, mesleki olarak toluen ve ksilenlere maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarında idrar hippürik asit ve metilhippürik asit seviyeleri maruz kalmayanlara göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca, çalışanlarda depresif ruh hali, kramplar, baş dönmesi, uyuşukluk, baş ağrıları, sinirlilik, halsizlik ve kilo kaybı gözlenmiştir. Brezilya Çalışma Bakanlığı'nın Mart 2021'den beri uygulamaya koyduğu yönetmelikte, benzin istasyonu çalışanlarının belirli kimyasallara maruziyetini daha iyi izlemek için periyodik olarak analiz edilecek biyolojik göstergeleri olan bazı kimyasal maddeler yer almaktadır. Revize edilen standart kılavuz, çalışanların toluen maruziyetinin değerlendirilmesi için

hippürik asidin biyogösterge olarak kullanımını içermektedir. Ksilenin biyoizlenmesinde de kabul edilebilir değerin düşürülmesi ile birlikte mevzuat çok daha kısıtlayıcı hale gelmiştir. Yeni biyogöstergelerin kullanılacağı bu mevzuatın işçiler için daha fazla koruma sağlayacağı öngörülmektedir. Mevzuattaki bu değişikliğin, çözücülere gerçek maruziyet düzeylerini anlamaya ve aşırı maruziyeti önlemeye yardımcı olarak, işçi sağlığına yönelik risklerin ve zararların en az indirilmesinde ve işçilerin yaşam ve çalışma kalitesinin iyileştirilmesinde etkili olacağı düşünülmektedir (Geraldino ve diğerleri, 2021).

Egzoz emisyonlarındaki kimyasalların dokular tarafından alımını değerlendirmek için duyarlı analitik teknikler gereklidir. Dizel motor egzozunun partikül fazına bağlı organik bileşenler, kimyasal maruziyet göstergeleri olarak önerilmiştir. Bu biyogöstergelerin insan vücudu sıvılarında ölçümü, karmaşık ve aşırı duyarlı analitik yöntemler gerektirir. Bu yöntemler arasında GC-MS ile idrar metabolitlerinin tayini yer alır. PAH'ların idrarla atılan metaboliti olan 1-hidroksipiren (1-OH piren), birçok çalışmada dizel egzozuna mesleki maruziyetin göstergesi olarak kullanılmıştır. 1-OH piren, diğer yanma kaynaklarından da kaynaklanabileceğinden yeterince spesifik olmayabilir. Dizel egzozu için daha spesifik bir gösterge 1-nitropirendir. Dizel egzozuna maruz kalan insanlarda 1-nitropirenin idrar metabolitleri, immünoserolojik yöntemler kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntem çok duyarlı olmasına karşın diğer PAH metabolitleri ile çapraz reaktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Floresan detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), idrar metabolitlerinin analizine yönelik daha spesifik bir yaklaşımdır (International Agency for Research on Cancer, 2014).

GC-MS kullanılarak, benzin egzoz emisyonlarının organik bileşenleri yüksek özgüllük ve duyarlılıkla tespit edilebilir. BTEX izomerleri ve diğer uçucu organik bileşikler solunan havada, kanda ve idrarda ölçülmüştür. CO, benzin egzoz emisyonlarına maruziyetin en sık kullanılan biyogöstergelerindendir. CO maruziyeti, solunan havada ve ayrıca kanda karboksihemoglobin (COHb) olarak spektrofotometrik yöntemle kolayca tespit edilebilir (International Agency for Research on Cancer, 2014). Benzin istasyonu görevlilerinde CO ve metal maruziyeti kapsamlı bir şekilde incelenmemiştir, ancak nispeten düşük olduğu görülmüştür. İtalya'daki benzin istasyonu çalışanlarında $73,8 \pm 79,9$ ng/l'lik idrar platin konsantrasyonları ölçülmüştür (Ghittori ve diğerleri, 2005). Çin'de yürütülen bir çalışmada da, benzin istasyonu çalışanlarında gözlenen oksidatif stres parametrelerindeki artışın benzin bileşimindeki Mn'la ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Xia ve diğerleri, 2017).

Dizel egzozuna maruz kaldıktan sonra PAH'ların biyogöstergesi olan artan idrar 1-OH piren düzeylerinin ve lenfositlerde artan DNA katım ürünlerinin, insanlarda biyolojik gösterge olarak kullanılabilir olduklarını göstermektedir (Taxell ve Santonen, 2017). DNA katım ürünleri, internal doz ile PAH ve nitro-PAH'lara maruziyeti gösteren faydalı biyogöstergelerdir (Pohjola ve diğerleri, 2003).

Pakistan'da yapılan bir çalışmada, benzin istasyonu çalışanlarında piren ve naftalin kan konsantrasyonları, kontrollere kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur; bu da çalışanların uçucu PAH'lara yüksek oranda maruz kaldıklarını göstermiştir (Rashid ve diğerleri, 2017).

2.5. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasalların Etkisini Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler

Etki biyogöstergeleri, bir organizmada, büyüklüğüne bağlı olarak, yerleşik veya potansiyel bir sağlık bozukluğu veya hastalık olarak kabul edilebilecek herhangi bir ölçülebilir biyokimyasal veya fizyolojik değişiklik olarak tanımlanır. Bu tanım, doku fonksiyon bozukluğunun biyokimyasal veya hücrel sinyallerini (örneğin, artan karaciğer enzim aktivitesi veya kadın genital epitel hücrelerinde patolojik değişiklikler) ve ayrıca artan kan basıncı veya azalmış akciğer kapasitesi gibi fonksiyon bozukluğunun fizyolojik belirtilerini kapsar. Bu göstergeler genellikle kimyasala özgü değildir (Harper ve Liccione, 1995).

Biyolojik etkiler, internal etkin dozun bir ölçüsü olarak, nihai insan sağlığı riskinin değerlendirilmesi için daha uygun kabul edilir. Genotoksik etkiler, DNA zincir kırıklarına ek olarak DNA veya proteinlere kovalent bağlanma ürünleri veya mikroçekirdek, kromozom aberasyonları ve kardeş kromatid değişimleri gibi sitogenetik belirteçler dahil olmak üzere biyokimyasal göstergeler tarafından izlenir. DNA katım ürünleri, kanser veya doğum kusurları gibi istenmeyen sonuçlara yol açabilecek potansiyel genotoksik etki için bir gösterge olarak kabul edilir. DNA katım ürünleri ayrıca, maruziyet, absorpsiyon, metabolik aktivasyon ve DNA onarımındaki bireysel varyasyonları yansıtabilir (Naufal ve diğerleri, 2010).

Kansere ilişkin genotoksisite analizi, varsayılan hedef molekülde biyolojik etkin dozun ölçümü olduğu için diğer maruziyet biyogöstergelerinden farklıdır. Comet testi, biyolojik etkin doz hakkında bilgi sağlayan bir maruziyet biyogöstergesi olduğu gibi, aynı zamanda

erken etki biyogöstergesidir. Erken biyolojik etkinin diğer biyogöstermeleri kromozomal aberasyon ve mikroçekirdek testleri, maruziyet biyogöstermeleri tarafından tespit edilen aşamadan daha sonraki bir karsinogenez aşamasını tespit etmektedir (Moller, 2006).

Kardeş kromatid değişimleri, mikroçekirdek ve kromozomal aberasyonlar dahil olmak üzere genetik end-pointler periferik kan lenfositlerinde incelenmiştir. Ancak, benzen çalışmalarının bazıları bukkal hücreleri, sperm veya granülositler gibi diğer kan hücrelerinde yapılmıştır. Bu end-pointlerden kromozomal aberasyonlar ve mikroçekirdeklerin kapsamlı ileriye dönük çalışmalarda insanlarda kanser riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Diğer bir end-point olan kardeş kromatid değişimleri de, DNA üzerindeki etkilerin bir göstergesidir; ancak kardeş kromatid değişimlerinin kanser riskiyle ilişkisi belirsizdir (International Agency for Research on Cancer, 2018).

Comet testi, kromozomal aberasyon testi ve mikroçekirdek testleri, genotoksisite ve DNA hasarını değerlendirmek için biyoizleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Benzin istasyonu çalışanlarında kronik benzin ve ortam havasında bulunan diğer kimyasallara maruziyetle ilişkilendirilen periferik kan lenfositlerinde kromozomal aberasyon (Bindhya ve diğerleri, 2010; Carere ve diğerleri, 1995; Celik ve Akbaş, 2005; Fracasso ve diğerleri, 2010; Lovreglio ve diğerleri, 2014; Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008; Rekha Devi ve diğerleri, 2011; Santiago ve diğerleri, 2014; Trevisan ve diğerleri, 2014), periferik kan lenfositlerinde mikroçekirdek (Bindhya ve diğerleri, 2010; Bukvic ve diğerleri, 1998; Carere ve diğerleri, 1995; Lovreglio ve diğerleri, 2014; Pandey ve diğerleri, 2008; Rekha Devi ve diğerleri, 2010; Salem ve diğerleri, 2018) ve bukkal mikroçekirdek (Arul ve diğerleri, 2017; Benites ve diğerleri, 2006; Butt ve diğerleri, 2017; Celik ve diğerleri, 2003; da Rosa ve diğerleri, 2013; Filho ve diğerleri, 2018; Hallare ve diğerleri, 2009; Maciel ve diğerleri, 2020; Martinez-Valenzuela ve diğerleri, 2017; Martins ve diğerleri, 2009; Moro ve diğerleri, 2017, 2013; Rekha Devi ve diğerleri, 2011; Salih ve diğerleri, 2020; Sellappa ve diğerleri, 2010; Shaikh ve diğerleri, 2018; Shilpi ve diğerleri, 2016; Singaraju ve diğerleri, 2012; Xiong ve diğerleri, 2016) sıklıkları ile lenfositlerde Comet testi ile ölçülen DNA hasarının (Andreoli ve diğerleri, 1997; Beceren ve diğerleri, 2016; Bhargavan, 2014; Fracasso ve diğerleri, 2010; Keretsetse ve diğerleri, 2008; Lovreglio ve diğerleri, 2016; Moro ve diğerleri, 2017, 2013; Naidoo ve diğerleri, 2016; Navasumrit ve diğerleri, 2005; Pandey ve diğerleri, 2008; Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008; Rekha Devi ve diğerleri, 2010; Xiong ve diğerleri, 2016) araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların büyük bir

çoğunluğu bu maruziyetin çalışanlar için gelecekte bir sağlık riski oluşturacağını ve kanser yatkinliği olarak sınıflandırılabilceğini savunmaktadır (Filho ve diğçerleri, 2018). Bu çalışmaları Tartışma bölümünde detaylı bir şekilde ele alınmıştır.

Oksidatif hasar biyogöstçergeleri, erken biyolojik etkiler ve nihai sağlık riskleri hakkında bilgi sağlayabilir (Moro ve diğçerleri, 2013). Benzin istasyonu çalışanlarında oksidatif stres göstçergelerinin ölçüldüğü çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Hassan ve diğçerleri, 2013; Malini ve Maithily, 2017; Uzma ve diğçerleri, 2010; Xia ve diğçerleri, 2017; Xiong ve diğçerleri, 2016). Benzindeki benzen gibi bileşenlere maruziyet seviyeleri düşük olabilmektedir, bu nedenle çalışmalarda oksidatif hasarı önemli ölçüde etkileyebileceğinden sigara içme alışkanlığının ölçülmesinin önemi büyüktür (Carrieri ve diğçerleri, 2019).

Benzin istasyonu çalışanlarında benzine maruziyetin hematolojik etkilerinin ve oksidatif stresin değçerlendirildiğı bir araştırmada, çalışanlarda hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayısının kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğı görülmüştür. Ayrıca maruziyet grubunda antioksidan kapasite kontrol grubundan anlamlı derecede düşük iken, protein oksidasyonunun bir göstçergesi olan protein karbonil düzeyleri daha yüksek ölçülmüştür (Ahmadi ve diğçerleri, 2019).

Maruz kalan işçilerde kronik benzen zehirlenmesinin hematolojik etkileri, düzenli aralıklarla kan sayımları izlenerek tespit edilebilir. Örneğinin, OSHA, çalışanlara ait her ay düzenli kan sayımı verilerinin bulundurulmasını ve hemoglobin seviyeleri veya hematokritleri coğrafi bölge içi normal sınırın altında olan veya kalıcı bir düşüş eğilimi gösteren çalışanların benzen seviyelerinin yüksek olduğı alanlardan uzaklaştırılmalarını önermektedir (World Health Organization, 2019).

Dizel emisyonlarının biyodizel emisyonlarından daha genotoksik olduğı ve biyodizel kaynaklı DNA lezyonlarının 24 saat içinde onarıldığı Comet testi ile gösterilmiştir (Novotna, 2019). Başka bir çalışmada da, dizelden kaynaklanan emisyonlarda biyodizele kıyasla daha yüksek DNA katım ürünü düzeyleri tespit edilmiştir (Vojtisek-Lom ve diğçerleri, 2015).

2.5.1. Genotoksisite testleri

Modern dünyada, insanlar çevrede bulunan çeşitli genotoksik maddelere maruz kalmaktadır. Genotoksik terimi, mutasyon dahil çeşitli mekanizmalardan herhangi biri yoluyla genetik bileşenler üzerinde olumsuz etkilere neden olan kimyasallar için kullanılır, ancak kalıtsal değişikliklere neden olma yeteneği anlamına gelmeyebilir (International Programme on Chemical Safety (IPCS), 2020). İnsan popülasyonlarının genetik bütünlüğü, kimyasal ve fiziksel genotoksinlere maruziyetle sonuçlanan endüstriyel faaliyetler nedeniyle daha fazla tehdit altındadır (Fenech, 1993). 1970’li yıllardan beri yapılan çalışmalar, birçok karsinogenin doğrudan veya dolaylı yoldan genotoksik veya mutajenik olduğunu ve/veya gen ifadesini değiştirdiğini göstermiştir (DeMarini, 2019). Bireyler, yaşam tarzı faktörleri (örneğin, diyet), tehlikeli günlük maruziyetler (örneğin, sigara ve güneşlenme) veya mesleki maruziyetler (örneğin, benzen), iklim değişiklikleri (atmosferik O₃’un azalmasına bağlı olarak ultraviyole ışınlarla artan maruziyet), çeşitli tıbbi tedaviler veya antioksidan bileşiklerin yetersiz alımı nedeniyle kansere daha duyarlı hale gelebilir. Bazı kimyasallar için çevresel olarak düşük maruziyet durumları olmasına ve birey için düşük risk taşımasına rağmen, maruz kalan kişi sayısının yüksek olması nedeniyle nüfus bazında sağlık etkileri büyük olabilir (Moller, 2006). Bir insan popülasyonunda kabul edilebilir bir genetik hasar seviyesinin ne olduğunu belirleyebilmek, seçilmiş genotoksinlere karşı aşırı duyarlı olabilecek bireyleri belirleyebilmek, çevreye salınan kimyasalları etkili bir şekilde tarayabilmek, bir popülasyonundaki genetik hasarın artış düzeyini belirleyebilmek ve mesleki olarak genetik düzeyde zararlı olabilecek etkenlere maruz kalan bireyleri rutin olarak izlemek önemlidir (Fenech, 1993). Bunun için genotoksik end-pointleri saptayan valide edilmiş testlere ihtiyaç vardır (Moller, 2006). Bu nedenle, maruziyet düzeyini ve sağlık riskini belirlemek için genotoksisite testleri kullanılır. *In vivo* biyoizleme olarak sınıflandırılan birçok test mevcuttur (Sommer ve diğerleri, 2020).

Genom stabilitesi ile ilgili çalışmalar, birçok karıştırıcı faktör tarafından önyargılı olabildiklerinden, genellikle tutarsız sonuçlar verdiğinden veya hastalığın incelenen faktörlere doğrudan atfedilmesini sağlayan düşük istatistiksel güce sahip olduklarından planlaması ve yürütülmesi kolay çalışmalar değildir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Sitogenetik yöntemler yaygın olarak ilaç veya gıdadaki kimyasal bileşiklerin genotoksisite potansiyellerinin *in vivo* (hayvanlar üzerinde) ve *in vitro* (hücre hatları üzerinde) tayini için

kullanılır. Bu yöntemler ayrıca, iyonize edici radyasyon gibi fiziksel faktörlere ve kimyasal kirleticilere çevresel ve mesleki maruziyetten kaynaklanan DNA hasarını araştırmak için önemlidir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Şu anda, yaklaşık 20 kadar iyi tanımlanmış *in vitro* veya *in vivo* genotoksisite testi kullanılmaktadır. *In vitro* testler, yeni farmasötiklerin ve diğer tıbbi malzemelerin, günlük kullanım ürünlerinin, kimyasal ve fiziksel faktörlerin ve zehirlerin vb. faktörlerin potansiyel genotoksik etkisini araştırmak için kullanılır. *In vivo* testler, belirtilen bu uygulamaların yanı sıra, insanlar ve biyota üzerinde çevresel faktörlerin etkisini, zararlı çalışma ortamının insan sağlığı üzerindeki etkisini veya çeşitli hastalıkların gelişimi ile ilişkili erken genetik değişiklikleri araştırmaya izin verir. En sık kullanılan *in vitro* analizler arasında bakteriyel ters mutasyon testi (Ames testi), memeli hücre gen mutasyon testi veya fare lenfoma testi gibi nükleotid mutasyonu indüksiyonunun test edilmesi ve kardeş kromatid değişimi testi, kromozomal aberasyon testi, sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi ve Comet testi gibi daha karmaşık genom değişikliklerinin sitogenetik yöntemlerle test edilmesi yer alır. En önemli *in vivo* testler, Comet testi, kromozomal aberasyon testi, sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi, memeli eritrosit mikroçekirdek testi ve bukkal hücrelerde mikroçekirdek testini içerir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Sitogenetik yöntemler, disentrik kromozomlar, translokasyonlar, asentrik fragmentler, halkalar ve kromatid tipi aberasyonlar gibi yapısal mutasyonlar olarak bilinen karmaşık tip mutasyonlar ve mikroçekirdek olarak bilinen özel bir kromozomal hasar türü ile ilgilenir. Genetik materyaldeki değişikliklerin sıklığını bilerek, maruz kalma derecesini tahmin etmek mümkündür (Sommer ve diğerleri, 2020).

Kromozomal aberasyon testi

Kromozomal aberasyonlar, kendiliğinden veya kimyasal/radyasyon maruziyetinin bir sonucu olarak normal kromozom yapısında veya sayısında meydana gelebilecek değişikliklerdir. Yapısal kromozomal aberasyonlar, doğrudan DNA kırığı, hasarlı bir DNA kalıbı üzerinde replikasyon, DNA sentezinin inhibisyonu ve diğer mekanizmalar (örneğin, topoizomera II inhibitörleri) ile indüklenebilir. Morfolojik kriterlere dayalı olarak, yapısal kromozomal aberasyonlar iki ana sınıfa ayrılabilir: bir veya birden fazla kromozomun her iki kromatidini içeren kromozom tipi aberasyonlar ve bir veya birkaç kromozomun iki

kromatidinden yalnızca birini içeren kromatid tipi aberasyonlar. Yapısal kromozomal aberasyonlar DNA kırığı yoluyla uyarılabileceğinden, varlıkları DNA kırıklarının kaderine bağlıdır. DNA kırıkları, kromozomun orijinal durumuna geri döndürüleceği şekilde yeniden birleşebilir, yanlış bir şekilde yeniden birleşebilir veya hiç birleşmeyebilir. Bu son iki olay, metafaz hücrelerinin mikroskopik preparatlarında gözlemlenebilir. Kromozomal aberasyonun türü hücrenin kaderi için belirleyici olacaktır. Disentrikler, halkalar ve kromozom parçaları gibi kararsız aberasyonlar taşıyan hücreler, apoptoz ile p53'e bağlı bir şekilde elimine edilebilir. Öte yandan dengeli translokasyonlar gibi dayanıklı aberasyonlar, apoptotik hücre ölümüne neden olmadıkça çok daha az etkili olduklarından organizma için zararlı sonuçlar doğurabilir. Sayısal kromozomal aberasyonlar, anormal kromozom ayrımı nedeniyle meydana gelen normal kromozom sayısındaki değişiklikleri (örneğin; anöplöidi ve poliploidi) ifade eder; kendiliğinden veya anöjen maruziyetinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Mateuca ve diğerleri, 2006).

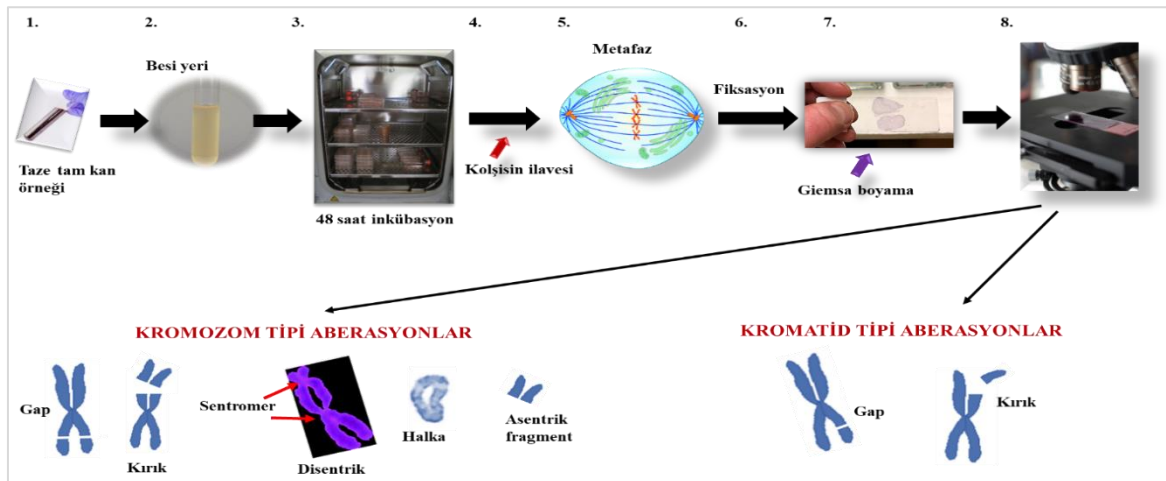
Kromozomal aberasyon testi ile değerlendirildiği üzere periferik kan lenfositlerindeki yapısal kromozomal aberasyonların, 30 yılı aşkın bir süredir mesleki ve çevresel ortamlarda genotoksik karsinogenlerin erken etkilerinin biyolojik göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hem *in vitro* insan birincil lenfositlerinde ve hücre hatlarında hem de *in vivo* olarak kemirgen kemik iliğinde genotoksisitenin değerlendirilmesi için rutin olarak kullanılır. Kromozomal aberasyon testi, genotoksik bileşikler için test bataryasında kilit bir konuma sahiptir (Mateuca ve diğerleri, 2006). *In vitro* kromozomal aberasyon testi ICH S2 (R1) Kılavuzu'nda önerilen test bataryasında ikinci basamakta uygulanması gereken genotoksisite testlerinden biridir. Bu kılavuzun amacı potansiyel insan risklerinin tahmini için standart genetik toksikoloji bataryasını optimize etmek ve genetik materyalde değişikliklere neden olan karsinogen etkiler için risk karakterizasyonunu iyileştirme nihai hedefi ile sonuçların yorumlanması konusunda rehberlik sağlamaktır. Bu kılavuzun yalnızca beşeri farmasötik olarak geliştirilmekte olan ürünlere uygulanması amaçlanmıştır (European Medicines Agency, 2012).

Kromozomal aberasyon protokolü, günlük yaşamın ve endüstrinin çeşitli yönlerinde araştırma yöntemlerinin kullanımına ilişkin standartlar yayınlayan kuruluş olan Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü'nün (OECD) de ilgi alanındadır. Bu kuruluşun teknik belgeleri ve standartları, yöntem akreditasyonunun temelini oluşturur ve teorik olarak bu belgelere göre testleri yapan laboratuvarların diğer akredite laboratuvarlarla karşılaştırılabilir objektif

olarak doğru sonuçlar almasını garanti eder (Sommer ve diğerleri, 2020). *In vitro* kromozomal aberasyon testi, OECD 473 kılavuzu tarafından tanımlanmıştır (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2016c). Kromozomal aberasyon testinin prensibi Şekil 1’de sunulmuştur.

Yapısal kromozomal aberasyonlar, sabitlenip mikroskop lamlarına yayılarak Giemsa boyası ile boyandıktan sonra metafazda durdurulmuş hücrelerde değerlendirme yapılmaktadır. Bu yöntem, sayısal kromozomal aberasyonların analizi için uygun değildir (Mateuca ve diğerleri, 2006).

Kromozomal aberasyon testinin avantajları, hücreden hücre yaklaşımıyla, tüm farklı kromozom mutasyon tiplerinin (kromatid ve kromozom tipi arasındaki ayrım) doğru bir şekilde tanımlanması, mitotik indekslerin tespiti ve görüntü analizi ile yarı-otomatik değerlendirmedir. Geleneksel kromozom aberasyon testinin en büyük dezavantajı, emek yoğunluğu ve özellikle yetenekli ve deneyimli personel gerektirmesidir. Son zamanlarda, floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle hem kromozoma özgü yeniden düzenlemelerin hem de kromozom kaybının saptanmasına olanak sağlayan gelişmiş teknikler uygulanmaktadır (Mateuca ve diğerleri, 2006).



Şekil 2.1. Kromozomal aberasyon testinin prensibi. 1,2 ve 3. Taze tam kan örnekleri, taze besi yeri içeren tüplere ilave edilir ve 48 saat boyunca inkübasyona bırakılır. 4. 45-47. saatler arası örneklere kolşisin ilave edilir. 5. Kolşisin ilavesi ile hücre bölünmesi metafazda durdurulur. 6 ve 7. Fiksasyon (metanol: asetik asit, 3:1) aşamasından sonra hücreler mikroskop lamlarına yayılır, kuruduktan sonra Giemsa boyası ile boyanır. 8. Lamlar ışık mikroskobu altında 10x100 büyütme ile değerlendirilir. Değerlendirme sırasında kromozom tipi ve kromatid tipi aberasyonlar kaydedilir.

Mikroçekirdek testi

Mikroçekirdek, hücrelerin sitoplazmasında görülen, kromatin içeren küçük ve yuvarlak şekilli bir cisimdir. Mikroçekirdeğin DNA hasarı veya genomik kararsızlıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Mikroçekirdek, metabolizma veya yaşlanma gibi doğal süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği gibi birçok çevresel faktör, tehlikeli alışkanlıklar ve çeşitli hastalıklar tarafından indüklenebilir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Mikroçekirdek, hücre bölünmesi sırasında, yavru çekirdeklerden birine katılmadıklarında bir veya birkaç kromozomdan veya kromozom parçalarından oluşan küçük boyutlu çekirdekleri ifade eder. Mikroçekirdek oluşumu genellikle genotoksik etkilerin ve kromozomal kararsızlığın (hem kalıtsal hem de indüklenmiş) bir indeksi olarak hizmet eder. Mikroçekirdek testi DNA hasarını, mitozdaki hataları ve stres cevabını değerlendirmede kullanılır. Ayrıca, bir bireyin genom kararsızlığını ve son zamanlarda DNA hasarını takiben bağışıklık aktivasyonunu incelemek için kullanılmaktadır (Ye ve diğerleri, 2019).

Mikroçekirdek ilk olarak Howell ve Jolly tarafından eritrositlerde keşfedilmiş ve Howell-Jolly cisimcikleri olarak adlandırılmış. Radyasyon maruziyetine bağlı oluşan DNA hasarı ve mikroçekirdek oluşumu arasındaki ilişkinin keşfi, mikroçekirdeğin DNA hasarının göstergesi olarak kullanımına yol açmıştır. Kemik iliği örneklerinde DNA hasarını değerlendirmek için mikroçekirdek testi geliştirilmiş ve kromozom kırıklarının taranmasında metafaz kromozom yayılımının kullanıldığı standart analizden daha kolay olduğu kanıtlanmıştır. İlerleyen zamanda, kemik iliği yerine periferik lenfositlerin kullanılması sayesinde, insan deneklerinden alınan kan örnekleri üzerinde yapılmasını kolaylaştıran bir yöntem olarak geliştirilmiştir. Daha sonra yanlış pozitif ihtimalini azaltmak için mikroçekirdekler için bir dahil edilme kriterleri belirlenmiştir. Bir mikroçekirdeğin ana çekirdeğe kıyasla $1/3$ 'i veya daha küçük boyutta olması, benzer veya biraz daha hafif boyama yoğunluğuna sahip olması, ana çekirdekle hiçbir örtüşme veya teması olmaması ve son olarak ana çekirdeğin 3 ila 4 çekirdek çapı içinde olması gerektiğine karar verilmiştir (Ye ve diğerleri, 2019).

Bir doku numunesi, farklı sayıda aktif olarak bölünebilen hücreye sahip olabilir ve bu nedenle iki numune arasındaki mikroçekirdek sayıları karşılaştırılabilir olmayabilir. Bu sorun, sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testinin geliştirilmesiyle çözülmüştür. Bu

protokol kapsamında numuneler, sitokinez sırasında aktin mikrofilamentinin bölünme çizgisinin kısılmasını inhibe eden ve çekirdek mitozu tamamlanmış ancak başarılı bir şekilde ayrılmamış iki çekirdekli hücrelere neden olan sitokalazin B ile muamele edilir. Bu koşullar altında, yalnızca iki çekirdekli hücreler (aktif olarak bölündükleri gösterilenler) mikroçekirdek oluşumu için değerlendirilir ve mikroçekirdek sıklığı iki çekirdekli hücre başına mikroçekirdek oranı olarak ifade edilir (Ye ve diğerleri, 2019). Fenech tarafından açıklanan matematiksel modele göre, sitokinezi bloke etmek için uygulanan sitokalazin B ile yapılan mikroçekirdek testi, daha az yanlış negatif sonuçlar elde edildiğinden dolayı sitokalazin B'nin uygulanmadığı yöntemle göre daha üstündür (Fenech, 2000).

DNA çift zincir kırıkları, bozulmuş DNA onarımı yanıtı, hatalı DNA replikasyonu ve çapraz bağlanma ajanları ile DNA katım ürünlerini oluşturan kimyasallara maruziyetten kaynaklanan doğrudan ve dolaylı sonuçlar dahil olmak üzere çeşitli moleküler mekanizmalar mikroçekirdek oluşumuna yol açabilir. Kanser hücreleri, nükleer tomurcuklanma ve mikroçekirdek oluşumuyla ve tümörjenite ile bağlantılı gen amplifikasyonundan kaynaklanan ekstra kromozomal materyaller içerebilir. Mikroçekirdekler ayrıca hatalı mitotik figürler, kromozom parçalanmaları, mitotik hücre ölümü, mitotik felaket, dev çekirdekler ve özellikle genom kaosu gibi çeşitli kromozom aberasyonları ile ilişkilidir (Ye ve diğerleri, 2019).

Mikroçekirdek oluşumunun olası kaynakları arasında asentrik (sentromeri olmayan) kromozom fragmentleri, kromozomların anormal ayrışması, disentrik (çift sentromerli) kromozom kırığı, kromozom instabilitesi (kararsızlığı) ve double minutes (kromozom harici küçük parçacıklar) agregasyonu yer almaktadır. Asentrik kromozom fragmentleri, onarılmamış DNA zincir kırıkları veya yanlış onarılmış DNA zincir kırıkları, DNA zincir çapraz bağları veya kromozom/kromatid tipi aberasyonlara yol açan katım ürünlerinden kaynaklanır. Kromozomların anormal ayrışması, sentromer fonksiyon bozukluğunun bir sonucu olarak mitoz veya sayısal kromozom aberasyonları sırasında tüm bir kromozomun geride kalması durumudur. Çok sentromerli kromozomlar, zıt hücreler arasında yayıldığında, birçok parçaya ayrılarak mikroçekirdek oluşumuna yol açabilir. Kromozom instabilitesi, hücrelerin genomlarında yüksek oranda değişikliğin olduğu bir durumdur; genellikle pre-neoplastik ve kanserli hücreler tarafından gösterilir ve genellikle yüksek mikroçekirdek sıklığı gösterir. Mikroçekirdeğin kromozom kararsızlığının iyi bir göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Double minutes, dairesel DNA'dan oluşan küçük asentrik ve

telomer içermeyen ekstra kromozomal cisimlerdir. Meme, akciğer, yumurtalık, kolon ve nöroblastom dahil olmak üzere birçok tümör tipinde gözlenmiştir. Double minutes, kromozomlardan ayrıldığında kümelenebilir ve mikroçekirdek oluşturabilir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Modern mikroçekirdek tayini, sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek protokolünü kullanmaktadır, ancak bunun yanında nükleoplazmik köprüler, nükleer tomurcuklanmalar, nekrotik ve apoptotik hücreler gibi diğer aberasyonlar da değerlendirilebilir. Bu bir hücre popülasyonunun “sitom”unu veya genel kromozom stabilitesinin bir değerlendirmesi olarak hizmet etmektedir (Ye ve diğerleri, 2019).

Günümüzde, mikroçekirdek testinin çeşitli kullanımları mevcuttur. Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi, olası bir genotoksinin *in vitro* hücrelere veya *in vivo* olarak bir hayvan modeline ve periferik kan lenfositlerine uygulanabilen ve genotoksosite tayini için kullanılan başlıca testtir. Mikroçekirdek testi, çeşitli endüstriyel kimyasalların, mesleki olarak maruz kalınan kimyasalların ve gıda takviyelerinin kromozom instabilitesi üzerindeki etkilerini araştırmak için kullanılabildiği gibi, çok sayıda insanı radyasyona maruziyet açısından hızlı bir şekilde taramanın bir yolu olarak önerilmiştir. Bu tür ilerlemelerin, mikroçekirdek testi ve çalışmalarının halk sağlığı ve afet müdahalesi faydasını artıracakları düşünülmektedir (Ye ve diğerleri, 2019).

Mikroçekirdek, bir tür kromozomal aberasyon olduğundan ve kromozomal aberasyon sıklığı bir kromozomal instabilite indeksini temsil ettiğinden, kromozomal instabilite kanserin yaygın bir etmeni olduğundan, kanserde mikroçekirdekleri incelemek uygundur. Kanserle ilgili birçok mikroçekirdek çalışması, çalışmanın doğasına göre farklı kategorilerde gruplandırılabilir: i) anti-kanser tedavisi için klinik göstergeler olarak, ii) kanser riskini tahmin etmek için bir gösterge olarak veya iii) basitçe kromozomal instabilite seviyesini ölçmek için mikroçekirdeklerin kullanılmasına yönelik mekanistik çalışmalar veya ilaç çalışmaları olarak ayrılabilir (Ye ve diğerleri, 2019).

Mikroçekirdekler, diğer kromozomal aberasyon türlerinden daha kolay ölçülebilir ve sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testinin protokolü ve değerlendirilmesi, metafaz kromozomlarını değerlendirmekten çok daha kolaydır. Mevcut kanı, mikroçekirdeklerin kanser riski ile bağlantılı olduğu yönündedir (Ye ve diğerleri, 2019). Uluslararası İnsan

Mikroçekirdek Projesi (HUMN), lenfositler ve bukkal hücrelerdeki mikroçekirdek çalışmaları sonuçlarının toplandığı en büyük veri tabanıdır (Sommer ve diğerleri, 2020). HUMN ortak çalışması tarafından, periferik lenfositlerde mikroçekirdekleri değerlendirmek için daha önce yayınlanmış kriterleri kullanarak mikroçekirdeklere dayalı bir klinik test geliştirmek üzere kullanışlı bir araç ortaya konmuştur. Kanser hastalarında ve kontrollerde yapılan mikroçekirdek sıklığı çalışmalarına ilişkin verilerin analizi yoluyla, ürogenital ve kolon kanseri gelişimi ile orta ve yüksek mikroçekirdek sıklığına sahip hastalar arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca, lenfositlerde artan mikroçekirdek sıklığı, akciğer ve pankreas kanseri riskleri ile korelasyona sahiptir. Mikroçekirdekler, insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonunun olası bir sonucu olan rahim ağzı kanseri gelişimi ile ilişkili olarak rahim ağzı hücrelerinde de değerlendirilmektedir (Ye ve diğerleri, 2019). Değerlendirme kriterleri, HUMN tarafından oluşturulmuş ve doğrulanmıştır (Mateuca ve diğerleri, 2006).

Epitel hücreleri, örnek alımı kolaylığı nedeniyle uzun zamandır klinik testler için bir hedef olmuştur, ancak bu hücre tiplerinde görülen ve mikroçekirdek ile karıştırılabilecek ortak çekirdek anomalileri nedeniyle, yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekmiştir. HUMN ortak çalışması, kanser riskinin klinik olarak test edilmesine yönelik dokuya erişmek için daha kolay bir yöntem geliştirmek için sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek-sitom protokolünde bukkal epitel hücrelerinin kullanılması için validasyon ve koordinasyon süreci üzerinde çalışmıştır (Ye ve diğerleri, 2019). 2007 yılında, HUMN proje koordinasyon grubunun başlattığı bukkal eksfoliyasyon hücrelerinde mikroçekirdek analizine dayalı bu yeni projeye HUMNXL adı verilmiştir (Sommer ve diğerleri, 2020). Üç laboratuvar arasında gelişen tekniğin karşılaştırılması sonucunda, kanser hastalarında mikroçekirdek sıklığında kontrollere kıyasla 20 kat artış gözlenmiştir (Ye ve diğerleri, 2019). Bukkal mukoza, metabolizma sonucu reaktif ürünler oluşturabilen potansiyel karsinojenlere karşı bir bariyer sağlar. Tüm kanserlerin %90 kadarının epitel kökenli olduğu bilindiğinden, bukkal mukoza vücuda oral veya inhalasyon yoluyla giren karsinojenlerin sonucu meydana gelen erken genotoksik olayları izlemek için idealdir. Eksfoliyasyon bukkal hücreler, tütün kullanımı gibi yaşam tarzı faktörlerinin, radyoterapi gibi tıbbi tedavilerin yanı sıra mutajenik veya karsinojen kimyasallara mesleki maruziyetlerin genotoksik etkilerini etkin bir şekilde göstermek için invazif olmayan bir şekilde kullanılabilir (Thomas ve diğerleri, 2009).

