ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAK'TA SANTRALDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİ

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM tarafından hazırlanan **"Irak'ta Santralde Çalışan İşçilerin Biyokimyasal ve Moleküler Belirteçleri"** adlı tez çalışması 21/02/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Prof. Dr. Ayad ALMAMOORI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İlkay Çorak Öcal
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Aysel SARI
Kimya Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Irak'ta Santralde Çalışan İşçilerin Biyokimyasal ve Moleküler Belirteçleri**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (21/02/2022).

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAK'TA SANTRALDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİ

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Prof. Dr. Ayad ALMAMOORI

Bu çalışmanın amacı, ağır metal etkilerinin biyokimyasal, hematolojik belirteçler ve moleküler belirteçler ile mesleki kurşun maruziyeti arasındaki ilişkiyi araştırmak, ve aynı zamanda bu çalışmanın hedefi, Elektrik üretim istasyonunda kirliliğe maruz kalan işçilerde ağır metal (Pb, Cd, Cu, Fe) düzeylerinin yanı sıra Biyokimyasal üreticilerin (Cat, SOD, GSH, MDA, CRE, Bun, T.P., AlP., GOT, GPT) düzeylerini ve enzimatik aktivite ile ilişkili CYP3A53 gen polimorfizmlerini saptamaktır. Araştırma popülasyonu iki alt gruba ayrılmaktadır: 20 kişi (maruz kalan işçiler) ve 10 kişi (kontrol). Sonuçlar, ölçülen metallerin konsantrasyonlarının çoğunun çalışma sırasında dalgalandığını, en yüksek Cu konsantrasyonunun (41.4 ppm) maruz kalan işçilerde bulunduğunu, biyokimyasal belirteçler için sırasıyla Bun ve GPT (30.13 mg/dl, 26.10 IU/l) başta olmak üzere tüm biyokimyasal belirteçlerde artış görülmektedir. Moleküler belirteçlerle ilgili olarak, maruz kalan işçiler için tüm antioksidanlar konsantrasyonda yükselme gösterilmektedir, sonuçlar (1, 4, 6, 7, 18, 23) hariç çoğu örnekte polimorfizmi göstermektedir. Ağır metal metabolizması için enzimatik aktivite ile ilişkili CYP3A53'ün tek nükleotid polimorfizmi (SNP), çalışma istasyonunda ağır metallerin kirliliğinden etkilenen işçilerin maruz kaldığı sonucuna varılmaktadır.

2022, 43 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Biyokimyasal, Hematolojik belirteçler, Moleküler belirteçler

ABSTRACT

Master of Science Thesis

BIOCHEMICAL AND MOLECULAR MARKERS OF WORKERS WORKING AT THE ELECTRICITY POWER STATION IN IRAQ

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Prof. Dr. Ayad ALMAMOORI

The aim of this study to Investigate the relationship between biochemical, haematological markers and Molecular markers of heavy metals effects and occupational lead exposure, and The goal of this study was to look at the levels of heavy metals (pb,Cd, Cu, Fe) in workers who had been exposed to pollution in electricity production station, as well as the levels of Biochemical makers (Cat,SOD, GSH, MDA, CRE, Bun, T.P.,AlP.,GOT, GPT), and the detection CYP3A53 gene polymorphisms associated with enzymatic activity. The research population was split into two subgroups: 20 people (exposed Workers) 10 person (Control). The Results indicated that the most of concentrations of measured metals were fluctuated during study, the highest concentration of Cu (41.4 ppm) found in exposed workers, for biochemical markers which appeared the increasing of all biochemical markers especially Bun and GPT (30.13 mg/dl, 26.10 IU/l) respectively. All antioxidants showed the elevation in concentration for exposed workers, Regarding Molecular markers, the results indicate the polymorphism in most samples except 1, 4, 6, 7, 18, 23), the single-nucleotide polymorphism (SNP) of CYP3A53 associated with enzymatic activity for heavy metals metabolism we concluded that exposed workers effected by the pollution by heavy metals in working station.

2022, 43 pages

Keywords: Biochemical, Haematological markers, Molecular markers

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışma konumun belirlenmesinde, planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e teşekkür ederim. Çalışmalarım anında manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan annem ve babam ve erkek ve kız kardeşlerime saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım anında manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan arkadaşlarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Yakın bir zaman önce kaybettiğim eşim Ali AL-RUBAYE'yi rahmetle anıyorum.

Mareh Dheyaa Zaki BAREAM
Çankırı, Şubat 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Ağır Metallerin Etkileri **3**
2.2 Ağır Metallerin Etkisinin Tespiti için Biyokimyasal Belirteçler **4**
2.3 Ağır Metallere Maruz Kalma Etkisinin Değerlendirilmesi için Moleküler Belirteçler **9**
2.3.1 DNA hasarı **9**
2.3.2 Ağır metal stresi ile ilgili olarak CYP3A polimorfizmi **11**
3. MATERYAL VE METOT **13**
3.1 Örnek Koleksiyonlar **13**
3.2 Ağır Metal Ölçümü **13**
3.3 Katalaz Aktivitesi **13**
3.4 SOD Aktivite Tayini **14**
3.5 Glutatyon Tayini **15**
3.6 Serum Malondialdehit (MDA) Tahmini **15**
3.7 CRE, BUN, TP, ALP, GOT, GPT Ölçümleri **16**
3.8 Genomik DNA ekstraksiyonu **17**
3.8.1 Agaroz jel elektroforezi **17**
3.8.2 Primer çiftlerinin hazırlanması **18**
3.8.3 Reaksiyon karışımı **18**
3.8.4 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) **19**
3.9 İstatistiksel Analiz **21**

4.1 Ağır Metaller 22
4.2 Biyokimyasal Belirteçler 23
4.3 Maruz Kalan İşçilerde Antioksidanlar Tepkisi 25
4.4 CYP3A4 Gen Polimorfizmleri 27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 30
KAYNAKLAR 31
EKLER 37
ÖZGEÇMİŞ 43

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar

KISALTMALAR DİZİNİ

cDNA	Komplementer deoksiribonükleik asit
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
qRT-PCR	Eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kişisel modifikasyon ile Conners (2004)'ten uyarlanan antioksidan enzim indüksiyonuna ağır metal katılımının genel planı 5
Şekil 2.2 Ağır metallerin etkilerine bağlı yaygın DNA hasarı türleri 10
Şekil 3.1 MDA-TBA kompleksi 16
Şekil 4.1 Maruz kalmış işçilerde ağır metal konsantrasyonu (ppm) 23
Şekil 4.2 Maruz kalan işçilerde biyokimyasal belirteçlerin varyasyonları 25
Şekil 4.3 Maruz kalan işçilerde antioksidan konsantrasyonu 26
Şekil 4.4 25 kan örneğinden 60 dakikalık DNA için 72 voltta %0,7 agaroz jel elektroforezi 27
Şekil 4.5 60 dakikalık PCR için cyp amplikon (600bp) için 72 voltta %1,5 Agaroz jel elektroforezi 28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Cyp3A4 primer çifti 18
Çizelge 3.2 Reaksiyon karışımının içeriği 19
Çizelge 3.3 Termal döngü koşulları 19
Çizelge 4.1 Maruz kalmış işçilerde ağır metal konsantrasyonu (ppm) 22
Çizelge 4.2 Maruz kalan işçilerde biyokimyasal belirteçler 24
Çizelge 4.3 Maruz kalan işçilerde antioksidan aktivitesi 26
Çizelge 4.4 Ağır metaller, biyokimyasal belirteçler ile antioksidan arasındaki korelasyon 28

1. GİRİŞ

Ağır metaller çok çeşitli mallarda ve çeşitli mesleklerde kullanılmaktadır. Ayrıca, beslenme ve sigara içme alışkanlıklarına, aktivite düzeyine, sağlık durumuna, çevresel maruziyetlere, yaşa, stres düzeyine veya ruh haline bağlı olarak, insanlar endojen metabolizma tarafından salınan çeşitli ağır metaller yayarlar. CO_2, aseton ve asetaldehit en bol bulunan bileşiklerdir (Stönner *et al.* 2007).

Bazı ağır metallere sürekli maruz kalmak risklidir, çünkü birçoğu Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından potansiyel olarak zararlı sağlık etkileriyle kanserojen olarak listelenmektedir. Ağır metal iyonları oda sıcaklığında hızla buharlaşır, atmosfere yayılır ve özellikle işyerinde potansiyel olarak toksik etkilere neden olur (IARC 2020).

Mesleki sektörde etki biyobelirteçleri, çok düşük seviyelerde ksenobiyotiklere kronik maruz kalma veya çeşitli maddelerin karışımlarına maruz kalma gibi zararlı olarak kabul edilmeyen durumlarda bile çok düşük seviyelerde ksenobiyotiklere kronik maruz kalma veya çeşitli maddelerin karışımlarına maruz kalma durumunda olduğu gibi, işçilerin maruz kalma değerleri mesleki maruziyet sınırlarının altında olduğunda, mesleki maruziyetlerin sağlık üzerindeki etkilerini ölçmemizi sağlamaktadır (Tranfo 2020). VOC'lere maruz kalan personelde erken genotoksik/oksidatif ve inflamatuar etkilerin yanı sıra maruziyetin biyobelirteçlerinin kullanımı, toksisitenin erken tespiti için değerli araçlar sağlayabilir. Ayrıca, sağlık tehlikelerinin tahmininde ve hastalık büyümesinin önlenmesinde yardımcı olma potansiyeline sahiptir (Moro *et al.* 2012).

Kimyasal bileşikler üzerindeki etkilere ilişkin endişeler, çeşitli kimyasallara kümülatif maruziyetten kaynaklanmaktadır. Endüstriyel ve halk sağlığının yanı sıra çevreyi de tehlikeli kimyasal karışımlardan korumak için, çoklu maruziyetlerin ve bunların birleşik etkilerinin daha iyi yönetimi gereklidir (Çelik *et al.* 2010).

Çoklu kimyasal maruziyet durumunda, çeşitli son noktaları değerlendiren biyobelirteçlerin kullanımı, karışımda bulunan ve genellikle sinerjik olarak işlev gören ve doğru ve tam risk değerlendirmesi ve yönetimine yol açan farklı maddelere atfedilebilen kümülatif etkilerin vurgulanmasına izin verdiği için özellikle önemli ve faydalıdır (Drakvik *et al.* 2010).

Havadaki partiküllerin metal işlerle atmosfere salınması, sağlık üzerinde olumsuz sonuçlara yol açar. Kalıcı olarak yüksek konsantrasyonlarda metal dumanlarına maruz kalan metal çalışanları, daha yüksek pnömoni, bronşit ve metal dumanı ateşi insidansı göstermektedir (Sferlazza and Beckett 1991). Metal dumanlarına karşı mesleki hassasiyet, daha yüksek akciğer kanseri riski ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte, tutarlı bir doz-yanıt ilişkisinin olmaması ve diğer ajanlara maruz kalma, nedensel ilişki üzerinde bir etkiye sahiptir. (Moulin 1997).