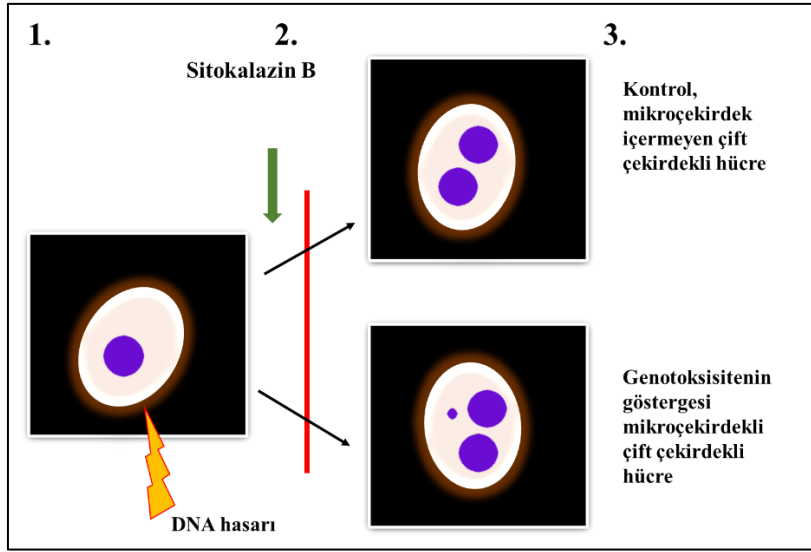
Mikroçekirdek test tipleri, bu testlerde kullanılan hücre tipleri ile testlerin kullanılma amaçları ve başlıca özellikleri Çizelge 2.4'te sunulmuştur (Sommer ve diğerleri, 2020).

Çizelge 2.4. Mikroçekirdek testleri tipleri (Sommer ve diğerleri, 2020)

Test tipi	Kullanılan hücreler	Amaç	Özellikleri
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	İnsan, kemirgen, tavşan, balık, köpek, primat, lenfositler, hücre hatları	Biyogösterge Biyolojik dozimetre <i>İn vitro</i> veya <i>in vivo</i> genotoksisite Sitogenetik hasarın değerlendirildiği biyolojik deneyler	Mikroçekirdekler, sitokalazin B'nin ilavesiyle sitokinezin durdurulduğu iki çekirdekli hücrelerde değerlendirilir.
Memeli eritrosit mikroçekirdek	İnsan, kemirgen, tavşan, balık, köpek, primat, olgunlaşmamış eritrositler	Kimyasallar, ilaçlar veya zararlı durumların <i>in vivo</i> genotoksisitesi Biyogösterge	Test genellikle genç kemirgenler üzerinde yapılır, ancak insan periferik kanında biyolojik olarak izlenmesi mümkündür. Periferik kan eritrositlerinde yapıldığında dalak seçimi dikkate alınmalıdır.
Bukkal mikroçekirdek	İnsan epitel bukkal hücreleri	Beslenme, sigara içmek ve alkol almak gibi yaşam tarzı alışkanlıklarının etkisi Genotoksik maruziyet Sitotoksik maruziyet Hızlandırılmış yaşlanma, belirli kanser türleri ve nörodejeneratif hastalıklar riski	İnvazif olmayan <i>in vivo</i> test Biyozileme için uygun
Diğer hücre tiplerinde mikroçekirdek	Nazal mukoza hücreleri, idrar kaynaklı hücreler	Biyozileme Genotoksisite Bazı kanserlerin prognozu	Güncel yayınlar olmasına karşın, çok popüler değil

Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi, kromozoma zarar verme potansiyelinin *in vitro* araştırılması için kapsamlı bir temel sağlar. Hem anöjenik (örneğin, tütün ve pestisitlerin neden olduğu hücredeki kromozom sayısındaki değişiklikler) hem de klastojenik değişiklikler (örneğin; benzen, iyonize radyasyon, akridin sarısı, etilen oksit, arsenik ve fosfinin neden olduğu yapısal aberasyonlar) tespit edilebilir (Sommer ve diğerleri, 2020).

Mikroçekirdek *in vitro* genotoksisite testi ile ilgili bilgiler OECD 487 Kılavuzu'nda toplanmış, revize edilmiş ve sistemleştirilmiştir (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2016a). Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testinin prensibi Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 2.2. Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testinin prensibi. 1. Hasarlanmış DNA'ya sahip çekirdek. 2. Sitokalazin B ilavesi ile sitokinezin inhibisyonu. 3. Mikroçekirdek sıklığı sadece iki çekirdekli hücrelerde değerlendirilir.

In vitro mikroçekirdek testinin geçerliliğini değerlendirmek amacıyla, mevcut verilerin geriye dönük validasyonunu gerçekleştirmek üzere Avrupa Alternatif Yöntemlerin Doğrulanması Merkezi (ECVAM) tarafından bir çalışma grubu oluşturulmuştur. Bu retrospektif validasyonun birincil odak noktası, standart *in vitro* kromozomal aberasyon testine alternatif olarak *in vitro* mikroçekirdek testinin değerlendirilmesiydi. Bu retrospektif validasyona dayanarak, ECVAM Validasyon Yönetim Ekibi, *in vitro* mikroçekirdek testinin kromozomal aberasyon testine alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceği sonucuna varmıştır (Corvi ve diğerleri, 2008).

In vitro mikroçekirdek testi aynı zamanda ICH S2 (R1) Kılavuzu'nda önerilen test bataryasında ikinci basamakta uygulanması gereken genotoksisite testlerinden biridir (European Medicines Agency, 2012).

Mikroçekirdek testinin iyi kurulmuş ve en güvenilir genotoksisite testlerinden biri olarak gelecekteki kullanımının önemli olduğunu düşündürecek birçok neden vardır (Sommer ve diğerleri, 2020). Mikroçekirdek testi, sadece tehlikenin tanımlanmasına yönelik değil, fakat aynı zamanda risk değerlendirmesine hizmet edecek şekilde mutajenitenin başlıca end-pointlerinden biri olan kromozomal aberasyonların indüksiyonunu değerlendirmek amacıyla en güvenilir test olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hayashi, 2016). Mikroçekirdek

oluşumu olgusu ile kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi belirlemek için daha fazla girişimde bulunulacaktır (Sommer ve diğerleri, 2020).

Sonuç olarak, mikoçekirdek genotoksisite taramasında, çeşitli hastalıkların biyoizlenmesinde, maligniteleri ve preneoplastik durumların saptanmasında ve ayrıca radyoterapi etkisinin izlenmesinde önemli bir biyogöstergedir (Samanta ve Dey, 2012).

In vitro kromozomal aberasyon ve mikoçekirdek testleri arasında yüksek bir uyum gözlenir (Mateuca ve diğerleri, 2006). Her iki testin de avantajları ve dezavantajları Çizelge 2.5'te sunulmuştur (Mateuca ve diğerleri, 2006).

Çizelge 2.5. Sitokinezin durdurulduğu mikoçekirdek testi ile kromozomal aberasyon testinin avantajları ve dezavantajları (Mateuca ve diğerleri, 2006)

	Avantajları	Dezavantajları
Sitokinezin Durdurulduğu Mikoçekirdek Testi	End-point: kromozom + genom mutasyonları Klastojen ile anöjen arasında ve kromozom kaybı ile ayrılmaması arasındaki ayrım için FISH kullanımı Çekirdek bölünme indeksinin tahmini Nükleoplazmik köprü, nükleer tomurcuklanma ve apoptoz/nekrozun birlikte tahmini Duyarlı Basit, hızlı, ucuz, otomasyon mümkün İstatistiksel güç	Tüm kromozomal hasar olaylarını tespit edemez (simetrik karşılıklı translokasyonlar) Mikoçekirdek ekspresyonu için hücre bölünmesi gerektirir Sitokalazin B, mikoçekirdek sıklığına etki edebilir
Kromozomal Aberasyon Testi	End-point: kromozom FISH boyama: sayısal ve yapısal kromozomal aberasyonların tespiti Klastojenik hasarın (zincir kırıkları, baz hasarı) doğasını tanımlama Duyarlı Mitotik indeksin hesaplanması Yarı-otomasyon	<i>In vitro</i> hücre kültürü gerektirir Yoğun işgücü/emek Yüksek nitelikli beceri ve deneyim gerektirir

Alkali comet (tek hücre jel elektroforez) testi

Alkali Comet testi veya tek hücreli jel elektroforezi, insan popülasyonlarında DNA hasarının değerlendirilmesi için kullanılan en popüler yöntemlerden biridir. Test hızlı, basit ve duyarlı olup, insan hücrelerinin taze veya donmuş örneklerinde mesleki veya çevresel mutajenlere maruziyetin etkisinin incelenmesi, yaşam tarzı, diyet ve gıda takviyesinin genetik kararlılık üzerindeki etkisinin ölçülmesi ve çeşitli hastalıklarla ilgili DNA hasarı seviyelerinin tespiti bu testi uygun kılan niteliklerdir. DNA hasarının varlığı veya yetersiz onarımı, kanser ve

diğer bulaşıcı olmayan hastalıkların etiyolojisinde iyi bilinen bir faktördür, bu nedenle Comet testi, teorik olarak gelecekteki hastalık riskini gösteren erken genetik hasarları tespit etmek için kullanılabilir (Milic ve diğerleri, 2021).

Comet testi, gazlar, kimyasallar ve antikanser ilaçları dahil olmak üzere çeşitli mesleki tehlikelere maruz kalan işçilerde genotoksik ajanlara maruziyetin göstergesi olarak DNA hasarını tespit etmek ve ölçmek için kullanılmıştır. Özellikle çözücülere, petrol yan ürünlerine, ağır metallere, mineral liflere ve partiküllere maruziyetin değerlendirilmesinde, insan güvenliği ve sağlık risklerinin izlenmesindeki kullanımı yaygın olarak kabul görmüştür (Azqueta ve diğerleri, 2020).

Comet testi, genetik toksikoloji, ekotoksikoloji, DNA onarımı ve apoptoz dahil olmak üzere çok çeşitli alanda uygulanmıştır. Comet testinin uygulamaları arasında DNA-DNA çapraz bağlarının saptanması ve Comet testine FISH metodolojisinin uygulanmasıyla saptanan gene özgü DNA hasarı yer alır. Ayrıca, Comet testi, oksidatif DNA lezyonları taşıyan hücresel ekstraktlardaki onarım aktivitesini ölçmek için modifiye edilebilir. En yaygın kullanımı olan modifikasyon, geniş DNA lezyon sınıflarını tespit eden spesifik DNA glikozilaz/endonükleaz enzimleri ile enzimatik kesimin dahil edilmesi olmuştur (Moller, 2006).

Comet testi, mesleki ve çevresel maruziyetlerin biyoizleme çalışmalarında genotoksisite testi olarak giderek daha popüler hale gelmiştir (Moller, 2006). DNA hasarı, genotoksik ajanlara maruziyetin biyolojik bir göstergesi ve biyolojik etkin dozun bir indeksi olarak görülebilir. Risk değerlendirmesinde, Comet testi tehlike tanımlanmasına yardımcı olabilir. DNA hasarı da kanser riskinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. DNA hasarı karsinogenezde başlatıcı olay olduğu için kanserle açıkça ilgilidir, ancak henüz insan beyaz kan hücrelerinde ölçülen yüksek düzeyde DNA hasarının yüksek kanser riskini yansıttığına dair hiçbir kanıt yoktur. Buna karşılık, kromozom aberasyonlarının ve mikroçekirdeklerin kanser için öngörücü değere sahip olduğu gösterilmiştir (Dusinska ve Collins, 2008).

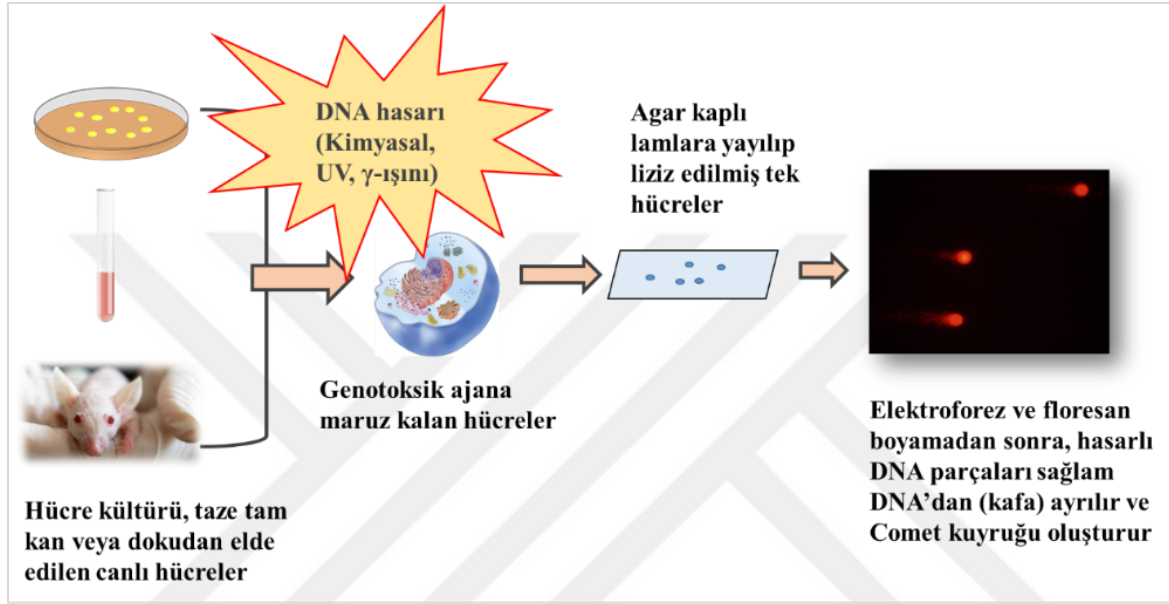
Bu testle ilgili çözüme kavuşması gereken en önemli problem, sonuçlardaki büyük bireyler arası ve laboratuvarlar arası varyasyonu açıklayabilen faktörlerin belirlenmesidir. Yaşam tarzı ve bireysel özellikler dahil olmak üzere insan biyoizleme çalışmalarında testin değişkenlik gösteren kaynakları tanımlanmıştır. Protokollerdeki ve sonuçların

yorumlanmasındaki farklılıklar, Comet testi ile çok merkezli biyoizleme çalışmalarının sonuçlarını yorumlamayı zorlaştırır. İnsan popülasyonu çalışmalarında yaygın kabul ve güvenilirliği garanti etmek için, Comet testi protokolünün standardizasyonunun sağlanması ve analiz sonuçlarını etkileyen kritik özelliklerin daha iyi bilinmesi gerekir. Bu zorluklar, geniş bir laboratuvar ağını içeren uluslararası işbirliği girişimleriyle karşılanabilir (Milic ve diğerleri, 2021).

İlk olarak ComNet adıyla bilinen Comet testi üzerine uluslararası bir ortak çalışma, Comet testinin insan biyoizlemede kullanımı için güvenilir ve valide bir biyogösterge olup olmadığını araştırmak amacıyla başlatılmıştır. hCOMET COST Aksiyonu ile mevcut çalışmalardan veri toplayarak ve sahadaki çoğu laboratuvarın protokol ayrıntılarını toplayarak yaklaşık 200,000 kişiden oluşan veri seti havuzu oluşturulmuştur. hCOMET'in amaçları, insanlarda DNA hasarı seviyesi için referans değerleri oluşturmak, konakçı faktörlerin, yaşam tarzının ve genotoksik ajanlara maruziyetin etkisini araştırmak ve farklı analiz değişkenliği kaynaklarını karşılaştırmaktır. 1999 ve 2019 yılları arasında 26 ülkede 44 laboratuvar tarafından yürütülen 105 çalışmanın verilerini bir araya getirerek 19 320 denekten oluşan bir veri tabanı oluşturulmuştur. Meta-analizin sonucu olarak, kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti (Comet testi tanımlayıcıları) için DNA zincir kırıklarının (alkali kararsız bölgeleri içeren) çeyrekler arası aralıkları rapor edilmiştir. Bazı veri kümelerinde kaydedilen yaşa göre küçük bir varyasyon, en yaşlı yaş sınıflarında daha yüksek DNA hasarı olduğunu düşündürürken, cinsiyet veya sigara içme alışkanlığına dair herhangi bir etki gösterilmemiştir, ancak ağır sigara tiryakilerine ilişkin verilerde eksiklik vardır. Son olarak, spesifik çalışmalarda araştırılan çoğu maruziyet için DNA hasarında oldukça önemli farklılıklar bulunmuştur. Sonuç olarak, Comet testi ile ölçülen DNA hasarının çeşitli koşullarda hassas bir maruziyet biyogöstergesi olduğunu doğrulayan bu verilerin, çalışma tasarımının kalitesinin iyileştirilmesine ve insan popülasyonlarında Comet testi sonuçlarının standardizasyonuna katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Milic ve diğerleri, 2021).

Comet testi, tek tek hücrelerde DNA zincir kırıklarını ölçen bir yöntemdir. Parçalanmış DNA'nın bir agaroz matrisi boyunca elektroforez altında bozulmamış DNA'dan daha hızlı göç etmesi ilkesine dayanır. Zincir kırıklarının varlığında DNA, floresan boya ile boyandığında ve floresan mikroskopu altında görüntülendiğinde bir kuyruklu yıldızın (Comet) kuyruğuna benzeyen görüntü oluşturarak anoda doğru hareket eder (Cordelli ve

diğerleri, 2021). Alkali Comet testinin prensibi Şekil 3'te sunulmuştur. Artan DNA tek zincir kırıkları ve alkali kararsız bölgelerin uyarılması, DNA'nın göç etme yeteneğinin artmasıyla sonuçlanır. Buna karşılık DNA çapraz bağlarının varlığı, DNA'nın göç etme yeteneğini azaltır (Tice ve diğerleri, 2000). Alkali Comet testinde aynı zamanda apürinik/aprimidinik (AP) bölgeleri de tespit edilebilir (Cordelli ve diğerleri, 2021).



Şekil 2.3. Alkali Comet testinin prensibi

DNA kırıkları veya AP bölgeleri fizyolojik koşullar altında, hidroliz veya $\bullet\text{OH}$ ve diğer serbest radikallerin verdiği hasar sonucu sürekli olarak üretilir. Fiziksel ve kimyasal ajanlara maruziyet hasarlı bazlar, AP bölgeleri, zincirler arası ve zincir içinde çapraz bağlar ve doğrudan zincir kırıkları olmak üzere çok sayıda DNA lezyonu üretir. Comet testinin, her biri belirli bir DNA lezyonu tipini ortaya çıkarmak için tasarlanmış çeşitli modifikasyonları kullanır ve böylece kullanım aralığı genişletilmiş olur (Cordelli ve diğerleri, 2021). Modifiye Comet testinin, genotoksik etkilerin gerçekçi bir şekilde değerlendirilmesi için önemli olabilecek, stabil olmayan DNA lezyonlarının onarımının değerlendirilmesini sağlayan, erken bir genotoksik yanıt olarak DNA zincir kırıklarını ve oksitlenmiş DNA bazlarını tespit ettiği bilinmektedir (Novotna ve diğerleri, 2019).

Comet testi, hücre başına birkaç yüz ila birkaç bin kırılma arasındaki sıklıklarda zincir kırıklarını ve alkali kararsız bölgeleri tespit edebilir. Bu biyolojik olarak faydalı bir aralıktır; düşük endojen hasar seviyelerinden hücreleri öldürmeden deneysel olarak verilebilecek

hasar derecesine kadar uzanır. Nükleotidlerin lizizden sonra belirli lezyona özgü onarım endonükleazları ile kesilmesi, zincir kırıkları dışındaki hasarların ölçülmesine izin verir. Son zamanlarda, spermelerde aynı Comet analizinde, tek zincir kırıkları ve çift zincir kırıklarını ayırt edebilen iki boyutlu bir iki kuyruklu Comet testi geliştirilmiştir (Langie ve diğerleri, 2015).

Comet testinde, sürekli ölçümler (kuyruktaki DNA yüzdesi (%T) ve kuyruk uzunluğu), kategorik ölçümler (rastgele biçimlerde görsel değerlendirme) ve ayrıca görüntülerin dağılımının çeşitli açıklamaları dahil olmak üzere çeşitli değerlendirme sistemleri vardır. DNA hasarının, kuyruk uzunluğunun %T ile çarpımı olan kuyruk momenti cinsinden ifadesi yaygın şekilde kullanılmaktadır (Moller, 2006).

Bilgisayar tabanlı görüntü analizi kullanılarak elde edilen sonuçlar genellikle kuyruktaki DNA yüzdesi, kuyruk momenti ve kuyruk uzunluğu olarak ifade edilir. Biyoizleme verilerinin meta-analizi, kuyruk momenti ve kuyruktaki % DNA'nın kullanılan genotoksik ajanların dozu ile iyi korelasyonlar verdiğini göstermiştir. Ancak kuyruk momenti standart olmayan birimlerde ölçüldüğü ve farklı görüntü analiz sistemleri ile farklı değerlere ulaşıldığı için kuyruktaki % DNA daha uygun ve anlamlıdır. Kuyruk uzunluğu elektroforez koşullarına bağlı olduğundan karşılaştırma için kullanımı zordur. Farklı çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırılması için en uygun parametrenin kuyruktaki % DNA olduğu kabul edilmiştir (Dusinska ve Collins, 2008). Kuyruktaki DNA yüzdesi diğer bir deyişle kuyruk yoğunluğu, DNA hasarının uygun bir biyolojik göstergesi olarak kabul edilir; çünkü kırıkların sıklığı ile doğrusal bir ilişki taşır, eşik ayarlarından nispeten etkilenmez ve mümkün olan en geniş aralıkta hasarın ayırt edilmesine izin verir (Lovreglio ve diğerleri, 2016).

Hem maruziyet hem de kontrol grubu bireylerden aynı gün içinde örnek almak, sonuçları etkileyen günlük deneysel varyasyon olasılığını azaltmaktadır. Bu örnek alma prosedürü her zaman için uygun olmayabilir; ancak kesinlikle kaçınılması gereken, önce maruziyet deneklerinden ve sonra tüm kontrollerden (veya tam tersi) farklı zaman dilimlerinde numune toplamaktır. Comet testinde örneklemenin gerçekleştiği zamanın diğer sitogenetik testlere (mikroçekirdek ve kromozomal aberasyon testleri) kıyasla daha önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu değişiklik mevsimsel değişiklik olarak da adlandırılmaktadır (Dusinska ve Collins, 2008).

Yaş, cinsiyet ve birçok çevresel maruziyetin Comet testi tarafından tespit edilen DNA hasarı seviyesini etkilediği belirtilmiştir. Antioksidanlar, egzersiz, güneş ışığı ve hava kirliliği gibi çevresel maruziyetlerin deneysel çalışmalarda DNA hasarının seviyesini etkiledikleri ancak kesitsel çalışmalarda çok önemli belirleyici faktörler olmadıkları gösterilmiştir. Comet testi ile DNA hasarı seviyesinin mevsimsel değişimini tanımlayan birkaç çalışma mevcuttur. Mevsimsel değişimin güneş ışığına maruziyetten kaynaklandığı öne sürülmüştür, ancak diğer mevsimsel değişikliklerin çevresel maruziyetlere katkısı göz ardı edilmemelidir (Moller, 2006). Sigaranın Comet testi ile ölçülen DNA hasarı seviyesi üzerindeki etkisi, elde edilen çelişkili sonuçlar nedeniyle açıklığa kavuşturulmamıştır (Dusinska ve Collins, 2008). Fazla kilo/obezite (vücut kitle indeksi (VKİ) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ olan bireyler) ile DNA zincir kırıkları veya oksidatif DNA hasarı arasındaki ilişki iyi tanımlanmıştır. Normal aralıktaki VKİ'nin ise, sağlıklı bireylerde DNA hasarını etkilemediği görünmektedir. Alkol tüketiminin DNA hasarı üzerindeki etkisinin Comet testi kullanılarak incelendiği birkaç insan çalışması mevcuttur; alkolün metabolizmasında ilk metabolit olan asetaldehitin çapraz bağları indüklediği ve DNA ve proteinlerle katım ürünleri oluşturduğu gösterilmiştir (Azqueta ve diğerleri, 2020).

Fiziksel egzersiz ve yaşlanmanın Comet hasarında artışa neden olduğu ve diğer genotoksisite testlerini etkilediği gösterilmiştir. Bu tür yaşam tarzı faktörleri, çalışma tasarımında dikkate alınmalıdır (Anderson ve diğerleri, 1998).

Düzenleyici kurumlar *in vivo* Comet testini genotoksisite test bataryasına dahil etmiştir (Collins, 2015). ICH S2 (R1) Kılavuzu'nda önerilen genotoksisite test bataryasında *in vivo* Comet testi üçüncü basamakta uygulanması gereken testler arasında yer almaktadır (European Medicines Agency, 2012). *In vivo* memeli alkali Comet testi OECD 489 Kılavuzu'nda yer almaktadır (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2016b).

Otuz yıl önceki ortaya çıkışından bu yana, Comet testi düşük maliyeti ve çok yönlülüğü nedeniyle dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Comet testini yürüten çok sayıda laboratuvarın protokolde yaptığı çok sayıda ufak değişiklikler, laboratuvarlar arasında sonuçların karşılaştırılabilirliği konusunda bir sorun teşkil etmektedir. Ayrıca, deneyler arasında laboratuvar içi değişkenlik sorunları sık görülmektedir. Bu değişkenlikler, mikroçekirdek veya gen mutasyonları gibi geri döndürülemez bir genotoksik etkiyi değil,

geçici, dinamik ve onarılabılır DNA hasarını ölçen bir yöntem olan Comet testi için büyük bir problem teşkil edebilir. Comet testinin performansını etkileyen önemli parametreleri belirlemek ve açıklığa kavuşturmak için önemli bir çaba sarf edilmiştir. Tüm ilerlemelere rağmen, Comet testinin *in vitro* veya biyoizleme çalışmalarında uygulanmasına yönelik fikir birliğine varılmış bir kılavuzu halen bulunmamaktadır. Geliştirilmiş test standardizasyonu, testin insan biyoizleme alanında uygulanabilirliğini artıracak gibi, sonuçları etkileyen yaş, cinsiyet, yaşam tarzı ve DNA onarımının genetiği gibi ana değişkenleri incelemeye ve risk değerlendirmesi için kohort çalışmalarından daha iyi yararlanılmasına katkı sağlayacaktır (Cordelli ve diğerleri, 2021).

İnsan çalışmalarında biyogösterge olarak hizmet eden Comet testi şu avantajlara sahiptir:

1. Yürütülmesi basit ve ekonomiktir.
2. Kan örneklerine uygulanabilir olması; vücutta dolaşan kan hücrelerinin DNA hasarının genel vücut yükünü yansıttığı varsayılır.
3. Dondurularak saklanan numuneler üzerinde gerçekleştirilebilir; ancak saklama süresi konusunda bir sınır belirlenmelidir.
4. Sadece az sayıda hücre gerektirir.
5. Hücreleri bölünmeye teşvik etmeye gerek yoktur.
6. Belirli koşullar altında başka dokular kullanılabilir; örneğin kanser ameliyatında elde edilen doku gibi.

Comet testinin avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları ve sınırlamaları da mevcuttur:

1. Dolaşımdaki beyaz kan hücreleri, sert dokularda karsinogenez için hedef hücreler değildir.
2. DNA hasarının arka plan seviyesini artırabilecek sert dokular durumunda tek hücrelerin hazırlanması gereklidir.
3. Test, özellikle laboratuvarlar arasında sonuçların karşılaştırılmasında oldukça yüksek düzeyde değişkenlik gösterir.
4. Bazı hasar türleri Comet testi ile tespit edilemez (büyük hacimli katım ürünleri) veya karmaşık modifikasyonlar gerektirir (zincirler arası çapraz bağlar).

5. İnsan hücrelerinde ölçülen DNA hasarı, zararlı ajanlara maruziyetin göstergesidir, ancak kanser riskinin öngörücü bir belirteci olarak kullanılabileceğine dair henüz bir kanıt yoktur.
6. Test, hücre başına birkaç bin lezyon hasar düzeyinde doymuştur (kuyruktaki % DNA 100'e yaklaşır) ve bu nedenle saptama aralığı diğer testlerinkinden daha azdır. Bununla birlikte bu aralık, fizyolojik olarak ilgili hasar seviyelerini (insan hücrelerinin hayatta kalabileceği seviyeleri) kapsar (Azqueta, 2020).

Comet testi ile kromozomal aberasyon ve mikroçekirdek gibi diğer end-pointler arasındaki sonuçların uyumu, özellikle meslekli tehlikelerin etkilerinin izlenmesinde, tehlikenin değerlendirilmesi için biyogösterge olarak Comet testi kullanımı artışının başlıca nedenlerinden biri olmuştur (Ladeira ve Smajdova, 2017).

2.6. Benzin İstasyonu Çalışanlarının Maruz Kaldığı Kimyasallara Duyarlılığı Tanımlamak veya Ölçmek İçin Kullanılan Biyogöstergeler

Duyarlılığın biyogöstergesi, bir organizmanın belirli bir ksenobiyotik maddeye maruziyetine yanıt verme yeteneğinin doğal veya edinilmiş göstergesidir. Absorbe edilen dozda, biyolojik olarak etkin dozda veya hedef doku yanıtında artışa neden olan genetik veya önceden var olan bir hastalık söz konusu olabilir (Harper ve Liccione, 1995). Duyarlılık biyogöstergelerine, gen polimorfizmleri veya metabolizma ve DNA onarımında rol oynayan enzimlerin aktiviteleri örnek verilebilir (Moller, 2006).

Duyarlı bireyler, çevrede aynı düzeyde benzine maruz kalan çoğu kişinin göstereceğinden farklı yanıt sergileyecektir. Böyle bir yanıtın nedenleri arasında genetik yapı (gen polimorfizmleri), gelişim aşaması, sağlık ve beslenme durumu ve kimyasal maruziyet geçmişi yer alır. Bu parametreler, detoksifikasyon ve atılım süreçlerinin (esas olarak hepatik ve renal) fonksiyonlarının azalmasına yol açabilir veya hedef organların önceden var olan bozulmuş fonksiyonlarını etkileyebilir. Bu nedenlerle, azalan organ fonksiyonuna sahip yaşlıların ve gelişmekte olan organlara sahip olan gençlerin genellikle sağlıklı yetişkinlere göre toksik maddelere karşı daha savunmasız olması beklenir (Harper ve Liccione, 1995).

Ksenobiyotiklerin metabolizmasında rol oynayan birçok enzimin polimorfik olduğu ve bu polimorfizmlerle kansere yatkınlık arasında ilişki olduğu bilinmektedir. CYP1A1, CYP1B1 ve CYP3A enzimleri çeşitli prokarsinojenlerin ve PAH'ların metabolizması ile ilgilidir.

Ksenobiyotiklerin cevabını ve DNA’da oluşturabilecekleri hasarı etkileyen bir diğer faktör de onarıcı genlerdir; bu genlerin polimorfik varyantları apoptoz, hücre proliferasyonu ve kanseri düzenleyen genlerdeki mutasyonların artışına olanak sağlayan genetik kararsızlığa neden olur (Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008). Metabolizmada rol oynayan veya DNA onarım enzimlerinin aktivitesini değiştiren tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP’ler) de DNA katım ürünlerinin oluşumunu değiştirdiği varsayılır (Naufal ve diğerleri, 2010).

Benzindeki bileşenlere maruziyetin potansiyel risklerine genetik yatkınlığın ve bireysel duyarlılığın araştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Bindhya ve diğerleri, 2010; Chanvaivit ve diğerleri, 2007; da Rosa ve diğerleri, 2013; Fustinoni ve diğerleri, 2005; Manini ve diğerleri, 2010; Mitri ve diğerleri, 2015; Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008; Priya ve diğerleri, 2015). Bu çalışmalardan bazıları, benzen metabolizmasında rol oynayan enzimlerdeki genetik polimorfizmlerin benzen toksisitesini değiştirebileceğini ve benzine maruz kalan bireyleri genetik hasar oluşumuna daha duyarlı hale getirebileceğini dolayısıyla benzin maruziyeti ile ilgili yapılacak risk değerlendirmelerinde bu durumun dikkate alınması gerektiğini belirtmişlerdir (Chanvaivit ve diğerleri, 2007; Mitri ve diğerleri, 2015; Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008). Örneğin; Tayland’da düşük dozda kronik benzene maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen bir çalışmada polimorfik *CYP2E1* ile idrar t,t-MA düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Chanvaivit ve diğerleri, 2007).

Hindistan’daki bir çalışmada da, *GSTT1* ve *GSTM1 null* genotipine sahip benzin istasyon çalışanlarında daha yüksek mikroçekirdek sıklığı görülmüştür (Priya ve diğerleri, 2015).

İtalya’daki bir çalışmada, benzenin duyarlı ve güvenilir maruziyet göstergelerinden S-PMA atılımının *GSTM1*, *GSTT1* ve *GSTA* polimorfizmlerinden etkilendiği gösterilmiştir (Manini ve diğerleri, 2010). İtalya’daki diğer bir çalışmada, benzin istasyonu çalışanları, polisler, otobüs şoförleri ve kontrol grubunda idrar t,t-MA, S-PMA ve benzen seviyeleri karşılaştırılmış ve sigara ile *CYP2E1* ve benzenin kinon metabolitlerinin detoksifikasyonunda rol oynayan NAD(P)H: kinonoksidoredüktaz 1 (*NQO1*) polimorfizmlerinin etkisi değerlendirilmiştir. Sadece idrar benzen seviyeleri maruziyetle ilgili bir artış göstermiştir. Tüm biyogöstergelerin, sigara içenlerde içmeyenlere kıyasla 8 kat daha yüksek değerlerde çıkması sigaradan güçlü bir şekilde etkilendiğini göstermiştir. *CYP2E1*’in varyant allelini taşıyan deneklerde idrar t,t-MA ve benzen seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (Fustinoni ve diğerleri, 2005).

Ekvador’da yürütülen bir çalışmada, benzin istasyonu çalışanlarında PAH’ların metabolizmasından sorumlu *CYP1A1* polimorfizmi ile DNA hasarına duyarlılık ve dolayısıyla kanser riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken, hidrokarbonlara maruz kalan işçi grubunda *MSH2* geni ekson 13 polimorfizmi ile DNA hasarı arasında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bu da, benzin istasyonu çalışanlarının *MSH2* genetik polimorfizmi varlığında daha fazla mutajenik ve karsinojenik duyarlılığa sahip olduklarını gösterir (Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008).

Brezilya’daki bir çalışmada, *CYP1A1* geninin 3798T>C polimorfizmi için, homozigot *TT* genotipine sahip olan benzin istasyonu çalışanlarında mikoçekirdek sıklığı *C* allel taşıyanlara göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunurken, kontrol grubunda veya *CYP1A1* geninin transkripsiyonunun düzenlenmesinden sorumlu polimorfik olan *NR1I3* geni için hiçbir ilişki gözlenmemiştir (da Rosa ve diğerleri, 2013). Brezilya’da yapılan başka bir çalışmada, baş ağrısı, kas krampları, karıncalanma, uyuşukluk, baş dönmesi, kilo kaybı ve tekrarlayan enfeksiyonlar gibi klinik bulguların gözlemlendiği benzin istasyonu çalışanlarında *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2E1* 7632T>A için riskle ilgili allellerin sıklığı daha yüksek, ancak *NQO1* ve *CYP2E1* 105C>T genotipleri için daha düşük çıkmıştır. Ayrıca *GSTM1 null* ile benzen toksisitesi ile ilişkili değişiklikler arasında bir ilişki bulunmuş, ancak diğer gen polimorfizmlerinin herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (Mitri ve diğerleri, 2015).

Benzin etkilerine özgü daha duyarlı biyogöstergelerin geliştirilmesi, yüksek risk altındaki popülasyonların izlenmesinde faydalı olacaktır. Benzin toksisitesine alışılmadık derecede duyarlı olan popülasyonlar hakkında sınırlı veri mevcuttur. Benzinin, muhtemelen karaciğerde metabolizması sonucu oluşan reaktif metabolitlerinden kaynaklanan, sigara içen bireylerde kardeş kromatid değişimi sıklığını artırtabileceğine dair veriler mevcuttur. Duyarlı popülasyonlarda benzin toksisitesine dair mevcut çalışmalar, toksisiteden benzen bileşenini sorumlu tutmaktadır. Genel olarak, benzen maruziyetleri çok genç ve çok yaşlılar gibi bağışıklık sistemleri optimum düzeyde çalışmayan kişiler için endişe kaynağı olabilir. Talasemi ve yetersiz beslenme varlığında benzen toksisitesi şiddetlenebilir. Ayrıca, benzenin hematotoksik etkileri etanol ile şiddetlenebilir, bu durum alkol tüketen benzine maruz kalan çalışanlar için özellikle endişe vericidir (Harper ve Liccione, 1995).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Seçimi

Çalışma kapsamında, Ankara ve Amasya illerinde faaliyet gösteren benzin istasyonlarında çalışan, benzin ve çeşitli kimyasallara kronik ve mesleki olarak maruz kalan bireyler (maruziyet grubu) ve benzin ve diğer olası genotoksik kimyasallara kronik ve mesleki olarak maruz kalmadığı bilinen Ankara'da çalışan ofis çalışanı bireyler (kontrol grubu) yer almaktadır. Benzin istasyonu çalışanları en az 1 yıl bu meslekte olan ve 18 yaşından büyük bireyler arasından seçilmiştir. Bu sektörde çok az kadın çalıştığı için kadınlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Örneklem büyüklüğünü belirlemek amacıyla yapılan güç analizinin sonucuna göre, maruziyet ve kontrol grubu arasında kuyruk momenti yönünden 0,85 arb. birimlik (arbitrary unit) bir farkın %90 güç ve %5 yanılma düzeyinde istatistiksel olarak önemliliğini test edebilmek için grupların her birine en az 37'şer örneğin dahil edilmesi öngörülmüştür. 0,85 arb. birimlik fark bilgisine Pandey vd (Pandey ve diğerleri, 2008) çalışmasından ulaşılmıştır. Örneklem genişliği hesaplamaları G*Power 3.0.10. (Franz Faul, Üniversität Kiel, Kiel, Almanya) paket programından uzman istatistikçi tarafından yapılmıştır.

3.2. Biyolojik Materyalin Toplanması

14.02.2019 tarihli etik kurul onayınca (EK-1) bilgilendirilmiş gönüllü olur formları biyolojik materyallerin toplandığı kontrol ve maruziyet grubu bireylerine imzalatılmıştır (sırasıyla EK-2 ve EK-3). Kontrol ve maruziyet grubundaki bireylere demografik bilgileri ve analiz edilecek göstergeleri etkileyeceği düşünülen faktörlerle ilgili soruların yer aldığı anket formları (sırasıyla EK-4 ve EK-5) uygulanmıştır.

Kontrol ve maruziyet grubunu oluşturan bireylerden eş zamanlı olarak 2019 yılı ilkbahar ve güz aylarında örnek toplanmıştır. Sağlık personeli tarafından benzin istasyonu çalışanları ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin kan örnekleri 10 ml steril heparinli kan tüplerine alınmıştır. Tüm analizler taze kan örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Klasik alkali Comet testi için taze kan örneklerinden lenfosit izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.3. *İn Vitro* Kromozomal Aberasyon Testi

Periferal kan lenfositlerinde kromozomal aberasyon testi Karahalil ve diğerlerine (2005) göre uygulanmıştır.

3.3.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler

İnkübatör (37°C) (Nuaire)

Buzdolabı (+4°C) (Arçelik)

Derin dondurucu (-20°C) (Arçelik)

Laminar akış kabini (Telstar Mini-V/PCR)

Hassas elektronik terazi (OHAUS)

Vorteks (Labnet)

Santrifüj cihazı (Nüve CN180)

Distile su cihazı (Nüve NS108)

Işık mikroskobu (Leica DM1000)

Su trompu

Dikey cam şale (ISOLAB)

Otomatik pipet (Thermo Scientific)

Pipet ucu (Thermo Scientific)

Pipet kutusu (Thermo Scientific)

Rodajlı lam (Superior)

Lamel (Superior)

Lam saklama kutusu (ISOLAB)

Steril kapaklı kromozom tüpü (15 ml) (Thermo Scientific)

Kromozom tüp standı (ISOLAB)

Pastör pipeti (plastik) (LP Italiana)

Pastör pipeti (cam) (ISOLAB)

Steril enjektör (Helmed)

Otoklavlanabilir cam şişe (1 l) (ISOLAB)

Steril eldiven (Perftoch)

3.3.2. Kullanılan kimyasallar

Fitohemaglutininli kromozom besi yeri (Biological Industries)

Kolsemid (Demecolcine) (Biological Industries)

Potasyum klorür (KCl) (Merck)

Giemsa boyası çözeltisi (Merck)

Metanol (Merck)

Glasiyel asetik asit (ISOLAB)

Entellan (Merck)

İmmersiyon yağı (Merck)

3.3.3. Kullanılan çözeltiler

Hipotonik KCl çözeltisi: 0,075 M KCl çözeltisi hazırlamak üzere 5,6 g KCl tartılıp 1 l'ye distile su ile tamamlanmıştır. Her kullanımdan önce taze olarak hazırlanmıştır.

Fiksatif çözeltisi: Glasiyel asetik asit ve metanol, 1:3 oranında karıştırılarak her kullanımdan önce taze olarak hazırlanmış ve deney süresince -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

%5'lik Giemsa boyası çözeltisi: 5 ml Giemsa boyası distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.3.4. Deneyin uygulanması

Dondurulmuş halde saklanan besi yeri, laminar akış kabininde steril şartlarda 5 ml porsiyonlar olacak şekilde kromozom tüplerine bölünmüştür. Her besi yerine, heparinli tüplerde bulunan kan örneklerinden 650 µl kan ilave edilip, 37°C'lik inkübatörde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon tamamlanmadan 2 saat öncesinde (inkübasyonun 46. saatinde) tüplere steril laminar akış kabini altında 0,2 µg/ml kolsemid ilave edilmiştir. Tüpler nazıkçe alt üst edilerek inkübasyonun tamamlanması için tekrar inkübatöre konmuştur. 48 saat sonunda inkübatörden alınan kromozom tüpleri 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpler çok fazla sarsılmadan süpernatant kısmı 1 ml sıvı kalıncaya kadar su trompu vasıtasıyla atılmıştır. Üzerlerine vorteksleyerek 5 ml hipotonik KCl çözeltisi eklendikten sonra, (hipotonik KCl çözeltisi deneye başlamadan önce 37°C'lik inkübatörde 1 saat bekletilmiştir),

tüpler 37°C'lik inkübatörde 20 dakika bekletilmiştir. İnkübatörden alınan kromozom tüpleri 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı atılmıştır. Üzerlerine vorteksleyerek 5 ml soğuk fiksatif çözeltisi eklenip, 1 000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatant kısmı atılmıştır. Dipteki pellet berraklaşınca kadar fiksasyon aşaması tekrarlanmıştır. Fiksasyon sonucunda her bir tüpün dibindeki pellet içinde yer alan hücreler cam pastör pipet yardımıyla en az 30 cm yükseklikten daha önceden hazırlanmış soğuk su içinde bekletilen 2 adet numaralandırılmış rodajlı lama yayılmıştır. Açık havada lamalar kurumaya bırakılmıştır.

Ertesi gün lamalar cam şale içerisine yerleştirilip üzerine %5'lik Giemsa boyası ilave edilerek 20 dakika boyamaya bırakılmıştır. Süre sonunda boya çözeltisinden çıkarılan lamalar distile su ile yıkanmıştır. Lamalar dik bir şekilde açık havada kurumaya bırakılmıştır ve sonra 1-2 damla Entellan damlatılarak lamelle kapatılmıştır. Lamalar değerlendirilinceye kadar lam saklama kutularında saklanmıştır.

Lamalar immersiyon yağı damlatılıp ışık mikroskopunda x100 objektifle değerlendirilmiştir. Her birey için 300 adet metafaz sayılmıştır ve 300 metafazdaki aberasyon sıklıkları kaydedilmiştir. Çalışmada kromatid tipi yapısal aberasyonlar arasında kromatid gap ve kromatid kırığı ile kromozom tipi yapısal aberasyonlar arasında kromozom gap, kromozom kırığı, halka kromozom, asentrik kromozom ve disentrik kromozom sıklıkları değerlendirilmiştir.

3.4. Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Testi

Periferal kan lenfositlerinde sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi Demircigil ve diğerlerine (2011) göre uygulanmıştır.

3.4.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler

İnkübatör (37°C) (Nuair)

Buzdolabı (+4°C) (Arçelik)

Derin dondurucu (-20°C) (Arçelik)

Laminar akış kabini (Telstar Mini-V/PCR)

Hassas elektronik terazi (OHAUS)

Vorteks (Labnet)

Santrifüj cihazı (Nüve CN180)
Distile su cihazı (Nüve NS108)
Işık mikroskobu (Leica DM1000)
Su trompu
Otomatik pipet (Thermo Scientific)
Otomatik pipet ucu (Thermo Scientific)
Pipet kutusu (Thermo Scientific)
Rodajlı lam (Superior)
Lamel (Superior)
Lam saklama kutusu (ISOLAB)
Steril kapaklı kromozom tüpü (15 ml) (Thermo Scientific)
Kromozom tüp standı (ISOLAB)
Pastör pipeti (plastik) (LP Italiana)
Pastör pipeti (cam) (ISOLAB)
Otoklavlanabilir cam şişe (1 l) (ISOLAB)
Steril eldiven (Perftoch)

3.4.2. Kullanılan kimyasallar

RPMI 1640 (L-Glutaminli) (Biological Industries)
Fetal Bovine Serum (FBS) (inaktive)
Penisilin-Streptomisin (Biological Industries)
Fitohemaglutinin-M (Biological Industries)
Sitokalazin-B (Sigma)
Dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck)
KCl (Merck)
Metanol (Merck)
Glasiyel asetik asit (ISOLAB)
Formaldehit (Merck)
May-Grünwald Geimsa boya çözeltisi (GBL)
Entellan (Merck)

3.4.3. Kullanılan çözeltiler

Besi yeri: 1 ml penisilin-streptomisin ve 20 ml FBS, L-Glutaminli RPMI 1640 ile 100 ml'ye tamamlanmıştır, kullanılıncaya kadar +4°C buzdolabında saklanmıştır.

Fiksatif çözeltisi: Glasiyel asetik asit ve metanol, 1:3 oranında karıştırılarak her kullanımdan önce taze olarak hazırlanmış ve deney süresince -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

Hipotonik KCl çözeltisi: 0,075 M KCl çözeltisi hazırlamak üzere 5,6 g KCl tartılıp distile su ile 1 l'ye tamamlanmıştır. Her kullanımdan önce taze olarak hazırlanmıştır.

3.4.4. Deneyin uygulanması

Steril laminar akış kabininde, daha önceden hazırlanan ve çalışmadan en az bir saat önce 37°C'lik inkübatörde bekletilen besi yeri kromozom tüplerine 2,5 ml olacak şekilde bölüştürülmüştür. Her tüpe heparinli tüplerde bulunan kanlardan 300 µl ilave edilmiştir. Lenfositlerin bölünmesini indüklemek amacıyla tüplere 56 µl fitohemaglutinin ilave edilmiştir. Tüpler vortekte hafifçe karıştırıldıktan sonra 37°C'lik inkübatöre konarak 72 saatlik inkübasyon başlatılmıştır. Inkübasyon sırasında 44. saatte, tüpler inkübatörden alınıp, laminar akış kabininde her bir tüp ışıktan korumak amacıyla alüminyum folyo ile sarılmıştır ve tüplere 15 µl sitokalazin-B ilave edilmiştir. Tüpler vorteksle hafif karıştırılıp 37°C'lik inkübatöre kaldırılmıştır.

Tüpler 72 saat sonra inkübatörden alınıp 2 000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Su trompu vasıtasıyla süpernatant 0,5 ml kalıncaya kadar çekilmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Çalışmadan önce +4°C buzdolabında bekletilen hipotonik KCl çözeltisi ile tüplerin hacmi 5 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 37°C'lik inkübatörde 3 dakika bekletildikten sonra 2 000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Su trompu ile süpernatant 1 ml kalıncaya kadar atılmış ve tüpler vortekslenmiştir. Tüplere vorteksleme esnasında pastör pipetle toplam hacim 5 ml olana kadar fiksatif çözeltisi ilave edilmiştir. Bu aşamada tüplere 1-2 damla formaldehit ilave edilmiştir. Tüpler bu şekilde oda sıcaklığında 20 dakika bekletilip, 20 dakika sonunda 2 000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Su trompu vasıtasıyla süpernatant 1 ml kalıncaya kadar atılmıştır. Fiksasyon işlemi toplam 4 kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. Daha önceden distile su ile yıkandıktan sonra distile su içerisinde buzdolabında (+4°C) bekletilerek soğutulan lamalar üzerine, en son kromozom tüplerinin diplerinde kalan 1 ml pellet içerisindeki hücreler

en az 30 cm yukarıdan cam pastör pipeti yardımıyla damlatılarak yayılmıştır. Her bir tüpteki pellet 2 adet lama yayılmış ve kurumaya bırakılmıştır.

Lamlar kuruduktan sonra May-Grünwald Giemsa boya çözeltisi ile boyanmıştır. Boyama sonrası lamlar 1-2 damla Entellan damlatılıp lamelle kapatılmıştır. Lamlar değerlendirmeye kadar lam saklama kutusunda saklanmıştır.

Değerlendirme ışık mikroskobunda x40 objektifle yapılmıştır. Her kan örneğine karşılık gelen lamlarda 2 000 adet iki çekirdekli hücre içindeki mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sayısı kaydedilmiştir.

3.5. Klasik Alkali Comet Testi

Periferal kan lenfositlerinde klasik alkali Comet testi Gopalan ve diğerlerine (2011) göre uygulanmıştır.

3.5.1. Kullanılan cihaz, alet ve sarf malzemeler

Buzdolabı (+4°C) (Arçelik)

İnkübatör (37°C) (Nuaire)

Santrifüj cihazı (Nüve CN180)

Hassas elektronik terazi (OHAUS)

Distile su cihazı (Nüve NS108)

Elektroforez tankı (Cleaver Scientific)

Güç kaynağı (Thermo EC250-90)

pH metre (Thermo Orion Star A 211)

Manyetik karıştırıcı (Boeco MSH300)

Mikrodalga fırını (White-Westinghouse Micro-Magic)

Kameralı trinoküler başlıklı floresan mikroskop (Zeiss-Axioskop 2)

Comet III yazılımı (Perspectives, UK)

Otomatik pipet (Thermo Scientific)

Pipet ucu (Thermo Scientific)

Pipet kutusu (Thermo Scientific)

Dikey cam şale (ISOLAB)

Rodajlı lam (Superior)

Lamel (Superior)

Lam saklama kutusu (ISOLAB)

Steril kapaklı kromozom tüpü (15 ml) (Thermo Scientific)

Kromozom tüp standı (ISOLAB)

Pastör pipeti (plastik) (LP Italiana)

Eppendorf tüp standı (ISOLAB)

Otoklavlanabilir cam şişe (1 l) (ISOLAB)

Steril deney tüpü (1,5 ml) (ISOLAB)

Steril eldiven (Perftoch)

3.5.2. Kullanılan kimyasallar

Fosfat Tamponlu Tuz (PBS) tableti (Sigma)

Lenfosit ayırma çözeltisi (biowest Lymphosep)

Sodyum klorür (NaCl) (amresco)

Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (amresco)

Trizma Base (Sigma)

Sodyum Hidroksit (NaOH) (Merck)

Triton-X 100 (amresco)

DMSO (Merck)

Tripan mavisi (Biological Industries)

Etanol (Merck)

%37 Hidroklorik asit (HCl) (ISOLAB)

Etidyum bromür (Sigma)

Düşük erime dereceli agar (LMA) (Prona)

Yüksek erime dereceli agar (HMA) (Prona)

3.5.3. Kullanılan çözeltiler

PBS çözeltisi: 1 adet PBS tableti 200 ml distile suda çözülüp +4°C buzdolabında muhafaza edilmiştir.

10 M NaOH çözeltisi: 400 g NaOH distile suyla 1 l'ye tamamlanmıştır.

0,2 M EDTA çözeltisi: 74,4 g EDTA distile suyla 1 l'ye tamamlanmıştır.

Stok 100 µg/ml etidyum bromür çözeltisi: 5 mg etidyum bromür 50 ml distile suda çözölmüştür. Hazırlanan bu çözelti +4°C buzdolabında saklanmıştır. Lamlar boyanacağı zaman distile su ile 1:5 oranında seyreltilerek kullanılmıştır.

Stok lizis çözeltisi: 146,1 g 2,5 M NaCl, 37,2 g 100 mM EDTA ve 1,2 g 10 mM Tris distile su ile 1 l'ye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı 10 M NaOH ile 10'a ayarlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltisi oda sıcaklığında saklanmıştır.

Lizis çözeltisi: Kullanılan her 100 ml lizis çözeltisi için, 89 ml stok lizis çözeltisi, 10 ml DMSO ve 1 ml Triton-X 100 karıştırılıp taze olarak kullanılmıştır. Deney süresince +4°C buzdolabında saklanmıştır.

Elektroforez tamponu: 37,5 ml 0,5 M NaOH ve 6,75 ml 1 mM EDTA distile su ile 1 l'ye tamamlanarak (pH'sı 13 olacak şekilde) taze olarak hazırlanıp, kullanılana kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Nötralizasyon tamponu: 48,5 g 0,4 M Tris 750 ml distile suda çözölerek, çözeltinin pH'sı derişik HCl ile 7,5'a ayarlandıktan sonra distile suyla 1 l'ye tamamlanmıştır.

%0,65'lik LMA çözeltisi: PBS içerisinde mikrodalgada ısıtılıp taze olarak hazırlandıktan sonra, deney sırasında kullanılmak üzere 37°C'lik inkübatörde tutulmuştur.

%1'lik HMA çözeltisi: Distile su içerisinde mikrodalgada hazırlanmıştır.

3.5.4. Deneyin uygulanması

Çalışmaya başlamadan önce %1'lik HMA çözeltisi hazırlandıktan sonra lamlar bu çözeltiye batırılarak kaplanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Lamlar lam saklama kutusunda çalışmaya kadar muhafaza edilmiştir. Deneyin tüm safhaları karanlıkta, pencereleri film kaplı laboratuvarı yürütölmüştür.

Periferik kan lenfositlerinin izolasyonu: Heparinli tüplere alınan 5 ml kan örnekleri, kromozom tüplerinde 1:1 oranında PBS ile seyreltilmiştir. bu karışımların dibine 1:0,5 oranında lenfosit ayırma çözeltisi eklenip, 1 200 rpm'de 10 dak santrifüj edilmiştir. Oluşan

bulutsu tabakada yer alan lenfositler eppendorf tüplere alınmıştır. Bu aşamada lenfositlere Tripan mavisi canlılık testi yapıp canlılık oranları $>99\%$ olarak tespit edilmiştir.

Daha önceden HMA çözeltisine batırılıp kurutulmuş lamalar metal, düz bir yüzey üzerine dizilmiştir. Eppendorfta karıştırılan 50 µl lenfosit ve 37°C sıcaklıktaki 100 µl LMA çözeltisi, lamaların üzerine damlatıldıktan sonra lamalar lamel ile kapatılmıştır. Her bir örnek için 2 lam hazırlanmıştır. Lamalar buzdolabında 20 dakika bekletilerek agarın donması sağlanmıştır. Süre sonunda lamaların üzerindeki lameller yavaşça çekilip lamalar soğuk Lizis çözeltisi içeren cam şaleye dizilmiştir. Lamalar Lizis çözeltisi içinde buzdolabında bir gece (16 saat) bekletilmiştir.

Bu süre sonunda lamalar elektroforez tankına dizildikten sonra üzerine soğuk elektroforez tamponu ilave edilmiştir. Lamalar tanka aralık bırakmayacak şekilde ve etiketlenen kısımları katoda gelecek şekilde dizilmiştir. Tankın etrafına ve üzerine buz aküleri yerleştirilerek, 20 dakika akım uygulanmaksızın beklenmiştir. Sonrasında 20 dakika 25 V ve 300 mA'de elektroforez uygulanmıştır.

Elektroforez sonunda lamalar cam şale içerisinde soğuk nötralizasyon tamponu içinde 3 kez 5'er dakika bekletilerek nötralize edilmiştir. Daha sonra lamalar sırasıyla %50'lik, %75'lik ve %99'luk etanolde 5'er dakika bekletilmiştir. Lamalar lam saklama kutusuna konarak buzdolabında değerlendirme yapılıncaya kadar saklanmıştır.

Değerlendirmeden önce lamaların üzerine 60 µl etidyum bromür damlatılarak lamelle kapatılmıştır. Değerlendirme kameralı, Comet Assay III yazılımlı, trinoküler başlıklı floresan mikroskop ile yapılmıştır. Her bir birey için 100 adet lenfosit, x40 objektifte, 515-560 nm eksitasyon filtreli, 100 W cıva lambalı floresan mikroskobunda seçilmiştir (elektroforez sırasında olası pozisyon etkilerini azaltmak için iki tekrarlı lamın her biri için 50 hücre seçilmesi önerilir) (Albertini ve diğerleri, 2000). Comet III yazılımı her bir örneğe ait ortalama baş ve kuyruk uzunlukları, baş ve kuyruk momentleri, baş ve kuyruk yoğunluklarını hesaplamıştır; bu veriler Excel dosyasına kaydedilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analizler

Sürekli ve kesikli sayısal değişkenlerin dağılımının normale yakın dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov testiyle varyansların homojenliği varsayımının sağlanıp sağlanmadığı ise Levene testiyle incelenmiştir. Tanımlayıcı istatistikler; sürekli ve kesikli sayısal değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma veya medyan (25. yüzdilik-75. yüzdilik) biçiminde ifade edilirken kategorik değişkenler birey sayısı ve % olarak gösterilmiştir.

Gruplar arasında ortalama değerler yönünden farkların önemliliği Student's t testi ile değerlendirilmiştir. Parametrik test istatistiği varsayımlarının sağlanmadığı sürekli ve kesikli sayısal değişkenler yönünden gruplar arasındaki farkların önemliliği; bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testi ile ikiden fazla bağımsız grup arasındaki farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir. Sürekli ve kesikli sayısal değişkenlerin birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığı ise Spearman'ın sıra sayıları korelasyon katsayıları hesaplanarak araştırılmıştır.

Kategorik verilerin analizlerinde aksi belirtilmedikçe Pearson'un χ^2 testiyle inceleme yapılmıştır. Buna karşın 2x2'lik çapraz çizelgelerde gözelerin en az $\frac{1}{4}$ 'ünde beklenen frekansın 5'in altında olması durumunda söz konusu kategorik veriler Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testiyle değerlendirilirken beklenen frekansın 5-25 arasında olduğu durumlarda Süreklilik düzeltmeli χ^2 testi kullanılmıştır.

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, kanser dışı eşlik eden hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında maruziyetin sırasıyla periferik kan lenfositlerindeki DNA hasar sıklıkları, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları ile kromozomal aberasyon sıklıkları üzerinde anlamlı etkisinin devam edip etmediği çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizleri ile araştırılmıştır. Her bir değişkene ait regresyon katsayısı, %95 güven aralığı ve t istatistikleri hesaplanmıştır. Periferik kan lenfositlerindeki DNA hasar sıklıkları, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları ile kromozomal aberasyon sıklıklarına ilişkin veriler normalden uzak dağılıma sahip olduklarından doğrusal regresyon analizlerinde logaritmik dönüşüm uygulanmıştır.

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapılmıştır. Aksi belirtilmedikçe $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak

anlamalı kabul edilmiştir. Ancak olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Demografik ve Klinik Bulgular

Bu çalışma Ankara ve Amasya’da yaşayan erkek benzin istasyonu çalışanları ile benzin ve çeşitli UOB’lere kronik olarak maruz kalmayan erkek bireyler ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin temel demografik ve klinik özelliklerine ilişkin tanımlayıcı istatistikler Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin demografik ve klinik özellikleri

	n=114
Yaş (yıl)	37,1±9,2
Yaş aralığı (yıl)	18-63
Yaş grupları	
≤35	57 (%50)
>35	57 (%50)
VKİ (kg/m ²)	26,9±3,6
VKİ	
<25 kg/m ²	38 (%33,3)
≥25 kg/m ²	76 (%66,7)
Sigara tüketimi	
Hiç içmemiş	37 (%32,4)
İçmiş bırakmış	15 (%13,2)
İçiyor	62 (%54,4)
Sigara tüketim sıklığı, adet	
Yok	52 (%45,6)
Günde <20	34 (%29,8)
Günde ≥20	28 (%24,6)
Sigara tüketim süresi, yıl	
Yok	52 (%45,6)
<10	15 (%13,2)
≥10	45 (%39,5)
Alkol tüketimi	
Hayır	82 (%71,9)
Evet	32 (%28,1)
Kahve tüketimi	
Hayır	65 (%57,0)
Evet	49 (%43,0)
Çalışma süresi (yıl)	
ort ± ss	12,0±9,5
Medyan (min-maks)	1-43
Çalışma süresi	
<7 yıl	39 (%34,2)
≥7 yıl	75 (%65,8)
Eşlik eden hastalık	
Yok	94 (%82,5)
Var	20 (%17,5)
Eşlik eden kanser dışı hastalık	
Yok	95 (%83,3)
Var	19 (%16,7)

Çizelge 4.1. (devam) Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin demografik ve klinik özellikleri

n=114	
Eşlik eden kanser	
Yok	112 (%98,2)
Var	2 (%1,8)
Ailede eşlik eden hastalık	
Yok	83 (%72,8)
Var	31 (%27,2)
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü	
Yok	99 (%86,8)
Var	15 (%13,2)
Ailede kanser öyküsü	
Yok	95 (%83,3)
Var	19 (%16,7)
İlaç kullanımı	
Hayır	104 (%91,2)
Evet	10 (%8,8)
Gıda takviyesi kullanımı	
Hayır	110 (%96,5)
Evet	4 (%3,5)
Evsel ısıtmada soba kullanımı	
Hayır	105 (%92,1)
Evet	9 (%7,9)
Radyasyon maruziyeti	
Hayır	113 (%99,1)
Evet	1 (%0,9)
Son 1 ayda PET/BT	
Hayır	113 (%99,1)
Evet	1 (%0,9)

VKİ: vücut kitle indeksi, ort: ortalama, SS: standart sapma, min: minimum, maks: maksimum, PET: pozitron emisyon tomografisi, BT: bilgisayarlı tomografi.

Kontrol grubu ve benzin istasyonu çalışanlarından oluşan maruziyet grubuna göre bireylerin demografik ve klinik özellikleri açısından karşılaştırmalar Çizelge 4.2 ve 4.3'te yer almaktadır. Kontrol grubu ile maruziyet grubu arasında sırasıyla yaş, VKİ, sigara tüketimi, alkol tüketimi, çalışma süreleri, eşlik eden kanser ve kanser dışı hastalık öyküsü, ailede kanser ve kanser dışı hastalık öyküsü, ilaç ve gıda takviyesi kullanımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubuna göre maruziyet grubunda günlük kahve tüketenlerin oranı istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,001$). Kahve tüketimi ile ilgili sonuçlar anlamlı olmasına rağmen söz konusu fark kahve tüketiminden kaynaklı olmayıp, kontrol grubundaki

bireylerin maruziyet grubuna göre kahve tüketiminin daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır; bu nedenle kahve tüketimine ilişkin istatistikler göz ardı edilebilir.

Ayrıca, kontrol grubuna göre maruziyet grubunda soba ile ısınanların oranı da istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$). Buradaki anlamlı farklılığın nedeninin maruziyet grubundaki bireylerin kontrol grubundakilere göre daha düşük sosyoekonomik statüye sahip olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Kontrol ve maruziyet grupları arasında eşlik eden kanser dışı hastalıklar çok az sayıdaki bireyde gözlemlendiği için çizelgeler içerisinde spesifik olarak belirtilmemiştir. Anket verilerine göre, kontrol grubunda 3 kişide (%4,9) kardiyovasküler hastalıklar, 4 kişide (%6,6) alerji, 1 kişide astım (%1,6), 1 kişide hiperbilirubinemi (%1,6) ve 1 kişide diyabet (%1,6) olduğu rapor edilmiştir. Maruziyet grubunda ise, 3 kişide (%5,7) kardiyovasküler hastalıklar, 1 kişide (%1,9) gut hastalığı, 1 kişide (%1,9) sedef, 3 kişide (%5,7) psikiyatrik hastalıklar ve 2 kişinin (%3,8) Hepatit B taşıyıcısı olduğu kaydedilmiştir. Ailede eşlik eden kanser dışı hastalıklar da aynı gerekçeyle çizelgeler içerisinde spesifik olarak belirtilmemiştir. Ailede kanser dışı hastalıklarla ilgili olarak, kontrol grubu arasında 3 kişi (%4,9) aile üyelerinde kardiyovasküler hastalık olduğunu ve 3 kişi (%4,9) aile üyelerinde diyabet olduğunu bildirmiştir. Maruziyet grubunda ise 3 kişinin (%5,6) aile üyelerinde kardiyovasküler hastalık olduğu ve 7 kişinin (%13,2) aile üyelerinde diyabet olduğu kaydedilmiştir.

Benzin istasyonu çalışanları arasında kanser öyküsü olan (lösemi ve lenfoma) sadece 2 kişi olduğundan istatistiksel karşılaştırmalara kontrol ve maruziyet gruplarının kanser öyküsü dahil edilmemiştir. Ayrıca, radyasyon maruziyeti ve son 1 ay içerisinde PET/BT çekimi ile ilgili örnek sayılarının az olmasından dolayı bu iki özellik istatistiksel karşılaştırmalara dahil edilmemiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin demografik ve klinik özellikleri

	Kontrol (n=61, %53,5)	Maruziyet (n=53, %46,5)	p-değeri
Yaş (yıl)	36,8±8,5	37,6±9,9	0,617†
Yaş grupları			0,348‡
≤35	33 (%54,1)	24 (%45,3)	
>35	28 (%45,9)	29 (%54,7)	
VKİ (kg/m ²)	26,5±3,2	27,5±3,9	0,141†
VKİ			0,642¶
<25 kg/m ²	22 (%36,1)	16 (%30,2)	
≥25 kg/m ²	39 (%63,9)	37 (%69,8)	
Sigara tüketimi			0,850‡
Hayır	19 (%31,1)	18 (%34,0)	
Bırakmış	9 (%14,8)	6 (%11,3)	
Evet	33 (%54,1)	29 (%54,7)	
Sigara tüketim sıklığı, adet			0,331‡
Yok	28 (%45,9)	24 (%45,3)	
Günde <20	21 (%34,4)	13 (%24,5)	
Günde ≥20	12 (%19,7)	16 (%30,2)	
Sigara tüketim süresi, yıl			0,999‡
Yok	28 (%46,7)	24 (%46,1)	
<10	8 (%13,3)	7 (%13,5)	
≥10	24 (%40,0)	21 (%40,4)	
Alkol tüketimi			0,321¶
Hayır	41 (%67,2)	41 (%77,4)	
Evet	20 (%32,8)	12 (%22,6)	
Kahve tüketimi			<0,001¶
Hayır	23 (%37,7)	42 (%79,2)	
Evet	38 (%62,3)	11 (%20,8)	
Çalışma süresi (yıl)			0,062¥
ort ± ss	13,4±9,8	10,5±9,1	
Medyan (min-maks)	11 (1-43)	8 (1-40)	
Çalışma süresi			0,203¶
<7 yıl	17 (%28,3)	22 (%41,5)	
≥7 yıl	44 (%71,7)	31 (%58,5)	

† Student's t testi, ‡ Pearson'un χ^2 testi, ¶ Süreklilik düzeltilmeli χ^2 testi, ¥ Mann Whitney U testi.

Çizelge 4.3. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin diğer klinik özellikleri

	Kontrol (n=61, %53,5)	Maruziyet (n=53, %46,5)	p-değeri
Eşlik eden hastalık			0,921†
Yok	51 (%83,6)	43 (%81,1)	
Var	10 (%16,4)	10 (%18,9)	
Eşlik eden kanser dışı hastalık			>0,999†
Yok	51 (%83,6)	44 (%83,0)	
Var	10 (%16,4)	9 (%17,0)	
Eşlik eden kanser			0,214‡
Yok	61 (%100,0)	51 (%96,2)	
Var	0 (%0,0)	2 (%3,8)	
Ailede eşlik eden hastalık			0,193†
Yok	48 (%78,7)	35 (%66,0)	
Var	13 (%21,3)	18 (%34,0)	
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü			0,397†
Yok	55 (%90,2)	44 (%83,0)	
Var	6 (%9,8)	9 (%17,0)	
Ailede kanser öyküsü			0,737†
Yok	52 (%85,2)	43 (%81,1)	
Var	9 (%14,8)	10 (%18,9)	
İlaç kullanımı			0,749‡
Hayır	55 (%90,2)	49 (%92,5)	
Evet	6 (%9,8)	4 (%7,5)	
Gıda takviyesi kullanımı			>0,999‡
Hayır	59 (%96,7)	51 (%96,2)	
Evet	2 (%3,3)	2 (%3,8)	
Evsel ısıtmada soba kullanımı			<0,001‡
Hayır	61 (%100)	44 (%83,0)	
Evet	0 (%0)	9 (%17,0)	

† Süreklilik düzeltilmeli χ^2 testi ‡ Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi.

4.2. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Comet Testine Ait Bulgular

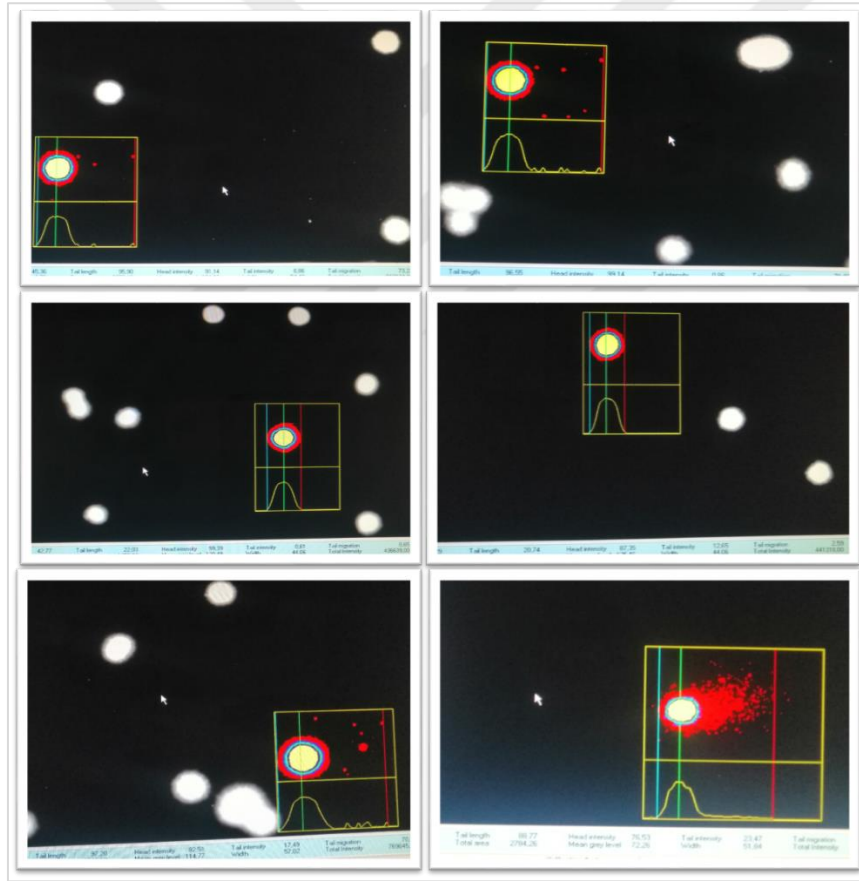
Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıkları yönünden yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.4'te verilmiştir. Floresan mikroskobuna bağlı bilgisayarda görüntülenen Comet testi ile tespit edilen DNA hasarına ait örnek görüntüler Resim 4.1'de verilmiştir.

Kontrol grubuna göre maruziyet grubunda sırasıyla kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu (kuyruktaki % DNA) ve kuyruk momenti istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$; $p=0,023$ ve $p<0,001$).

Çizelge 4.4. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları

	n	Ort	SS	25. yüzdelerik	Medyan	75. yüzdelerik	p-değeri †
Kuyruk uzunluğu (µm)							<0,001
Kontrol	61	23,91	2,23	22,18	23,94	25,20	
Maruziyet	53	55,47	23,57	37,65	46,71	69,49	
Kuyruk yoğunluğu (%)							0,023
Kontrol	61	6,62	1,29	5,66	6,46	7,29	
Maruziyet	53	7,55	2,54	6,29	7,29	8,28	
Kuyruk momenti (arb. birim)							<0,001
Kontrol	61	1,14	0,23	1,00	1,11	1,25	
Maruziyet	53	2,04	1,00	1,49	1,90	2,23	

† Mann Whitney U testi.



Resim 4.1. Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı görüntüleri

Çizelge 4.5 ve 4.6’da bireylerin çeşitli özellikleri alt gruplar içerisinde kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıkları açısından yapılan karşılaştırmalar sunulmuştur. Mevcut sonuçlara göre her bir alt grup içerisinde kontrol grubuna göre maruziyet grubunun kuyruk uzunluğu

istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$). 35 yaş ve altı bireylerde, VKİ'si 25 kg/m^2 ve üzerinde olanlarda ve 7 yıldan kısa süredir çalışanlarda kontrol grubuna göre maruziyet grubunun kuyruk yoğunluğu Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,025$). Benzer şekilde her bir alt grup içerisinde (10 yıldan az sigara içenler hariç) kontrol grubuna göre maruziyet grubunun kuyruk momenti istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,01$). Diğer alt grup analizlerinde ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0,025$).