Bu çalışmanın amacı biyokimyasal, hematolojik belirteçler ve ağır metal etkilerinin moleküler belirteçleri ile mesleki kurşun maruziyeti arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Çalışma şu hedefleri değerlendirmek için tasarlanmaktadır: İlk olarak elektrik santralinden kaynaklanan ağır metal kirliliğinin neden olduğu çevresel stresi belirtmek için çalışandaki biyokimyasal belirteçlerdir. İkinci olarak DNA hasarı gibi bu etkinin spesifik bir sinyal veren moleküler biyobelirteç ölçümleri ile ağır metallerin olası etkilerinin tespitidir. Son olarak ağır metal stresinin neden olduğu ilgili bazı genlerin ekspresyonunu teşhis etmektir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bu bölümde ilk olarak ağır metallerin etkileri anlatılmaktadır. İkinci olarak ağır metallerin etkisinin tespiti için biyokimyasal belirteçler tanıtılmaktadır. Son olarak ağır metallere maruz kalma etkisinin değerlendirilmesi için moleküler belirteçler açıklanmaktadır.

2.1 Ağır Metallerin Etkileri

2000 yıldan fazla bir süredir mesleki ağır metal zehirlenmesi bir sağlık tehlikesi olarak bilinmektedir. Anemi, kolik, nöropati, nefropati, kısırlık ve koma, antik çağda Hipokrat ve Nikander, çağdaş dönemde Ramazzini ve Hamilton tarafından ağır metal toksisitesinin belirtileri olarak tanımlanmıştır (Staudinger 1998).

Ağır metallerin insan üzerindeki toksik etkisi, organizmaların moleküler tepkileri açısından ölçülebilir, bu nedenle moleküler biyobelirteçler, kirleticilere maruz kalma etkisinin erken uyarı göstergeleri olarak hizmet etmektedir.

Metal dumanı ateşi, göz ve cilt tahrişi, oryantasyon bozukluğu ve solunum güçlükleri, aktivite sırasında koruyucu ekipmanın olmaması veya yetersiz olması gibi katılımcılar tarafından belirtilen sağlık sorunları arasındadır. Atomik absorpsiyon spektrofotometrisi kullanılarak idrar numunelerinde Manganez (Mn), Kurşun (Pb) ve Nikel (Ni) içerikleri daha yüksek bulunmaktadır. Manganez (Mn), Kurşun (Pb), Krom (Cr) ve Nikel (Ni) kan örneklerinde (Ni) daha fazla miktarda bulunur. Özellikle Mn ve Pb konsantrasyonu, kentsel Kano'daki metal işçilerini tehlikeye atmaktadır. Kirliliğe neden olan ve önemli bir sağlık riski oluşturan mesleki faaliyetler yakından izlenmelidir (Sani 2017).

McHale vd. (2008) benzen maruziyetinin t(8;21), t(15;17) ve t(14;18) translokasyon seviyeleri üzerindeki etkisini araştırmaktır, çünkü benzen hem akut miyeloid lösemi hem de lenfoma riskinde artış ile ilişkilendirilmektedir. T hücreleri, t(14;18) sıklıkla normal insanların dolaşımdaki lenfositlerinde görülmektedir.

Nicel polimeraz zincir reaksiyonu analizi, benzene maruz kalan 37 işçinin kanlarında t(14;18) seviyesinin azaldığını ve t(14;18) BCL-2/IgH füzyon geni/mikrog DNA'sının 10 veya daha fazla kopyasına sahip olan sadece %16,2 iken, 20 kontrolün %55'i göstermektedir (Fisher'ın kesin testi ile P = ,0063). Bu düşüş, dolaşımdaki B-lenfositlerinin spesifik alt tiplerine karşı immünotoksisite ile ilgili olabilir, ancak veriler benzene maruz kalan popülasyonlarda artmış lenfoma riskinin bir biyobelirteç olarak t(14;18) kullanımını desteklememektedir.

Nilsson vd. (2008) dijit II için basamak V'ye kıyasla, dişiler için erkeklere kıyasla ve iki çalışma merkezi arasında azaltılmış termal algılama duyarlılığının bulunduğunu saptamaktadır. İşyerinde titreşime maruz kalan denekler, titreşime maruz kalmayanlara kıyasla sıcaklığa karşı daha düşük hassasiyet göstermektedir. Tek değişkenli analizlerde, titreşim için sağ ve sol eller için soğuğu algılamada azalma için sırasıyla 1,06 (%95 CI 1,006-1,118) ve 1,02 (%95 CI 0,971-1,078) olasılık oranları bulunmaktadır. Bu ilişki çok değişkenli analizlerde kaybolur ve çalışma merkezi en güçlü kafa karıştırıcı etkidir.

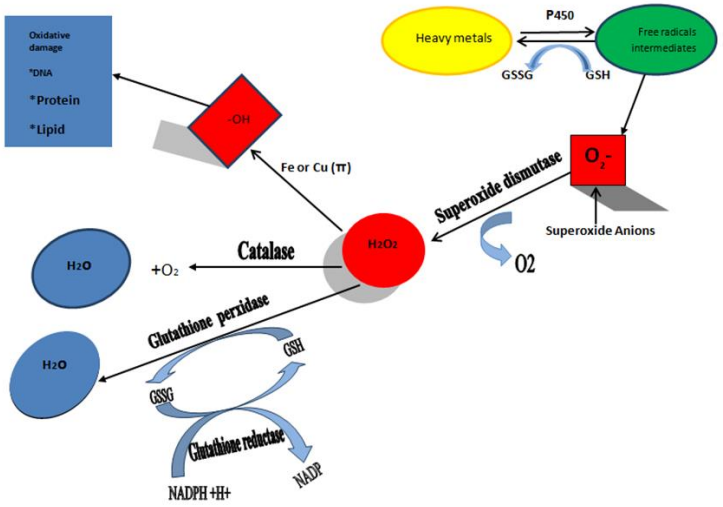
Tayland'da ağır metaller çevre de dahil olmak üzere çeşitli sektörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. İşyerinde ağır metal maruziyeti sıklıkla kroniktir ve mutasyonlara ve kansere neden olabilen çevre kirliliğinden kaynaklanır. Mesleki olarak çok sayıda ağır metale maruz kalmanın genotoksik sonuçları üzerine yapılan önemli araştırmalara rağmen, bunların genotoksisitesine ilişkin bulgular karışıktır. Leelapongwattana ve Bordeerat (2020) çalışmasında, fabrika çalışanlarının maruz kaldığı kurşun (Pb), bakır (Cu), çinko (Zn) ve kalay (Sn) gibi çeşitli ağır metal karışımlarının genotoksik sonuçlarına bakmışlardır. Periferik kan hücrelerinde sitokinez bloke mikronükleus (CBMN) testi kullanılarak ve tümörle ilişkili protein seviyeleri tespit edilerek DNA hasarı değerlendirilmektedir.

2.2 Ağır Metallerin Etkisinin Tespiti için Biyokimyasal Belirteçler

Biyobelirteçler, çevresel strese veya hücresel veya biyokimyasal bileşenlerde veya süreçlerde, yapılarda veya işlevlerde biyolojik bir sistem veya numunede ölçülebilen ksenobiyotik kaynaklı bir varyasyona göre üretilen herhangi bir biyokimyasal, moleküler,

histolojik ve fizyolojik değişiklik olarak tanımlanmaktadır (Benford *et al.* 2000). Birçok ağır metal, suda yaşayan organizmalarda oksidatif stresin hayati indükleyicileridir ve bu, redoks döngüsü yoluyla reaktif oksijen türleri oluşturma potansiyeli sahip metaller veya tiyol içeren antioksidanlar ve enzimlere özel antioksidan savunmaları bozma potansiyeli olmayan metaller iki yol metal yoluyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açmaktadır (Sevcikova *et al.* 2011).

Oksidatif stres, çevresel kirleticiler tarafından indüklenen veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ile hücrenin potansiyel antioksidan üretme yeteneği arasındaki çatışmanın sitotoksik sonuçları olarak tanımlanan, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin homeostazında bir bozulma olarak tanımlanabilmektedir (Livingstone 2001). Şekil 2.1'de görüldüğü üzere ağır metaller, süperoksit anyonları tarafından tetiklenen önemli serbest radikallerin üretilmesine yol açabilen ve sonunda antioksidan enzimlerin indüklenmesine yol açabilen serbest radikalleri ara ürünler yaparak antioksidan enzimlerin uyarılmasında kilit bir role sahiptir. Şekil 2.1'de kırmızı renk zararlı serbest radikaller anlamına gelir Antioksidan sistemler, endojen reaktif oksijen türlerini nispeten düşük seviyelerde koruyarak ve yüksek reaktivitelerine bağlı zararları azaltarak yumuşakçaları oksiradikal oluşumun zararlı etkilerine karşı korumaktadır (Manduzio *et al.* 2004).



Şekil 2.1 Kişisel modifikasyon ile Conners (2004)'ten uyarlanan antioksidan enzim indüksiyonuna ağır metal katılımının genel planı

SOD, önemli bir antioksidan rol oynayan ve doğal ve antropojenik kirleticilere karşı bir savunma sistemi oluşturan bir grup metalloenzimdendir (Sahan *et al.* 2010). Bu enzimler, kirleticilerin, süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden suda yaşayan organizmalar üzerindeki zararlı etkilerini tespit etmek için kullanılmaktadır (Vlahogianni *et al.* 2007).

Katalaz hem içeren bir redoks enzimidir. Hidrojen peroksitin su ve oksijene ayrışmasını katalize eder ve üreme reaksiyonlarında çok önemli bir enzimdir. Benzer şekilde, katalaz tüm enzimler arasında en yüksek devir sayılarından birine sahiptir; bir katalaz molekülü her saniye milyonlarca hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijene dönüştürebilir (Nadji *et al.* 2010).

Glutatyon peroksidaz (GPx), lipid hidroperoksitleri karşılık gelen alkollerine indirgeyen ve serbest hidrojen peroksiti suya indirgeyen bir peroksidaz enzim ailesidir (McGevin 2011). Bu enzim oksidatif strese karşı hücresel korumada hayati bir rol oynar Lipid peroksidasyonu (LPO), kirleticilere maruz kalan suda yaşayan organizmalarda oksidatif hasarın bir biyoindikatörü olarak uzun süredir kullanılmaktadır.

Malondialdehit (MDA), oksidatif stresin ve lipitlere saldıran serbest radikallerin yan ürünlerinin ana son ürünlerinden biridir ve LPO, lipit çift katmanlarının yığın fazında meydana gelen ve dört fazdan (başlama, yayılma, ayrışma, sonlandırma) oluşan kimyasal reaksiyonların kendi kendine yayılan bir dizisidir (Conners 2004). Örneklemdeki çalışanların % 28,05'inde mevcut veya önceden kulak çınlaması vardır ve kulak çınlaması olanların anormal odyometri oranları daha yüksektir. Mevcut kulak çınlaması olan çalışanların ortalama işitme eşiği, 4-8 kHz frekans aralığında diğerlerinden daha yüksektir ve en çok etkilenen 4 kHz frekansıdır. THI puanları 0 ile 84 arasında değişmekte olup, ortalama 13,1'dir (Delecrode *et al.* 2021).

Kurşun (Pb) ve kadmiyuma (Cd) mesleki maruziyet, çinko gibi demir dışı metaller işlendiğinde ve döküldüğünde ortaya çıkar. Ca, Pb ve Cd'den farklı olarak, hücre iletişiminden kemik oluşumuna kadar çeşitli süreçlere katılımı nedeniyle canlılar için

gereklidir. Pb ve Cd maruziyetinin kalsiyum metabolizması üzerinde çeşitli etkileri vardır.

Szlacheta vd. (2020) sonuçları, Ca seviyesinin serum Cd konsantrasyonunu modüle ettiğini ve Pb ile indüklenen hem sentezi bozukluğu üzerinde bir etkisi olduğunu göstermektedir. Yüksek Ca seviyeleri, lipid peroksidasyon ürünlerinin konsantrasyonunda bir azalmaya yol açabilir. Ayrıca, serum kalsiyum seviyesi, akut faz proteinlerinin seviyesini değiştirebilecek gibi görünmektedir. Elde edilen sonuçlar, mesleki olarak maruz kalan işçilerde daha yüksek Ca düzeyinin Cd düzeyini düşürmede yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

İşyerinde metal maruziyeti, kardiyovasküler sistem üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir. Bununla birlikte, mesleki olarak maruz kalan çalışanlarda metal maruziyeti ve hipertansiyon arasındaki bağlantılara ilişkin epidemiyolojik araştırmalar seyrektir (Shi *et al.* 2019)

Molibden madencileri ve demir ve çelik dökümhanesi çalışanlarında idrar metal seviyelerinin hipertansiyon riskiyle bağlantılı olup olmadığını araştırılarak, İdrar molibden, kobalt, kadmiyum, arsenik ve kurşun konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi bulunup hipertansiyon insidansının doğrusal olmadığı gösterilmektedir. Ayrıca, Pb, Mo, As ve Co, sinerjik bir etkiye ve hipertansiyon prevalansı ile önemli bir pozitif bağlantıya sahip olabilir. Buna karşılık, Cd, Pb ve Mo'nun birleşik etkileri ile hipertansiyon prevalansı arasında anlamlı bir bağlantı yoktur.

Maruz kalan çalışanların mevcut kan kurşun içeriği 36,0 (aralık 6,4 ile 64,5) mikrogram/dl iken, 14 kontrolde 6,3 (aralık 3,1 ile 10,9) mikrogram/dl içermektedir. Gözler açıkken, postural salınım özelliklerinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. Xs, Ys (basınç merkezinin koordinatlarının SD'leri); Xm, Ym (basınç merkezinin koordinatlarının ortalama sapması); ve Xm, Ym (basınç merkezinin koordinatlarının ortalama sapması); için önemli farklılıklar keşfedilmektedir. Rm (Xo, Yo'dan ortalama Xi, Yi yer değiştirmesi); Ao (basınç merkezinin rotası içinde kalan alan); Ae (basınç

merkezinin yolu içinde kalan alan); L (sallanma yolunun uzunluğu); Vel (yol boyunca basınç merkezinin ortalama hızı); (%95 güvenilir eliptik alan) (Chia *et al.* 1994).

Kristal silika tozuna maruz kalmaların sırasıyla yüzde yetmişi ve %100'ü vaka ve pozitif kontrol gruplarında 8 saatlik TWA ACGIH TLV'lerini aşmaktadır. Toz maruziyet yoğunluğu ile FEV1/FVC arasında, maruziyet ve pozitif kontrol grupları bir grupta çalışıldığında anlamlı bir negatif korelasyon bulunmaktadır (r2=-0,601, P<0,001). Tüm ekshale edilen nefes örnekleri toplam kırk VOC içermektedir. Silika ve silikoz hastalarına maruz kalan işçilerin solunan nefeslerinde, pik alan asetaldehit, heksanal, nonanal, dekan, pentadekan, 2-propanol ve 3-hidroksi-2-bütanon ortalamaları, sağlıklı sigara içen ve sigara içmeyen kontrollerden daha yüksektir. Fark belirli durumlarda anlamlıdır (P<0,05) (Jalali *et al.* 2016).

Decharat (2016) sigara içilmesi, günlük çalışılan saat, haftada çalışılan gün, çalışma süresi (yıl), çalışma pozisyonu, KKD kullanımı (maske ve eldiven) ve kişisel hijyen davranışı (iş yerinde atıştırmalıklar yedileri veya su içtileri ve öğle yemeğinden önce ellerini yıkadıları) kan kadmiyum düzeylerinin ve kan kurşun düzeylerinin önemli belirleyicilerini göstermektedir; Söz konusu işçilerin katı atık maruziyetinde artan vücut toksik metal yükünün, kişisel hijyen uygulamalarıyla ilişkili mesleki metal toksisitesinin bir göstergesi olduğu sonucuna varmaktadır.

Toza maruz kalma 0,02 ile 11 mg/m(3), endotoksinler 1 ile 3160 EU/m(3) ve bakterilere 0 ila 209 × 10(6) hücre/m(3) arasında değişmektedir. Mantar (0-41 × 10(6) sporları/m(3)) ve aktinomiset sporları (0-590 × 10(6) actinomycetes sporları/m(3)) sadece kompost tesislerinde gözlenmektedir. Maruz kalan işçiler, referanslara (sırasıyla 2,8 ve 1,0 mg/L) kıyasla fibrinojen (aritmetik ortalama 3,3 mg/mL) ve CRP (geometrik ortalama 1,5 mg/L) önemli ölçüde daha yüksektir. CRP'nin serum konsantrasyonu, tahmin edilenin %'si olarak bir saniyedeki zorlu ekspiratuar hacim (FEV1) ile negatif ilişkilidir. Solunabilir toza ve bakterilere maruz kalma, ICAM-1'in serum konsantrasyonu ile pozitif olarak ilişkilendirilmektedir (Heldal *et al.* 2016).

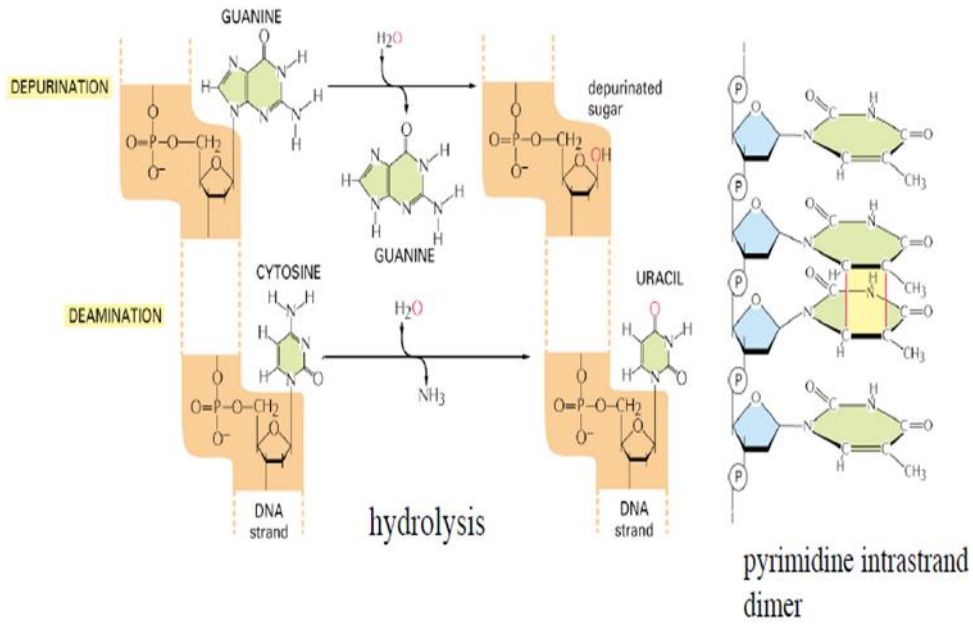
Glutatyon detoksifikasyon yolunun glutatyon S-transferaz teta 1 (GSTT1) ve glutatyon S-transferaz Mu 1 (GSTM1) enzimleri embriyoyu oksidatif stresten korur. Bu çalışma, GSTT1 ve GSTM1'i gebelik kaybına genetik duyarlılık kazandırmadaki rolleriyle ilgili olarak araştırılmaktadır. Bir vaka-kontrol çalışmasında, 130'u tekrarlayan gebelik kaybı (RPL) hastası olmak üzere 174 erken gebelik kaybı (EPL) hastası ve 180 sağlıklı kontrol araştırılmaktır. Dubleks PCR reaksiyon sistemlerinde GSTT1 ve GSTM1'in boş genotipleri tanımlanır. Yaşa göre düzeltilmiş bahis oranları (aOR) lojistik regresyon analizi ile hesaplanmaktadır. Nair *et al.* (2013) sonuçlar, Hint popülasyonunda GSTT1 boş genotipi ile önemli ölçüde artan bir risk gösterir, ancak havuza alınan popülasyonda hiçbir risk bulunmamaktadır. Sonuç olarak, bu çalışmanın verileri, çalışma popülasyonunda GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmlerinin gebelik kaybı için genetik risk faktörleri olduğunu açıkça göstermektedir.

2.3 Ağır Metallere Maruz Kalma Etkisinin Değerlendirilmesi için Moleküler Belirteçler

Moleküler biyobelirteçlerin önemi, kirleticiler ve organizmalar arasındaki etkileşimleri gösterme yetenekleriyle ilgilidir, ekolojik sonuçlara zarar vermeden önce biyoremediasyon süreçlerinde faydalı olabilir, kirleticilerin teşhis yollarında önemli rol oynar ve hem laboratuvar hem de saha çalışmalarına uygulanabilir (Sarkar *et al.* 2010). Moleküler biyobelirtecin amacı, organizmanın reaksiyona girdiği kirleticilerin özellikleri için hızlı tespit ve ilerleme sağlayacak bir dizi hassas moleküler tahlil geliştirmektir.

2.3.1 DNA hasarı

Çevresel stres nedeniyle DNA'da meydana gelen yaralanmalar, normal, bozulmamış yapısından sapmalara neden olur ve bu, tamir edilmezse bir mutasyona veya bir DNA replikasyonu bloğuna neden olabilir. Onarım mekanizmasındaki hasarın veya hücre redoks durumundaki kusurun bir sonucu olarak alkali kararsız bölgeler yoluyla üretilen DNA hasarı, çift sarmal çapraz bağlarının iki ipliği arasındaki hidrojen bağlarının tahrip olmasına yol açar (Şekil 2.2) (Mitchelmore and Chipman 1998).