Çizelge 4.5. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları

	n	Kuyruk uzunluğu (μ m)	Kuyruk yoğunluğu (%)	Kuyruk momenti (arb. birim)
≤ 35 yaş				
Kontrol	33	24,15 (22,07 - 25,34)	6,42 (5,85 - 7,12)	1,13 (1,01 - 1,24)
Maruziyet	24	41,79 (36,21 - 81,58)	7,52 (6,53 - 8,87)	1,93 (1,52 - 2,41)
p-değeri †		<0,001	0,011	<0,001
> 35 yaş				
Kontrol	28	23,49 (22,20 - 25,12)	6,76 (5,35 - 7,95)	1,10 (0,89 - 1,34)
Maruziyet	29	47,03 (39,68 - 64,35)	7,12 (5,98 - 8,16)	1,90 (1,47 - 2,15)
p-değeri †		<0,001	0,398	<0,001
VKİ < 25 kg/m ²				
Kontrol	22	24,36 (22,32 - 25,35)	6,65 (5,57 - 8,23)	1,15 (0,98 - 1,35)
Maruziyet	16	40,30 (36,93 - 56,50)	6,83 (6,42 - 8,42)	1,60 (1,47 - 2,18)
p-değeri †		<0,001	0,372	<0,001
VKİ ≥ 25 kg/m ²				
Kontrol	39	23,54 (22,13 - 25,20)	6,42 (5,73 - 7,23)	1,09 (1,00 - 1,22)
Maruziyet	37	47,41 (38,67 - 72,43)	7,54 (6,19 - 8,28)	1,95 (1,52 - 2,36)
p-değeri †		<0,001	0,023	<0,001
Çalışma süresi < 7 yıl				
Kontrol	17	23,94 (22,27 - 25,08)	6,69 (5,75 - 7,20)	1,13 (1,02 - 1,25)
Maruziyet	22	55,93 (36,30 - 76,16)	7,86 (6,51 - 8,71)	2,05 (1,56 - 2,43)
p-değeri †		<0,001	0,020	<0,001
Çalışma süresi ≥ 7 yıl				
Kontrol	44	23,54 (22,17 - 25,22)	6,42 (5,64 - 7,38)	1,11 (1,00 - 1,29)
Maruziyet	31	42,92 (37,78 - 62,90)	6,87 (5,85 - 7,70)	1,79 (1,47 - 2,10)
p-değeri †		<0,001	0,393	<0,001
Kanser dışı hastalık öyküsü				
Kontrol	10	24,11 (21,90 - 25,20)	6,98 (5,84 - 7,73)	1,15 (0,96 - 1,33)
Maruziyet	9	46,71 (42,56 - 61,51)	6,40 (5,84 - 6,95)	1,66 (1,47 - 1,95)
p-değeri †		<0,001	0,356	<0,001
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü				
Kontrol	6	23,55 (21,91 - 25,33)	6,33 (5,85 - 6,58)	1,05 (0,94 - 1,15)
Maruziyet	9	40,92 (37,66 - 55,22)	8,38 (6,72 - 9,42)	2,00 (1,63 - 2,36)
p-değeri †		<0,001	0,036	0,008
Ailede kanser öyküsü				
Kontrol	9	22,29 (21,71 - 23,74)	6,42 (5,77 - 7,11)	1,05 (0,92 - 1,18)
Maruziyet	10	39,39 (37,20 - 54,97)	6,74 (5,61 - 7,54)	1,78 (1,43 - 1,95)
p-değeri †		<0,001	0,661	<0,001

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 4.6. Alt gruplar içerisinde (sigara ve alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları

	n	Kuyruk uzunluğu (μ m)	Kuyruk yoğunluğu (%)	Kuyruk momenti (arb. birim)
Günde <20 adet sigara içen				
Kontrol	21	24,18 (22,41 - 25,48)	7,08 (6,29 - 8,26)	1,22 (1,05 - 1,37)
Maruziyet	13	41,29 (36,57 - 57,70)	7,12 (6,11 - 7,89)	1,77 (1,50 - 2,05)
p-değeri †		<0,001	0,944	<0,001
Günde $\geq$ 20 adet sigara içen				
Kontrol	12	23,98 (22,31 - 25,65)	6,27 (5,09 - 7,88)	1,07 (0,83 - 1,43)
Maruziyet	16	63,11 (38,19 - 89,84)	7,60 (6,30 - 10,74)	2,13 (1,62 - 2,51)
p-değeri †		<0,001	0,090	<0,001
Sigara <10 yıl içen				
Kontrol	8	24,43 (21,73 - 26,80)	7,81 (6,40 - 8,87)	1,37 (1,04 - 1,47)
Maruziyet	7	36,80 (36,16 - 54,78)	8,09 (5,46 - 10,92)	1,76 (1,31 - 2,53)
p-değeri †		<0,001	>0,999	0,152
Sigara $\geq$ 10 yıl içen				
Kontrol	24	24,25 (22,46 - 25,22)	6,44 (6,00 - 7,55)	1,19 (1,05 - 1,31)
Maruziyet	21	58,33 (40,19 - 86,89)	7,29 (6,34 - 8,28)	1,97 (1,59 - 2,25)
p-değeri †		<0,001	0,179	<0,001
Sigara tüketimi (+)				
Kontrol	33	24,18 (22,31 - 25,49)	6,72 (6,16 - 8,15)	1,20 (1,04 - 1,37)
Maruziyet	29	51,64 (37,53 - 77,85)	7,29 (6,34 - 8,51)	1,96 (1,56 - 2,25)
p-değeri †		<0,001	0,244	<0,001
Sigara tüketimi (-)				
Kontrol	28	23,18 (22,01 - 24,98)	5,99 (5,54 - 6,91)	1,07 (0,91 - 1,16)
Maruziyet	24	42,88 (37,62 - 63,52)	7,27 (6,16 - 8,08)	1,79 (1,34 - 2,24)
p-değeri †		<0,001	0,036	<0,001
Sigara bırakmış				
Kontrol	9	23,54 (21,58 - 24,74)	5,81 (5,23 - 7,00)	1,00 (0,88 - 1,13)
Maruziyet	6	41,36 (34,50 - 83,90)	6,89 (5,38 - 10,32)	1,38 (1,27 - 3,12)
p-değeri †		<0,001	0,529	0,005
Alkol tüketimi (+)				
Kontrol	20	23,05 (22,14 - 25,15)	6,65 (6,30 - 7,14)	1,12 (1,05 - 1,25)
Maruziyet	12	44,77 (37,90 - 79,46)	7,33 (5,99 - 9,75)	1,95 (1,55 - 2,37)
p-değeri †		<0,001	0,326	<0,001
Alkol tüketimi (-)				
Kontrol	41	24,08 (22,21 - 25,21)	6,28 (5,49 - 7,33)	1,09 (0,91 - 1,27)
Maruziyet	41	47,03 (37,65 - 69,49)	7,29 (6,29 - 8,16)	1,86 (1,47 - 2,23)
p-değeri †		<0,001	0,030	<0,001

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre Comet testi ile tespit edilen periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıkları açısından yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Mevcut sonuçlara göre, Comet testi ile tespit edilen periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıklarının yaş, VKİ, sigara ve alkol tüketimi, çalışma süresi,

eşlik eden kanser dışı hastalık, ailede eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser öyküsüne bağlı olarak anlamlı herhangi bir değişiklik göstermediği görülmüştür ($p>0,05$).

Çizelge 4.7. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre periferik kan lenfositlerindeki DNA hasar sıklıkları

	n	Kuyruk uzunluğu (μm)	Kuyruk yoğunluğu (%)	Kuyruk momenti (arb. birim)
Yaş				
≤35	57	26,86 (23,41 - 39,35)	6,72 (6,03 - 7,72)	1,25 (1,07 - 1,78)
>35	57	31,79 (23,49 - 47,22)	6,89 (5,66 - 8,10)	1,41 (1,06 - 1,92)
p-değeri †		0,454	0,843	0,656
VKİ				
<25 kg/m ²	38	26,52 (23,54 - 38,84)	6,74 (5,64 - 8,23)	1,36 (1,07 - 1,60)
≥25 kg/m ²	76	28,28 (23,46 - 47,31)	6,85 (5,83 - 7,68)	1,28 (1,05 - 1,95)
p-değeri †		0,601	0,938	0,685
Sigara tüketimi				
Hayır	52	26,65 (22,82 - 42,70)	6,62 (5,65 - 7,50)	1,19 (1,03 - 1,75)
Evet	62	27,08 (24,13 - 47,94)	7,10 (6,25 - 8,23)	1,44 (1,16 - 1,92)
p-değeri ‡		0,398	0,091	0,086
Sigara öyküsü				
Hiç içmemiş	37	31,79 (22,85 - 44,93)	6,69 (5,66 - 7,59)	1,20 (1,06 - 1,87)
İçmiş bırakmış	15	24,89 (22,48 - 39,79)	6,42 (5,62 - 7,36)	1,18 (0,91 - 1,47)
Sigara içen	62	27,08 (24,13 - 47,94)	7,10 (6,25 - 8,23)	1,44 (1,16 - 1,92)
p-değeri ‡		0,517	0,223	0,139
Sigara tüketim sıklığı, adet				
Yok	52	26,65 (22,82 - 42,70)	6,62 (5,65 - 7,50)	1,19 (1,03 - 1,75)
Günde <20	34	25,90 (23,97 - 40,86)	7,10 (6,29 - 8,11)	1,35 (1,16 - 1,64)
Günde ≥20	28	35,47 (24,80 - 69,80)	6,87 (6,00 - 8,81)	1,58 (1,11 - 2,17)
p-değeri ‡		0,177	0,239	0,101
Sigara tüketim süresi, yıl				
Yok	52	26,65 (22,82 - 42,70)	6,62 (5,65 - 7,50)	1,19 (1,03 - 1,75)
<10	15	27,11 (23,66 - 36,80)	8,09 (6,30 - 8,87)	1,39 (1,17 - 1,76)
≥10	45	26,86 (24,16 - 57,70)	7,07 (6,16 - 7,93)	1,46 (1,16 - 1,96)
p-değeri ‡		0,590	0,116	0,217
Alkol tüketimi				
Hayır	82	30,46 (24,04 - 47,12)	6,80 (5,67 - 7,85)	1,35 (1,07 - 1,87)
Evet	32	25,33 (22,38 - 40,58)	6,74 (6,30 - 8,00)	1,22 (1,06 - 1,76)
p-değeri †		0,212	0,632	0,636
Çalışma süresi				
<7 yıl	39	33,60 (24,15 - 61,24)	7,17 (6,26 - 8,38)	1,46 (1,13 - 2,17)
≥7 yıl	75	26,24 (22,84 - 41,08)	6,60 (5,71 - 7,57)	1,28 (1,05 - 1,68)
p-değeri †		0,166	0,131	0,092
Eşlik eden kanser dışı hastalık				
Yok	95	27,06 (23,44 - 40,92)	6,81 (5,81 - 8,13)	1,31 (1,07 - 1,90)
Var	19	26,11 (24,08 - 46,71)	6,59 (5,88 - 7,17)	1,46 (1,08 - 1,66)
p-değeri †		0,885	0,392	0,958
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü				
Yok	99	26,86 (23,44 - 42,92)	6,77 (5,73 - 7,70)	1,31 (1,08 - 1,79)
Var	15	36,80 (24,82 - 42,29)	7,05 (6,30 - 8,60)	1,46 (1,05 - 2,10)
p-değeri †		0,589	0,481	0,684
Ailede kanser öyküsü				
Yok	95	26,93 (23,94 - 46,71)	6,81 (5,88 - 8,13)	1,35 (1,07 - 1,87)
Var	19	36,43 (22,29 - 41,01)	6,42 (5,73 - 7,19)	1,22 (1,05 - 1,79)
p-değeri †		0,535	0,230	0,503

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, ‡ Kruskal Wallis testi.

Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun Comet testi ile tespit edilen periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıkları üzerine etkisi çoklu değişkenli regresyon analizi ile incelenmiştir (Çizelge 4.8’de gösterilmiştir).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede eşlik eden kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kuyruk uzunluğuna ilişkin DNA hasarı sıklığını diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,763$; %95 Güven Aralığı: 0,657-0,869 ve $p<0,001$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede eşlik eden kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kuyruk yoğunluğuna ilişkin DNA hasarı sıklığını diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,102$; %95 Güven Aralığı: 0,003-0,201 ve $p=0,043$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede eşlik eden kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kuyruk momentine ilişkin DNA hasarı sıklığını diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,520$; %95 Güven Aralığı: 0,400-0,640 ve $p<0,001$).

Çizelge 4.8. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı sıklıkları üzerine etkisi

	Regresyon katsayısı	%95 Güven Aralığı		t	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Kuyruk uzunluğu					
Maruziyet	0,763	0,657	0,869	14,249	<0,001
Yaş >35	0,005	-0,121	0,131	0,079	0,937
VKİ ≥25 kg/m ²	0,084	-0,030	0,197	1,458	0,148
Çalışma süresi ≥7 yıl	-0,050	-0,178	0,077	-0,783	0,436
Sigara bırakmış	-0,020	-0,194	0,154	-0,229	0,820
Sigara tüketimi (+)	0,092	-0,024	0,207	1,572	0,119
Alkol tüketimi (+)	-0,009	-0,131	0,112	-0,151	0,881
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,012	-0,152	0,129	-0,163	0,871
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,120	-0,277	0,038	-1,508	0,135
Kuyruk yoğunluğu					
Maruziyet	0,102	0,003	0,201	2,049	0,043
Yaş >35	0,008	-0,109	0,126	0,139	0,890
VKİ ≥25 kg/m ²	0,029	-0,077	0,136	0,550	0,583
Çalışma süresi ≥7 yıl	-0,037	-0,156	0,081	-0,624	0,534
Sigara bırakmış	0,052	-0,111	0,214	0,629	0,530
Sigara tüketimi (+)	0,089	-0,019	0,197	1,640	0,104
Alkol tüketimi (+)	0,051	-0,063	0,164	0,885	0,378
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,056	-0,188	0,075	-0,853	0,396
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	0,002	-0,145	0,149	0,025	0,980
Kuyruk momenti					
Maruziyet	0,520	0,400	0,640	8,603	<0,001
Yaş >35	0,009	-0,133	0,152	0,129	0,898
VKİ ≥25 kg/m ²	0,068	-0,060	0,197	1,055	0,294
Çalışma süresi ≥7 yıl	-0,040	-0,184	0,104	-0,552	0,582
Sigara bırakmış	-0,003	-0,199	0,194	-0,027	0,978
Sigara tüketimi (+)	0,116	-0,015	0,247	1,756	0,082
Alkol tüketimi (+)	0,041	-0,096	0,179	0,596	0,553
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,054	-0,213	0,105	-0,672	0,503
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,083	-0,261	0,095	-0,923	0,358

4.3. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Kromozomal Aberasyon Testine Ait Bulgular

Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları yönünden yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.9'da sunulmuştur. Kromozomal aberasyon sıklıkları % olarak verilmiştir.

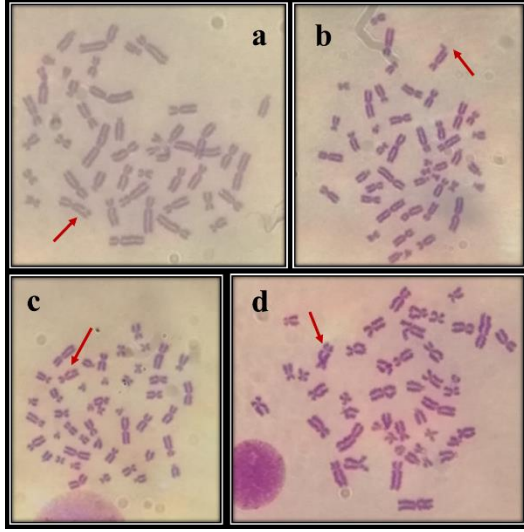
Işık mikroskobunda x100 objektifle değerlendirilen kromozomal aberasyonlara ait örnek görüntüler Resim 4.2'de gösterilmiştir.

Kontrol grubuna göre maruziyet grubunda sırasıyla kromatid gap, kromozom gap ve toplam aberasyon istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,002$; $p<0,001$ ve $p=0,002$). Gruplar arasında kromatid kırığı, kromozom kırığı ve halka kromozom açısından ise istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Halka kromozom bir birey hariç tümünde 0 (sıfır) olduğu için bundan sonraki bulgulara halka kromozoma ilişkin herhangi bir değerlendirme yapılmamıştır.

Çizelge 4.9. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Ort	SS	25. yüzdilik	Medyan	75. yüzdilik	p-değeri †
Kromatid gap							0,002
Kontrol	59	1,00	0,90	0,33	1,00	1,67	
Maruziyet	46	1,58	1,12	1,00	1,33	2,00	
Kromozom gap							<0,001
Kontrol	59	0,03	0,14	0,00	0,00	0,00	
Maruziyet	46	0,14	0,21	0,00	0,00	0,33	
Kromatid kırığı							0,679
Kontrol	59	0,32	0,40	0,00	0,00	0,67	
Maruziyet	46	0,28	0,37	0,00	0,00	0,33	
Kromozom kırığı							0,590
Kontrol	59	0,06	0,15	0,00	0,00	0,00	
Maruziyet	46	0,07	0,17	0,00	0,00	0,00	
Halka kromozom							0,257
Kontrol	59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Maruziyet	46	0,02	0,15	0,00	0,00	0,00	
Toplam aberasyon							0,002
Kontrol	59	1,40	1,19	1,00	0,67	2,00	
Maruziyet	46	2,09	1,40	2,00	1,33	2,67	

† Mann Whitney U testi.



Resim 4.2. Işık mikroskobunda x100 objektifle değerlendirilen kromozomal aberasyonlar, a) Kromatid gap, b) ve c) Kromatid kırığı, d) Kromozom kırığı

Kontrol ve maruziyet gruplarına göre periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları açısından bireylerin çeşitli özellikleri alt gruplar içerisinde yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.10, 4.11 ve 4.12’de bulunmaktadır. Kromozomal aberasyon sıklıkları % olarak verilmiştir.

35 yaş üzeri bireylerde, VKİ’si 25 kg/m^2 ve üzerinde olanlarda, çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda, alkol tüketmeyenlerde, günde 20’den az sigara içenlerde ve aktif olarak sigara içen bireylerde kontrol grubuna göre maruziyet grubunda kromatid gap sıklığı Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazladır ($p<0,025$).

Tüm yaş gruplarında, VKİ’si 25 kg/m^2 ve üzerinde olanlarda, çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda, alkol tüketmeyenlerde, sigara içenlerde ve sigara içmeyenlerde kontrol grubuna göre maruziyet grubunda kromozom gap sıklığı Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazladır ($p<0,025$).

Çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda kontrol grubuna göre maruziyet grubunda kromozom kırığı sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($p=0,016$) (Çizelge 4.12).

35 yaş üstü bireylerde, VKİ’si 25 kg/m^2 ve üzerinde olanlarda, çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda, alkol tüketmeyenlerde, günde 20’den az sigara içenlerde kontrol grubuna göre maruziyet grubunda toplam aberasyon sıklığı Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($p<0,025$).

Yapılan olası diğer tüm alt grup analizlerinde ise Bonferroni Düzeltmesine göre kontrol grubu ile maruziyet grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark yoktur ($p>0,025$).



Çizelge 4.10. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Kromatid gap	Kromozom gap	Kromatid kırığı	Kromozom kırığı	Toplam aberasyon
≤35 yaş						
Kontrol	33	0,67 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 1,83)
Maruziyet	21	1,33 (1,00 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,0 - 2,50)
p-değeri †		0,070	0,021	0,383	0,235	0,056
>35 yaş						
Kontrol	26	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,92 - 2,42)
Maruziyet	25	1,67 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,33)	2,33 (1,50 - 2,67)
p-değeri †		0,010	<0,001	0,167	0,149	0,020
VKİ <25 kg/m²						
Kontrol	21	0,33 (0,17 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,33 - 2,00)
Maruziyet	16	1,33 (0,42 - 1,92)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	2,00 (0,75 - 2,67)
p-değeri †		0,073	0,108	0,683	0,617	0,059
VKİ ≥25 kg/m²						
Kontrol	38	1,00 (0,58 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,42)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,08)
Maruziyet	30	1,33 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	2,00 (1,33 - 2,67)
p-değeri †		0,009	0,002	0,792	0,954	0,014
Çalışma süresi <7 yıl						
Kontrol	17	0,67 (0,33 - 1,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,17)	1,00 (0,67 - 1,67)
Maruziyet	19	1,00 (1,00 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,67)
p-değeri †		0,093	0,300	0,510	0,232	0,061
Çalışma süresi ≥7 yıl						
Kontrol	42	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,00)
Maruziyet	27	1,33 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	2,00 (1,33 - 3,00)
p-değeri †		0,006	<0,001	0,349	0,016	0,008

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdilik - 75. yüzdilik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 4.11. Alt gruplar içerisinde (hastalık öyküsü, alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Kromatid Gap	Kromozom gap	Kromatid kırığı	Kromozom kırığı	Toplam aberasyon
Kanser dışı hastalık öyküsü						
Kontrol	10	0,83 (0,58 - 1,42)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,17 (0,92 - 1,67)
Maruziyet	8	1,17 (0,75 - 1,92)	0,00 (0,00 - 0,25)	0,00 (0,00 - 0,25)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,50 (0,75 - 2,00)
p-değeri †		0,315	0,408	0,146	>0,999	0,573
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü						
Kontrol	6	1,33 (0,50 - 2,58)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,17 (0,00 - 1,08)	0,00 (0,00 - 0,08)	1,50 (0,50 - 3,75)
Maruziyet	9	1,00 (1,00 - 1,83)	0,00 (0,00 - 0,17)	0,33 (0,00 - 0,83)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,83)
p-değeri †		0,955	0,529	>0,999	0,607	0,689
Ailede kanser öyküsü						
Kontrol	8	1,50 (1,00 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,83)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,50 (1,00 - 2,5)
Maruziyet	10	1,33 (0,92 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,17 - 2,75)
p-değeri †		>0,999	0,173	0,829	0,762	0,633
Alkol tüketimi (+)						
Kontrol	20	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	3,00 (0,67 - 2,25)
Maruziyet	11	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,00)	4,00 (0,67 - 2,33)
p-değeri †		0,730	0,104	0,113	0,855	0,699
Alkol tüketimi (-)						
Kontrol	39	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,00)
Maruziyet	35	1,67 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	2,00 (1,33 - 2,67)
p-değeri †		<0,001	0,003	0,470	0,824	<0,001

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 4.12. Alt gruplar içerisinde (sigara tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Kromatid gap	Kromozom gap	Kromatid kırığı	Kromozom kırığı	Toplam aberasyon
Günde <20 adet sigara içen						
Kontrol	21	1,00 (0,33 - 1,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 2,00)
Maruziyet	12	1,67 (1,33 - 2,00)	0,17 (0,00 - 0,33)	0,17 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,25)	2,33 (1,67 - 3,17)
p-değeri †		0,016	0,030	0,427	0,449	0,018
Günde ≥20 adet sigara içen						
Kontrol	11	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,33 - 1,33)
Maruziyet	12	1,00 (0,67 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,58)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,17 (0,75 - 2,25)
p-değeri †		0,347	0,525	0,976	0,740	0,347
Sigara <10 yıl içen						
Kontrol	8	0,50 (0,08 - 1,17)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,17 (0,00 - 0,58)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,67 (0,17 - 1,75)
Maruziyet	7	1,33 (1,00 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,67)
p-değeri †		0,072	0,955	0,779	0,694	0,152
Sigara ≥10 yıl içen						
Kontrol	23	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 2,00)
Maruziyet	16	1,33 (0,75 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,83 (1,00 - 2,33)
p-değeri †		0,207	0,050	0,388	0,582	0,177
Sigara tüketimi (+)						
Kontrol	32	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,17 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 1,83)
Maruziyet	24	1,33 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,58)
p-değeri †		0,023	0,002	0,534	0,677	0,027
Sigara tüketimi (-)						
Kontrol	27	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (0,67 - 2,33)
Maruziyet	22	1,50 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,17 (0,00 - 0,42)	0,00 (0,00 - 0,08)	2,00 (1,33 - 2,67)
p-değeri †		0,035	0,008	0,957	0,775	0,037
Sigara bırakmış						
Kontrol	8	0,67 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,17 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,25)	1,50 (0,33 - 1,92)
Maruziyet	5	2,00 (0,83 - 4,17)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,33)	2,00 (1,17 - 5,00)
p-değeri †		0,222	0,943	0,833	0,833	0,222

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre periferik kans lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları açısından yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.13 ve 4.14’de gösterilmiştir. Kromozomal aberasyon sıklıkları % olarak verilmiştir.

Mevcut sonuçlara göre yaş, VKİ, sigara tüketimi, alkol tüketimi, çalışma süresi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser öyküsüne bağlı olarak kromatid gap, kromozom gap, kromatid kırığı ve kromozom kırığı üzerinde anlamlı herhangi bir değişim bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca, toplam aberasyon üzerinde yaş hariç diğer faktörlerden hiçbirinin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmemiştir ($p>0,05$). Buna karşın 35 yaş ve altı bireylere göre 35 yaş üzeri bireylerde toplam aberasyon istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,017$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) göre kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Kromatid gap	Kromozom gap	Kromatid kırığı	Kromozom kırığı	Toplam aberasyon
Yaş						
≤35	54	1,00 (0,33 - 1,42)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,17 (0,67 - 2,00)
>35	51	1,33 (0,67 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	2,00 (1,00 - 2,67)
p-değeri †		0,081	0,272	0,286	0,214	0,017
VKİ						
<25 kg/m ²	37	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,33)
≥25 kg/m ²	68	1,00 (0,75 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,58)
p-değeri †		0,055	0,333	0,127	0,703	0,143
Çalışma süresi						
<7 yıl	36	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,25)
≥7 yıl	69	1,33 (0,67 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,0 (0,00 - 0,58)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,33)
p-değeri †		0,377	0,615	0,832	0,446	0,356
Eşlik eden kanser dışı hastalık						
Yok	87	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (0,67 - 2,67)
Var	18	1,00 (0,67 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (1,14 - 1,75)
p-değeri †		0,794	0,325	0,506	0,050	0,398
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü						
Yok	90	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,33)
Var	15	1,00 (1,00 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 1,00)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 3,00)
p-değeri †		0,355	0,511	0,395	0,308	0,405
Ailede kanser öyküsü						
Yok	87	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,33)
Var	18	1,33 (1,00 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,08)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,50 (1,00 - 2,42)
p-değeri †		0,231	0,784	0,406	0,203	0,455

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, ‡ Kruskal Wallis testi.

Çizelge 4.14. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine (sigara ve alkol tüketimi) göre kromozomal aberasyon sıklıkları

	n	Kromatid gap	Kromozom gap	Kromatid kırığı	Kromozom kırığı	Toplam aberasyon
Sigara tüketimi						
Hayır	49	1,33 (0,50 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,67)
Evet	56	1,00 (0,42 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,33)
p-değeri ‡		0,408	0,366	0,845	0,159	0,191
Sigara öyküsü						
Hiç içmemiş	36	1,17 (0,75 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,25)	0,17 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (0,33 - 2,67)
İçmiş bırakmış	13	1,67 (0,33 - 2,00)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,33)	1,67 (0,67 - 2,33)
Sigara içen	56	1,00 (0,42 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,67 - 2,33)
p-değeri ‡		0,710	0,581	0,825	0,183	0,420
Sigara tüketim sıklığı, adet						
Yok	49	1,33 (0,50 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,67)
Günde <20	33	1,33 (0,67 - 1,83)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (0,83 - 2,50)
Günde ≥20	23	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 2,00)
p-değeri ‡		0,332	0,335	0,853	0,201	0,565
Sigara tüketim süresi, yıl						
Yok	49	1,33 (0,50 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,50)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,67)
<10	15	1,00 (0,33 - 1,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,33 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 2,00)
≥10	39	1,00 (0,67 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,33 (1,00 - 2,33)
p-değeri ‡		0,436	0,560	0,958	0,350	0,287
Alkol tüketimi						
Hayır	74	1,17 (0,67 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,17 (0,00 - 0,33)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,67 (1,00 - 2,42)
Evet	31	1,00 (0,33 - 1,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 (0,00 - 0,67)	0,00 (0,00 - 0,00)	1,00 (0,67 - 2,33)
p-değeri ‡		0,192	0,266	0,979	0,098	0,138

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, ‡ Kruskal Wallis testi.

Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkisi çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi ile incelenmiştir (Çizelge 4.15'te gösterilmiştir).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kromatid gap düzeyini diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,399$; %95 Güven Aralığı: 0,138-0,661 ve $p=0,003$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kromozom gap düzeyini diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,252$; %95 Güven Aralığı: 0,127-0,378 ve $p<0,001$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kromatid kırığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değiştirici etkisi gözlenmemiştir ($B=-0,113$; %95 Güven Aralığı: -0,338 – 0,112 ve $p=0,322$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin kromozom kırığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değiştirici etkisi gözlenmemiştir ($B=0,034$; %95 Güven Aralığı: -0,086 – 0,155 ve $p=0,571$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin toplam aberasyon üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değiştirici etkisi gözlenmemiştir ($B=0,387$; %95 Güven Aralığı: 0,103-0,670 ve $p=0,008$).

Çizelge 4.15. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkisi

	Regresyon katsayısı	%95 Güven Aralığı		t	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Kromatid gap					
Maruziyet	0,399	0,138	0,661	3,030	0,003
Yaş >35	0,065	-0,242	0,372	0,418	0,677
VKİ ≥25 kg/m2	0,295	0,017	0,572	2,107	0,038
Çalışma süresi ≥7 yıl	0,101	-0,212	0,413	0,639	0,524
Sigara bırakmış	-0,052	-0,483	0,379	-0,239	0,811
Sigara tüketimi (+)	0,009	-0,273	0,291	0,062	0,951
Alkol tüketimi (+)	-0,141	-0,433	0,151	-0,960	0,339
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,050	-0,390	0,290	-0,292	0,771
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	0,142	-0,233	0,518	0,752	0,454
Kromozom gap					
Maruziyet	0,252	0,127	0,378	3,992	<0,001
Yaş >35	-0,006	-0,153	0,142	-0,077	0,939
VKİ ≥25 kg/m ²	0,057	-0,076	0,190	0,847	0,399
Çalışma süresi ≥7 yıl	0,071	-0,079	0,220	0,935	0,352
Sigara bırakmış	-0,018	-0,224	0,189	-0,169	0,866
Sigara tüketimi (+)	-0,044	-0,180	0,091	-0,652	0,516
Alkol tüketimi (+)	-0,017	-0,157	0,123	-0,244	0,808
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,109	-0,272	0,054	-1,328	0,187
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,109	-0,289	0,071	-1,198	0,234
Kromatid kırığı					
Maruziyet	-0,113	-0,338	0,112	-0,995	0,322
Yaş >35	0,253	-0,011	0,518	1,901	0,060
VKİ ≥25 kg/m ²	-0,199	-0,438	0,040	-1,655	0,101
Çalışma süresi ≥7 yıl	-0,082	-0,350	0,187	-0,602	0,549
Sigara bırakmış	-0,164	-0,535	0,207	-0,877	0,383
Sigara tüketimi (+)	-0,093	-0,336	0,150	-0,763	0,447
Alkol tüketimi (+)	-0,001	-0,252	0,250	-0,010	0,992
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,117	-0,410	0,176	-0,794	0,429
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	0,245	-0,078	0,568	1,506	0,135

Çizelge 4.15. (devam) Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun periferik kan lenfositlerindeki kromozomal aberasyon sıklıkları üzerine etkisi

	Regresyon katsayısı	%95 Güven Aralığı		t	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Kromozom kırığı					
Maruziyet	0,034	-0,086	0,155	0,569	0,571
Yaş >35	0,030	-0,111	0,171	0,420	0,675
VKİ ≥25 kg/m ²	0,021	-0,106	0,149	0,334	0,739
Çalışma süresi ≥7 yıl	0,051	-0,093	0,195	0,706	0,482
Sigara bırakmış	0,052	-0,146	0,250	0,520	0,604
Sigara tüketimi (+)	-0,050	-0,180	0,080	-0,768	0,444
Alkol tüketimi (+)	-0,053	-0,187	0,081	-0,779	0,438
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,159	-0,315	-0,003	-2,019	0,046
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,054	-0,226	0,119	-0,618	0,538
Toplam aberasyon					
Maruziyet	0,387	0,103	0,670	2,707	0,008
Yaş >35	0,183	-0,150	0,516	1,090	0,278
VKİ ≥25 kg/m ²	0,204	-0,097	0,505	1,343	0,183
Çalışma süresi ≥7 yıl	0,070	-0,269	0,408	0,408	0,684
Sigara bırakmış	-0,058	-0,526	0,409	-0,247	0,805
Sigara tüketimi (+)	-0,065	-0,371	0,241	-0,423	0,673
Alkol tüketimi (+)	-0,131	-0,447	0,185	-0,822	0,413
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,120	-0,488	0,249	-0,644	0,521
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	0,142	-0,265	0,549	0,692	0,490

4.4. Periferik Kan Lenfositlerinde Yapılan Sitokinezin Durdurulduğu Mikroçekirdek Testine Ait Bulgular

Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları açısından yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.16’da yer almaktadır. Mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları ‰ olarak verilmiştir.

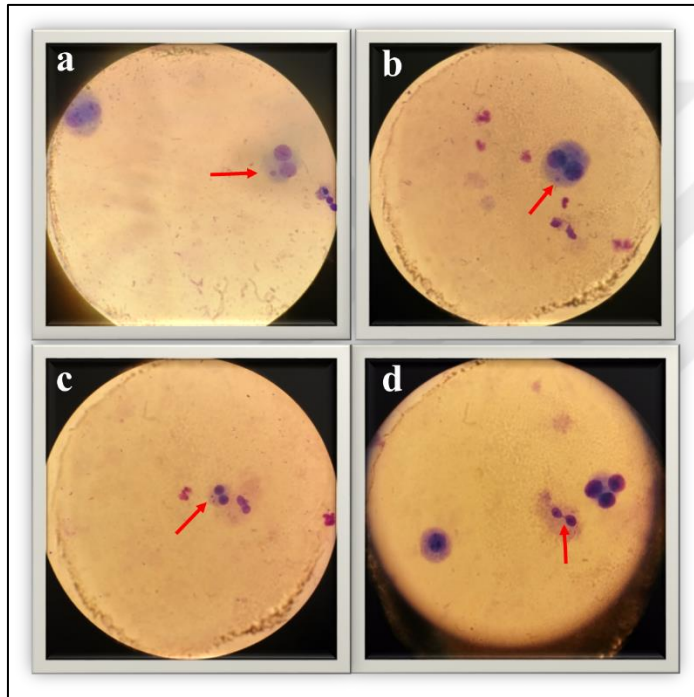
Işık mikroskobunda x40 büyütme ile değerlendirilen mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprülere ait örnek görüntüler Resim 4.3’te verilmiştir.

Kontrol grubuna kıyasla maruziyet grubunda sırasıyla mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p < 0,001$).

Çizelge 4.16. Kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları

	n	Ort	SS	25. yüzdilik	Medyan	75. yüzdilik	p-değeri †
Mikroçekirdek							<0,001
Kontrol	40	8,93	4,81	9,00	5,63	12,00	
Maruziyet	47	15,77	10,34	12,50	8,50	19,50	
Nükleoplazmik köprü							<0,001
Kontrol	40	0,17	0,43	0,00	0,00	0,00	
Maruziyet	47	1,26	1,55	0,25	0,00	1,00	

† Mann Whitney U testi.



Resim 4.1. Periferik kan lenfositlerinde sitokinezin durdurduğu mikroçekirdek testi ile tespit edilen biyogöstergeler. **a ve b.** İki çekirdekli hücrelerde 1'er adet mikroçekirdek **c.** İki çekirdekli hücrede 2 adet mikroçekirdek **d.** Nükleoplazmik köprü

Bireylerin çeşitli özellikleri alt gruplar içerisinde kontrol ve maruziyet gruplarına göre mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları yönünden yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.17 ve 4.18'de verilmiştir. Mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları ‰ olarak verilmiştir.

Tüm yaş gruplarında, tüm VKİ düzeylerinde, çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda, günde 20'den az sigara içenlerde, 10 yıl ve daha uzun süredir sigara içenlerde, gerek aktif olarak sigara içen gerekse içmiş bırakmış olanlarda ve alkol tüketmeyen bireyler içerisinde kontrol

grubuna göre maruziyet grubunun mikroçekirdek sayısı Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,025$). Diğer alt grup analizlerinde ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark yoktur ($p>0,025$).

Tüm yaş gruplarında, tüm VKİ düzeylerinde, çalışma süresi 7 yıl ve üzeri olanlarda, kanser dışı hastalık öyküsü olanlarda, ailede kanser öyküsü olanlarda, günde 20'den az sigara içenlerde, 10 yıl ve daha uzun süredir sigara içenlerde, gerek hiç sigara içmemiş gerekse aktif olarak sigara içenlerde ve alkol tüketen ve tüketmeyen bireyler içerisinde kontrol grubuna göre maruziyet grubunun nükleoplazmik köprü sıklığı Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,025$).

Diğer alt grup analizlerinde ise Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0,025$).

Çizelge 4.17. Alt gruplar içerisinde (yaş, VKİ, çalışma süresi, hastalık öyküsü) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları

	n	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
≤35 yaş			
Kontrol	19	6,50 (6,50 - 11,50)	0,00 (0,00 - 0,50)
Maruziyet	19	11,50 (7,50 - 19,50)	0,50 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,014	0,015
>35 yaş			
Kontrol	21	9,50 (5,25 - 13,25)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	28	14,25 (9,38 - 19,88)	0,75 (0,00 - 2,38)
p-değeri †		0,005	<0,001
VKİ <25 kg/m ²			
Kontrol	16	9,25 (1,75 - 12,00)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	12	13,75 (8,88 - 21,00)	0,75 (0,13 - 2,38)
p-değeri †		0,020	0,004
VKİ ≥25 kg/m ²			
Kontrol	24	8,25 (6,50 - 12,75)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	35	12,50 (8,50 - 19,50)	0,50 (0,00 - 2,00)
p-değeri †		0,002	<0,001
Çalışma süresi <7 yıl			
Kontrol	10	7,75 (5,88 - 12,75)	0,00 (0,00 - 0,50)
Maruziyet	18	11,50 (8,13 - 19,63)	0,50 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,051	0,226
Çalışma süresi ≥7 yıl			
Kontrol	30	9,25 (5,38 - 12,25)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	29	13,50 (9,25 - 20,50)	1,00 (0,25 - 2,25)
p-değeri †		<0,001	<0,001
Kanser dışı hastalık öyküsü			
Kontrol	6	5,75 (2,88 - 12,38)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	9	11,50 (9,75 - 19,50)	1,00 (0,50 - 2,00)
p-değeri †		0,066	0,003
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü			
Kontrol	4	6,50 (4,25 - 6,50)	0,0 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	9	9,00 (6,50 - 11,50)	0,50 (0,00 - 2,25)
p-değeri †		0,076	0,148
Ailede kanser öyküsü			
Kontrol	6	9,75 (8,38 - 10,88)	0,0 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	10	12,50 (7,38 - 16,38)	1,75 (0,75 - 3,25)
p-değeri †		0,428	0,007

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltilmesine göre p<0,025 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. 2000 hücredeki mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları verilmiştir.