Şekil 2.2 Ağır metallerin etkilerine bağlı yaygın DNA hasarı türleri

Suda yaşayan organizmalarda DNA onarımı yavaştır ve ağır metaller, DNA üzerinde alkali kararsız bölgeler oluşturabilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu indükleyerek (8-OHdG) gibi DNA eklentilerinin oluşumu ile DNA zinciri kopmalarına neden olabilir. Yumuşakçalarda DNA hasarı, tek ve çift iplik kopmalarını, modifiye bazları, DNA-DNA çapraz bağlarını ve DNA-proteini içermektedir (McGevin 2011).

Albertini vd. (2003) BD'ye maruz kalan çalışanlarda HPRT mutasyonlarının moleküler spektrumu, önemli bir silme sıklığını ortaya çıkartmaktadır; bununla birlikte, aynı bulgu, maruz kalmayan kontrol bireylerinde gözlenerek bu değişikliklerin BD maruziyetinden kaynaklanmadığını göstermektedir. Kontrol bireyleri, değişen derecelerde BD'ye maruz kalan bireysel çalışanların çalışmalarından veya regresyon analizlerinden çıkarıldığında bile, BD maruziyetleri ile genetik etkiler arasında bir ilişkinin yokluğu korunmaktadır.

Migliore vd. (2002) stirene maruz kalan 46 erkek işçiden ve maruz kalmayan 27 kontrolden (yaş aralığı 18-45) rapor edilen Semen örnekleri alınmaktadır. Maruz kalan kişiler son 5 yılda en az 2 yıl ve 6 ay kesintisiz olarak takviyeli plastik üreten fabrikalarda çalışmışlardır. Spermdeki DNA bütünlüğünü değerlendirmek için Comet testi ve sperm

konsantrasyonu ve morfolojisini değerlendirmek için semen kalite analizi yapılmaktadır. Maruz kalan denekler ve referans grup arasında standart semen analizinin sonuçlarında fark yoktur. Bununla birlikte, maruz kalan denekler ve referans grubu arasında Comet testi ile sperm DNA hasarında önemli bir fark bulunmaktadır ($P < 0,001$).

2.3.2 Ağır metal stresi ile ilgili olarak CYP3A polimorfizmi

Yapıdan ziyade ifade seviyelerini değiştiren intronik SNP'lere dayanan CYP3A4 polimorfizmi, genel popülasyonu üç gruba ayırılmaktadır: zayıf metabolizörler, normal metabolizatörler ve hızlı metabolizörler.

Sitokrom P450 3A4 (CYP3A4) tarafından klinik kullanımda olan ilaçlar, insanlarda diğer herhangi bir yabancı bileşik metabolize edici enzimden daha fazla metabolize edilir. CYP3A4 genindeki varyantların son zamanlarda fonksiyonel öneme sahip olduğu ve nadir durumlarda aktivite kaybına yol açtığı ve bu da hastalar için ciddi sonuçlara işaret ettiği gösterilmektedir (Werk and Cascorbi 2014).

Chernyak ve Merinova (2020), CYP3A genlerinin (CYP3A4 (rs2740574), CYP3A5 (rs776746) ve CYP3A7 (rs2257401)) polimorfik lokusları ile kronik cıva zehirlenmesi gelişimi arasındaki ilişkiyi analiz etmektedir. İncelenen 170 erkekten 120'si kronik olarak cıva buharlarına maruz kalan işçilerdir ve 50'si ise kronik cıva zehirlenmesi ile ilişkili GG-HSPA1B (+1267A/G) genotipinin taşıyıcılarıdır. Ağırlıklı olarak CYP3A4/CYP3A5 tarafından katalize edilen reaksiyonda üretilen 4-hidroksiantipirinin (4-HAP) idrar içeriği, CYP3A4 ve CYP3A5 genotiplerine bağlı olarak kronik cıva zehirlenmesi olmayan işçilerde (grup 1, N=46) ve kronik cıva zehirlenmesinin gecikmiş dönemindeki hastalarda (grup 2, N=74) incelenmektedir.

HSP72, HSP72+HSP73 ve HSP90'ın kan seviyeleri ile HSP70 ailesinin üç polimorfizminin genotipleri, HSPA1L (2437T/C) ve HSPA1B (2074G/C ve 1267A/G) ile GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmleri arasındaki ilişki kronik olarak cıvaya maruz kalan 82 erkekte incelenmektedir. Bunlardan 40 erkeği 10 yıldan uzun süre cıvaya maruz kalmış

(grup 1) ve 42'si kronik cıva zehirlenmesi (grup 2) geliştirmiştir. Gruplar, HSPA1L gen lokusu 2437T/C'nin TT (p=0,004) ve TC (p=0,007) genotiplerine göre anlamlı farklılık gösterir. HSP70 gen polimorfizmi ile ilişkili ısı şoku protein içeriğindeki farklılıklar sadece HSPA1B gen lokusu 2074G/C için tespit edilir ve grup 2'de grup 1'e göre GG genotipi için HSP90 (p=0,020) ve HSP72'nin (p=0,056) azalmasından oluşmaktadır (Chernyak *et al.* 2012).

Chernyak vd. (2014) Antipirin ile ölçülen metabolik test yapılır, GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmlerinin genotipleri arasındaki ilişki incelenerek kronik olarak cıvaya maruz kalan 116 erkekte kotinin düzeyi ölçülmektedir. Bireyler kronik cıva zehirlenmesi tanısına göre 4 gruba ayrılmaktadır. Antipirin testinin parametrelerindeki değişiklikler bağlantılı numunelerde (N=62, 4 yıllık aralık) incelenir; kronik cıva zehirlenmesi olan hastalarda hastalık evresi dikkate alınmaktadır. Antipirin metabolizmasının inhibisyonu, kronik cıva intoksikasyonu olan hastalarda GSTT1(0/0) / GSTM1(+) genotiplerinin kombinasyon sıklığının artması ve Sitokrom P450 inhibisyonunun civa ile özgüllüğü, hastalığın ilerlemesinin, beyinde endojen substratların düzenlenmesini katalize eden sitokrom P450 izoformlarının inhibisyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Metil cıvaya (MeHg) doğum öncesi maruziyetin ardından olumsuz sağlık etkileri, balık yiyen bir popülasyonda yürütülen birkaç ileriye dönük kohort çalışmasından açıkça görülmektedir. Faroe kökenli bir doğum kohortunda yapılan ileriye dönük bir çalışma, daha önce güvenli olduğu düşünülen doğum öncesi MeHg maruziyet seviyelerinde çeşitli fonksiyonel alanlardaki ince eksiklikleri belgelenmektedir. Son zamanlardaki yapılan ek çalışmalar, aynı zamanda MeHg zehirlenmesi ile birlikte poliklorlu bifenillere (PCB'ler) maruz kalma ile ilişkili nöro-davranışsal eksiklikleri de göstermektedir (Nakai and Satoh 2002).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Örnek Koleksiyonlar

Elektrik santralinde çalışanlardan damar yolu ile insan kanı örnekleri (n=25, C=10) alınmıştır. Tüm kan örnekleri kodlanarak hemen analiz için laboratuvara gönderilmiştir. Tasarım Metal işçileri (n = 25) rastgele seçilmiştir. Kontrol grubu (n = 10), hiç metal dumanına maruz kalmamış kişiler arasından rastgele seçilerek cinsiyet, yaş ve sigara içme davranışları açısından kontrol grupları metal işçileri ile benzerlik göstermektedir. 5 mL kan örneği almak için damar delinmesi kullanılarak kraliyet mavisi bir EDTA tüpünde örnekler toplanmaktadır. Deneğin vücudundaki toplama yeri, %70'lik alkollü bir bezle silinmeden önce sabun ve su ile temizlenir. Kan toplamak için bir flebotomi iğnesi kullanılarak damar delinmesi kullanılmaktadır. Pıhtılaşmayı önlemek için EDTA tüpü 8-10 kez ters çevrilerek her numune tüpüne tanımlayıcı bir etiket uygulanacaktır. Örnekler 4◦C'de saklanmaktadır.

3.2 Ağır Metal Ölçümü

Ağır metaller (Pb, Cd, Cu, Fe), analiz için 4°C'de tutulan kan numunesi (5 ml) tarafından serum numunelerinin sindirilmesinden sonra bir doz konsantre nitrik asit verildikten sonra FAAS (Shimadzu 7000) ile her numunede ölçülmektedir. Kan örnekleri mikrodalga kullanılarak sindirilir. 4,0 mL numune ve (5 mL konsantre HCl + 5 mL konsantre HNO3) içindeki güçlü hidroklorik ve nitrik asitlerin 10,0 mL kombinasyonu numuneleri sindirmek için kullanılmaktadır. (Awad *et al.* 2013), Çözelti deiyonize su ile 25,0 mL'ye seyreltilecektir.

3.3 Katalaz Aktivitesi

Katalaz aktivitesi, enzimlerin 1,0 mL substrat içinde (60 mmol/l sodyum-potasyum fosfat tamponunda 65 mmol/mL hidrojen peroksit, pH 7,4) 37 °C'de üç dakika süreyle inkübe edilmesiyle değerlendirilmektedir. Amonyum molibdat (32,4 mmol/L) ile eylem

durdurularak sarı molibdat ve hidrojen peroksit kompleksinin absorbansı, boşluğa karşı 374 nm'de ölçülmektedir. Aşağıda reaktifler yer almaktadır:

1. Sodyum, potasyum fosfat tamponu (50mM,pH7,4): Bu tampon, 1,1g Na2HP04 ve 0,27g KH2P04'ün 100 mL distile suda çözülmesiyle hazırlanır.
2. 50 mmol/L sodyum, potasyum fosfat tamponu içinde H2O2 (20 mM): bu çözelti taze olarak seyreltilir ve 240 nm'de 43,6 M_1 cm_1 molar sönme katsayısı kullanılarak günlük olarak standardize edilir.
3. Birinci dereceden bir reaksiyon (k) denkleminin hız sabiti, katalaz aktivitesini belirlemek için Denklem (3.1)'de gösterildiği gibi kullanılır. Burada t zamanı; S° standart tüpün absorbansını; S test tüpünün absorbansını; M kontrol testinin absorbansını (düzeltme faktörü); Vt test tüpündeki toplam reaktif hacmini; Vs serum hacmini göstermektedir.

$$Katalaz\ aktivitesi\ kU = \frac{2{,}303}{t} \cdot \left[log \frac{S^{\circ}}{S-M}\right] \cdot \frac{Vt}{Vs} \qquad (3.1)$$

3.4 SOD Aktivite Tayini

İlk olarak tris tamponu (pH 8,0): 0,258 gm tris ve 0,111 gm Etilendiamintetraasetik asidin (EDTA) dH_2O içinde çözülmesi ve hacmin 100 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanır. Sonra pirogallol çözeltisi (0,2 mM): 0,0252 g pirogallolün 10 mL HC1 ile çözülmesi ve hacminin dH_2O ile 100 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanır.

Marklund and Marklund (1974)'e göre reaksiyon karışımı, 2 mL tris tamponlu 50 µL ham enzim özü ve 420 nm'de ışığı emen 0,5 mL pirogalol (0,2 mM) içerir. Kontrol çözeltisi, dH_2O ile değiştirilen enzim özü dışında aynı malzemeleri içerir. Boş olarak dH_2O kullanılmaktadır. Tek birim enzim, pirogalol oksidasyonunun %50'sini inhibe edebilen enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır (Marklund and Marklund 1974). SOD aktivitesi Denklem (3.2) kullanılarak hesaplanmaktadır. Burada %P pirogalol azalmasının inhibisyon yüzdesini; R toplam reaksiyon hacmini (2,55 mi); T dakikada reaksiyon

zamanını (2 dakika) göstermektedir. Her örneğin %P'si, örneğin Δab'leri (%X) ile Δabs kontrol (%100) karşılaştırılarak hesaplanır.

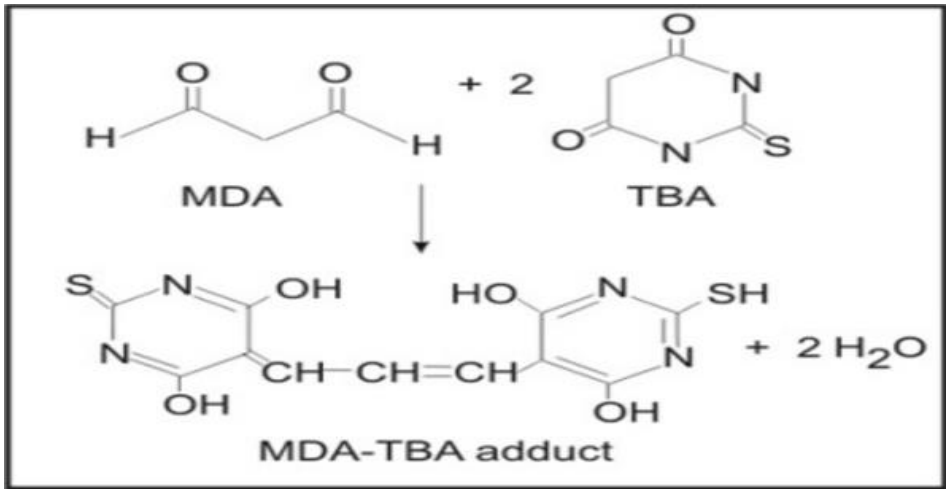
$$SOD\ Activity\ (unit) = \frac{\frac{\%P}{50\%}R}{T} \quad (3.2)$$

3.5 Glutatyon Tayini

İndirgenmiş glutatyon, Sedlak ve Lindsay (1968)'in yöntemi izlenerek ölçülür. İlk olarak, 2,0 mL numuneye metafosforik asit, Na2EDTA ve NaCl içeren 3,0 mL çökeltme çözeltisi ilave edilir. Karışım 4500 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek 4,0 mL 0,3 M Na2HP04 çözeltisine 1,0 mL süpernatan ilave edilir ve daha sonra bu çözeltiye 0,5 mM DTNB (5,5-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit) ilave edilmektedir. İndirgenmiş glutatyon, 412 nm'de DTNB varlığında ve yokluğunda örneklerin absorbans değerlerindeki fark olarak ölçülmektedir. GSH değeri, referans olarak indirgenmiş glutatyon kullanılarak dokularda nmol GSH/mg protein ve tam kanda mmol GSH/g Hb olarak hesaplanmaktadır (drabkins solüsyonu kullanılarak tam kanda hemoglobin seviyeleri tahmin edilmektedir).

3.6 Serum Malondialdehit (MDA) Tahmini

Malondialdehit, spektrofotometrede Buege ve Aust (1978)'in Thiobarbitürik asit (TBA) tahlil yöntemiyle tahmin edilmektedir. Bu yöntem, lipid peroksidasyonunun aldehit parçalanma ürünlerini ölçerek lipid peroksitlerin miktarını belirler. Yöntemin temel prensibi, bir molekül malondialdehit ile iki molekül tiyobarbitürik asidin reaksiyona girerek 535 nm'de ölçülebilen kırmızı bir MDA-TBA kompleksi oluşturmasıdır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 MDA-TBA kompleksi

Stok TCA – TBA – HCl Reaktifi için %15 W/V trikloroasetik asit ve %0,375 W/V tiyobarbitürik asit ve 0,25N HCl'nin 100 mL (100 mL'de 2,1 mL konsantre HCl) elde edilmesi için çözülmesiyle hazırlanmaktadır. Bu çözelti, TBA'nın çözünmesine yardımcı olmak için hafifçe ısıtıldı. Bu çözelti, TBA'nın çözünmesine yardımcı olmak için hafifçe ısıtılır. 0,25 N HCl içinde 15 gr TCA ve 0,375 mg tiobarbitürik asit çözülmüş ve hacim 0,25 N HCl ile 100 mL'ye tamamlanmaktadır.

0,4 mL seruma 0,6 mL TCA-TBA-HCl reaktifleri eklenerek iyice karıştırılıp kaynar su banyosunda 10 dakika bekletilir. Soğutulduktan sonra, santrifüjlemeyi ortadan kaldırmak için 1,0 mL taze hazırlanmış İN NaOH çözeltisi ilave edilir. Pembe rengin bu absorbansı, serum yerine damıtılmış su içeren boşluğa karşı 535 nm'de ölçülmektedir. Boş 0,4 mL distile su ve 0,6 mL TCA-TBA-HCl reaktifi karıştırılarak kaynatılmaktadır. Boş her zaman alınmaktır. (Buege and Aust 1978). 535 nm'de MDA'nın sönme katsayısı = 1,56 × 105 olarak hesaplanmaktadır. MDA konsantrasyonu = χ / 0,0624 nmol / mL şeklindedir.

3.7 CRE, BUN, TP, ALP, GOT, GPT Ölçümleri

Yukarıdaki biyokimyasal belirteçler, Fujifilm tarafından kuru kimya ile ölçülmektedir. Birinci olarak folyoyu açma ve test çipini geri çekmesi yapılmaktadır. İkinci olarak çipin analizör içindeki çip yerine yerleştirilmesi gerçekleşmektedir. Üçüncü olarak serum örneği içeren 1 mL'lik tüpün ucuyla birlikte numune tutucuya yerleştirilmesi

yapılmaktadır. Son olarak analizörü otomatik olarak başlattığınızda sonuçlar 5 dakika sonra görünecektir.

3.8 Genomik DNA ekstraksiyonu

Favor PrepTM Genomik DNA Mini Kit, üreticinin protokolü izlenerek 25 kan örneğinden genomik DNA çıkarmak için kullanılır. 200 µL'ye kadar numuneyi (tam kan, serum, plazma, vücut sıvıları, buffy coat) bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın, numuneye 20 µL Proteinaz K ve 200 µL FABG Tamponu eklenir. Darbeli girdap ile iyice karıştırarak numuneyi Iyse yapmak için 60 ºC'de 15 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sırasında numuneyi her 3-5 dakikada bir vortekslenir. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısaca döndürülerek numuneye 200 µL etanol (%96-100) eklenir. 10 saniye boyunca darbeli girdap ile iyice karıştırılır. Kapağın içinden damlaları çıkarmak için tüpü kısaca döndürün, Toplama Tüpüne bir FABG Mini Sütunu yerleştirilir. Karışımı (herhangi bir çökelti dâhil) dikkatlice FABG Mini Sütununa aktarılır. 6000 x g'de 1 dakika santrifüjleyerek ardından FABG Mini Sütunu yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.

FABG mini sütununa 400 µL W1 Tamponu ekleyerek 30 saniye boyunca tam hızda (18000 x g) santrifüjlenir ve ardından akışı atılır. FABG Mini Sütuna 750 µL Yıkama Tamponu ekleyerek 30 saniye boyunca tam hızda santrifüjlenir, ardından akışı atılır, sütunu kurutmak için tam hızda 3 dakika daha santrifüjlenir. FABG Mini sütununu bir elüsyon tüpüne yerleştirilir ve FABG Mini Kolonunun membran merkezine 50 µL Elüsyon Tamponu eklenir. FABG Mini Sütunu 3 dakika bekletilerek toplam DNA'yı elute etmek için tam hızda 1 dakika santrifüjlenir ve sonra kullanılana kadar 20ºC'de saklanmaktadır.

3.8.1 Agaroz jel elektroforezi

Agaroz tabakası, agaroz tozunun 1X TBE tamponu içinde çözülmesiyle hazırlanır. Agaroz tabakasının kullanıldığı amaca bağlı olarak çözülebilen agaroz miktarı, ekstraksiyon sonrası DNA'nın görselleştirilmesi için %0,7 agaroz tabakası kullanılırken,

PCR ürününün (amplikon) %1,5-%2 agaroz tabakası görselleştirilmesi için kullanılmaktadır. Basitçe güvenli (etidyum bromür için alternatif) stok solüsyon konsantrasyonu 10 mg/mL'dir. Son konsantrasyonu 0,5µg/mL elde etmek için 100 mL eriyen agaroz jele sadece 5µl güvenli stok solüsyonu eklenir (Green and Sambrook 2012).

3.8.2 Primer çiftlerinin hazırlanması

Çizelge 3.1'de de görüldüğü gibi bu çalışmada kullanılan primer çifti, 1mM EDTA-Na2 içeren 10mM Tris-HCl'den oluşan TE Tamponu (pH 8,0) kullanılarak çözülür. Önce primer stok tüpü hazırlanır ve ardından primer stok tüpünden çalışma solüsyonu hazırlanmaktadır.

Primer üreticisi (Bioneer/Kore) tarafından sağlanan talimata göre, 100 pikomol/mikrolitre primer stok çözeltisi konsantrasyonu elde etmek için TE tamponu ilave edilmektedir. Çalışma çözeltisi stoktan TE tamponu ile seyreltilerek 10 pikomol/mikrolitre elde etmek için hazırlanmktadır.