Çizelge 4.18. Alt gruplar içerisinde (sigara ve alkol tüketimi) kontrol ve maruziyet gruplarına göre bireylerin mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları

	n	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
Günde <20 adet sigara içen			
Kontrol	15	6,50 (6,00 - 11,50)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	12	19,25 (8,50 - 23,00)	0,50 (0,13 - 1,75)
p-değeri †		0,007	0,016
Günde ≥20 adet sigara içen			
Kontrol	7	9,50 (1,5 - 15,00)	0,00 (0,00 - 0,50)
Maruziyet	12	14,75 (7,5 - 19,38)	0,50 (0,0 - 1,38)
p-değeri †		0,100	0,167
Sigara <10 yıl içen			
Kontrol	6	8,00 (3,88 - 11,13)	0,00 (0,00 - 1,25)
Maruziyet	5	8,50 (5,50 - 26,25)	0,50 (0,0 - 1,25)
p-değeri †		0,537	0,662
Sigara ≥10 yıl içen			
Kontrol	15	6,50 (1,50 - 12,00)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	18	18,25 (8,88 - 21,75)	0,50 (0,00 - 1,13)
p-değeri †		<0,001	0,003
Sigara tüketimi (+)			
Kontrol	22	6,50 (8,88 - 12,00)	0,00 (0,00 - 0,13)
Maruziyet	24	16,75 (8,50 - 21,50)	0,50 (0,00 - 1,38)
p-değeri †		<0,001	0,002
Sigara tüketimi (-)			
Kontrol	18	9,25 (6,25 - 14,00)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	23	11,50 (9,00 - 17,50)	1,50 (0,00 - 2,50)
p-değeri †		0,047	<0,001
Sigara bırakmış			
Kontrol	8	7,50 (5,38 - 9,88)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	5	17,50 (12,25 - 26,75)	0,50 (0,0 - 1,75)
p-değeri †		0,006	0,093
Alkol tüketimi (+)			
Kontrol	12	7,75 (5,38 - 11,75)	0,00 (0,00 - 0,38)
Maruziyet	9	11,50 (7,75 - 17,00)	2,00 (0,25 - 3,50)
p-değeri †		0,148	0,012
Alkol tüketimi (-)			
Kontrol	28	9,25 (5,63 - 12,75)	0,00 (0,00 - 0,00)
Maruziyet	38	13,00 (8,50 - 20,75)	0,50 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		<0,001	<0,001

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. 2000 hücredeki mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları verilmiştir.

Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları açısından yapılan karşılaştırmalar Çizelge 4.19'da yer almaktadır. Mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları % olarak verilmiştir.

Mevcut sonuçlara göre yaş, VKİ, sigara tüketimi, alkol tüketimi, çalışma süresi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser öyküsüne bağlı olarak mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları üzerinde anlamlı herhangi bir değişim yoktur ($p>0,05$). Buna karşın ailede eşlik eden kanser dışı hastalığa sahip olanların sırasıyla mikroçekirdek sayısı ve mikroçekirdekli hücre sayısı istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktür ($p=0,023$ ve $p=0,037$).



Çizelge 4.19. Tüm bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları

	n	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
Yaş			
≤35	38	9,00 (6,50 - 15,13)	0,00 (0,00 - 0,63)
>35	49	11,50 (8,25 - 17,00)	0,00 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,104	0,740
VKİ			
<25 kg/m ²	28	10,25 (5,38 - 15,75)	0,00 (0,00 - 0,88)
≥25 kg/m ²	59	11,00 (7,50 - 16,50)	0,00 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,406	0,648
Sigara tüketimi			
Hayır	41	11,00 (7,75 - 15,75)	0,00 (0,00 - 1,50)
Evet	46	5,13 (6,50 - 17,88)	0,00 (0,00 - 1,00)
p-değeri ‡		0,601	0,933
Sigara öyküsü			
Hiç içmemiş	28	11,00 (8,63 - 15,38)	0,50 (0,00 - 1,88)
İçmiş bırakmış	13	10,00 (7,00 - 17,00)	0,00 (0,00 - 0,25)
Sigara içen	46	10,25 (6,50 - 17,88)	0,00 (0,00 - 1,00)
p-değeri ‡		0,831	0,154
Sigara tüketim sıklığı, adet			
Yok	41	11,00 (7,75 - 15,75)	0,00 (0,00 - 1,50)
Günde <20	27	8,50 (6,50 - 19,00)	0,00 (0,00 - 1,00)
Günde ≥20	19	13,50 (7,0 - 17,50)	0,50 (0,00 - 1,00)
p-değeri ‡		0,633	0,906
Sigara tüketim süresi, yıl			
Yok	41	11,00 (7,75 - 15,75)	0,00 (0,00 - 1,50)
<10	11	8,50 (5,00 - 11,50)	0,00 (0,00 - 1,00)
≥10	33	12,00 (6,50 - 19,25)	0,00 (0,00 - 0,75)
p-değeri ‡		0,341	0,964
Alkol tüketimi			
Hayır	66	11,00 (7,50 - 16,75)	0,00 (0,00 - 1,00)
Evet	21	9,00 (6,50 - 15,50)	0,00 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,222	0,700
Çalışma süresi			
<7 yıl	28	9,25 (7,00 - 18,25)	0,50 (0,0 - 0,50)
≥7 yıl	59	11,00 (7,50 - 16,00)	0,00 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,782	0,808
Eşlik eden kanser dışı hastalık			
Yok	72	10,75 (7,00 - 16,00)	0,00 (0,00 - 0,88)
Var	15	11,00 (6,00 - 19,50)	0,50 (0,00 - 1,50)
p-değeri †		0,727	0,507
Ailede kanser dışı hastalık öyküsü			
Yok	74	11,50 (7,50 - 16,75)	0,00 (0,00 - 1,00)
Var	13	7,00 (6,25 - 10,75)	0,00 (0,00 - 1,75)
p-değeri †		0,023	0,840
Ailede kanser öyküsü			
Yok	71	11,00 (7,00 - 16,50)	0,00 (0,00 - 0,50)
Var	16	10,25 (15,0 - 13,50)	0,50 (0,00 - 2,75)
p-değeri †		0,844	0,208

Tanımlayıcı istatistikler; medyan (25. yüzdelerik - 75. yüzdelerik) biçiminde ifade edilmiştir. † Mann Whitney U testi, ‡ Kruskal Wallis testi.

2000 hücredeki mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları verilmiştir.

Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları üzerine çoklu değişkenli regresyon analizi ile incelenmiştir (Çizelge 4.20’de gösterilmiştir).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin mikroçekirdek sıklığını diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,642$; %95 Güven Aralığı: 0,356-0,928 ve $p<0,001$).

Yaş, VKİ, çalışma süresi, sigara tüketimi, alkol tüketimi, eşlik eden kanser dışı hastalık ve ailede kanser dışı hastalık öyküsüne göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyetin nükleoplazmik köprü sıklığını diğer faktörlerden bağımsız olarak artırmaya devam ettiği görülmüştür ($B=0,804$; %95 Güven Aralığı: 0,505-1,104 ve $p<0,001$).

Çizelge 4.20. Bireylerin demografik ve klinik özelliklerine göre düzeltme yapıldığında kontrol grubuna göre maruziyet grubunun mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları üzerine etkisi

	Regresyon katsayısı	%95 Güven Aralığı		t	p-değeri
		Alt sınır	Üst sınır		
Mikroçekirdek					
Maruziyet	0,642	0,356	0,928	4,466	<0,001
Yaş >35	0,009	-0,323	0,340	0,051	0,959
VKİ ≥ 25 kg/m ²	0,301	-0,007	0,610	1,945	0,055
Çalışma süresi ≥ 7 yıl	0,104	-0,233	0,442	0,614	0,541
Sigara bırakmış	-0,011	-0,453	0,430	-0,051	0,959
Sigara tüketimi (+)	0,001	-0,308	0,311	0,007	0,994
Alkol tüketimi (+)	0,058	-0,285	0,401	0,338	0,736
Eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,245	-0,611	0,121	-1,332	0,187
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,463	-0,879	-0,047	-2,215	0,030
Nükleoplazmik köprü					
Maruziyet	0,804	0,505	1,104	5,344	<0,001
Yaş >35	0,001	-0,346	0,348	0,007	0,995
VKİ ≥ 25 kg/m ²	-0,023	-0,346	0,300	-0,140	0,889
Çalışma süresi ≥ 7 yıl	0,180	-0,174	0,533	1,012	0,315
Sigara bırakmış	-0,302	-0,764	0,160	-1,302	0,197
Sigara tüketimi (+)	-0,118	-0,442	0,206	-0,726	0,470
Alkol tüketimi (+)	0,237	-0,122	0,596	1,315	0,192
Eşlik eden kanser dışı hastalık	0,022	-0,361	0,405	0,115	0,909
Ailede eşlik eden kanser dışı hastalık	-0,228	-0,664	0,208	-1,041	0,301

4.5. Korelasyon Bulguları

Çizelge 4.21, 4.22 ve 4.23'te sırasıyla tüm bireyler, kontrol ve maruziyet grupları içerisinde periferik kan lenfositlerindeki DNA hasarı sıklıkları, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklıkları ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.21. Tüm bireyler içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk uzunluğu	Kuyruk yoğunluğu	Kuyruk momenti	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
Kuyruk uzunluğu					
Korelasyon katsayısı				0,422	0,421
p-değeri †				<0,001	<0,001
Kuyruk yoğunluğu					
Korelasyon katsayısı				-0,035	-0,106
p-değeri †				0,745	0,327
Kuyruk momenti					
Korelasyon katsayısı				0,267	0,254
p-değeri †				0,012	0,017
Kromatid gap					
Korelasyon katsayısı	0,179	0,121	0,201	0,069	0,022
p-değeri †	0,067	0,219	0,040	0,546	0,851
Kromozom gap					
Korelasyon katsayısı	0,383	0,095	0,334	0,182	0,316
p-değeri †	<0,001	0,333	<0,001	0,110	0,005
Kromatid kırığı					
Korelasyon katsayısı	-0,122	0,148	-0,001	-0,155	-0,232
p-değeri †	0,213	0,131	0,994	0,174	0,041
Kromozom kırığı					
Korelasyon katsayısı	0,034	-0,026	-0,038	0,105	-0,042
p-değeri †	0,732	0,789	0,703	0,360	0,715
Toplam aberasyon					
Korelasyon katsayısı	0,171	0,135	0,192	0,039	0,007
p-değeri †	0,081	0,171	0,050	0,737	0,954

† Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi.

Tüm bireyler içerisinde kuyruk uzunluğu artıkça mikroçekirdek ($r=0,422$, $p<0,001$) ve nükleoplazmik köprü sıklığı ($r=0,421$, $p<0,001$) istatistiksel anlamlı olarak artmaktadır. Kuyruk momenti artıkça mikroçekirdek ($r=0,267$, $p=0,012$) ve nükleoplazmik köprü sıklığı ($r=0,254$, $p=0,017$) da istatistiksel anlamlı olarak artmaktadır. Kromatid gap sıklığı artarken kuyruk momentinin de istatistiksel anlamlı olarak arttığı görülmektedir ($r=0,201$, $p=0,04$). Kromozom gap sıklığı artıkça kuyruk uzunluğu ($r=0,383$, $p<0,001$), kuyruk momenti ($r=0,334$, $p<0,001$) ve nükleoplazmik köprü sıklığı ($r=0,316$, $p=0,005$) istatistiksel anlamlı olarak artmaktadır. Kromatid kırığı ve nükleoplazmik köprü sıklıkları arasında ise ters korelasyon görülmüştür. Kromatid kırığı sıklığı artıkça nükleoplazmik köprü sıklığı istatistiksel anlamlı olarak azalmaktadır ($r=-0,232$, $p=0,041$).

Çizelge 4.22. Kontrol grubu içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk uzunluğu	Kuyruk yoğunluğu	Kuyruk momenti	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
Kuyruk uzunluğu					
Korelasyon katsayısı				-0,036	-0,244
p-değeri †				0,823	0,130
Kuyruk yoğunluğu					
Korelasyon katsayısı				0,219	-0,040
p-değeri †				0,174	0,807
Kuyruk momenti					
Korelasyon katsayısı				0,188	-0,036
p-değeri †				0,246	0,828
Kromatid gap					
Korelasyon katsayısı	-0,242	0,146	0,028	0,083	-0,184
p-değeri †	0,064	0,269	0,831	0,621	0,270
Kromozom gap					
Korelasyon katsayısı	-0,125	0,075	0,102	0,057	0,229
p-değeri †	0,346	0,573	0,443	0,733	0,166
Kromatid kırığı					
Korelasyon katsayısı	-0,092	0,289	0,202	-0,263	-0,351
p-değeri †	0,487	0,026	0,125	0,110	0,031
Kromozom kırığı					
Korelasyon katsayısı	0,054	-0,120	-0,102	-0,018	-0,068
p-değeri †	0,683	0,367	0,442	0,912	0,684
Toplam aberasyon					
Korelasyon katsayısı	-0,250	0,169	0,047	-0,023	-0,282
p-değeri †	0,057	0,200	0,721	0,891	0,086

† Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Kontrol grubu içerisinde ise DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon görülmemiştir.

Çizelge 4.23. Maruziyet grubu içerisinde DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk uzunluğu	Kuyruk yoğunluğu	Kuyruk momenti	Mikroçekirdek	Nükleoplazmik köprü
Kuyruk uzunluğu					
Korelasyon katsayısı				0,314	-0,011
p-değeri †				0,032	0,942
Kuyruk yoğunluğu					
Korelasyon katsayısı				-0,287	-0,305
p-değeri †				0,050	0,037
Kuyruk momenti					
Korelasyon katsayısı				-0,121	-0,209
p-değeri †				0,418	0,159
Kromatid gap					
Korelasyon katsayısı	-0,020	0,024	0,042	-0,073	-0,051
p-değeri †	0,894	0,876	0,784	0,656	0,756
Kromozom gap					
Korelasyon katsayısı	0,272	-0,015	0,182	0,036	0,132
p-değeri †	0,068	0,921	0,226	0,825	0,415
Kromatid kırığı					
Korelasyon katsayısı	-0,295	0,040	-0,085	0,086	-0,079
p-değeri †	0,047	0,792	0,575	0,598	0,627
Kromozom kırığı					
Korelasyon katsayısı	-0,100	0,077	-0,059	0,248	-0,024
p-değeri †	0,507	0,610	0,699	0,123	0,882
Toplam aberasyon					
Korelasyon katsayısı	-0,036	0,029	0,032	-0,015	0,033
p-değeri †	0,812	0,850	0,831	0,927	0,840

† Spearman'ın sıra sayıları korelasyon testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0,025$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Maruziyet grubu içerisinde de DNA hasarı, mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ile kromozomal aberasyon sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon görülmemiştir.



5. TARTIŞMA

Benzin istasyonu çalışanlarının çalışma süreleri boyunca benzin içerisinde bulunan benzene ve taşıt egzoz emisyonunda bulunan PM ve bazı PAH türevleri gibi genotoksik ve karsinojen pek çok kimyasala kronik olarak maruz kaldığı bilinmektedir. Dolayısıyla bu işçilerin mesleki maruziyetle ilişkili başta kanser olmak üzere pek çok advers sağlık etkisi açısından risk altında olabileceği dikkate alınmalıdır.

Kanser, ülkemizde ve dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada gelmektedir. Sağlık Bakanlığı'nın 2017 verilerine göre ülkemizdeki her 5 ölümden biri kanser nedeniyledir. Günümüzde kanserlerin %30-50'sinin risk faktörlerinden kaçınılması, kanıta dayalı önleme stratejilerinin uygulanması ve erken tanı ve tedavi ile önlenebileceği bilinmektedir (Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2021). 1980'lerin başında moleküler epidemiyolojinin gelişimi ile birlikte, dış ortam izleme ve klinik hastalık durumlarını saptama çalışmalarının yanı sıra, maruziyetin biyogöstergeleri, biyolojik olarak etkin doz, klinik öncesi etkiler ve duyarlılık hakkında veri toplayan popülasyon çalışmaları da yürütülmeye başlanmıştır (Smith ve diğerleri, 2012). Kanser önlenmesi, moleküler epidemiyolojinin temel hedefleri arasındadır. Bu alanda araştırmacıların en büyük beklentisi, biyogöstergelerin epidemiyolojiye dahil edilmesiyle insanlarda kanser risklerinin mümkün olan en kesin şekilde tahmin edilebilmesidir (Perera, 2000). Epidemiyolojik çalışmalar, en yaygın kanserlerin etiyolojisinin belirlenmesine önemli katkılarda bulunmuş ve önemli halk sağlığı etkilerine sebep olmuştur. Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişkinin aydınlatılması bunun en iyi örneğidir ve en geniş kapsamlı ve başarılı kanser önleme girişimleri ve tütün kontrol politikaları süreci yönetilmiştir (Spitz ve Bondy, 2010).

Mesleki olarak karsinojenlere maruziyet, her yıl tahmini 666 000 meslekle ilgili ölümcül kanser oluşumu ile dünya çapında önemli bir ölüm ve sakatlık nedenidir. Mesleki karsinojenlerin tanımlanması, genel popülasyonda kanser nedenlerinin belirlenmesinin yanı sıra, maruz kalan işçilerin öncelikli olarak korunması, süveyansı ve tazminat haklarının gözetimi faaliyetlerini desteklemektedir. IARC monograflarından 1971'den 2017'ye kadar derlenen veriler, mesleki karsinojen olarak belirlenmiş ajanların sayısının son yıllarda giderek arttığını göstermektedir. Kayda değer ilerlemeye rağmen, mesleki maruziyetle ilişkili kanserlerin nedenleri üzerine daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Loomis ve diğerleri, 2018).

Bir dizi epidemiyolojik çalışma, benzene maruz kalan meslek gruplarında lösemi riskinin arttığını göstermiştir (Hayes, 1992). Benzine mesleki maruziyetin yanı sıra, Yunanistan'da yürütülen bir araştırmada benzin istasyonu yakınlarında ikamet eden insanlarda da maruziyet süresine bağlı olarak tek başına benzenin neden olduğu lösemi riskinin %3'ten %21'e çıktığını göstermiştir (Karakitsios ve diğerleri, 2007). Benzen maruziyeti ve lösemi arasında nedensel bir bağlantı olmasına rağmen, benzenin havada 1 ppm veya altındaki konsantrasyonlarında maruziyet-cevap ilişkisinin şekli tartışmalıdır. Bu belirsizlik çevresel toksikoloji ve epidemiyoloji için büyük bir zorluk teşkil etmektedir. U.S. EPA, benzindeki benzen içeriğini düşürme kararını gerekçelendirirken, 1 ppm'in altındaki hava konsantrasyonlarında benzenle ilgili protein katım ürünlerinin oluştuğunu gösteren çalışmalara atıfta bulunmuştur. Bu durum muhtemelen benzenin metabolizmasının doyumluğundan kaynaklanmaktadır. Bundan dolayı, 1 ppm'in altındaki metabolizma doyumluğunun genel popülasyonda lösemi risklerinin önemli ölçüde düşük tahmin edilmesine yol açabileceği düşünülmektedir. Mevcut literatür verileri, benzenin 1 ppm veya altındaki düşük mesleki maruziyet seviyelerinde kan hücrelerinin oluşumunu etkilediğini ve bir eşik olduğuna dair bir kanıt bulunmadığını göstermektedir. Yakın zamanda, benzenin eşik sınır değeri ACGIH tarafından 0,5 ppm'e düşürülmüştür ve çeşitli devlet kurumları ve bilimsel kuruluşlar 8 saatlik TWA standardının 0,1 ppm'e düşürülmesini önermişlerdir. En son araştırmalar, benzene maruziyetin muhtemelen güvenli bir düzeyi olmadığını ve tüm maruziyetlerin aditif bir şekilde bir miktar risk oluşturduğunu göstermektedir. Halk sağlığı kurumlarının bu duruma göre hareket etmesi beklenir (Smith, 2010).

Ham petrolün arıtılarak benzin ve motorin gibi akaryakıtların üretildiği rafinerilerde çalışma, mesleki maruziyet açısından değerlendirildiğinde IARC tarafından Grup 2A olarak sınıflandırılmışken (International Agency for Research on Cancer, 1989; Occupational Safety and Health Administration), benzin istasyonunda akaryakıt ikmal ve dolum elemanı olarak çalışma IARC tarafından kategorize edilmemiştir. Ancak, benzin istasyonu çalışanlarının maruz kaldığı benzin ve benzen gibi bileşenlerle benzin ve dizel motorların yanması sonucu açığa çıkan çeşitli kimyasalların olası toksik etkileri (irritasyon, mutajenik/genotoksik ve karsinojenik etkiler) göz önüne alındığında bu meslek grubu mesleki maruziyet açısından risk grubunu oluşturmaktadır.

Benzinde düşük konsantrasyonlarda bulunan benzen ve diğer olası karsinojen/genotoksik kimyasallara kronik maruziyetin ve bu maruziyetin oluşturabileceği sağlık riskinin

değerlendirilmesi için, spesifik ve hassas biyolojik göstergelerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır (Fustinoni ve diğerleri, 2005). Bu moleküler biyogöstergeler, kanser riski yüksek olan bireyleri veya meslek gruplarını belirlemeye yönelik çeşitli sitogenetik tarama testlerinde kullanılmaktadır. Mesleki karsinojenlere maruz kalan bireylerin biyolojik olarak izlenmesinde sitogenetik testlerin uygulanması, DNA'sı normalde bu karsinojenler için hedef molekül olmayan hücrelerin kromozomlarında meydana gelen değişikliklerin saptanmasına dayanır. Bunlar arasında en çok kullanılan hücreler, periferik kan lenfositleridir. Bu tür hücrelerin test için erişilemeyen hedef doku hücrelerindeki benzer değişiklikleri bir miktar yansıtmaları beklenir. Bu nedenle lenfositler, maruziyetin erken etkilerinin değerlendirilmesinde DNA hasarının erken bir biyogöstergesi olarak kullanılabilir. Ancak kromozomlardaki değişikliklerin tespitinin, sağlık üzerinde zararlı etkilerin ortaya çıkmasıyla eşdeğer olması gerekmediği bilinmelidir; daha ziyade gözlenen aberasyonlar mutajenik/genotoksik ajanlara maruziyetin, hücrelerin genetik materyalinde değişikliklerin başladığının ve gelecekte malign dönüşümlerin olabileceğinin göstergesidir (Indulski ve Lutz, 1997).

Tartışma kısmında, benzin istasyonu çalışanlarında moleküler biyogöstergelerden yararlanılarak olası genotoksik etkinin araştırıldığı 7 adet sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek, 8 adet kromozomal aberasyon ve 15 adet Comet testinin yer aldığı çalışmalara değinilmiştir. Bu çalışmalar Çizelge 5.1'de özetlenmiştir. Ülkemizde ise benzin istasyonu çalışanlarının kronik olarak maruz kaldığı benzin ve çeşitli kimyasal maddelerin olası genotoksik etkilerini araştıran çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalar arasında kardeş kromatid değişimi testi (Celik ve Akbaş, 2005), kromozomal aberasyon testi (Celik ve Akbaş, 2005), bukkal sitom analizi ve Comet testi yer alır, ancak sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi çalışılmamıştır.

Çizelge 5.1. Benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen sitogenetik çalışmalar

Test Tipi	Yapıldığı Ülke	Örneklem Büyüklüğü Maruziyet/Kontrol	Değerlendirilen Hücre sayısı / Örnek	Referans
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	Hindistan	27 / 27	1 000	Bindhya ve diğerleri, 2010
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	Hindistan	39 / 18	1 000	Pandey ve diğerleri, 2008
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	Hindistan	200 / 200	1 000	Rekhadevi ve diğerleri, 2010
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	İtalya	21 / 19	1 000	Bukvic ve diğerleri, 1998
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	İtalya	23 / 23	2 000	Carere ve diğerleri, 1995
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	İtalya	24 / 31	1 000	Lovreglio ve diğerleri, 2014
Sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek	Mısır	62 / 62	500	Salem ve diğerleri, 2018
Kromozomal aberasyon	Mersin, Türkiye	30 / 30	100	Çelik ve diğerleri, 2005
Kromozomal aberasyon	Hindistan	27 / 27	100	Bindhya ve diğerleri, 2010
Kromozomal aberasyon	Hindistan	200 / 200	200	Rekhadevi ve diğerleri, 2011
Kromozomal aberasyon	İtalya	23 / 23	200	Carere ve diğerleri, 1995
Kromozomal aberasyon	İtalya	24 / 31	100	Lovreglio ve diğerleri, 2014
Kromozomal aberasyon	İtalya	19 / 16	100	Fracasso ve diğerleri, 2010
Kromozomal aberasyon	Ekvador	46 / 46	100	Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008
Kromozomal aberasyon	Brezilya	19 / 38	52	Trevisan ve diğerleri, 2014
Comet testi	İstanbul, Türkiye	25 / 14	100	Beceren ve diğerleri, 2016
Comet testi	İtalya	12 / 12	100	Andreoli ve diğerleri, 1997
Comet testi	İtalya	13 / 20	100	Lovreglio ve diğerleri, 2016

Çizelge 5.1. (devam) Benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen sitogenetik çalışmalar

Test Tipi	Yapıldığı Ülke	Örneklem Büyüklüğü Maruziyet/Kontrol	Değerlendirilen Hücre sayısı / Örnek	Referans
Comet testi	İtalya	28 / 51	100	Fracasso ve diğerleri, 2010
Comet testi	Hindistan	18 / 18	25-50	Bhargavan, 2014
Comet testi	Hindistan	200 (34 kadın) / 200	100	Rekhadevi ve diğerleri, 2010
Comet testi	Hindistan	125 / 125	100	Singh ve diğerleri, 2010
Comet testi	Hindistan	100 / 100	50	Pandey ve diğerleri, 2008
Comet testi	Brezilya	70 / 35	100	Moro ve diğerleri, 2013
Comet testi	Brezilya	40 (%50 kadın) / 40 (%50 kadın)	100	Moro ve diğerleri, 2017
Comet testi	Güney Afrika	101 (23 kadın) / 50 (34 kadın)	50	Naidoo ve diğerleri, 2016
Comet testi	Güney Afrika	20 / 20	50	Keretetse ve diğerleri, 2008
Comet testi	Ekvador	46 / 46	20	Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008
Comet testi	Çin	200 / 52	50	Xiong ve diğerleri, 2016
Comet testi	Tayland	29 / 27	100	Navasumrit ve diğerleri, 2005

Benzin istasyonu çalışanlarının benzine kronik maruziyetin olası genotoksisite ve kanser riskini değerlendirmek için yürütülen mikroçekirdek analizleri arasında, eksfoliyе bukkal hücrelerde yapılan sitom analizinin, periferik kan lenfositlerinde yapılan sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testine kıyasla daha çok çalışıldığı görülmektedir. Bukkal sitom analizinin daha çok tercih edilme nedenlerinin eksfoliyе bukkal örneklerinin toplanmasının daha kolay olması ve invazif bir yöntem olmayışı, bukkal hücreleri ile inkübasyona gerek duyulmadan çalışılabilmesi ve test protokolünün daha kolay ve daha kısa süreli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak, sitom analizinde hem genotoksik hem de sitotoksik end-pointlerin değerlendirilmesi kapsamında çok çeşitli hücre tiplerinin ayrımının yapılabilmesi için diğer teste nazaran daha fazla deneyim ve beceri gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bukkal hücrelerde yürütülen mikroçekirdek testinin (veya sitom analizinin) kanser riskinin öngörülmesinde validasyon süreci devam ederken, periferik

kan lenfositlerinde yürütülen sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi kanser riskini öngörmede valide edilmiştir (European Medicines Agency, 2012).

Ülkemizde benzin istasyonu çalışanlarında bukkal mikroçekirdek testinin yürütüldüğü tek bir çalışma mevcuttur. Mersin’de yapılan bu çalışmada, 50 benzin istasyonu çalışanında 50 kontrole kıyasla bukkal mikroçekirdek, karyohektik ve karyolitik hücre sıklıkları yüksektir, ayrıca hem kontrol hem maruziyet grubunda sigaranın sitogenetik hasarlar üzerindeki etkileri anlamlı bulunmuştur (Celik ve diğerleri, 2003).

Ülkemizde olduğu gibi akaryakıt ikmalinin sadece benzin istasyonu çalışanları tarafından yapıldığı Brezilya’da bukkal sitom analizinin yürütüldüğü bir çalışmada da, 40 benzin istasyonu çalışanında aynı sayıdaki kontrollere kıyasla hücre ölümü ile ilgili parametreler olan piknotik hücreler, yoğunlaşmış kromatinli hücre ve karyolitik hücre sıklığı ile genotoksisite göstergeleri olan mikroçekirdek ve nükleer tomurcuklanma sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Bu verilerin benzin istasyonu çalışanlarında yüksek DNA hasarı, kromozomal instabilite ve bozulmuş hücre döngüsünün varlığını gösterdiği ve bu maruziyetin gelecekte işçilerin sağlıkları için bir risk olduğu ve kanser yatkınlığı olarak sınıflandırılması gerektiği savunulmuştur (Filho ve diğerleri, 2018).

Benzin istasyonu çalışanlarında yürütülen sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testlerinde her örnek için 1 000 adet iki çekirdekli hücre sayıldığı görülmektedir (Bindhya ve diğerleri, 2010; Bukvic ve diğerleri, 1998; Lovreglio ve diğerleri, 2014; Pandey ve diğerleri, 2008; Rekhavevi ve diğerleri, 2010). Tez kapsamında ise, OECD 487 numaralı *In Vitro* Memeli Hücresi Mikroçekirdek Testi Kılavuzun’da (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2016a) belirtildiği gibi her örnek için 2 000 adet iki çekirdekli hücredeki mikroçekirdek sıklığı kaydedilmiştir. Kromozomal aberasyon çalışmalarının büyük bir kısmında da değerlendirmenin 100 adet metafaz üzerinden yapıldığı görülmektedir (Bindhya ve diğerleri, 2010; Celik ve Akbaş, 2005; Fracasso ve diğerleri, 2010; Lovreglio ve diğerleri, 2014; Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008). Tez kapsamında ise OECD 473 numaralı *In Vitro* Memeli Kromozomal Aberasyon Testi Kılavuzun’da (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 2016c) da belirtildiği üzere 300 adet metafazdaki kromozomal aberasyon sıklığı kaydedilmiştir. Özetle sunulan tez çalışması OECD standartlarına uygun bir şekilde yürütülmüştür.

Benzin istasyonunda çalışanların büyük bir yüzdesini erkek çalışanlar oluşturduğu için, tez kapsamında sadece erkeklerden oluşan maruziyet ve kontrol grubunda genotoksisite testleri gerçekleştirilmiştir, dolayısıyla cinsiyet ve genotoksisite arasındaki ilişki değerlendirilmemiştir.

Türkiye'deki benzin istasyonu çalışanlarında mesleki maruziyetle ilişkili genotoksisite riskinin sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi ile araştırıldığı bir çalışma bulunmazken, kromozomal aberasyon sıklığının incelendiği 1 adet çalışma mevcuttur. Mersin'de yürütülen bu araştırmada, %50'si sigara içen 30 benzin istasyonu çalışanı ve %50'si sigara içen 30 kontrol arasında kromozomal aberasyon sıklığı açısından anlamlı fark gözlenmezken, her iki grupta da sigara içme alışkanlığının kromozomal aberasyon sıklığını artırdığı gözlenmiştir (Celik ve Akbaş, 2005). Sunulan tez çalışmasında ise, ortalama kromatid gap (sırasıyla $1,58 \pm 1,12$ ve $1 \pm 0,9$; $p=0,002$) ve kromozom gap (sırasıyla $0,14 \pm 0,21$ ve $0,03 \pm 0,14$; $p<0,001$) sıklıkları ve toplam aberasyon sıklığı (sırasıyla $2,09 \pm 1,4$ ve $1,4 \pm 1,19$; $p=0,002$) benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksektir (Çizelge 4.9). Ayrıca çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi ile benzin istasyonu çalışanlarında mesleki maruziyetin kromatid gap ($p=0,003$), kromozom gap ($p<0,001$) ve toplam aberasyon ($p=0,008$) riskini artırdığı bulunmuştur. Ancak, sigara içenler arasında benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla medyan kromatid gap (sırasıyla $1,33$ ve 1 , $p=0,023$) ve kromozom gap ($p=0,002$) sıklığında anlamlı bir artış olmasına karşın çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi sonucunda sigaranın kromozomal aberasyon sıklığı üzerinde anlamlı etkisi gözlenmemiştir (Çizelge 4.12).

Hindistan'daki bir çalışmada, 27 pompacı ve 27 kontrole ait periferik kan lenfositlerinde kromatid ve kromozom tipi aberasyonlarla mikroçekirdek sıklıkları ve *XRCC1 399 Arg/Gln* polimorfizmi, olası benzin maruziyeti riskini incelemek üzere değerlendirilmiştir. Maruz kalan grup çalışma süresine göre (<8 ve >8 yıl olmak üzere) ve her iki grup da yaşlarına göre (<40 ve >40 yıl olmak üzere) alt gruplara ayrılmıştır. Daha uzun maruziyet süresi olan benzin istasyonu çalışanlarında kısa süreli maruziyete sahip benzin istasyonu çalışanlarına kıyasla kromatid tipi aberasyon sıklığında (sırasıyla $16,13 \pm 4,56$ ve $5,85 \pm 3,19$) ve daha kısa maruziyet süresi olan benzin istasyonu çalışanlarında kısa süreli maruziyete sahip kontrol grubuna kıyasla mikroçekirdek sıklığında (sırasıyla $0,55 \pm 0,82$ ve 0) artış tespit edilmiştir. Kromatid tipi aberasyonların maruz kalan grupta kontrollere kıyasla yaşla birlikte arttığı (sırasıyla $2,94 \pm 1,24$ ve $1,19 \pm 0,83$) gözlenmiştir; ancak bu etki mikroçekirdek

için gözlenmemiştir. Sigara içen pompacılar da kontrollere göre anlamlı şekilde daha yüksek mikroçekirdek sıklığı ($\%1,62 \pm 0,91$ ve $\%0,37 \pm 0,58$) gözlenirken, kromozomal aberasyon ile sigara arasında bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca, *XRCC1* polimorfizmi ile benzin maruziyeti arasında bir etkileşim bulunmamıştır (Bindhya ve diğerleri, 2010). Çalışmamızda da sigara tüketen ve 10 yıldan fazla bir süredir sigara içen benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek mikroçekirdek sıklığı (sırasıyla medyan cinsinden $\%16,75$ ve $\%6,5$; $p<0,001$; $\%18,25$ ve $\%6,5$; $p<0,001$) (Çizelge 4.18) ve sigara içen benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla daha yüksek kromatid gap (sırasıyla medyan cinsinden $\%1,33$ ve $\%1$, $p=0,023$) ve kromozom gap sıklığı ($p=0,002$) (Çizelge 4.12) tespit edilmiştir. Ayrıca 35 yaşın üzerindeki benzin istasyonu çalışanlarında aynı yaş grubundaki kontrollere kıyasla mikroçekirdek (sırasıyla medyan cinsinden $\%14,25$ ve $\%9,5$; $p=0,005$) ve nükleoplazmik köprü (sırasıyla medyan cinsinden $\%0,75$ ve $\%0$, $p<0,001$) sıklığı ile kromatid gap (sırasıyla medyan cinsinden $\%1,67$ ve $\%1$, $p=0,01$) ve toplam aberasyon (sırasıyla medyan cinsinden $\%2,33$ ve $\%1,33$; $p=0,02$) sıklığının arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.10). Ancak çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi sonucu yaşın ve sigara tüketiminin genotoksosite göstergeleri üzerine herhangi bir etkisi bulunmamıştır (Çizelge 4.15).

Hindistan'da 39 benzin istasyonu ve 18 kontrolde yürütülen başka bir çalışmada, benzine maruz kalan grubun iki çekirdekli lenfositlerindeki ortalama mikroçekirdek sıklığı kontrollerden anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $\%14,79 \pm 3,92$ ve $\%7,54 \pm 3$). Maruz kalan grupta nükleoplazmik köprü sıklığı kontrollerden daha yüksek olsa da bu artış anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca çalışmada kan benzen düzeyleri yüksek olan çalışanların düşük olanlara kıyasla anlamlı şekilde mikroçekirdek indüksiyonu gösterdiği tespit edilmiştir (Pandey, 2008). Bizim çalışmamızda ise benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna kıyasla ortalama mikroçekirdek sıklığı (sırasıyla $\%15,77 \pm 10,34$ ve $\%8,93 \pm 4,81$; $p<0,001$) ile birlikte ortalama nükleoplazmik köprü sıklığında da (sırasıyla $\%1,26 \pm 1,55$ ve $\%0,17 \pm 0,43$; $p<0,001$) istatistiksel anlamlı artış görülmüştür (Çizelge 4.16).

Hindistan'da geniş örneklem büyüklüğüne sahip bir diğer çalışmada, 200 benzin istasyonu çalışanında (166 erkek ve 34 kadın) aynı sayıda kontrole kıyasla ortalama Comet kuyruk uzunluğu (sırasıyla $25,09$ ve $10,27 \mu\text{m}$), mikroçekirdek sıklığı (sırasıyla $\%11,83$ ve $\%5,83$) ve nükleoplazmik köprü sıklığında (sırasıyla $\%2,84$ ve $\%2,04$) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu çalışanların çalışma ortamı ve bireysel hava ölçümleri sonucunda,

kontrollere kıyasla daha yüksek BTX'e maruz kaldıkları ve kan BTX düzeylerinin de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyet, yaş, sigara ve alkol tüketimi ve maruziyetin, benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla mikroçekirdek sıklığı artışına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Comet testi sonucuna göre ise, çalışanlarda cinsiyet, yaş, sigara ve günlük maruz kalmanın DNA hasarı üzerinde önemli etkisi olduğu görülürken, alkol tüketimi ve yıllar içindeki maruziyetin kuyruk uzunluğu üzerinde bir etkisi olmadığı görülmüştür. Çoklu lineer regresyon analizi, yaş ve maruziyet ile lenfositlerde mikroçekirdek sıklığı ve DNA kuyruk uzunluğu arasındaki istatistiksel olarak anlamlı ilişkiyi göstermiştir. Bu analiz sonucuna göre kan ve ortam havasında ölçülen BTX'in mikroçekirdek sıklığını ve DNA hasarını artırdığı tespit edilmiştir (Rekhadevi ve diğerleri, 2010). Bu çalışma sonuçlarını destekleyecek şekilde sunulan tez kapsamında yapılan çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi ile benzin istasyonu çalışanlarında mesleki maruziyetin yaş, sigara tüketimi ve çalışma süresi gibi faktörlerden bağımsız olarak DNA hasarını (kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti ve kuyruk yoğunluğu) (Çizelge 4.8) ve mikroçekirdek sıklığını (Çizelge 4.20) dolayısıyla genotoksisite riskini artırdığı sonucuna varılmıştır.

Sigara içme alışkanlığının, benzene düşük mesleki maruziyetlerin değerlendirilmesinde karıştırıcı bir faktör olduğu kabul edilir. Birçok çalışmalarda, sigara içen bireylerin biyolojik değerlerinin sigara içmeyenlerinkine göre, her iki grubun da düşük düzeyde mesleki maruziyeti söz konusu olsa bile, daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Senzolo ve diğerleri, 2001). Ancak, benzin istasyonu çalışanlarında yapılan mevcut araştırmalarda yaş, sigara ve alkol tüketimi ve çalışma (maruziyet) süresi gibi faktörlerin genotoksisite göstergeleri üzerindeki etkisine dair çelişkili bulgular söz konusudur. Bu faktörlerle genotoksisite göstergeleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmeyen çalışmalardan biri Salem vd.'nin çalışmasıdır (Salem ve diğerleri, 2018). Mısır'da 62 benzin istasyonu çalışanı ve aynı sayıdaki kontrolde yapılan bu çalışmada, DNA fragmentasyonu testi ve akridin turuncusu floresan boyama kullanılarak sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi yürütülmüş ve ortam havasındaki BTEX seviyeleri ölçülmüştür. Ortalama BTEX seviyelerinin TLV'lerden oldukça yüksek olduğu (her bir kimyasal için 100 ppm) tespit edilmiştir. Çalışanlarda kontrollere kıyasla ortalama mikroçekirdek sıklığı (sırasıyla $2,18 \pm 1,33$ ve $0,45 \pm 0,06$) ve ortalama DNA fragmentasyonunun optik yoğunluğu daha yüksekken, sigaranın mikroçekirdek sıklığı ve DNA fragmentasyonunun optik yoğunluğu üzerine anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Ayrıca, çalışılan genotoksisite göstergeleri ile benzin istasyonu çalışanlarının yaşı, sigara içme yılı, çalışma süresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda özellikle ulaşım araçlarının sayısındaki artışla birlikte çalışılan istasyonlarda güvenlik prosedürlerinin zayıf olduğu savunulmuştur (Salem ve diğerleri, 2018). İtalya'daki bir çalışmada da, benzene düşük konsantrasyonlarda (0,72 ppm) maruz kalan 21 benzin istasyonu çalışanı ve 19 kontrole ait periferik kan lenfositlerindeki mikroçekirdek sıklığı, çalışma süresi ile ilişkili olacak şekilde artmışken, yaş ve sigara ile anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (Bukvic ve diğerleri, 1998). İtalya'daki diğer bir çalışmada, 12 benzin istasyonu çalışanında 12 kontrole kıyasla DNA hasarında artış gözlenmiş, kuyruk momenti değerleri benzine maruz kalan grupta 1,9 μm iken maruz kalmayan grupta 0,936 μm olarak ölçülmüştür. DNA hasarı derecesi ile bireylerin yaşları ve sigara içme alışkanlıkları arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Andreoli ve diğerleri, 1997). Bizim çalışmamızda da sigara tüketiminin çalışılan hiçbir genotoksisite göstegesi üzerinde istatistiksel anlamlı etkisi bulunmamıştır (Çizelge 4.8, 4.15 ve 4.20).

Hindistan'da 200 benzin istasyonu çalışanında 200 kontrole kıyasla daha yüksek kromozomal aberasyon sıklığı tespit edilmiştir (sırasıyla %6,2 ve %2,39). Yüksek hava benzen seviyelerine sahip istasyonlarda çalışan işçilerde ortalama kromozomal aberasyon sıklığı ($\%8,03 \pm 0,18$), orta düzeyde benzen konsantrasyonu tespit edilen istasyonlarda çalışanlarınkine ($\%6,86 \pm 0,34$) göre daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer şekilde, havadaki benzen konsantrasyonu orta düzeydeki istasyonlarda çalışanların ortalama kromozomal aberasyon sıklıkları ($\%6,86 \pm 0,34$), düşük olan işyerlerinde çalışanlarınkiyle ($\%3,48 \pm 0,91$) karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Rekhadevi ve diğerleri, 2011).

Ülkemizde benzin istasyonu çalışanlarında Comet testi ile DNA hasarının incelendiği tek bir çalışma mevcuttur. İstanbul'daki benzin istasyonlarında çalışan 25 kişide toplam Comet değerleri kontrol grubundaki 14 bireye kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Deney grubu çalışma sürelerine göre alt gruplara (<5 , 5-20 ve >20 yıl) ayrılmıştır. 5 yıldan daha az ve 5-20 yıl arası çalışan grupta DNA hasarı anlamlı şekilde yüksek olmasına rağmen, 20 yıldan fazla maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarında DNA hasarında anlamlı bir artış görülmemiştir (Becerren ve diğerleri, 2016). Tez kapsamında bu çalışmayla benzer şekilde, çalışma süresi daha az olan alt grupta (<7 yıl) benzin istasyonunda çalışan bireylerde kontrollere kıyasla istatistiksel anlamlı daha yüksek medyan kuyruk yoğunluğu (sırasıyla $\%7,86$ ve $\%6,69$; $p=0,02$), çalışma süresi daha fazla olan alt grupta (≥ 7 yıl) da maruziyet grubunda kontrollere kıyasla istatistiksel anlamlı şekilde daha yüksek medyan kuyruk

yoğunluğu (sırasıyla %6,87 ve %6,42; $p=0,393$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Ancak, çoklu değişkenli doğrusal regresyon analizi sonucunda çalışma süresinin DNA hasarı sıklığına herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.8).

Hindistan'da 100 benzin istasyonu çalışanı ve 100 kontrolde Comet testinin yürütüldüğü bir çalışmada, çalışanların ortalama kuyruk momenti ($4,14 \pm 1,25$) kontrol grubununkine ($3,29 \pm 0,92$) kıyasla anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır. Ayrıca, çalışanlarda kuyruk DNA ve kuyruk uzunluğunda da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Tütün çiğneme, sigara ve alkol tüketimi gibi yaşam tarzı faktörlerinin tüm bireylerde tespit edilen DNA hasarı üzerinde çok az etkisi olduğu görülmüştür. Çalışanların ise yaşam tarzı faktörlerinden bağımsız olarak daha yüksek düzeyde DNA hasarına sahip olduğu gösterilmiştir. Kontroller ve çalışanlar arasında, yaşın Comet değerleri üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Bununla birlikte, yaş kategorilerinin her birinde (<30 , $31-40$ ve >40 yaş), çalışanların kontrollerden önemli ölçüde daha fazla DNA hasarına sahip olduğu saptanmıştır (Pandey ve diğerleri, 2008). Çalışmamızda yaşam tarzı faktörlerinin ve yaşın DNA hasarı üzerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir. Acak bu çalışmada olduğu gibi tez kapsamında da, benzin istasyonu çalışanlarının kontrollere kıyasla yaşam tarzı faktörlerinden bağımsız ve mesleki maruziyete bağlı olarak yüksek düzeyde DNA hasarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Maruziyetin benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde kuyruk uzunluğunu ($B=0,763$; %95 Güven Aralığı: $0,657-0,869$ ve $p<0,001$), kuyruk yoğunluğunu ($B=0,102$; %95 Güven Aralığı: $0,003-0,201$ ve $p=0,043$) ve kuyruk momentini ($B=0,520$; %95 Güven Aralığı: $0,400-0,640$ ve $p<0,001$) artırdığı gözlenmiştir (Çizelge 4.8).

Hindistan'daki diğer bir çalışmada, 18 benzin istasyonu çalışanında 18 kontrole kıyasla Comet testiyle tespit edilen yüksek düzeyde DNA hasarı tespit edilmiştir. Çalışanlarda kontrollere kıyasla kuyruk uzunluğu (μm) (sırasıyla $5,3 \pm 0,8$ ve $3,4 \pm 0,9$) ve kuyruktaki DNA yüzdesi (sırasıyla $\%42,41 \pm 13,4$ ve $\%36,01 \pm 12,6$) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Çalışanlarda Comet kuyruk uzunluğu yaşla anlamlı ilişki göstermezken kuyruktaki DNA yüzdesi yaşla anlamlı bir ilişki göstermiştir; kontroller için tam tersi bir sonuç elde edilmiştir (Bhargavan, 2014).

Hindistan'da 125 benzin istasyonu çalışanı ve 124 kontrolde yapılan Comet testi sonuçlarına göre, kontrole kıyasla maruziyet grubunda kuyruk momenti, kuyruk uzunluğu ve kuyruktaki % DNA istatistiksel anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Maruziyet ve kontrol grubu yaşa

göre 3 gruba (<30, 31-40 ve >40 yaş olmak üzere) ayrılmıştır. <30 ve 31-40 yaş gruplarında, maruziyet grubundaki DNA hasarı göstergeleri kontrollerden anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Maruziyet süresine göre ise gruplar arasında DNA hasarı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Singh ve diğerleri, 2010).

Güney Afrika'daki 20 benzin istasyonu çalışanı ve 20 kontrolün dahil olduğu çalışmada, çalışanlarda, ülkenin uyguladığı mesleki maruziyet sınırından daha düşük benzin UOB'lerine maruz kalmalarına karşın, kontrollere kıyasla önemli ölçüde yüksek bazal DNA hasarı (kuyruk yoğunluğu olarak sırasıyla $15,06 \pm 9,1$ ve $6,3 \pm 3,37$) tespit edilmiştir. Maruziyet süresi, DNA hasarının seviyesini ve onarım kapasitesini etkilemiştir. Sigara ve yaşın, DNA hasarı seviyesi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Benzine hem maruz kalan hem de kalmayan grubun sigara içen bireylerinde DNA onarım kapasitesi gecikmiştir (Keretetse ve diğerleri, 2008). Güney Afrika'daki diğer bir çalışmada, ortalama kuyruk DNA yüzdesi açısından 101 benzin istasyonu çalışanı ($23,8 \pm 13,3$) ve 50 kontrol ($8,1 \pm 1,8$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. Sigara, alkol kullanımı, yaş ve cinsiyete göre ayarlanan regresyon analizi sonucunda kuyruktaki DNA yüzdesi çalışanlar arasında kontrollere kıyasla %16,5 daha yüksek bulunmuştur (Naidoo ve diğerleri, 2016).

Tayland'daki bir çalışmada, benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla kuyruk momenti, disentrik kromozom sıklığı ve kromozom delesyonlarının sayısı anlamlı şekilde daha yüksekken, DNA onarım kapasitesinin azaldığı görülmüştür (Navasumrit ve diğerleri, 2005).

Ekvador'da hidrokarbonlara maruz kalan benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla Comet testi ile daha fazla DNA hasarı saptanmıştır ($p < 0,001$). Ayrıca benzin istasyonu çalışanlarının %15'inde kromozom kırığı ve %20'sinde kromozom kırığı ve gap görülürken kontrollerin %1'inde kromozom kırığı ve %2'sinde kromozom kırığı ve gap görülmüştür (Paz-y-Mino ve diğerleri, 2008).

Benzin istasyonu çalışanları, zamanlarının büyük bir kısmını akaryakıt içerisinde bulunan benzen ve akaryakıtın yanması sonucu açığa çıkan yan ürünler gibi zararlı maddelere doğrudan maruz kalarak geçirirler. Bu tür mesleki maruziyet oksidatif stres riskini artırabilir (Ahmadi ve diğerleri, 2019). Benzin buharına maruz kalmak birçok yönden oksidatif strese

yol açabilir. Örneğin, benzinin bileşeni olan benzen, hidrokinon ve 1,2,4-benzentriol gibi metabolitlerini oluşturmak üzere metabolik aktivasyona uğrar ve bunun sonucunda antioksidan aktivitede bozulmaya yol açabilecek ROT oluşumuna ve böylece oksidatif stresin uyarılmasına neden olabilir (Abubakar ve diğerleri, 2015). Benzin istasyonu çalışanlarında genotoksisite biyogöstergeleri ile birlikte oksidatif stres göstergelerinin de incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Bunlar arasında İtalya'daki bir çalışmada, maruziyetin ve etkinin biyogöstergeleri ile birlikte önemli bir serbest radikal temizleyicisi olan lenfositlerde GSH düzeyleri ölçülmüştür. 28 benzin istasyonu çalışanında 51 kontrole kıyasla idrar S-PMA ve t,t-MA düzeylerinde anlamlı artışlar saptanmış ve Comet testinde kuyruk momenti (sırasıyla $0,37 \mu\text{m} \pm 0,13$ ve $0,28 \mu\text{m} \pm 0,08$), kuyruk yoğunluğu (sırasıyla $\%2,78 \pm 0,92$ ve $\%2,26 \pm 0,56$) ve kuyruk uzunluğu (sırasıyla $20,3 \pm 4,39$ ve $17,74 \pm 3,75$) olarak ifade edilen DNA hasarında anlamlı artışlar bulunmuştur. Sigara içmenin bu sonuçlara müdahale ettiği görülmemiştir. Benzine maruz kalan çalışanlar ve kontroller arasında kromozomal aberasyon yüzdesinde fark bulunmamıştır. İşçilerde DNA hasarı ile lenfosit GSH ve idrar S-PMA düzeyleri arasında negatif korelasyon eğilimi gözlenmiştir. Bu negatif korelasyonlara göre, benzenin S-PMA metabolitinin olduğu GSH-bağımlı detoksifikasyon yolağının DNA hasarı riskinin azalmasında etkin olduğu ve hücreleri benzen toksisitesinden korumada önemli savunma mekanizmalarından biri olduğu sonucuna varılmıştır (Fracasso ve diğerleri, 2010). Brezilya'da 70 erkek benzin istasyonu çalışanı ve 35 kontrolün yer aldığı bir çalışmada da, kontrollere kıyasla maruziyet grubunda bukkal mikroçekirdek sıklığı ve Comet testi ile değerlendirilen DNA hasarı indeksi yüksek bulunmuştur, ayrıca mikroçekirdek sıklığı ve DNA hasarı indeksi, oksidatif stres biyogöstergeleri olan protein karbonil ve 3-nitrotirozin seviyeleri ile pozitif korelasyonlar, GSH konsantrasyonu ve GST aktivitesi ile negatif korelasyonlar göstermiştir. Kişisel benzen maruziyeti ve t,t-MA seviyeleri, DNA hasarı indeksi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur (Moro ve diğerleri, 2013). Çin'de 200 benzin istasyonu çalışanı ve 52 kişiden oluşan kontrol grubuyla yürütülen bir çalışmada, ortam havasındaki BTEX seviyeleri ile tüm bireylerin periferik kan lenfositlerinden elde edilen serum örneklerinde oksidatif stres biyogöstergeleri total SOD, GSH, MDA ve 8-OHdG seviyeleri ölçülmüş ve DNA hasarı Comet testi ve bukkal mikroçekirdek testi ile analiz edilmiştir. BTEX seviyelerinin benzin istasyonlarında ofis ortamına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna kıyasla serum total SOD ve GSH istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük iken, serum MDA ve 8-OHdG daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, benzin istasyonu çalışanlarında kuyruk uzunluğu ve momentinin daha yüksek ve mikroçekirdek sıklığının

daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda, benzin istasyonunda akaryakıt ikmali yapan işçilerde uzun süreli düşük seviyelerdeki BTEX maruziyetinin antioksidan kapasiteyi düşürebileceği ve DNA hasarı riskini artırabileceği öne sürülmüştür (Xiong ve diğerleri, 2016).

Benzin istasyonu çalışanları ile kontrol grubu arasında genotoksisite göstergeleri için istatistiksel anlamlı herhangi bir farkın bulunmadığı birkaç çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan Brezilya'daki 19 benzin istasyonu çalışanında 38 kontrole kıyasla benzin istasyonu aktivitesi ile ilişkili olabilecek herhangi bir kromozomal aberasyon tespit edilmemiştir (Trevisan ve diğerleri, 2014). İtalya'da 23 sigara içmeyen benzin istasyonu çalışanı ve 23 sigara içmeyen kontrolün dahil olduğu bir çalışma (Carere ve diğerleri, 1995) ile 24 benzin istasyonu çalışanı ve 31 kontrolün yer aldığı bir diğer çalışmada (Lovreglio ve diğerleri, 2014), periferik kan lenfositlerinde mikroçekirdek ve kromozomal aberasyon sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. İtalya'daki başka bir çalışmada, 13 benzin istasyonu çalışanı ve 20 kontrol arasında Comet kuyruk yoğunluğu seviyelerinde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca, kuyruk yoğunluğu ve ortam havasındaki benzen seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemek için kullanılan çoklu regresyon modeli ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Lovreglio ve diğerleri, 2016).

Benzin istasyonu çalışanları ve kontrollerde ölçülen genotoksisite end-pointleri arasındaki korelasyonların ölçüldüğü tek bir adet çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada İtalya'daki benzin istasyonu çalışanları, yakıt tankeri sürücüler ve kontrolleri içeren tüm bireyler içerisinde mikroçekirdek ve kromozomal aberasyon sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Lovreglio ve diğerleri, 2014). Tez kapsamında ise, tüm bireylerde, kontrol ve maruziyet grupları içerisinde Comet testi ile ölçülen DNA hasarı (kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti), mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü ve kromozomal aberasyonların sıklıkları arasında istatistiksel anlamlı korelasyon olup olmadığı değerlendirilmiştir. Buna göre, sadece tüm bireyler içerisinde, kuyruk uzunluğu ile mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklığı ile aynı yönlü, kuyruk momenti ile mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklığı ile aynı yönlü, kromatid gap ile kuyruk momenti arasında aynı yönlü, kromozom gap ile kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti ve nükleoplazmik köprü arasında aynı yönlü korelasyonlar görülürken, kromatid kırığı ve nükleoplazmik köprü arasında ters yönlü korelasyonlar tespit edilmiştir. Diğer değişken çiftlerinin birbirleri arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Çizelge 4.21). Kontrol ve

maruziyet grupları içerisinde genotoksisite göstergeleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir (Çizelge 4.22 ve 4.23).

Benzin istasyonu çalışanları ve kontrollerin tüm demografik ve klinik özellikleriyle yaşam tarzı faktörlerinin mesleki maruziyete bağlı genotoksik hasar üzerinde etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Her ne kadar alt grup analizleri sonuçlarına göre, 35 yaş üzeri, 7 yıldan daha uzun süredir çalışan ve sigara içenler arasındaki benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla daha yüksek kromatid gap sıklığı tespit edilmesine karşın ve 7 yıldan daha uzun süredir çalışan ve sigara içenler arasındaki benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla kromozom gap sıklığı daha yüksek (Çizelge 4.11 ve 4.12) olsa da yapılan çoklu değişkenli regresyon analizi sonuçlarına göre yaş, çalışma süresi ve sigara tüketiminin benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla genotoksik hasar üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Benzer şekilde, çalışma süresi 7 yıldan fazla olan, sigara içen ve 10 yıldan daha uzun bir süredir sigara içen benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla mikroçekirdek sıklığı ile çalışma süresi 7 yıldan fazla olup ailede ve kendisinde kanser dışı hastalık öyküsü olan ve hem sigara içen hem de 10 yıldan daha fazla bir süredir sigara içen benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla nükleoplazmik köprü sıklığı daha yüksek bulunmasına karşın (Çizelge 4.17 ve 4.18), yapılan çoklu değişkenli regresyon analizi sonuçlarına göre yaş, çalışma süresi, sigara tüketimi ile kendisinde ve ailede eşlik eden kanser dışı hastalığın benzin istasyonu çalışanlarında kontrollere kıyasla genotoksik hasar üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Sadece ailede eşlik eden kanser dışı hastalığın mikroçekirdek sıklığını azalttığına dair bir sonuç çıkmıştır (Çizelge 4.20); ancak alt grup analizinde ailelerinde kanser dışı hastalığı olmayanlarda mikroçekirdek sıklığı hastalığı olanlara göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğundan (Çizelge 4.19) bu sonucun rastlantısal olduğu anlaşılmaktadır. Tüm bu faktörlerden bağımsız olarak sadece mesleki maruziyetin benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna göre kromatid ve kromozom kırığı dışında ölçülen diğer genotoksik hasarları artırdığı bulunmuştur (Çizelge 4.8, 4.15 ve 4.20).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Benzin istasyonu çalışanları, yakıt ikmali sırasında benzin buharına ve dolayısıyla içeriğindeki çok sayıda kimyasala maruz kalır ve bu konsantrasyonlar güvenlik eşiğini aşabilir (Rianto ve diğerleri, 2018). Benzin için standart bir formül olmadığı için, benzin buharına “güvenli” maruziyet seviyesinin ne olduğu belirsizdir. Bu zamana kadar yapılan çalışmalar doğrultusunda, benzine yakıt ikmali sırasında düşük seviyelerde olası maruziyetin yol açabileceği sağlık etkilerinin hafif olduğu görülse de, bileşenlerin karsinojenik potansiyelleri göz önünde bulundurulmalıdır. Mesleki araştırmalardan elde edilen bulgular, benzin istasyonu çalışanları gibi kronik olarak daha düşük seviyelerde benzin buharına maruz kalan kişilerin kanser için daha yüksek risk altında olduğunu göstermiştir. Bu kanıtlara rağmen, araç yakıt ikmali sırasında benzin buharının ne gibi bir risk oluşturduğu veya bu tür bir maruziyetin bireyin ömrü boyunca kümülatif etkisi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan araştırmalar, bireylerin yakıt ikmali sırasında “benzin buharı geri kazanım sistemleri” ile donanımlı araçlarda bile önemli miktarlarda benzin buharına maruz kalılabileceğini vurgulamaktadır (Shearston ve Hilpert, 2020).

Benzen yaygın ve çevresel bir mesleki kirletici olduğundan, insan sağlığı üzerindeki genotoksik etkisi endişe konusu olmaya devam etmektedir. Benzin istasyonu çalışanları benzen dışında DPM, PAH ve nitro-PAH gibi genotoksik ve karsinojenik potansiyeli olan kimyasallara da mesleki maruziyet açısından risk altındadır.

Benzin ve bileşenlerinin intrinsik toksik özelliklerinin bilinmesi kuşkusuz önemlidir, ancak normal kullanım koşulları altında insanda ve çevresinde meydana gelebilecek olası toksisiteyi (karsinojenik etki dahil) belirlemek daha da önemlidir. İnsanlarda benzinden kaynaklanan herhangi bir potansiyel kanser riski, birkaç nedenden dolayı henüz kesin olarak tanımlanamamaktadır:

1. Benzinin çeşitlilik göstermesi ve çok sayıda farklı bileşenler içermesi (örneğin; kurşunlu, kurşunsuz, oksijenlenmiş, yeniden formüle edilmiş benzinler)
2. Bazı bileşenlerinin deney hayvanlarındaki karsinojenik etkisiyle ilgili bulguların yetersiz olması
3. Bazı bileşenlerin deney hayvanlarında tespit edilen ancak insanlarda bulunmayan mekanizmalara atfedilen karsinojenik etkilerinin olması

4. Mesleki olarak maruz kalan kohortlarda uzun vadeli etkilerin belirlenmesine yönelik verilerin yetersiz olması
5. Genel popülasyon maruziyeti hakkında bilginin yetersiz olması (Caprino ve Togna, 1998)

Modern kurşunsuz benzinlerin daha düşük miktarlarda benzen ve kurşun içermesi nedeniyle insan sağlığı için daha az risk oluşturduğu doğrudur, ancak benzinin potansiyel genotoksitesisi ile ilgili sorun halen netlik kazanmamıştır. Benzinin formülasyonunda, üretim süreçlerinde ve dağıtım yöntemlerinde daha fazla değişiklik yapılmasıyla, sağlık ve çevre için daha düşük risk seviyeleri mümkün olabilir (Caprino ve Togna, 1998). Yakın zamanlarda yakıtlar, araç emisyonlarını azaltmak için yeniden formüle edilmiştir. Örneğin, MTBE gibi oksijenli bileşikler benzine eklenmiş ve dizel yakıtların kükürt ve aromatik içerikleri azaltılmıştır. Bazı yakıt reformülasyonlarının motorlu taşıtlardan kaynaklanan PAH emisyonlarını azaltmaya yardımcı olması mümkündür (Marr ve diğerleri, 1999).

Akaryakıtlarda az miktarda benzen varlığına bağlı benzine maruziyetten kaynaklanan lösemi riski endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Bu zamana kadar yapılan mesleki benzin maruziyetini içeren kohort çalışmaları, bazı rafineri çalışanlarında lösemi riskinin arttığına dair göstergeler tespit etmiştir. Ayrıca, bu çalışmalarda yer alan dağıtım işçilerinin mortalite oranlarının yüksek olması endişe vericidir (Raabe, 1993). Herhangi bir sonuca varılmadan önce benzine maruz kalan işçilere özel daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Benzene ait TLV-TWA değerlerinin geçtiğimiz on yıllarda önemli ölçüde düştüğü görülmektedir. DSÖ'ye göre yaşamları boyunca havada $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyonlarda kronik benzene maruz kalan kişiler arasında lösemi gelişme riskinin milyonda yaklaşık 6 vaka olduğu tahmin edilmektedir. Bu bağlamda, maruziyetin ve biyolojik etkilerin biyogöstergeleri, mesleki maruziyetlerin uygun bir şekilde izlenmesi için tamamlayıcı araçlardır (Moro ve diğerleri, 2013). Benzen, mesleki maruziyetlerin azaltılmasını ve işçi sağlığının iyileştirilmesini sağlamak için düzenleyici incelemelerden geçmiştir ve geçmeye devam etmektedir. Çoğu işyerinde maruziyet düzeylerinin kademeli olarak azaltılması, aslında dikkatleri yüksek dozlarda benzende gözlemlenen sağlık etkilerinden, düşük düzeylerde mesleki veya çevresel maruziyetten beklenen sağlık etkilerine kaydırmıştır (Fracasso ve diğerleri, 2010). Dolayısıyla işçi sağlığı için önerilen ve uygulamaya konan bu

sınır değerlerin daha kapsamlı biyoizleme çalışmalarının yürütülmesi sayesinde değişebileceği ve düşürülebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

IARC sınıflandırmalarının da statik (değişmez) olmadığı unutulmamalıdır; yeni çalışmalarla söz konusu kimyasalların karsinogenisite potansiyelleri için yeterli kanıt sunulduğunda sınıflandırma değişebilir.

Artan sağlık riski, çalışanları benzin, UOB'ler ve araç egzoz emisyonları gibi kimyasallara maruziyetten korumak için kanserle ilişkili sağlık gözetimi yapmak gerektiğini düşündürmektedir. Mesleki maruziyet limit değerlerinin, teknik ve bilimsel araştırmalardan kaynaklanan teknolojik yeniliklere uyarlanması için periyodik olarak revize edilmesi gerekmektedir (Periago ve Prado, 2005).

Mesleki maruziyete bağlı gelişen advers sağlık etkileri ve kanser, çalışma koşullarının iyileştirilmesini ve geliştirilmesini sağlayan regülasyonlar sayesinde kaçınılabilir ve önlenelidir. Ancak bu düzenlemeler her zaman için tek başına yeterli olmayabilir. Tüm çalışanlar, işyerindeki kimyasalların tanımlanması ve değerlendirilmesi süreçlerine katılması, çalışma koşullarının mümkün olan en iyi korunma düzeyini sağlayabilecek şekilde geliştirilmesi talebiyle bir araya gelmelidir. Ayrıca, her ülkede kapsamlı çalışmaların yürütülerek gerçekleşen kanser vakalarının saptanması elzemdir. Tüm çalışanların sağlık durumlarına yönelik kontrolleri içeren kayıtları olmalı ve bu kayıtlara karsinogen ajanlarla ilişkili olabilecek her türlü anormal durum ve belirti kaydedilmelidir. Sağlık surveyansı çalışma hayatı bittikten sonra bile devam ettirilmelidir (Mengeot ve diğerleri, 2014).

Geleneksel dizel motorlardan çıkan egzozun kansere neden olma potansiyeli nedeniyle, U.S. EPA ve diğer düzenleyici kurumlar, partikül emisyonlarını azaltmak için giderek daha sıkı düzenlemeler getirmiştir. Geliştirilmiş motorlar ve yakıt enjeksiyon sistemleri, ultra düşük kükürtlü yakıtların ve yağlayıcıların kullanımı ve egzoz arıtma sistemlerinin kullanılmasını gerektirecek çok katı partikül emisyon standartları duyurulmuştur. Buna karşılık olarak, endüstri de yeni yönetmeliklerle uyumlu olacak sistemler sağlayan yeni ve geliştirilmiş teknolojiler geliştirerek yanıt vermiştir. Bu yeni teknolojinin, eğer varsa, potansiyel sağlık etkilerinin değerlendirilmesi gereklidir. Yeni teknoloji dizellerin olası tehlikelerini özel olarak değerlendirecek end-pointlere ilişkin kanser biyoanalizleri ve ilgili diğer çalışmaların yürütülmesi önerilmektedir. Ayrıca, yeni dizel teknolojisinden kaynaklanan emisyonların

karsinojenik potansiyeline ilişkin değerlendirmelerin, geleneksel dizel teknolojisine devam etmek yerine yeni dizel teknolojisinin kullanımını teşvik etme kararıyla karşı kaşıya kalan dünya çapındaki halk sağlığına ve diğer yetkililere rehberlik etmede yardımcı olacağı düşünülmektedir (Hesterberg ve diğerleri, 2005).

Benzin istasyonlarında araçlara yakıt ikmali yapan işçilerin hizmetinin sürekliliği ele alınması gereken önemli bir sorundur. Bu çalışanların potansiyel olarak tehlikeli atmosfer koşullarına maruz kalmalarını azaltmak veya ortadan kaldırmak adına, self-servis süreci başlatılabilir veya yakıt ikmali sırasında buhar geri kazanım teknolojilerinin kullanımı zorunlu tutulabilir. Akaryakıt bileşenlerine maruziyet sonucu gelişebilecek sağlık etkileri konusunda benzin istasyonu çalışanlarının eğitilmesi, iş uygulamalarının iyileştirilmesi ve maruziyetten kaçınma teknikleri (örneğin, araç tank açıklıklarının rüzgâra karşı durması) içeren idari kontroller ve uygulamalar tavsiye edilebilir (Alyami, 2017). Ayrıca, mesleki kimyasallara maruziyetin periyodik olarak izlenmesi, maruziyet değerlerinin uluslararası izin verilen sınırlara uygun hale getirilmesi ve maske ve eldiven gibi kişisel koruyucu ekipmanların uygulanmasını içeren güvenlik önlemlerinin alınması önerilmektedir. Çalışmaların büyük bir kısmında (Bindhya ve diğerleri, 2010; Butt ve diğerleri, 2017; Filho ve diğerleri, 2018; Lovreglio ve diğerleri, 2016; Maciel ve diğerleri, 2020; Pandey ve diğerleri, 2008; Rekha Devi ve diğerleri, 2011; Rekha Devi ve diğerleri, 2010; Salem ve diğerleri, 2018; Salih ve diğerleri, 2020; Sellappa ve diğerleri, 2010; Shilpi ve diğerleri, 2016; Singh ve diğerleri, 2010) ve sunulan tez çalışmasında, benzin istasyonu çalışanları tarafından koruyucu ekipmanların kullanılmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun benzine ve çeşitli kimyasallara maruz kalan çalışanlarda oluşabilecek potansiyel tehlikeyi artırdığı düşünülmektedir.

Gelişmekte olan ülkelerde iş sağlığı ve güvenliğini sağlamak için uzun süreli düşük BTEX seviyelerine maruz kalmanın etkilerini daha iyi anlamak için daha büyük örneklem sayısına sahip geriye dönük kohort çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Genotoksisitenin biyogöstergeleri, olası risklerin değerlendirilmesinde değerli tahminicilerdir. Tez kapsamında, Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı, kromozomal aberasyon testi ile tespit edilen kromatid ve kromozom tipi aberasyon sıklıkları ve sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek testi ile tespit edilen mikroçekirdek ile nükleopazmik köprü sıklıkları, benzin istasyonu çalışanlarının karşılaştığı riskleri ölçmek

adına genotoksisitenin göstergeleri olarak hizmet etmişlerdir. Çalışma sonucunda benzin istasyonu çalışanlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı şekilde daha yüksek kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu (kuyruktaki DNA yüzdesi) ve kuyruk moment, kromatid ve kromozom gap ile toplam aberasyon sıklığında artış ile mikroçekirdek ve nükleoplazmik köprü sıklığında artış tespit edilmiştir. Yaş, VKİ, çalışma süresi, eşlik eden hastalıklar, sigara ve alkol tüketimi gibi faktörlerden bağımsız olarak maruziyetin genotoksik hasarları artırdığı görülmüştür. Ayrıca, tüm bireyler içerisinde çalışılan genotoksisite testleri ile değerlendirilen end-pointler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon görülmüştür. Sunulan tez çalışması, benzin maruziyeti ile ilişkili olduğu gösterilen genotoksisite biyogöstergeleri sayesinde, benzin istasyonu çalışanlarında genotoksisite riskinin arttığını göstermektedir.

Akaryakıt maruziyetine ilişkin önemli işçi sağlığı bilgilerinin temini için benzindeki ve egzoz emisyonundaki bileşenlerin ortam havası maruziyet seviyeleri, kan ve idrar konsantrasyon ölçümleri gibi daha detaylı risk değerlendirme parametrelerinin, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerle birlikte baş ağrısı, uyku bozuklukları, hafıza kaybı ve genel yorgunluk gibi klinik nörolojik etkilerin izlenerek mevcut çalışmanın devam ettirilmesi önerilmektedir. Ayrıca ileriki çalışmalarda diyet, mevsimsel değişiklikler, genetik polimorfizmler ve sektörde kadın çalışanların nüfusundaki artış göz önüne alındığında cinsiyetin olası genotoksisite riski üzerine olan etkilerinin araştırılması önerilmektedir.

Sonuç olarak sunulan tez çalışması, araç yakıtlarına ve araçlardan salınan egzoz dumanına uzun süreli düşük dozlarda mesleki olarak maruz kalmanın, benzin istasyonu çalışanlarında DNA bütünlüğünün tehlikeye girdiğini savunan literatüre katkıda bulunmaktadır. Ayrıca bu araştırma, benzin istasyonu çalışanlarında hedef dokularda genotoksisite biyogöstergerlerinin ölçümü ile kanser gelişimi öncesi oluşan erken biyolojik etkilerin tespit edilmesi açısından önem arz etmektedir. Benzin istasyonu çalışanlarının iş yeri ortamında uygulanan yasal düzenlemelerin etkilerinin izlenmesinde ve bu düzenlemelerin tekrar gözden geçirilmesi aşamalarında bu ve benzer çalışmalar yol gösterici olacaktır.