Çizelge 3.1 Cyp3A4 primer çifti

Primer adı	**Sıra 5′-3′**
cyp3A4F	TGGGCCTAATTGATTCTTTGGC
cyp3A4R	AGTGTGGACACATCACCACC

3.8.3 Reaksiyon karışımı

DNA'nın amplifikasyonu, tablo (2)'de belirtildiği gibi 50 µl reaksiyon karışımının son hacminde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2 Reaksiyon karışımının içeriği

No.	Reaksiyon karışımının içeriği	Hacim
1.	Yeşil ana karışım	25 µl
2.	Yukarıya karşı primeri (10pmol/µl)	3 µl
3.	Aşağı akış primer (10pmol/µl)	3 µl
4.	DNA şablonu	5 µl
5.	nükleaz içermeyen su	14 µl
Total hacim		50 µl

3.8.4 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Spesifik primer çiftleri (cyp3A4) kullanılarak hedef DNA'yı amplifiye etmek için geleneksel PCR kullanılmaktadır. Agaroz jel elektroforezinden sonrası görselleştirilebilen PCR ürününü (amplikon) elde etmek için belirli sayıda döngü için tekrarlanan ardışık üç adımı içermektedir. Çizelge 3.3'te termal döngü koşulları bulunmaktadır.

Çizelge 3.3 Termal döngü koşulları

Gen	İlk Denatürasyon	Denatürasyon	Tavlama	Uzatma	Son Uzatma
Cyp3A4	95°C 2dak.	95°C 30sn.	58,2°C 30sn.	72°C 60sn.	72°C 5dak.
	1 döngü	35 döngü			1 döngü

Aşağıda CYP3A4 bulunmaktadır:

TCAAGCTACACATGATCGAGCTATACATGACATATGCACTTTTCCATTTATT
TATTTATTTTTGAGACAG
AATCTTGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCGATCTTGGCTCACC
GCAACCTCCGCCTCTCGG
ATTCAAGCAATTGTCATGCCCCAGCTTCCCGAGTAGCTGGAATTACAGGTGT
GCACCATCACGCCCAGCT
AATTTTTTTTTGTATTTTTAGTAGAGATGAGGTTTCACTATGTTGGCCAGGCT
GGTCTTGAACTCCTGGC
CTCACTCAAGTGATCCTCCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTAGAATTACAGG
TGTGAGTCACCGGTCCCA
GCTGACATATGCACTTTTCTATATTGTATCCTGTAATTTAATTTTTTTAAGTT
TTAAGAAAACATTAAAA
ATAWAAAGATAAATAGTCTGTCATACAGGAGAATTTCAAATAGTTTATGGA
GATAATCCCCCCTCAAGGA
GAAGGAGCGTAATCCCCCACTCCTTCGGTGTGGGCTGTGCATAGTGACTTCC
TTCCAAAAGGTACAGTAT
GGAAAGGTGGGAAAGGAGTAACTTTACAGTGAAGAGACCTGACACGCACT
ACCTTAGCCAGGTGATCAAG

Aşağıda CYP3A4 forward bulunmaktadır:

Primer Tm: 57,0°C
Konum: 15:75038086-75038108 on forward
Primer Adı: F
Primer Dizisi: GCTACACATGATCGAGCTATAC
Genom Dizisi: GCTACACATGATCGAGCTATAC

Aşağıda CYP3A4 reverse bulunmaktadır:

Primer Tm: 51.1°C
Konum: 15:75038638-75038660 on reverse
Primer Adı: R
Primer Dizisi: CAGTCTCTTCACTGTAAAGTTA
Genom Dizisi: AACTTTACAGTGAAGAGACCTG

Aşağıda PCR koşulları yer almaktadır:

94°C'de 5 dakika kuluçka süresi.
30 saniye boyunca 94°C'de denatürasyon adımı,
62°C'de 30 saniye tavlama,
72°C'de 45 saniye uzatma fazı ve
72°C'de 10 dakika son uzatma.

3.9 İstatistiksel Analiz

En az anlamlılık farklılıkları (LSD ≤ 0,05), siteler arasındaki varyans analizi (ANOVA) ve farklı çalışma parametreleri için SPSS 20 programları kullanılmıştır.

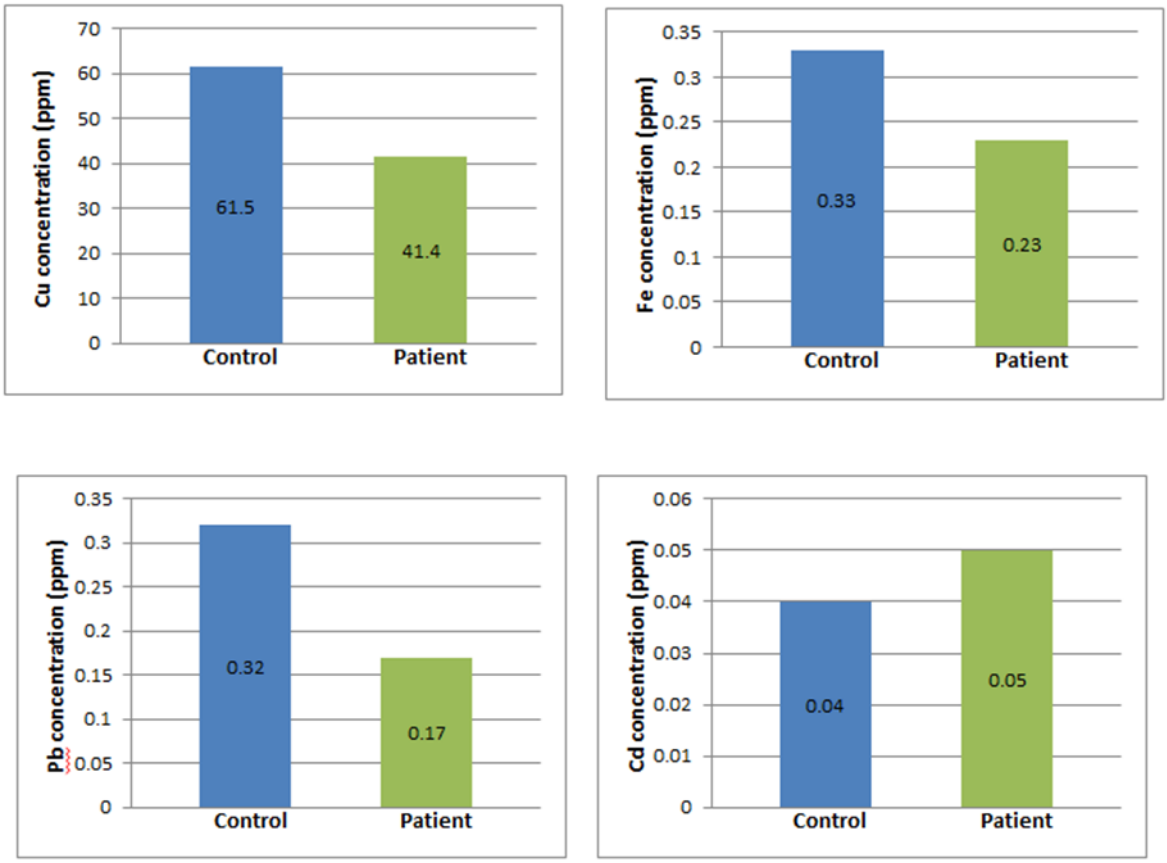
4.1 Ağır Metaller

Ölçülen metallerin konsantrasyonlarının çoğu çalışma sırasında dalgalanmaktır, en yüksek Cu konsantrasyonu (41,4 ppm) maruz kalan işçilerde bulunmaktadır (Çizelge 4.1). Zaten yüksek konsantrasyonda ağır metallere maruz kalmışlardır ve bu yüksek eser metal konsantrasyonları, bu metallerin akut maruziyetleri altında enzim indüksiyonu veya yıkım tepkileriyle sonuçlanabilir. Ağır metallerin maruz kalan işçiler üzerindeki toksik etkileri, nispeten ağır metallerin alım ve eliminasyon oranları ve metabolizması ile ilişkilidir (Teh *et al.* 1999). Metal kirliliği çoğunlukla metal işçilerinin yaşı ve maruz kalma yıllarından etkilenmektedir.

Çizelge 4.1 Maruz kalmış işçilerde ağır metal konsantrasyonu (ppm)

Gruplar / Ağır metaller	Kontrol	Maruz kalan işçiler	P-değeri
	Ortalama±S.D		
Pb	0,21±0,06	0,17±0,11	**0,004****
Cd	0,02±0,001	0,05±0,004	**0,043***
Cu	24,6±1,7	41,4±3,5	**0,01***
Fe	0,22±0,02	0,23±0,02	**0,763**

Şekil 4.1'de görüldüğü üzere metal katyonlarının hâlihazırda bulunan sülfihidral (-SH) metallothion gruplarıyla yüksek afinitesi veya bunların birikim etkisi nedeniyle maruz kalan işçilerde ağır metal konsantrasyonlarının daha yüksek konsantrasyonudur (Domouhtsidou *et al.* 2004).



Şekil 4.1 Maruz kalmış işçilerde ağır metal konsantrasyonu (ppm)

4.2 Biyokimyasal Belirteçler

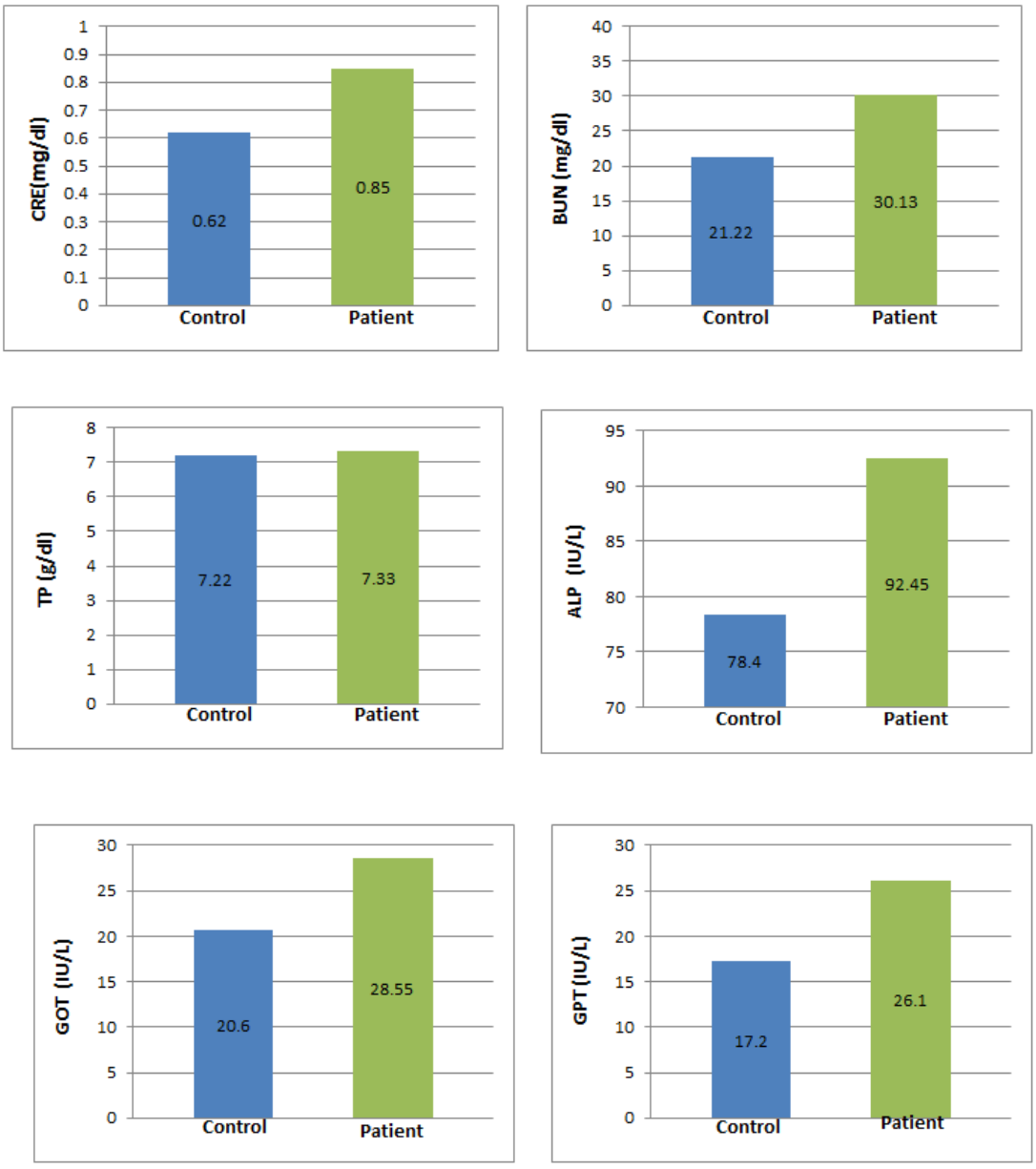
İstatistiksel analiz ve Çizelge 4.2'ye göre sonuçlar, sırasıyla Bun ve GPT (30,13 mg/dl, 26,10 IU/l) başta olmak üzere tüm Biyokimyasal belirteçlerin arttığını gösterilmektedir. Bu çalışmada ağır metaller ve biyobelirteçler arasındaki önemsiz korelasyon, metallerin bu biyobelirteçleri indüklemek için eşiğe yaklaşmamasından veya biyobelirteçlerin bu ağır metallere spesifik olarak yanıt vermemesinden veya hatta diğer faktörlerin biyobelirteç değişkenliğini etkili olabilmesinden kaynaklanabilmektedir.

Bu çalışmada biyobelirteç yanıtlarındaki dalgalanmadır, çünkü bu yanıtlar geçicidir ve farklı türlere ve kirleticilere göre değişkendir (An *et al.* 2012).

Çizelge 4.2 Maruz kalan işçilerde biyokimyasal belirteçler

Gruplar / Parametreler	Kontrol	Maruz kalan işçiler	P-değeri
	Ortalama±S.D		
CRE(mg/dl)	0,35±0,07	0,85±0,16	**0,007***
BUN(mg/dl)	19,3±4,8	30,13±7,3	**0,018***
TP (g/dl)	5,21±0,6	7,33±0,9	**0,820**
ALP (IU/l)	56,5±3,6	92,45±3,6	**0,022***
GOT (IU/l)	18,9±5,5	28,55±10,1	**0,100**
GPT (IU/l)	12,21±2,6	26,10±1,9	**0,044***

Önceki çalışmalar, biyobelirteçlerin, bu çalışmada olduğu gibi, mevsimsel etkilere ek olarak sıcaklık, gametogenez, tuzluluk, beslenme, açlık ve ışık penetrasyonunu içeren mevsimsel parametrelerden etkilenebileceğini doğrulamaktadır (Shaw *et al.* 2004). Şekil 4.2'de görüldüğü üzere su sıcaklığındaki artışlar kirleticilerin birikimini ve toksisitesini artırabilir ve antioksidan enzimlerdeki mevsimsel değişim, çeşitli kirleticilerin ve çevresel koşulların sinerjik etkisinin sonucu olabilir. (Barreira *et al.* 2006).



Şekil 4.2 Maruz kalan işçilerde biyokimyasal belirteçlerin varyasyonları

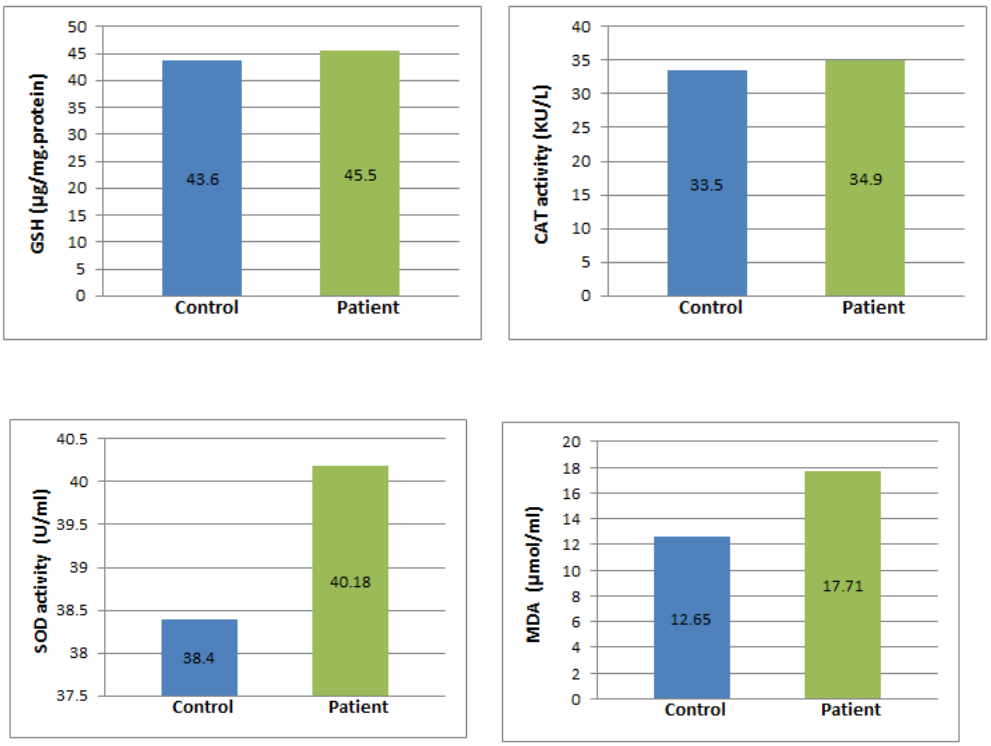
4.3 Maruz Kalan İşçilerde Antioksidanlar Tepkisi

Çizelge 4.3'e göre, tüm antioksidanlar, maruz kalan işçiler için konsantrasyonda yükselme göstermektedir. Antioksidan savunma sistemleri, hücre homeostazını sürdürmek için ağır metal metabolizması sırasında hücrelerde üretilen yüksek oranda reaktif ara ürünlerin temizleyicileri olarak rol oynayan çeşitli enzimleri içerir.

Antioksidan enzimlerin bu rolü, stresin yoğunluğuna ve süresine ve maruz kalan türlerin duyarlılığına bağlı olarak stres altında arttırılabilir veya engellenebilir. (Otitoloju and Olagoke 2011), Antioksidan enzimlerin aktivitesi, diğer savunma mekanizmalarının yanı sıra hücresel bileşenlere hücresel hasarın önlenmesinde hayati bir role sahiptir (Orbea *et al.* 2002).

Çizelge 4.3 Maruz kalan işçilerde antioksidan aktivitesi

Gruplar / Parametreler	Kontrol	Maruz kalan işçiler	P- değeri
	Ortalama±S.D		
GSH (µg/mg. protein)	34,2±2,1	45,5±4,3	**0,016***
CAT ACTIVITY KU/L	24,1±4,2	34,9±2,9	**0,028***
SOD U/mL	26,4±13,5	40,18±14,2	**0,031***
MDA Con.(µmol/mL)	9,5±1,6	17,71±2,9	**0,045***



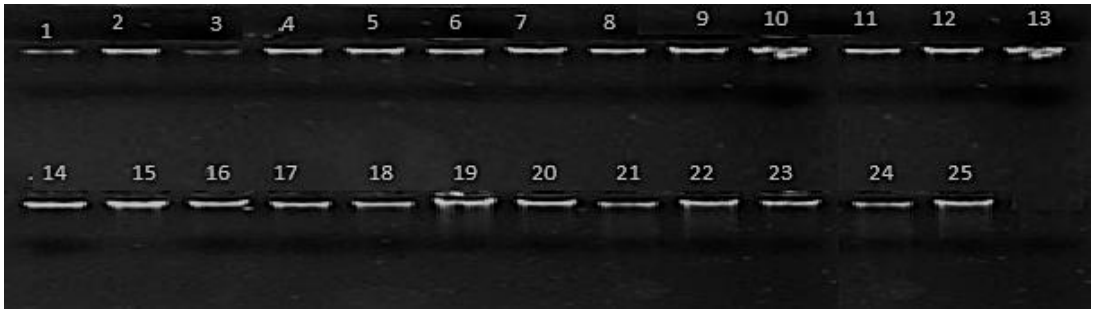
Şekil 4.3 Maruz kalan işçilerde antioksidan konsantrasyonu

Ağır metal kontaminasyonuna bağlı olarak artan hücre içi ROS aktiviteleri, oksidatif strese karşı birinci basamak savunma ve süpürücü ROS'a katılım ve redoks dengesini koruduğu için bu çalışmada SOD konsantrasyonunun azalmasına (Olakolu *et al.* 2012) ve SOD aktivitesine yol açmaktadır (Fang *et al.* 2012). Bu çalışmada antioksidan savunma seviyeleri ile ağır metallerin vücut yükü arasındaki pozitif korelasyon, üreme döngüsüne ek olarak mevsimsel sıcaklık artışlarının sonucu olarak artan metabolik aktivite ile muhtemelen geçici olarak ilişkilidir. (Filho *et al.* 2001).