KAYNAKLAR

- Abubakar, M. B., Abdullah, W.Z., Sulaiman, S.A., and Ang, B.S. (2015). The effects of exposure to petrol vapours on growth, haematological parameters and oxidative markers in sprague-dawley male rats. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 22(1), 23-31.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2010). Toxicological profile for ethylbenzene; *U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service*. Atlanta, Georgia, 1-341.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2017). Toxicological profile for toluene; *U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service*. Atlanta, Georgia, 1-496.
- Ahmadi, Z., Moradabadi, A., Abdollahdokht, D., Mehrabani, M., and Nematollahi, M.H. (2019). Association of environmental exposure with hematological and oxidative stress alteration in gasoline station attendants. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(20), 20411-20416. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05412-7>
- Aksoy, M. (1985). Malignancies due to occupational exposure to benzene. *American Journal of Industrial Medicine*, 7(5-6), 395-402. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700070506>
- Albertini, R. J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., and Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*, 463(2), 111-172. [https://doi.org/10.1016/s1383-5742\(00\)00049-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5742(00)00049-1)
- Albertini, R. J., Carson, M.L., Kirman, C.R., and Gargas, M.L. (2010). 1,3-Butadiene: II. Genotoxicity profile. *Critical Reviews in Toxicology*, 40 12-73. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.507182>
- Alyami, A. (2017). Occupational exposure assessment to gasoline vapours under various conditions at public gasoline stations. *Athens Journal Of Sciences*, 4, 232-242. <https://doi.org/10.30958/ajs.4-4-4>
- Anderson, D., Yu, T.W., and McGregor, D.B. (1998). Comet assay responses as indicators of carcinogen exposure. *Mutagenesis*, 13(6), 539-555. <https://doi.org/10.1093/mutage/13.6.539>
- Andreoli, C., Leopardi, P., and Crebelli, R. (1997). Detection of DNA damage in human lymphocytes by alkaline single cell gel electrophoresis after exposure to benzene or benzene metabolites. *Mutation Research*, 377(1), 95-104. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(97\)00065-1](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(97)00065-1)
- Arul, P., Shetty, S., Masilamani, S., Akshatha, C., and Naveen Kumar, B.J. (2017). Evaluation of micronucleus in exfoliated buccal epithelial cells using liquid-based cytology preparation in petrol station workers. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 38(3), 273-276. https://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo_26_16

- Azari, M., Naghavi, Z., Zayeri, F., and Salehpour, S. (2012). Occupational exposure of petroleum depot workers to BTEX compounds. *The international journal of occupational and environmental medicine*, 3, 39-44.
- Azqueta, A., Ladeira, C., Giovannelli, L., Boutet-Robinet, E., Bonassi, S., Neri, M., Gajski, G., Duthie, S., Del Bo, C., Riso, P., Koppen, G., Basaran, N., Collins, A., and Moller, P. (2020). Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutation Research / Reviews in Mutation Research*, 783, 108288. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.108288>
- Bahrami, A. R., Joneidi Jafari, A., Ahmadi, H., and Mahjub, H. (2007). Comparison of benzene exposure in drivers and petrol stations workers by urinary trans,trans-muconic acid in west of Iran. *Industrial Health*, 45(3), 396-401. <https://doi.org/10.2486/indhealth.45.396>
- Beceran, A., Akdemir, N., Omurtag, G.Z., Tatlıpınar, M.E., ve Şardaş, S. . (2016). DNA damage in gasoline station workers caused by occupational exposure to petrol vapour in Turkey. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 54(1), 53-62. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0545>
- Benbrahim-Tallaa, L., Baan, R.A., Grosse, Y., Lauby-Secretan, B., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Guha, N., Loomis, D., and Straif, K. (2012). Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes. *The Lancet Oncology*, 13(7), 663-664. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70280-2](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70280-2)
- Benites, C. I., Amado, L.L., Vianna, R.A., and Martino-Roth Mda, G. (2006). Micronucleus test on gas station attendants. *Genetics and Molecular Research*, 5(1), 45-54.
- Bharathi, K. V. L., Dwivedi, D., Agarwal, A.K., and Sharman, M. (2004). *Diesel exhaust particulates characterization for heavy metals* Proceedings of IASTA Meeting and International Conference on Aerosols Clouds And Indian Monsoon, IIT Kanpur.
- Bhargavan, R. (2014). *Detection of level of DNA damage in petrol pump attendants of Puducherry union territory through Comet Assay* (Final Report of DSTE-GIA Research Project 2013-14. Hindistan, 1-31.
- Bindhya, S., Balachandar, V., Sudha, S., Mohana Devi, S., Varsha, P., Kandasamy, K., Gnana Prakash, V., and Sasikala, K. (2010). Assessment of occupational cytogenetic risk, among petrol station workers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(2), 121-123. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0068-z>
- Boeckx, R. L., Postl, B., and Coodin, F.J. (1977). Gasoline sniffing and tetraethyl lead poisoning in children. *Pediatrics*, 60(2), 140-145.
- Brooks, A. L., Li, A.P., Dutcher, J.S., Clark, C.R., Rothenberg, S.J., Kiyoura, R., Bechtold, W.E., and McClellan, R.O. (1984). A comparison of genotoxicity of automotive exhaust particles from laboratory and environmental sources. *Environmental Mutagenesis*, 6(18-22), 651-668. <https://doi.org/10.1002/em.2860060504>

- Bukvic, N., Bavaro, P., Elia, G., Cassano, F., Fanelli, M., and Guanti, G. (1998). Sister chromatid exchange (SCE) and micronucleus (MN) frequencies in lymphocytes of gasoline station attendants. *Mutation Research*, 415(1-2), 25-33. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00045-x](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00045-x)
- Burgaz, S., Demircigil, C.G., Karahalil, B., Karakaya, A.E. (2002). Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of traffic policemen and taxi drivers exposed to urban air pollution. *Chemosphere*, 47(1), 57-64. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00185-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00185-0)
- Butt, F., Cheema, K., Nisar, N., and Qureshi, J. (2017). Cytogenetic bio-monitoring in fuel station attendants of Gujrat, Pakistan through buccal micronucleus cytome assay. *Journal of Pakistan Medical Association*, 67(7), 1039-1044.
- Campo, L., Rossella, F., Mercadante, R., and Fustinoni, S. (2016). Exposure to BTEX and ethers in petrol station attendants and proposal of biological exposure equivalents for urinary benzene and MTBE. *Annals of Occupational Hygiene*, 60(3), 318-333. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mev083>
- Caprino, L., and Togna, G.I. (1998). Potential health effects of gasoline and its constituents: A review of current literature (1990-1997) on toxicological data. *Environmental Health Perspectives*, 106(3), 115-125. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106115>
- Carere, A., Antoccia, A., Crebelli, R., Degrassi, F., Fiore, M., Iavarone, I., Isacchi, G., Lagorio, S., Leopardi, P., Marcon, F., Palitti, F., Tanzarella, C. and Zinjo, A. (1995). Genetic effects of petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station attendants. *Mutation Research*, 332(1-2), 17-26. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(95\)00081-9](https://doi.org/10.1016/0027-5107(95)00081-9)
- Carrieri, M., Pigini, D., Martinelli, A., Paci, E., Maratini, F., Salamon, F., and Tranfo, G. (2019). Effect of benzene exposure on the urinary biomarkers of nucleic acid oxidation in two cohorts of gasoline pump attendants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(1), 129-138. <https://doi.org/10.3390/ijerph16010129>
- Celik, A., Cavas, T., ve Ergene-Gozukara, S. (2003). Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis*, 18(5), 417-421. <https://doi.org/10.1093/mutage/geg022>
- Celik, A., ve Akbaş, E. (2005). Evaluation of sister chromatid exchange and chromosomal aberration frequencies in peripheral blood lymphocytes of gasoline station attendants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(1), 106-112. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.10.008>
- Chaiklieng, S., Suggaravetsiri, P., and Autrup, H. (2019). Risk assessment on benzene exposure among gasoline station workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(14), 2545. <https://doi.org/10.3390/ijerph16142545>
- Chandrasekaran, R., Samy, P. L., and Murthy, P.B. (1996). Increased sister chromatid exchange (SCE) frequencies in lymphocytes from traffic policemen exposed to automobile exhaust pollution. *Human & Experimental Toxicology*, 15(4), 301-304. <https://doi.org/10.1177/096032719601500405>

- Chanvaivit, S., Navasumrit, P., Hunsonti, P., Autrup, H., and Ruchirawat, M. (2007). Exposure assessment of benzene in Thai workers, DNA-repair capacity and influence of genetic polymorphisms. *Mutation Research*, 626(1-2), 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.09.007>
- Chen, C. S., Hseu, Y.C., Liang, S.H., Kuo, J.Y., and Chen, S.C. (2008). Assessment of genotoxicity of methyl-tert-butyl ether, benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene to human lymphocytes using comet assay. *Journal of Hazardous Materials*, 153(1), 351-356. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.08.053>
- Chessare, J. B., and Wodarczyk, K. (1988). Gasoline sniffing and lead poisoning in a child. *American Family Physician*, 38(1), 181-182.
- Claxton, L. D. (1981). Mutagenic and carcinogenic potency of diesel and related environmental emissions: Salmonella bioassay. *Environment International*, 5(4), 389-391. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0160-4120\(81\)90088-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0160-4120(81)90088-X)
- Claxton, L. D. (2015). The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions. Part 3: diesel and gasoline. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 763, 30-85. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2014.09.002>
- Cocco, P., t'Mannetje, A., Fadda, D., Melis, M., Becker, N., de Sanjose, S., Foretova, L., Mareckova, J., Staines, A., Kleefeld, S., Maynadie, M., Nieters, A., Brennan, P., and Boffetta, P. (2010). Occupational exposure to solvents and risk of lymphoma subtypes: results from the Epilymph case-control study. *Occupational and Environmental Medicine*, 67(5), 342-348. <https://doi.org/10.1136/oem.2009.046839>
- Collins, A. R. (2015). The comet assay: a heavenly method! *Mutagenesis*, 30(1), 1-4. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu079>
- Committee for Risk Assessment. (2018). *Opinion on scientific evaluation of occupational exposure limits for benzene*. ECHA. Helsinki, Finland, 1-15.
- Consonni, D., De Matteis, S., Lubin, J.H., Wacholder, S., Tucker, M., Pesatori, A.C., Caporaso, N.E., Bertazzi, P.A., and Landi, M.T. (2010). Lung cancer and occupation in a population-based case-control study. *American Journal of Epidemiology*, 171(3), 323-333. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp391>
- Cordelli, E., Bignami, M., and Pacchierotti, F. (2021). Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicology Research (Camb)*, 10(1), 68-78. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa093>
- Correa, S. M., Arbilla, G., Marques, M.R.C., and Oliveira, K.M.P.G. (2012). The impact of BTEX emissions from gas stations into the atmosphere. *Atmospheric Pollution Research*, 3(2), 163-169. <https://doi.org/https://doi.org/10.5094/APR.2012.016>
- Corvi, R., Albertini, S., Hartung, T., Hoffmann, S., Maurici, D., Pfuhler, S., van Benthem, J., and Vanparys, P. (2008). ECVAM retrospective validation of in vitro micronucleus test (MNT). *Mutagenesis*, 23(4), 271-283. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen010>

- Costa, C., Ozcagli, E., Gangemi, S., Schembri, F., Giambo, F., Androutsopoulos, V., Tsatsakis, A., and Fenga, C. (2016). Molecular biomarkers of oxidative stress and role of dietary factors in gasoline station attendants. *Food and Chemical Toxicology*, 90, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.01.017>
- Coufalik, P., Matousek, T., Krumal, K., Vojtisek-Lom, M., Beranek, V., and Mikuska, P. (2019). Content of metals in emissions from gasoline, diesel, and alternative mixed biofuels. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(28), 29012-29019. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06144-4>
- Cox, M. J., Hwang, J.C., Himel, H.N., and Edlich, R.F. (1996). Severe burn injury from recreational gasoline use. *American Journal of Emergency Medicine*, 14(1), 39-42. [https://doi.org/10.1016/s0735-6757\(96\)90011-x](https://doi.org/10.1016/s0735-6757(96)90011-x)
- da Rosa, J. C., Fiegenbaum, M., Soledar, A.L., Claus, M.S., de Souza Nunes, A.D., and Cardoso, V.V. (2013). Cytogenetic evaluation and the association with polymorphisms of the CPY1A1 and NR1I3 genes in individuals exposed to BTEX. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(7), 5883-5890. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2992-3>
- Dandajeh, H., Talibi, M., Ladommatos, N., and Hellier, P. (2019). Influence of combustion characteristics and fuel composition on exhaust PAHs in a compression ignition engine. *Energies*, 12, 2575. <https://doi.org/10.3390/en12132575>
- DeMarini, D. M. (2019). Chapter 12 The role of genotoxicity in carcinogenesis. In R. A. Baan, Stewart, B.W., Straif, K. (Ed.), *Tumour Site Concordance and Mechanisms of Carcinogenesis* (Vol. 165). International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon (FR), pp.107-115.
- Demircigil, G.C., Aykanat, B., Fidan, K., Gulleroglu, K., Bayrakci, U.S., Sepici, A., Buyukkaragoz, B., Karakayali, H., Haberal, M., Baskin, E., Buyan, N., Burgaz, S. (2011). Micronucleus frequencies in peripheral blood lymphocytes of children with chronic kidney disease. *Mutagenesis*, 26(5), 643-650. <https://doi.org/10.1093/mutage/ger027>
- Dobbins, R. A. (2007). Hydrocarbon nanoparticles formed in flames and diesel engines. *Aerosol Science and Technology*, 41(5), 485-496. <https://doi.org/10.1080/02786820701225820>
- Doel, R., Jørgensen, R., King, D.J., Mann, N., and Scorletti, P. (1998). *Polycyclic aromatic hydrocarbons in automotive exhaust emissions and fuels* (98/55). CONCAWE, Brussels, 1-144.
- Dukovich, M., Yasbin, R.E., Lestz, S.S., Risby, T.H., and Zweidinger, R.B. (1981). The mutagenic and SOS-inducing potential of the soluble organic fraction collected from diesel particulate emissions. *Environmental Mutagenesis*, 3(3), 253-264. <https://doi.org/10.1002/em.2860030308>
- Dusinska, M., and Collins, A.R. (2008). The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. *Mutagenesis*, 23(3), 191-205. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen007>

- Dwivedi, D., Agarwal, A.K., and Sharma, M. . (2006). Particulate emission characterization of a biodiesel vs diesel-fuelled compression ignition transport engine: A comparative study. *Atmospheric Environment*, 40, 5586-5595.
- European Medicines Agency. (2012). ICH guideline S2 (R1) on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. (EMA/CHMP/ICH/126642/2008). *European Union*. London, United Kingdom, 1-28.
- European Union Risk Assessment Report. (2008). benzene. *ECHA*. Dortmund, Germany, 1-487.
- Fenech, M. (1993). The cytokinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. *Environmental Health Perspectives*, 101 101-107. <https://doi.org/10.1289/ehp.93101s3101>
- Fenech, M. (2000). A mathematical model of the in vitro micronucleus assay predicts false negative results if micronuclei are not specifically scored in binucleated cells or in cells that have completed one nuclear division. *Mutagenesis*, 15(4), 329-336. <https://doi.org/10.1093/mutage/15.4.329>
- Fenga, C., Gangemi, S., Teodoro, M., Rapisarda, V., Golokhvast, K., Docea, A.O., Tsatsakis, A.M., and Costa, C. (2017). 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workers exposed to low-dose benzene. *Toxicology Reports*, 4, 291-295. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.05.008>
- Filho, A. P. R., Silveira, M.A.D., do Nascimento, C.B., and d'Arce, L.P.G. (2018). Integrative study of cell damage and cancer risk in gas station attendants. *International Journal of Environmental Health Research*, 28(1), 1-7. <https://doi.org/10.1080/09603123.2017.1415305>
- Fracasso, M. E., Doria, D., Bartolucci, G.B., Carrieri, M., Lovreglio, P., Ballini, A., Soleo, L., Tranfo, G., and Manno, M. (2010). Low air levels of benzene: correlation between biomarkers of exposure and genotoxic effects. *Toxicology Letters*, 192(1), 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.04.028>
- Fustinoni, S., Consonni, D., Campo, L., Buratti, M., Colombi, A., Pesatori, A.C., Bonzini, M., Bertazzi, P.A., Foa, V., Garte, S., Farmer, P.B., Levy, L.S., Pala, M., Valerio, F., Fontana, V., Desideri, A., and Merlo, D.F. (2005). Monitoring low benzene exposure: comparative evaluation of urinary biomarkers, influence of cigarette smoking, and genetic polymorphisms. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14(9), 2237-2244. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0798>
- Geraldino, B. R., Nunes, R.F.N., Gomes, J.B., da Poça, K.S., Giardini, I., Silva, P.V.B., Souza, H.P., Otero, U.B., and Sarpa, M. (2021). Evaluation of exposure to toluene and xylene in gasoline station workers. *Advances in Preventive Medicine*, 2021, 1-10, Article 5553633. <https://doi.org/10.1155/2021/5553633>

- Ghittori, S., Ferrari, M., Maestri, L., Negri, S., Zadra, P., Gremita, C., and Imbriani, M. (2005). [The significance of environmental and biological monitoring in workers employed in service stations after the elimination of tetraethyl lead from gasoline]. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia*, 27(2), 137-153. (Il significato del monitoraggio ambientale e biologico nei lavoratori addetti alle stazioni di servizio dopo la eliminazione del piombo tetraetile dalle benzine.)
- Gopalan, R.C., Emerce, E., Wright, C.W., Karahalil, B., Karakaya, A.E., Anderson, D. (2011). Effects of the anti-malarial compound cryptolepine and its analogues in human lymphocytes and sperm in the Comet assay. *Toxicology Letters*, 207, 322-325. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.09.010>
- Hallare, A. V., Gervasio, M.K., Gervasio, P.L., and Acacio-Claro, P.J. (2009). Monitoring genotoxicity among gasoline station attendants and traffic enforcers in the City of Manila using the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells. *Environmental Monitoring and Assessment*, 156(1-4), 331-341. <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0488-y>
- Hansbrough, J. F., Zapata-Sirvent, R., Dominic, W., Sullivan, J., Boswick, J., and Wang, X.W. (1985). Hydrocarbon contact injuries. *The Journal of Trauma*, 25(3), 250-252. <https://doi.org/10.1097/00005373-198503000-00016>
- Harper, C., and Liccione, J.J. (1995). Toxicological profile for gasoline. *U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, Clifton Road NE, 1-224.
- Hassan, A., Abou El-Magd, S., Ghareeb, A., and Bolbol, S. (2013). Assessment of oxidative stress and antioxidant status among petrol stations' workers exposed to benzene in Zagazig city. *Zagazig University Medical Journal*, 19(5), 1-12. <https://doi.org/10.21608/zumj.2013.4312>
- Hayashi, M. (2016). The micronucleus test-most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes and Environment*, 38, 18. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>
- Hayes, R. B. (1992). Biomarkers in occupational cancer epidemiology: considerations in study design. *Environmental Health Perspectives*, 98, 149-154. <https://doi.org/10.1289/ehp.9298149>
- Hayes, R. B., Yin, S., Rothman, N., Dosemeci, M., Li, G., Travis, L.T., Smith, M.T., and Linet, M.S. (2000). Benzene and lymphohematopoietic malignancies in China. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 61(5-6), 419-432. <https://doi.org/10.1080/00984100050166442>
- Henderson, L., Brusick, D., Ratpan, F., and Veenstra, G. (2007). A review of the genotoxicity of ethylbenzene. *Mutation Research*, 635(2-3), 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.03.001>
- Hesterberg, T. W., Bunn, W.B., McClellan, R.O., Hart, G.A., and Lapin, C.A. (2005). Carcinogenicity studies of diesel engine exhausts in laboratory animals: a review of past studies and a discussion of future research needs. *Critical Reviews in Toxicology*, 35(5), 379-411. <https://doi.org/10.1080/10408440590950542>

- Högstedt, B., Holmén, A., Karlsson, A., Raihle, G., Nillius, K., and Vestlund, K. (1991). Gasoline pump mechanics had increased frequencies and sizes of micronuclei in lymphocytes stimulated by pokeweed mitogen. *Mutation Research*, 263(1), 51-55. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(91\)90034-2](https://doi.org/10.1016/0165-7992(91)90034-2)
- Hou, S. M., Lambert, B., and Hemminki, K. (1995). Relationship between hprt mutant frequency, aromatic DNA adducts and genotypes for GSTM1 and NAT2 in bus maintenance workers. *Carcinogenesis*, 16(8), 1913-1917. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.8.1913>
- Huisingh, J., Bradow, R., Jungers, R., Claxton, L., Zweidinger, R., Tejada, S., Bumgarner, J., Duffield, F., Waters, M., and Simmon, V.F. (1978). Application of bioassay to the characterization of heavy duty diesel particle emissions. Symposium on Application of Short-Term Bioassays in the Fractionation and Analysis of Complex Environmental Mixtures, Williamsburg, VA.
- Huth, M., and Heilos, A. (2013). 14 - Fuel flexibility in gas turbine systems: impact on burner design and performance. In P. Johnson (Ed.), *Modern Gas Turbine Systems*. Woodhead Publishing Series in Energy, pp. 635-684. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857096067.3.635>
- Iavicoli, I., and Carelli, G. (2003). Letters to the Editor: Occupational exposure to methyl tertiary butyl ether: a risk to be assessed. *Occupational Medicine*, 53, 408-410. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqg076>
- Indulski, J. A., and Lutz, W. (1997). Molecular epidemiology: cancer risk assessment using biomarkers for detecting early health effects in individuals exposed to occupational and environmental carcinogens. *Reviews on Environmental Health*, 12(3), 179-190. <https://doi.org/10.1515/reveh.1997.12.3.179>
- Infante, P. F. (1993). State of the science on the carcinogenicity of gasoline with particular reference to cohort mortality study results. *Environmental Health Perspectives*, 101 105-109. <https://doi.org/10.1289/ehp.93101s6105>
- Integrated Risk Information System (IRIS). (2003). Xylenes, Chemical Assessment Summary; *U.S. Environmental Protection Agency*. 1-32.
- International Agency for Research on Cancer. (1989). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Occupational exposures in petroleum refining; crude oil and major petroleum fuels; *World Health Organization*, Volume 45. Lyon, France, 1-331.
- International Agency for Research on Cancer. (1999). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide; *World Health Organization*, Volume 71. Lyon, France, 1-1597.
- International Agency for Research on Cancer. (2000). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some industrial chemicals; *World Health Organization*, Volume 77. Lyon, France, 1-573.

- International Agency for Research on Cancer. (2008). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1,3-Butadiene, ethylene oxide and vinyl halides (vinyl fluoride, vinyl chloride and vinyl bromide; *World Health Organization*, Volume 97. Lyon, France, 1-525.
- International Agency for Research on Cancer. (2010). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures; *World Health Organization*, Volume 92. Lyon, France, 1-868.
- International Agency for Research on Cancer. (2012). Diesel engine exhaust carcinogenic [Press release]; *World Health Organization*, 213. Lyon, France, 1-4.
- International Agency for Research on Cancer. (2012a). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Chemical agents and related occupations; *World Health Organization*, Volume 100F. Lyon, France, 1-628.
- International Agency for Research on Cancer. (2012b). IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans, Acrolein, crotonaldehyde, and arecoline; *World Health Organization*, Volume 128. Lyon, France, 1-347.
- International Agency for Research on Cancer. (2014). IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes; *World Health Organization*, Volume 105. Lyon, France, 1-714.
- International Agency for Research on Cancer. (2018). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Benzene; *World Health Organization*, Volume 120. Lyon, France, 1-309.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). (2020). Hazard identification and characterization: Toxicological and human studies, Section 4.5 genotoxicity; *World Health Organization*; Environmental Health Criteria 240 (EHC 240). Stuttgart, Germany, 1-122.
- İnternet: European Chemicals Agency. Ethylbenzene. URL: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15377/7/7/1>, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021
- İnternet: International Labour Organization. (2010). ILO List of occupational diseases (revised 2010). *International Labour Organization*. URL: https://www.ilo.org/safework/info/publications/WCMS_125137/lang--en/index.htm, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021.
- İnternet: Michigan Department of Labor and Economic Opportunity. (2021). Diesel exhaust gases. *Michigan Occupational Safety and Health Administration*. URL: https://www.michigan.gov/leo/0,5863,7-336-94422_11407_30453-94707--,00.html, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021.
- İnternet: Occupational Safety and Health Administration. Description for 2911: Petroleum Refining. *United States Department of Labor*. URL: <https://www.osha.gov/sic-manual/2911>, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021.

- İnternet: The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) [Fact sheet]. URL: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxFAQs/ToxFAQsDetails.aspx?faqid=121&toxid=25>, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021
- İnternet: United States Environmental Protection Agency. (2002). Health assessment document for diesel engine exhaust (Final, 2002). *Washington Office, Washington, DC*: EPA/600/8-90/057F, 2002 URL: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=29060>, Son Erişim Tarihi: 21.12.2021
- İş sağlığı ve güvenliğine ilişkin işyeri tehlike sınıfları tebliği, (2012). *Resmi Gazete*. Sayı: 28509.
- Jacobsen, N. R., Møller, P., Cohn, C.A., Loft, S., Vogel, U., and Wallin, H. (2008). Diesel exhaust particles are mutagenic in FE1-MutaMouse lung epithelial cells. *Mutation Research*, 641(1-2), 54-57. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.03.001>
- Jakobsson, R., Ahlbom, A., Bellander, T., and Lundberg, I. (1993). Acute myeloid leukemia among petrol station attendants. *Archives of Environmental Health*, 48(4), 255-259. <https://doi.org/10.1080/00039896.1993.9940369>
- Jamall, I. S., and Willhite, C.C. (2008). Is benzene exposure from gasoline carcinogenic? *Journal of Environmental Monitoring*, 10(2), 176-187. <https://doi.org/10.1039/b712987d>
- Kachuri, L., Villeneuve, P.J., Parent, M.E., Johnson, K.C., Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group, and Harris, S.A. (2016). Workplace exposure to diesel and gasoline engine exhausts and the risk of colorectal cancer in Canadian men. *Environmental Health*, 15, 4-15. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0088-1>
- Karahalil, B., Yağar, S., Bahadır, G., Durak, P., Şardaş, S. (2005). Diazepam and propofol used as anesthetics during open-heart surgery do not cause chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 581(1-2), 181-186.
- Karakitsios, S. P., Delis, V.K., Kassomenos, P.A., and Pilidis, G.A. (2007). Contribution to ambient benzene concentrations in the vicinity of petrol stations: Estimation of the associated health risk. *Atmospheric Environment*, 41(9), 1889-1902. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.10.052>
- Kawamoto, T., Koga, M., Murata, K., Matsuda, S., and Kodama, Y. (1995). Effects of ALDH2, CYP1A1, and CYP2E1 genetic polymorphisms and smoking and drinking habits on toluene metabolism in humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 133(2), 295-304. <https://doi.org/10.1006/taap.1995.1154>
- Keenan, J. J., Gaffney, S., Gross, S.A., Ronk, C.J., Paustenbach, D.J., Galbraith, D., and Kerger, B.D. (2013). An evidence-based analysis of epidemiologic associations between lymphatic and hematopoietic cancers and occupational exposure to gasoline. *Human & Experimental Toxicology*, 32(10), 1007-1027. <https://doi.org/10.1177/0960327113476909>

- Keretetse, G. S., Laubscher, P.J., Du Plessis, J.L., Pretorius, P.J., Van Der Westhuizen, F.H., Van Deventer, E., Van Dyk, E., Eloff, F.C., Van Aarde, M.N., and Du Plessis, L.H. (2008). DNA damage and repair detected by the comet assay in lymphocytes of african petrol attendants: a pilot study. *Annals of Occupational Hygiene*, 52(7), 653-662. <https://doi.org/10.1093/annhyg/men047>
- Kirman, C. R., Albertini, R.J., Sweeney, L.M., and Gargas, M.L. (2010). 1,3-Butadiene: I. Review of metabolism and the implications to human health risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 40, 1-11. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.507181>
- Kotin, P., Falk, H.L., and Thomas, M. (1955). Aromatic hydrocarbons. III. Presence in the particulate phase of diesel-engine exhausts and the carcinogenicity of exhaust extracts. *A.M.A. Archives of Industrial Health*, 11(2), 113-120.
- Kovacic, P., and Somanathan, R. (2014). Nitroaromatic compounds: Environmental toxicity, carcinogenicity, mutagenicity, therapy and mechanism. *Journal of Applied Toxicology*, 34(8), 810-824. <https://doi.org/10.1002/jat.2980>
- Kumar, P., Gupta, B.N., Pandya, K.P., and Clerk, S.H. (1988). Behavioral studies in petrol pump workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 61(1), 35-38. <https://doi.org/10.1007/BF00381605>
- Ladeira, C., and Smajdova, L. (2017). The use of genotoxicity biomarkers in molecular epidemiology: applications in environmental, occupational and dietary studies. *AIMS genetics*, 4(3), 166-191. <https://doi.org/10.3934/genet.2017.3.166>
- Lagorio, S., Forastiere, F., Iavarone, I., Rapiti, E., Vanacore, N., Perucci, C.A., and Carere, A. (1994). Mortality of filling station attendants. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 20(5), 331-338. <https://doi.org/10.5271/sjweh.1389>
- Lagorio, S., Forastiere, F., Iavarone, I., Vanacore, N., Fuselli, S., and Carere, A. (1993). Exposure assessment in a historical cohort of filling station attendants. *International Journal of Epidemiology*, 22 51-56. https://doi.org/10.1093/ije/22.supplement_2.s51
- Langie, S. A., Azqueta, A., and Collins, A.R. (2015). The comet assay: past, present, and future. *Frontiers in Genetics*, 6, 266. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00266>
- Lankoff, A., Brzoska, K., Czarnocka, J., Kowalska, M., Lisowska, H., Mruk, R., Ovrevik, J., Wegierek-Ciuk, A., Zuberek, M., and Kruszewski, M. (2017). A comparative analysis of in vitro toxicity of diesel exhaust particles from combustion of 1st- and 2nd-generation biodiesel fuels in relation to their physicochemical properties-the FuelHealth project. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(23), 19357-19374. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9561-9>
- Lim, J., Lim, C., and Yu, L.E. (2009). Composition and size distribution of metals in diesel exhaust particulates. *Journal of Environmental Monitoring*, 11(9), 1614-1621. <https://doi.org/10.1039/b822514a>
- Loomis, D., Guha, N., Hall, A.L., and Straif, K. (2018). Identifying occupational carcinogens: an update from the IARC Monographs. *Occupational and Environmental Medicine*, 75(8), 593-603. <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104944>

- Loomis, D., Guyton, K.Z., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Vilahur, N., Mattock, H., Straif, K., and International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. (2017). Carcinogenicity of benzene. *The Lancet Oncology*, 18(12), 1574-1575. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30832-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30832-X)
- Lovreglio, P., Barbieri, A., Carrieri, M., Sabatini, L., Fracasso, M.E., Doria, D., Drago, I., Basso, A., D'Errico, M.N., Bartolucci, G.B., Violante, F.S., Soleo, L. (2010). Validity of new biomarkers of internal dose for use in the biological monitoring of occupational and environmental exposure to low concentrations of benzene and toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 83(3), 341-356. <https://doi.org/10.1007/s00420-009-0469-7>
- Lovreglio, P., Doria, D., Fracasso, M.E., Barbieri, A., Sabatini, L., Drago, I., Violante, F.S., and Soleo, L. (2016). DNA damage and repair capacity in workers exposed to low concentrations of benzene. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 57(2), 151-158. <https://doi.org/10.1002/em.21990>
- Lovreglio, P., Maffei, F., Carrieri, M., D'Errico, M.N., Drago, I., Hrelia, P., Bartolucci, G.B., and Soleo, L. (2014). Evaluation of chromosome aberration and micronucleus frequencies in blood lymphocytes of workers exposed to low concentrations of benzene. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 770, 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.04.022>
- Lu, Y. M., Ding, X.C., Ye, S.H., and Jin, X.P. (1999). Mutagenicity of various organic fractions of diesel exhaust particles. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 4(1), 9-12. <https://doi.org/10.1007/bf02931244>
- Lynge, E., Andersen, A., Nilsson, R., Barlow, L., Pukkala, E., Nordlinder, R., Boffetta, P., Grandjean, P., Heikkila, P., Horte, L.G., Jakobsson, R., Lundberg, I., Moen, B., Partanen, T., and Riise, T. (1997). Risk of cancer and exposure to gasoline vapors. *American Journal of Epidemiology*, 145(5), 449-458. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009127>
- Maciel, L. A., Feitosa, S.B, Trolly, T.S., and Sousa, A.L. (2020). Genotoxic effects of occupational exposure among gas station attendants in Santarem, Para, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*, 17(2), 247-253. <https://doi.org/10.5327/Z1679443520190382>
- Malini, S. S. N., and Maithily, K. (2017). Analysis of oxidative stress in chronic exposure to petroleum hydrocarbons in Karnataka, India. *Asia Pacific Journal of Medical Toxicology*, 6(1), 6-11. <https://doi.org/10.22038/apjmt.2017.8471>
- Manini, P., De Palma, G., Andreoli, R., Mozzoni, P., Poli, D., Goldoni, M., Petyx, M., Apostoli, P., and Mutti, A. (2010). Occupational exposure to low levels of benzene: Biomarkers of exposure and nucleic acid oxidation and their modulation by polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes. *Toxicology Letters*, 193(3), 229-235. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.01.013>

- Marr, L. C., Kirchstetter, T.W., Harley, R.A., Miguel, A.H., Hering, S.V., and Hammond, S.K. (1999). Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in motor vehicle fuels and exhaust emissions. *Environmental Science & Technology*, 33(18), 3091-3099. <https://doi.org/10.1021/es9812271>
- Martínez, M. A., and Ballesteros, S. (2006). Suicidal inhalation of motorbike exhaust: Adding new data to the literature about the contribution of gasoline in the cause of death. *Journal of Analytical Toxicology*, 30(9), 697-702. <https://doi.org/10.1093/jat/30.9.697>
- Martínez, M. A., Ballesteros, S., and Alcaraz, R. (2012). Reporting a sudden death due to accidental gasoline inhalation. *Forensic Science International*, 215(1), 114-120. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.01.039>
- Martinez-Valenzuela, C., Soto, F.B., Waliszewski, S.M., Meza, E., Arroyo, S.G., Martinez, L.D.O., Meraz, E.A., and Caba, M. (2017). Induced cytotoxic damage by exposure to gasoline vapors: a study in Sinaloa, Mexico. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(1), 539-546. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7821-8>
- Martins, R. A., Gomes, G.A., Aguiar, O.Jr., and Ribeiro, D.A. (2009). Biomonitoring of oral epithelial cells in petrol station attendants: comparison between buccal mucosa and lateral border of the tongue. *Environment International*, 35(7), 1062-1065. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.06.001>
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., and Kirsch-Volders, M. (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88(11), 1515-1531. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.004>
- Mengeot, M. A., Musu, T., and Vogel, L. (2014). Preventing work cancers A workplace health priority; *E. T. U. Institute*, Brussels, pp. 1-80.
- Milic, M., Ceppi, M., Bruzzone, M., Azqueta, A., Brunborg, G., Godschalk, R., and Bonassi, S. (2021). The hCOMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 787, 108371. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108371>
- Miligi, L., Costantini, A.S., Benvenuti, A., Kriebel, D., Bolejack, V., Tumino, R., Ramazzotti, V., Rodella, S., Stagnaro, E., Crosignani, P., Amadori, D., Mirabelli, D., Sommani, L., Belletti, I., Troschel, L., Romeo, L., Miceli, G., Tozzi, G.A., Mendico, I., and Vineis, P. (2006). Occupational exposure to solvents and the risk of lymphomas. *Epidemiology*, 17(5), 552-561. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000231279.30988.4d>
- Mitri, S., Fonseca, A.S., Otero, U.B., Tabalipa, M.M., Moreira, J.C., and Sarcinelli Pde, N. (2015). Metabolic polymorphisms and clinical findings related to benzene poisoning detected in exposed Brazilian gas-station workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 8434-8447. <https://doi.org/10.3390/ijerph120708434>

- Moller, P. (2006). The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98(4), 336-345. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_167.x
- Moro, A. M., Brucker, N., Charao, M.F., Baierle, M., Sauer, E., Goethel, G., Barth, A., Nascimento, S.N., Gauer, B., Durgante, J., Amaral, B.S., Neto, F.R., Gioda, A., and Garcia, S.C. (2017). Biomonitoring of gasoline station attendants exposed to benzene: Effect of gender. *Mutation Research*, 813, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.11.002>
- Moro, A. M., Charao, M.F., Brucker, N., Durgante, J., Baierle, M., Bubols, G., Goethel, G., Fracasso, R., Nascimento, S., Bulcao, R., Gauer, B., Barth, A., Bochi, G., Moresco, R., Gioda, A., Salvador, M., Farsky, S., and Garcia, S.C. (2013). Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. *Mutation Research*, 754(1-2), 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.04.008>
- Naidoo, R. N., Makwela, M.H., Chuturgoon, A., Tiloke, C., Ramkaran, P., and Phulukdaree, A. (2016). Petrol exposure and DNA integrity of peripheral lymphocytes. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 89(5), 785-792. <https://doi.org/10.1007/s00420-016-1116-8>
- Naufal, Z., Zhiwen, L., Zhu, L., Zhou, G. D., McDonald, T., He, L. Y., Mitchell, L., Ren, A., Zhu, H., Finnell, R., and Donnelly, K. C. (2010). Biomarkers of exposure to combustion by-products in a human population in Shanxi, China. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 20(4), 310-319. <https://doi.org/10.1038/jes.2009.19>
- Nauss, K. M. (1995). Diesel exhaust: a critical analysis of emissions, exposure, and health effects; *Health Effects Institute*, Massachusetts, 1-75.
- Navasumrit, P., Chanvaivit, S., Intarasunanont, P., Arayasiri, M., Lauhareungpanya, N., Parnlob, V., Settachan, D., and Ruchirawat, M. (2005). Environmental and occupational exposure to benzene in Thailand. *Chemico-Biological Interactions*, 153-154, 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.03.010>
- Niaz, K., Bahadar, H., Maqbool, F., and Abdollahi, M. (2015). A review of environmental and occupational exposure to xylene and its health concerns. *EXCLI Journal*, 14, 1167-1186. <https://doi.org/10.17179/excli2015-623>
- Niazi, G. A., Fleming, A.F., and Siziya, S. (1989). Blood dyscrasia in unofficial vendors of petrol and heavy oil and motor mechanics in Nigeria. *Tropical Doctor*, 19(2), 55-58. <https://doi.org/10.1177/004947558901900204>
- Nord, K. E., and Haupt, D. (2005). Reducing the emission of particles from a diesel engine by adding an oxygenate to the fuel. *Environmental Science & Technology*, 39(16), 6260-6265. <https://doi.org/10.1021/es048085h>

- Novotna, B., Sikorova, J., Milcova, A., Pechout, M., Dittrich, L., Vojtisek-Lom, M., Rossner, P., Jr., Brzicova, T., and Topinka, J. (2019). The genotoxicity of organic extracts from particulate truck emissions produced at various engine operating modes using diesel or biodiesel (B100) fuel: A pilot study. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 845, 403034. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.03.007>
- Oh, S. M., and Chung, K.H. (2006). Identification of mammalian cell genotoxins in respirable diesel exhaust particles by bioassay-directed chemical analysis. *Toxicology Letters*, 161(3), 226-235. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.09.008>
- Olgun, P. (2014). *Benzin istasyonlarında çalışanların maruz kaldıkları kimyasallar ve bunların sağlık üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara, 1-146
- Olsen, J. H., and Jensen, O.M. (1987). Occupation and risk of cancer in Denmark. An analysis of 93,810 cancer cases, 1970-1979. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 13 1-91.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2016a). Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals; *OECD Publishing*, Paris, 1-29.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2016b). Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals; *OECD Publishing*, Paris, 1-27.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). (2016c). Test no: 473: In vitro mammalian chromosomal aberration test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals; *OECD Publishing*, Paris, 1-22.
- Pandey, A. K., and Dhawan, A. (2008). Multipronged evaluation of genotoxicity in Indian petrol-pump workers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(9), 695-707. <https://doi.org/10.1002/em.20419>
- Pandya, K. P., Rao, G.S., Dhasmana, A., and Zaidi, S.H. (1975). Occupational exposure of petrol pump workers. *The Annals of Occupational Hygiene*, 18(4), 363-364. <https://doi.org/10.1093/annhyg/18.4.363>
- Patton, A. N., Levy-Zamora, M., Fox, M., and Koehler, K. (2021). Benzene exposure and cancer risk from commercial gasoline station fueling events using a novel self-sampling protocol. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1872. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041872>
- Paz-y-Mino, C., Lopez-Cortes, A., Arevalo, M., and Sanchez, M.E. (2008). Monitoring of DNA damage in individuals exposed to petroleum hydrocarbons in Ecuador. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1140, 121-128. <https://doi.org/10.1196/annals.1454.013>
- Perera, F. P. (2000). Molecular epidemiology: on the path to prevention? *Journal of the National Cancer Institute*, 92(8), 602-612. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.8.602>

- Periago, J. F., and Prado, C. (2005). Evolution of occupational exposure to environmental levels of aromatic hydrocarbons in service stations. *Annals of Occupational Hygiene*, 49(3), 233-240. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meh083>
- Periago, J. F., Zambudio, A., and Prado, C. (1997). Evaluation of environmental levels of aromatic hydrocarbons in gasoline service stations by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 778(1-2), 263-268. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(97\)00390-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(97)00390-7)
- Petrol Sanayi Derneği. (2017). Akaryakıt dağıtım sektörünün Türkiye ekonomisindeki yeri ve önemi. *PwC Türkiye*, Sayı: 1. İstanbul, 1-12.
- Pohjola, S. K., Lappi, M., Honkanen, M., Rantanen, L., and Savela, K. (2003). DNA binding of polycyclic aromatic hydrocarbons in a human bronchial epithelial cell line treated with diesel and gasoline particulate extracts and benzo[a]pyrene. *Mutagenesis*, 18(5), 429-438. <https://doi.org/10.1093/mutage/geg021>
- Pohjola, S., Savela, K., Kuusimäki, L., Kanno, T., Kawanishi, M., and Weyand, E. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons of diesel and gasoline exhaust and DNA adduct detection in calf thymus DNA and lymphocyte DNA of workers exposed to diesel exhaust. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 24, 451-465. <https://doi.org/10.1080/10406630490471465>
- Poklis, A. (1976). Death resulting from gasoline "sniffing": a case report. *Journal of the Forensic Science Society*, 16(1), 43-46. [https://doi.org/10.1016/s0015-7368\(76\)71024-7](https://doi.org/10.1016/s0015-7368(76)71024-7)
- Priya, K., Yadav, A., Kumar, N., Gulati, S., Aggarwal, N., and Gupta, R. (2015). Glutathione S-transferase gene polymorphisms: modulator of genetic damage in gasoline pump workers. *International Journal of Toxicology*, 34(6), 500-504. <https://doi.org/10.1177/1091581815603935>
- Raabe, G. K. (1993). Review of the carcinogenic potential of gasoline. *Environmental Health Perspectives*, 101, 35-38. <https://doi.org/10.1289/ehp.93101s635>
- Raabe, G. K., and Wong, O. (1996). Leukemia mortality by cell type in petroleum workers with potential exposure to benzene. *Environmental Health Perspectives*, 104, 1381-1392. <https://doi.org/10.1289/ehp.961041381>
- Raghavan, S., and Basavaiah, K. (2005). Biological monitoring among benzene-exposed workers in Bangalore city, India. *Biomarkers*, 10(5), 336-341. <https://doi.org/10.1080/13547500500274206>
- Ramos de Rainho, C., Machado Corrêa, S., Luiz Mazzei, J., Alessandra Fortes Aiub, C., and Felzenszwalb, I. (2013). Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-derived in respirable airborne particulate matter collected from urban areas of Rio de Janeiro (Brazil). *BioMed Research International*, 2013, 765352. <https://doi.org/10.1155/2013/765352>
- Rashid, A., Tao, S., Uddin, I., and Kamal, A. (2017). Petrol filling workers as biomonitor of PAH exposure and functional health capacity in resource-limited settings of city

- Rawalpindi, Pakistan. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(21), 17881-17887. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9372-z>
- Rekhadevi, P. V. R., M.F., Mahboob, M., and Grover, P. (2010). Genotoxicity in filling station attendants exposed to petroleum hydrocarbons. *Annals of Occupational Hygiene*, 54(8), 944-954. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meq065>
- Rekhadevi, P. V., Mahboob, M., Rahman, M.F., Grover, P. (2011). Determination of genetic damage and urinary metabolites in fuel filling station attendants. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52(4), 310-318. <https://doi.org/10.1002/em.20622>
- Rianto, B. U. D., Yudhanto, D., and Herdini, C. (2018). The correlation between length of work and nasal mucociliary transport time of gas/fuel station workers. *Kobe Journal of Medical Sciences*, 64(1), E6-E10.
- Romieu, I., Ramirez, M., Meneses, F., Ashley, D., Lemire, S., Colome, S., Fung, K., and Hernandez-Avila, M. (1999). Environmental exposure to volatile organic compounds among workers in Mexico City as assessed by personal monitors and blood concentrations. *Environmental Health Perspectives*, 107(7), 511-515. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107511>
- Rosenkranz, H. S. (1996). Mutagenic nitroarenes, diesel emissions, particulate-induced mutations and cancer: an essay on cancer-causation by a moving target. *Mutation Research*, 367(2), 65-72. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(95\)00066-6](https://doi.org/10.1016/0165-1218(95)00066-6)
- Ross, J. A., Nelson, G.B., Mutlu, E., Warren, S.H., Gilmour, M.I., and DeMarini, D.M. (2015). DNA adducts induced by in vitro activation of extracts of diesel and biodiesel exhaust particles. *Inhalation Toxicology*, 27(11), 576-584. <https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1068892>
- Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M., and Mori, Y. (1993). Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(1), 37-47. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90507-q](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90507-q)
- Salem, E., El-Garawani, I., Allam, H., El-Aal, B.A., and Hegazy, M. (2018). Genotoxic effects of occupational exposure to benzene in gasoline station workers. *Industrial Health*, 56(2), 132-140. <https://doi.org/10.2486/indhealth.2017-0126>
- Salih, D. J., Kader, M.H.K, and Ahmed, M.R. (2020). The effects of benzene on micronuclei frequency of workers in petrol stations in Duhok- Iraq. *Online Turkish Journal of Health Sciences*, 5(2), 221-229. <https://doi.org/10.26453/otjhs.566777>
- Salimi, A., Vaghar-Moussavi, M., Seydi, E., and Pourahmad, J. (2016). Toxicity of methyl tertiary-butyl ether on human blood lymphocytes. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(9), 8556-8564. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6090-x>
- Samanta, S., and Dey, P. (2012). Micronucleus and its applications. *Diagnostic Cytopathology*, 40(1), 84-90. <https://doi.org/10.1002/dc.21592>

- Santiago, F., Alves, G., Otero, U.B., Tabalipa, M.M., Scherrer, L.R., Kosyakova, N., Ornellas, M.H., and Liehr, T. (2014). Monitoring of gas station attendants exposure to benzene, toluene, xylene (BTX) using three-color chromosome painting. *Molecular Cytogenetics*, 7(1), 15-21. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-7-15>
- Sarikoc, S. (2020). Fuels of the diesel-gasoline engines and their properties. R. Viskup (Ed.), *Diesel and Gasoline Engines*, IntechOpen Book Series, pp.1-17.
- Scheepers, P. T. J., de Werdt, L., van Dael, M., Anzion, R., Vanoirbeek, J., Duca, R.C., Creta, M., Godderis, L., Warnakulasuriya, D.T.D., and Devanarayana, N.M. (2019). Assessment of exposure of gas station attendants in Sri Lanka to benzene, toluene and xylenes. *Environmental Research*, 178, 108670. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108670>
- Sellappa, S., Sadhanandhan, B., Francis, A., and Vasudevan, S.G. (2010). Evaluation of genotoxicity in petrol station workers in South India using micronucleus assay. *Industrial Health*, 48(6), 852-856. <https://doi.org/10.2486/indhealth.ms1055>
- Senzolo, C., Frignani, S., and Pavoni, B. (2001). Environmental and biological monitoring of occupational exposure to organic micropollutants in gasoline. *Chemosphere*, 44(1), 67-82. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00364-7](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00364-7)
- Shaikh, A., Barot, D., and Chandel, D. (2018). Genotoxic effects of exposure to gasoline fumes on petrol pump workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 9(2), 79-87. <https://doi.org/10.15171/ijoem.2018.1159>
- Shearston, J. A., and Hilpert, M. (2020). Gasoline vapor emissions during vehicle refueling events in a vehicle fleet saturated with onboard refueling vapor recovery systems: need for an exposure assessment. *Frontiers in public health*, 8, 18. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00018>
- Shilpi, S. G., Dar M.S., Baghel, A., Singh, A., and Sonam, M. (2016). Cytogenetic biomonitoring among petrol filling station workers; a hematological and micronucleus study. *International Journal of Contemporary Medical Research*, 3(7), 2060-2063.
- Singaraju, M., Singaraju, S., Parwani, R., and Wanjari, S. (2012). Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: A micronucleus study. *Journal of cytology*, 29(1), 1-5. <https://doi.org/10.4103/0970-9371.93208>
- Singh, R., Mishra, S., Kumar, N., and Singh, A. (2010). Assessment of DNA damage by Comet assay in lymphocytes of workers occupationally exposed to petroleum fumes. *International Journal of Genetics*, 2(1), 18-22. <https://doi.org/10.9735/0975-2862.2.1.18-22>
- Smith, M. T. (2010). Advances in understanding benzene health effects and susceptibility. *Annual Review of Public Health*, 31, 133-148. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103646>

- Smith, M. T., Hainaut, P., Perera, F., Schulte, P.A., Boffetta, P., Chanock, S.J., and Rothman, N. (2012). Future perspectives on molecular epidemiology. In N. Rothman, Hainaut, P., Schulte, P., Smith, M., Boffetta P., Perera, F. (Ed.), *IARC Scientific Publication No 163 – Molecular Epidemiology: Principles and Practices*. World Health Organization, Geneva, 1-526.
- Soltanpour, Z., Mohammadian, Y., and Fakhri, Y. (2021). The concentration of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene in ambient air of the gas stations in Iran: A systematic review and probabilistic health risk assessment. *Toxicology and Industrial Health*, 37, 1-8. <https://doi.org/10.1177/0748233720981218>
- Sommer, S., Buraczewska, I., and Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: the state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1534-1552. <https://doi.org/10.3390/ijms21041534>
- Spitz, M. R., and Bondy, M.L. (2010). The evolving discipline of molecular epidemiology of cancer. *Carcinogenesis*, 31(1), 127-134. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp246>
- Sreedevi, V., Hemaprasad, M., Sandhyadevi, G., and Reddy, P.P. (2006). Induction of sister chromatid exchanges in traffic policemen exposed to vehicular exhaust. *Mutation Research*, 606(1-2), 80-84. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.03.004>
- Stenberg, U., Alsberg, T., and Westerholm, R. (1983). Emission of carcinogenic components with automobile exhausts. *Environmental Health Perspectives*, 47, 53-63. <https://doi.org/10.1289/ehp.834753>
- Stock, J. K., and Priestly, B.G. (1986). Urinary thioether output as an index of occupational chemical exposure in petroleum retailers. *British Journal of Industrial Medicine*, 43(10), 718-720. <https://doi.org/10.1136/oem.43.10.718>
- Swenberg, J. A., Bordeerat, N.K., Boysen, G., Carro, S., Georgieva, N.I., Nakamura, J., Troutman, J.M., Upton, P.B., Albertini, R.J., Vacek, P.M., Walker, V.E., Sram, R.J., Goggin, M., and Tretyakova, N. (2011). 1,3-Butadiene: Biomarkers and application to risk assessment. *Chemico-Biological Interactions*, 192(1-2), 150-154. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.10.010>
- Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2021). Türkiye Kanser İstatistikleri 2017. *T.C. Sağlık Bakanlığı*. Ankara, 1-53.
- Takamura-Enya, T., Suzuki, H., and Hisamatsu, Y. (2006). Mutagenic activities and physicochemical properties of selected nitrobenzanthrones. *Mutagenesis*, 21(6), 399-404. <https://doi.org/10.1093/mutage/gel045>
- Taxell, P., and Santonen, T. (2017). Diesel engine exhaust: basis for occupational exposure limit value. *Toxicological Sciences*, 158(2), 243-251. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx110>
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., and Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), 825-837. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.53>

- Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., and Sasaki, Y.F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35(3), 206-221. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2280\(2000\)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j)
- Tokiwa, H., Nakagawa, R., Horikawa, K., and Ohkubo, A. (1987). The nature of the mutagenicity and carcinogenicity of nitrated, aromatic compounds in the environment. *Environmental Health Perspectives*, 73, 191-199. <https://doi.org/10.1289/ehp.8773191>
- Trevisan, P., da Silva, J.N., da Silva, A.P., Rosa, R.F., Paskulin, G.A., Thiesen, F.V., de Oliveira, C.A., and Zen, P.R. (2014). Evaluation of genotoxic effects of benzene and its derivatives in workers of gas stations. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(4), 2195-2204. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3529-0>
- Tucker, J. D., Xu, J., Stewart, J., Baciú, P.C., and Ong, T.M. (1986). Detection of sister chromatid exchanges induced by volatile genotoxins. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 6(1), 15-21. <https://doi.org/10.1002/tcm.1770060103>
- Tunsaringkarn, T., Soogarun, S., and Palasuwan, A. (2013). Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary trans, trans-muconic acid. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 4(1), 45-49.
- Uzma, N., Kumar, B.S., and Hazari, M.A. (2010). Exposure to benzene induces oxidative stress, alters the immune response and expression of p53 in gasoline filling workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 53(12), 1264-1270. <https://doi.org/10.1002/ajim.20901>
- Verma, D. K., and des Tombe, K. (2002). Benzene in gasoline and crude oil: occupational and environmental implications. *AIHA Journal*, 63(2), 225-230. <https://doi.org/10.1080/15428110208984708>
- Vineis, P., Miligi, L., and Costantini, A.S. (2007). Exposure to solvents and risk of non-Hodgkin lymphoma: clues on putative mechanisms. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16(3), 381-384. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0124>
- Vojtisek-Lom, M., Pechout, M., Dittrich, L., Beránek, V., Kotek, M., Schwarz, J., Vodička, P., Milcová, A., Rossnerová, A., Ambrož, A., and Topinka, J. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and their genotoxicity in exhaust emissions from a diesel engine during extended low-load operation on diesel and biodiesel fuels. *Atmospheric Environment*, 109, 9-18.
- Walker, V. E., Walker, D.M., Meng, Q., McDonald, J.D., Scott, B.R., Seilkop, S.K., Claffey, D.J., Upton, P.B., Powley, M.W., Swenberg, J.A., Henderson, R.F., and HEI Health Review Committee. (2009). Genotoxicity of 1,3-butadiene and its epoxy intermediates. *Research report (Health Effects Institute)*(144), 3-79.

- Wang, Y. F., Huang, K.L., Li, C.T., Mi, H.H., Luo, J.H., and Tsai, P.J. (2003). Emissions of fuel metals content from a diesel vehicle engine. *Atmospheric Environment*, 37(33), 4637-4643. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2003.07.007>
- Wang, Y. Y., Rappaport, S.M., Sawyer, R.F., Talcott, R.E., and Wei, E.T. (1978). Direct-acting mutagens in automobile exhaust. *Cancer Letters*, 5(1), 39-47. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(78\)80009-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0304-3835(78)80009-3)
- Wichmann, H. E. (2007). Diesel exhaust particles. *Inhalation Toxicology*, 19, 241-244. <https://doi.org/10.1080/08958370701498075>
- Wiwanitkit, V., Suwansaksri, J., and Nasuan, P. (2001). Urine trans,trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure in gas station attendants in Bangkok, Thailand. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 31(4), 399-401.
- World Health Organization Regional Office for Europe. (2000). Air quality guidelines for Europe: second edition. *World Health Organization*, Copenhagen. 1-287.
- World Health Organization. (1996). *Biological monitoring of chemical exposure in the workplace guidelines*. Geneva. 1-134
- World Health Organization. (2019). Preventing Disease Through Healthy Environments, Exposure to benzene: a major public health concern. *World Health Organization*, Geneva. 1-5.
- Xia, B., Chen, K., Lv, Y., Huang, D., Liu, J., Liang, G., Zhang, L., Wang, F., Su, C., Zou, Y., and Yang, X. (2017). Increased oxidative stress and plasma Hsp70 levels among gasoline filling station attendants. *Toxicology and Industrial Health*, 33(2), 171-181. <https://doi.org/10.1177/0748233715616554>
- Xiong, F., Li, Q., Zhou, B., Huang, J., Liang, G., Zhang, L., Ma, S., Qing, L., Liang, L., Su, J., Peng, X., Li, Q., and Zou, Y. (2016). Oxidative stress and genotoxicity of long-term occupational exposure to low levels of BTEX in gas station workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(12), 1212-1220. <https://doi.org/10.3390/ijerph13121212>
- Ye, C. J., Sharpe, Z., Alemara, S., Mackenzie, S., Liu, G., Abdallah, B., Horne, S., Regan, S., and Heng, H.H. (2019). Micronuclei and genome chaos: changing the system inheritance. *Genes (Basel)*, 10(5), 366-386. <https://doi.org/10.3390/genes10050366>
- Ye, Y., Galbally, I.E., and Weeks, I.A. (1997). Emission of 1,3-butadiene from petrol-driven motor vehicles. *Atmospheric Environment*, 31(8), 1157-1165. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(96\)00308-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1352-2310(96)00308-1)
- Zarante, P. B., Da Silva, M.J., Valente, O.S., and Sodré, R.J. (2010). Aldehyde emissions from a stationary diesel engine operating with castor oil biodiesel – diesel oil blends. *Engenharia Térmica (Thermal Engineering)*, 9(1-2), 35-39.
- Zielinska, B., Sagebiel, J., McDonald, J.D., Whitney, K., and Lawson, D.R. (2004). Emission rates and comparative chemical composition from selected in-use diesel and gasoline-fueled vehicles. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 54(9), 1138-1150. <https://doi.org/10.1080/10473289.2004.10470973>





EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
59					
KARAR					
Prof. Dr. Benu KARAHALİL, Arş. Gör. Ecz. Kerem ŞENTÜRK, Arş. Gör. Ecz. Aylin ELKAMA isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Benzin istasyonu çalışanlarında genotoksik etkinin araştırılması" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Ancak çalışmaya başlanabilmesi için çalışmanın yapılacağı ilin Valiliği'nden Resmi çalışma izninin alınması ve alınan izin bir örneğinin Etik Kurulumuza iletilmesi gerekmektedir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "The investigation of genotoxic effects in gasoline station attendants" planned by Benu KARAHALİL, Kerem ŞENTÜRK, Aylin ELKAMA has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 14.02.2019		Saat (Hour): 14:00-15:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Prof. Dr.	Cihan AKGÜL ÖZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
5	Prof. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
7	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
8	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
9	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
10	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DİYARBAKIR Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com					

EK-2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol Grubu)

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol Grubu)

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'in yürütücülüğünde ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Ecz. Aylin ELKAMA'nın araştırmacı olarak yer aldığı "Benzin istasyonu çalışanlarında genotoksik etkinin araştırılması" isimli bir araştırma yapılması planlanmaktadır.

Çalışmanın amacı benzin istasyonu çalışanlarında kansere neden olabilecek kimyasallara maruziyet sonucu oluşabilecek erken dönem etkilerin tespit edilmesidir.

Bu çalışmanın bilimsel olarak yürütülebilmesi için, araştırmaya katılan benzine maruz kalan grupla maruz kalmayan sağlıklı kişilerden 10 ml kan alınmasına gereksinim vardır. Böylece, benzine maruz kalan bireylerle maruz kalmayan bireylerin verileri karşılaştırılıp, benzinin olası sağlık etkileri hakkında bir yargıya varılabilecektir.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler, bayılma, ağrı ve morarma sayılabilir.

Bu çalışmaya katılmak tamamen isteğinize bağlıdır. Bu konuda hiç kimse sizi zorlayamaz. İstedığınız anda çalışmadan çıkabilir veya istediğinizde size ait bilgileri kullanmamamızı talep edebilirsiniz. Kan örneği vermeniz halinde size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır veya sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı "bilgilendirilmiş gönüllü olur formu"nu imzalamanız istenecektir.

Yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. İstedğim anda çalışmadan çıkabilirim veya kendime ait bilgilerimin kullanılması iznini geri çekebilirim.

Araştırmaya kontrol olarak gönüllü katıldığımı beyan ediyorum.

(Katılımcının Beyanı)

Ecz. Aylin ELKAMA tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu koşullarda "kontrol grubu" olarak, bir kez, 10 ml kan verme işlemi kabul ediyorum.

Katılımcı:

Adı Soyadı:

Tel:

Tarih:

İmza:

Katılımcı ile görüşen araştırmacı:

Ad Soyad:

Tel:

Tarih:

İmza:

EK-3. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Maruziyet Grubu)

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Maruziyet Grubu)

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'in yürütücülüğünde ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Ecz. Aylin ELKAMA'nın araştırmacı olarak yer aldığı "Benzin istasyonu çalışanlarında genotoksik etkinin araştırılması" isimli bir araştırma yapılması planlanmaktadır.

Çalışmanın amacı benzin istasyonu çalışanlarında kansere neden olabilecek kimyasallara maruziyet sonucu oluşabilecek erken dönem etkilerin tespit edilmesidir.

Bu çalışmanın bilimsel olarak yürütülebilmesi için, araştırmaya katılan benzine maruz kalan grupla maruz kalmayan sağlıklı kişilerden 10 ml kan alınmasına gereksinim vardır. Bu sayede, benzine maruz kalan bireylerle maruz kalmayan bireylerin verileri karşılaştırılıp, benzinin olası sağlık etkileri hakkında bir yargıya varılabilecektir.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler, bayılma, ağrı ve morarma sayılabilir.

Bu çalışmaya katılmak tamamen isteğinize bağlıdır. Bu konuda hiç kimse sizi zorlayamaz. İstedığınız anda çalışmadan çıkabilir veya istediğinizde size ait bilgileri kullanmamamızı talep edebilirsiniz. Kan örneği vermeniz halinde size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır veya sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamanız istenecektir.

Yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. İstedğim anda çalışmadan çıkabilirim veya kendime ait bilgilerimin kullanılması iznini geri çekebilirim.

Araştırmaya benzine maruz kalan olarak gönüllü katıldığımı beyan ediyorum.

(Katılımcının Beyanı)

Ecz. Aylin ELKAMA tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu koşullarda "maruz kalan grup" olarak, bir kez, 10 ml kan verme işlemi kabul ediyorum.

Katılımcı

Adı Soyadı:

Tel:

Tarih:

İmza:

Katılımcı ile görüşen araştırmacı

Ad Soyad:

Tel:

Tarih:

İmza:

EK-4. Kontrol Grubu Anket Formu

KONTROL GRUBU ANKET FORMU**Tarih:**/...../.....**KONTROL NO:****Cep Tel No:**

1-Adı Soyadı=

2-Yaş=

3- Kilo= Boy= BMI=

4- Günde kaç saat çalışıyorsunuz?

5- Meslek? Kaç senedir çalışıyorsunuz?

6- Ek bir işte çalışıyor musunuz?

7- Sigara içme alışkanlığı:

1. Hiç içmedim ()

2. Eskiden içerdim () içtiğiniz süre=

3. Sigara içiyorum Ne kadar zamandır? =

Miktarı (Günde kaç adet) :

8-Sigara içilen ortamlarda sıkça bulunuyor musunuz? Evet () Hayır ()

9-Alkol alıyor musunuz? Evet () Hayır ()

Sıklığı=

10-Kahve içiyor musunuz? Evet () Hayır ()

Günde kaç fincan? =

11-Düzenli spor aktiviteniz var mı? Evet () Hayır ()

12-Herhangi bir hastalığınız var mı? (Hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi vs)

13-Şuan geçirmekte olduğunuz viral/bakteriyel enfeksiyonlu bir hastalığınız (grip, nezle vs) var mı? Evet () Hayır()

EK-4 (devam) Kontrol Grubu Anket Formu

14-Sizde veya aile bireylerinde kanser ve genetik bir hastalık var mı? Evet () Hayır()

Varsa nedir?=

15-Kullandığınız ilaç var mı? Evet () Hayır ()

Varsa nedir?=

Ne kadar zamandır kullanıyorsunuz?=

16-Kullandığınız gıda takviyesi var mı? (Antioksidan, Vitamin, Kalsiyum vs.)

Evet () Hayır () Varsa nedir?=

Ne kadar zamandır kullanıyorsunuz?=

17-Son 1 ayda MR/PET çektirdiniz mi? Evet () Hayır ()

18-Radyasyona (radyoterapi, nükleer endüstri) maruz kaldınız mı? Evet () Hayır ()

19-Evde soba ile mi ısıniyorsunuz? Evet () Hayır ()

20-Trafikte ne kadar süre geçiriyorsunuz? saat

Kendi aracım ()

Toplu taşıma kullanıyorum ()

EK-5. Maruziyet Grubu Anket Formu

MARUZİYET GRUBU ANKET FORMU

Tarih:/...../.....

NO:

Cep Tel No:

1-Adı Soyadı=

2-Yaş=

3- Kilo= Boy= BMI=

4- Günde kaç saat çalışıyorsunuz? Kaç senedir çalışıyorsunuz?

5- Ek bir işte çalışıyor musunuz?

6- Sigara içme alışkanlığı:

4. Hiç içmedim ()

5. Eskiden içerdim () içtiğiniz süre=

6. Sigara içiyorum Ne kadar zamandır? =

Miktarı (Günde kaç adet) :

7-Sigara içilen ortamlarda sıkça bulunuyor musunuz? Evet () Hayır ()

8-Alkol alıyor musunuz? Evet () Hayır ()

$$S_1 k_1 \check{g}_1 =$$

9-Kahve içiyor musunuz? Evet () Hayır ()

Günde kaç fincan? =

10-Düzenli spor aktiviteniz var mı? Evet () Hayır ()

11-Herhangi bir hastalığınız var mı? (Hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi vs)

12-Şuan geçirmekte olduğunuz viral/bakteriyel enfeksiyonlu bir hastalığınız (grip, nezle vs) var mı? Evet () Hayır()

13-Sizde veya aile bireylerinde kanser ve genetik bir hastalık var mı? Evet () Hayır()

Varsa nedir? =

EK-5 (devam) Maruziyet Grubu Anket Formu

14-Kullandığınız ilaç var mı? Evet () Hayır ()

Varsa nedir? =

Ne kadar zamandır kullanıyorsunuz? =

15-Kullandığınız gıda takviyesi var mı? (Antioksidan, Vitamin, Kalsiyum vs.)

Evet () Hayır () Varsa nedir? =

Ne kadar zamandır kullanıyorsunuz? =

16-Son 1 ayda MR/PET çektiirdiniz mi? Evet () Hayır ()

17-Radyasyona (radyoterapi, nükleer endüstri) maruz kaldınız mı? Evet () Hayır ()

18- Evde soba ile mi ısıniyorsunuz? Evet () Hayır ()

19-Trafikte ne kadar süre geçiriyorsunuz? saat

Kendi aracimla ()

Toplu taşıma kullanıyorum ()

20- Çalışma saatlerinde koruyucu ekipman (eldiven ve maske) kullanıyor musunuz?

Evet () Hayır ()

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ELKAMA, Aylin
 Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2015
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2011
Lisans	Universita Degli Studi di Perugia, İtalya	2010

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2012-devam ediyor	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	Araştırma Gör.

Yabancı Dil

İngilizce
 İtalyanca

Akademik Görevler

2012 – devam ediyor

Araştırma Görevlisi

Gazi Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi/Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü / Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. Homosistein Metabolizmasının Genetik Varyantları ve Multipl Sklerozis Riski, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi,

Yürütücü: Prof. Dr Benu KARAHALİL, Araştırmacı: Ali Erkan AŞÇI, Aylin ELKAMA, Gürdal ORHAN, 08/12/2016 - 05/12/2017 (Ulusal)

2. Antipsikotiklerin Toksisitesi Ve Bireysel Duyarlılığın Toksisite Üzerine Etkisi, Tübitak Projesi,

Yürütücü: Prof. Dr. Bensu KARAHALİL, Araştırmacı: Prof. Dr. Mehmet AK, Bursiyer: Aylin ELKAMA, Danışman: Prof. Dr. Emirhan NEMUTLU, 01/10/2015 - 01/10/2017 (Ulusal)

3. MTHFR 677CT Gen Polimorfizmi İle Homosistein Ve B Vitamini Seviyelerinin Parkinson Hastalığındaki Rolü, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi,

Araştırmacı, 14/07/2015 - 16/11/2016 (Ulusal)

4. Benzin İstasyonu Çalışanlarında Genotoksik Etkinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları Tarafından Destekli Bilimsel Araştırma Projesi, Yürütücü: Prof. Dr. Bensu KARAHALİL, Araştırmacı: Aylin ELKAMA, 23/09/2019 (Devam Ediyor) (Ulusal)

Eserler

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Elkama Aylin, Aktaş Şüküroğlu Ayça, Çakmak Gonca (2021). Exposure to particulate matter: a brief review with a focus on cardiovascular effects, children, and research conducted in Turkey. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 72, 244-253. Doi: 10.2478/aiht-2021-72-3563 (Kontrol No: 7318242)
2. Karahalil Bensu, Salihoğlu Ece, Elkama Aylin, Orhan Gürdal, Saygın Evrim, Akaydın Sevgi (2021). Individual susceptibility has a major impact on strong association between oxidative stress, defence systems and Parkinson's disease. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, Doi: 10.1111/bcpt.13659 (Yayın No: 7317953)
3. Karahalil Bensu, Elkama Aylin (2021). COVID-19: Are Experimental Drugs Cure or Ill? Current Drug Safety, Doi: 10.2174/1574886316666210727150127 (Yayın No: 7318206)
4. Elkama Aylin, Orhan Gürdal, Alp Orkun, Tosun Gökçe, Öztekin Zeynep Neşe, Karahalil Bensu (2020). DNA Repair and Detoxifying Gene Polymorphisms in Patients with Multiple Sclerosis and Dental Amalgam Fillings. Gazi Medical Journal (Yayın No: 6659562)
5. Karahalil Bensu, Elkama Aylin (2020). The impact of ACE2 gene polymorphism in the development of COVID-19 disease. Gazi Medical Journal (Yayın No: 6659518)
6. Elkama Aylin, Karahalil Bensu (2018). Role of gene polymorphisms in vitamin D metabolism andin multiple sclerosis. Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju-Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 69(1), 25-31. Doi: 10.2478/aiht-2018-69-3065 (Yayın No: 4647480)
7. Elkama Aylin, Ülker Özge, Teker Erim, Karakaya Mahbube Asuman, Karakaya Ali Esat (2018). Investigation of hypersensitivity potential of diacetyl by determining cytokine profiles. Human & Experimental Toxicology, 37(3), 265-274. Doi: 10.1177/0960327117695636 (Yayın No: 4647333)

8. Karahalil Benu, Elkama Aylin, Orhan Gürdal (2017). Oxidative stress gene polymorphisms may have an impact in the development of ischemic stroke. The Journal of Gene Medicine (Yayın No: 4056219)
9. Orhan Gürdal, Elkama Aylin, ztrk Mungan Semra, Eruyar Esra, Karahalil Benu (2016). The impact of detoxifying and repair gene polymorphisms on oxidative stress in ischemic stroke. Neurological Sciences (Yayın No: 3163174)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

1. Karahalil Benu, Aslan Nergis, Saygın Evrim, Elkama Aylin, Salihoğlu Ece, Orhan Gürdal, Akaydın Sevgi (2019). The role of homocysteine through reactive oxygen species (ROS) in Parkinson's disease and investigation of its variation with individual susceptibility. 10th International Congress of the Turkish Society of Toxicology (/Poster) (Yayın No:6326494)
2. Karahalil Benu, Elkama Aylin, Ak Mehmet, Nemutlu Emirhan, İlik Nazlıcan (2019). Olanzapine induced hepatotoxicity is investigated by individual susceptibility and metabolomics. Toxicology Letters, 314(null), 91-91. (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:6326451)
3. Aşçı Ali Erkan, Elkama Aylin, Orhan Gürdal, Karahalil Benu (2017). The role of folate dependent genetic susceptibility in the risk of Multiple Sclerosis. 2nd International Gazi Pharma (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3786658)
4. Elkama Aylin, Ak Mehmet, Nemutlu Emirhan, İlik Nazlıcan, Karahalil Benu (2017). Serum alpha-GST activity as an alternative biomarker in olanzapine induced hepatotoxicity under the impact of genetic polymorphism of GSTs. EUROTOX 2017 (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3786584)
5. lker zge, Elkama Aylin, Karakaya Mahbube Asuman, Karakaya Ali Esat (2017). Diasetilin aşırı duyarlılık Potansiyelinin sitokin profilleri ile incelenmesi. İVEK 3. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3538145)
6. Saygın Evrim, Orhan Grhan, Elkama Aylin, Karahalil Benu (2017). The role of manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase gene polymorphisms in Parkinson's disease. Society of Toxicology 56th Annual Meeting (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3786520)
7. Elkama Aylin, Teker Erim, lker zge, Karakaya Asuman, Karakaya Ali Esat (2015). Investigation of Respiratory Sensitization Potency of Diacetyl By Determining Cytokine Release Profiles In Murine Model. International Gazi Pharma Symposium Series (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3349630)

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. Orhan Gürdal, Elkama Aylin, ztekin Neşe, Karahalil Benu (2016). CAT, MNSOD ve GPX1 Genetik Polimorfizmlerinin İnme ile İlişkisinin Türk Popülasyonunda İncelenmesi. 52. Ulusal Nöroloji Kongresi (zet Bildiri/Poster) (Yayın No:3349948)

2. Orhan Gürdal, Elkama Aylin, Alp Orkun, Tosun Gökçe, Öztekin Neşe, Karahalil Benu (2016). Multiple Skleroz Hastalarında Amalgam Diş Dolgularındaki Cıva, Çinko ve Bakır Maruziyetine Genetik Duyarlılığın Araştırılması. 52. Ulusal Nöroloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3349840)
3. Elkama Aylin, Teker Erim, Ülker Cemiloğlu Özge, Karakaya Asuman, Karakaya Ali Esat (2014). Solunum sensitizanları ile temas sensitizanlarının sitokin salım profillerinin karşılaştırılması. III. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu, 2014, İzmir, Türkiye.
4. Elkama A, Orhan G, Eruyar E, Karahalil B. The impact of detoxifying gene polymorphisms on the risk of stroke. 9th International Congress of the Turkish Society of Toxicology with Participation of the Hellenic Society of Toxicology, 2015, İzmir, Türkiye.

Seminerler

1. Lokal Lenf Düğümü Testi (Türkçe), Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 2013, Ankara, Türkiye.
2. Green Toxicology (Türkçe), Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 2015, Ankara, Türkiye.
3. Antipsikotiklerin Toksisitesi ve Bireysel Duyarlılığın Toksisite Üzerine Etkisi başlıklı 115S229 numaralı TÜBİTAK 1001 Projesi sonuçları (Türkçe), Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, 2017, Konya, Türkiye.

Kongre ve Sempozyumlar

8. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi, 15-18 Kasım 2012, Antalya, Türkiye
- II. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu Türk Toksikoloji Derneği, 2013 Eskişehir, Türkiye
- Society of Toxicology 53rd Annual Meeting and ToxExpo, 2014, Phoenix, Arizona, ABD
- NANOTOX 2014, 7. Uluslararası Nanotoksikoloji Kongresi, 2014, Antalya, Türkiye
- 9th International Congress of the Turkish Society of Toxicology with Participation of the Hellenic Society of Toxicology, 2015, İzmir, Türkiye
- International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS), 2015, Antalya, Türkiye
- Society of Toxicology 56th Annual Meeting and ToxExpo, 2017, Baltimore, ABD
- 2nd Gazi Pharma Symposium Series, 11-13 Ekim 2017, Ankara, Türkiye
- 3rd Gazi Pharma Symposium Series, 8-10 Eylül 2021, Ankara, Türkiye

Kurslar

- Toksisite Test Sistemleri Eğitim Programı, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik, Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye, 2013

“Oksidatif Stres, DNA Hasarı/Onarımı ve Hastalıklar” - Prof. Dr. Miral Dizdaroğlu, İstanbul Kültür Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2013

“Toksikolojik Araştırmalarda Analitik Validasyon”, Türk Toksikoloji Derneği 2. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu, Eskişehir, Türkiye, 2013

Kozmetik Ürünlerin Güvenlik Değerlendirmesi, Türk Toksikoloji Derneği, Ankara, Türkiye, 2013

Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM), Ankara, Türkiye, 2013

Universidade da Coruña, Unidad de Toxicología, Área de Psicobiología, A Coruña, İspanya (Toksikoloji laboratuvarında 3 ay staj), 2014

“DNA Hasarı, Onarımı ve Hastalıklar”- Prof. Dr. Miral Dizdaroğlu, TurkHelTox, TurkHelTox, 9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with participation of the Hellenic Society of Toxicology, 2015

Principles of Toxicology Course, Hırvatistan Toksikoloji Derneği, Zagreb, 2016

Stajlar

Endüstri Eczacılığı

Haziran – Temmuz 2010 Pfizer Ruhsatlandırma Departmanı

Ocak 2009 Novagenix Bioanalitik İlaç Ar-Ge A.Ş.

Eczane Stajı

2011 (90 iş günü) Bilge Eczanesi, Ankara, Türkiye

Haziran – Temmuz 2007 Hakan Eczanesi, Ankara, Türkiye

Akademik

Haziran – Temmuz 2009 Hacettepe Üniversitesi Hemodiyaliz Çözeltileri Analitik Laboratuvarı

Haziran – Ağustos 2014 Universidade da Coruña, Departamento de Psicología



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..