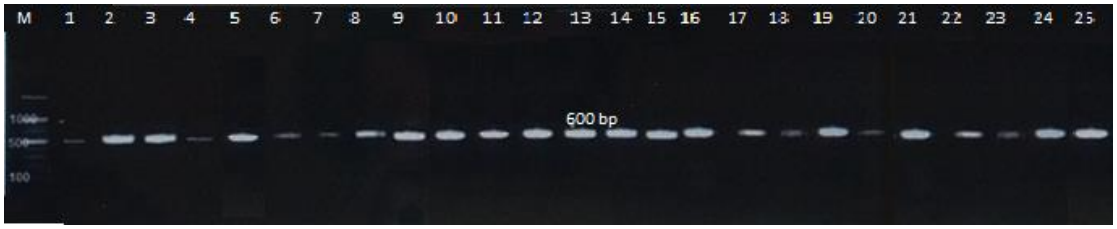
4.4 CYP3A4 Gen Polimorfizmleri

Ağır metaller, bu çalışmada açıkça ortaya konduğu gibi DNA parçalanması yoluyla ölçülen DNA'ya kimyasal veya fiziksel modifikasyon üretebilir ve çift sarmal kırılması, alım / biyoakümülasyon / uzaklaştırma etkinliği ve Faz I/II reaksiyonları için metabolik yeterlilik, DNA eklentilerinin oluşumunda ve DNA hasarında önemli roller oynamaktadır (Dolcetti *et al.* 2002). Örneğin Cu, 96 saatlik deney süresi boyunca istiridyelerde ozmotik düzenleme ve enerji metabolizmasında bozukluklara yol açabilir (Zhang *et al.* 2011).

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5, PCR'den sonra maruz kalan işçilerden DNA ekstraksiyonunu temsil etmektedir. Sonuçlar, 1, 4, 6, 7, 18, 23 hariç çoğu numunede polimorfizmi, ağır metal metabolizması için enzimatik aktivite ile ilişkili CYP3A53'ün tek nükleotid polimorfizmini (SNP), sadece genotiplemenin tekrarlanabilirliği değil, aynı zamanda CYP3A51/1 ile öznede yeni bir heterozigot SNP'nin (6929G>A) varlığını da göstermektedir (Kinoshita *et al.* 2009).



Şekil 4.4 25 kan örneğinden 60 dakikalık DNA için 72 voltta %0,7 agaroz jel elektroforezi



Şekil 4.5 60 dakikalık PCR için cyp amplikon (600bp) için 72 voltta %1,5 Agaroz jel elektroforezi

Şerit M, DNA işaretleyici boyutunu (100bp) temsil eder. Şerit (1_20) çalışma grubunu (21-25) kontrol grubunu temsil eder (Llop *et al.* 2017). CYP3A genlerindeki polimorfizmlerin, erken yaşam gelişimi sırasında diyet MeHg maruziyetine yanıtı değiştirebileceğini düşündürülmektedir. CYP3A genlerindeki genetik çeşitlilik, doğum öncesi MeHg maruziyeti ile çocuk nöropsikolojik gelişimi arasındaki ilişkiyi etkinmektedir.

Çizelge 4.4 Ağır metaller, biyokimyasal belirteçler ile antioksidan arasındaki korelasyon

		Cd	Cu	Fe	GSH	CAT	CRE	Bun	TP	ALP	GOT	GPT	SOD	MDA
Pb	r	.165	.343	-.299-	-.101-	-.123-	.119	-.306-	-.206-	-.343-	-.316-	-.132-	-.149-	.023
	Sig.	.487	.139	.200	.672	.605	.616	.189	.383	.139	.174	.580	.529	.924
Cd	r		-.363-	-.321-	.120	-.120-	-.119-	.064	.082	-.099-	-.080-	-.073-	-.311-	-.010-
	Sig.		.115	.168	.615	.613	.617	.789	.732	.678	.736	.759	.181	.966
Cu	r			.298	-.262-	.147	.173	-.174-	-.149-	-.150-	-.183-	.003	-.069-	.199
	Sig.			.203	.265	.537	.465	.463	.531	.527	.439	.988	.772	.401
Fe	r				-.023-	.138	-.092-	.251	.131	.009	.016	.103	.054	-.038-
	Sig.				.922	.561	.699	.285	.583	.969	.945	.665	.820	.874
GSH	r					.140	-.197-	.274	.035	-.063-	.194	.207	-.109-	-.387-
	Sig.					.556	.405	.243	.882	.791	.413	.381	.648	.092
CAT	r						.433	.209	.242	.634**	.213	.281	-.149-	.233
	Sig.						.057	.377	.305	.003	.367	.230	.529	.323
CRE	r							.280	.305	.416	.197	.067	.005	.505*
	Sig.							.232	.192	.068	.404	.780	.982	.023
Bun	r								.151	.240	.191	-.072-	.060	.358
	Sig.								.526	.308	.421	.762	.800	.122
TP	r									.367	.439	.242	.089	.243
	Sig.									.111	.053	.303	.708	.302
ALP	r										.308	.144	-.262-	.482*
	Sig.										.187	.544	.264	.032
GOT	r											.874**	-.032-	-.064-
	Sig.											.000	.892	.790
GPT	r												-.017-	-.256-
	Sig.												.942	.275
SOD	r													-.297-
	Sig.													.204

İnsan fetal karaciğer (HFL) hücrelerinde CYP3A4 ve CYP3A7'nin kobalt klorüre (CoCl(2)) belirgin tepki modelleri gözlenmiştir ve hipoksik koşullar altındakilerle karşılaştırılmaktadır.CYP3A4 ve CYP3A7 mRNA'larının ekspresyon seviyeleri CoCl(2) ve hipoksi tarafından azalmış, ancak %3 O2 altında kültürlenen HFL hücrelerinde anlamlılık belirlenememştir. HFL hücrelerinde hipoksi ile indüklenebilir faktör-1α (HIF-1α) protein içeriği, CoCl (2) ve %3 O2 ile önemli ölçüde arttırılmıştır (Suzuki *et al.* 2021). Çizelge 4.4'e göre, ağır metaller ve bazı biyokimyasal belirteçler ile Antioksidan arasında bulunan, örneğin CAT ve ALP ve Got ile GPT arasında bazı korelasyonlar verilmektedr. Burada * 0,05 önem seviyesindeki korelasyonu gösterirken ** 0,01 önem seviyesindeki korelasyonu gösterir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sonuçları şu şekilde özetlenmektedir. İlk olarak maruz kalan işçide bakır konsantrasyonunun artması gerçekleşmiştir. İkinci olarak ağır metallerin biyokimyasal belirteçler ve antioksidan aktivitesinde önemli artış ile maruz kalan işçiler üzerindeki açık etkisi görülmüştür. Son olarak ağır metal maruziyetinin hassas biyobelirteçleri olan CYP aktiviteleri kullanılarak ağır metal kirliliğinin ekotoksikolojik teşhisinde birden fazla süreye sahip farklı biyobelirteçlerin kullanılabileceğini bulunmaktadır.

Çalışma sonucunda önerilen maddeler şu şekilde özetlenmektedir. İlk olarak kirleticilere mesleki maruziyetin etkisini incelemek için diğer ağır metal türlerini ve PAHS'yi ölçülmesidir. İkinci olarak farklı biyobelirteçler ve antioksidanlar ile farklı endüstriyel faaliyetler için maruz kalan işçi türlerinin çalışmasını değiştirilmesidir. Son olarak Comet Assay ile değerlendirerek ağır metallerin DNA üzerindeki etkisini incelenmesidir.

KAYNAKLAR

Albertini, R. J., Sram, R. J., Vacek, P. M., Lynch, J. and Zwinderman, A. H. 2013. Biomarkers in Czech workers exposed to 1,3-butadiene: a transitional epidemiologic study. Res Rep Health Eff Inst, 15: 135–141.

An, L., Zheng, B., Wang, L., Zhang,Y., Chen, H., Zhao, X., Zhang, L. and Lei, K. 2012. Biomarker responses and genotoxicity in the mud snail (Bullacta exarata) as indicators of coastal contamination. Marine Pollution Bulletin, 64: 303–309.

Awad, A., Ali, D. M. H. Khalid, M. A. and Elsheikh, M. A. 2013. Assessment of digestionprocedure for determination of trace elements by ICP-OES. Open ScienceRepository Chemistry Online (Open access), e70081933.

Barreira, L. A., Mudge, S. M. and Bebianno, M. J. 2006. Oxidative Stress in the Clam Ruditapes decussatus (Linnaeus, 1758 in Relation to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Body Burden. Environ. Toxicol., 22: 203–221.

Benford, D. J., Hanley, A. B., Bottrill, K., Oehlschlager, S., Balls, M., Branca, F., Castegnaro, J. J., Descotes, J., Hemminiki, K., Lindsay, D. and Schilter, B. 2000. Biomarkers as Predictive Tools in Toxicity Testing. The Report and Recommendations of ECVAM Workshop, 28: 119–131.

Buege, J . A . and Aust, S . D . 1978. Methods İn Enzymology, Edited By S . Fleischer And L . Packer, Vol . 52, Part C (New York : Academic Press), P . 302.

Chernyak, Y. I. and Merinova, A. P. 2020. CYP3A Polymorphism and Chronic Mercury Intoxication. Bull Exp Biol Med, 168(4): 492-495.

Chernyak, Y. I., Itskovich, V. B., Baduev, B. K. and Borovskii, G. B. 2012. Dependence of blood levels of HSP70 and HSP90 on genotypes of HSP70, GSTT1, and GSTM1 gene polymorphism in individuals chronically exposed to mercury. Bull Exp Biol Med, 154(1): 68-72.

Chernyak, Y. I., Itskovich, V. B., D'yakovich, O. A. and Kolesnikov, S. I. 2014. Role of cytochrome P450-dependent monooxygenases and polymorphic variants of GSTT1 and GSTM1 genes in the formation of brain lesions in individuals chronically exposed to mercury. Bull. Exp. Biol. Med., 156(1): 15-23.

Chia, S. E., Chua, L. H., Ng, T. P., Foo, S. C. and Jeyaratnam, J. 1994. Postural stability of workers exposed to lead. Occup Environ Med, 51(11): 768-71.

Conners, D. E. 2004. Biomarkes of oxidative stress in fresh water clam (Corbicula Fluminea)as mechanistic tool to evaluate the impairment of stream ecosystem health by lawn care pesticides. Ph.D thesis, The University of Georgia ,U.S.A.

Çelik, A., Diler, S. B. and Eke, D. 2010. Assessment of Genetic Damage in Buccal Epithelium Cells of Painters, Micronucleus, Nuclear Changes, and Repair Index. DNA Cell Biol, 29: 277–284.

Decharat, S. 2016. Heavy Metals Exposure and Hygienic Behaviors of Workers in Sanitary Landfill Areas in Southern Thailand. Scientifica (Cairo), e9269210.

Delecrode, C. R., de Freitas, T. D., Frizzo, A. C. and Cardoso, A. C. 2012. Prevalence of tinnitus in workers exposed to noise and organophosphates. Int Arch Otorhinolaryngol. 16(3): 328-34.

Dolcetti, L., Zuanna, L. D. and Venier, P. 2002. DNA adducts in mussels and fish exposed to bulky genotoxic compounds. Marine Environmental Research, 54: 481–486.

Domouhtsidou, G. P, Dailianis, S., Kaloyianni, M. And Dimitriadis, V. K. 2004. Lysosomal membrane stability and metallothionein content in Mytilusgalloprovincialis (L.), as biomarkers. Combination with trace metal concentrations. Mar. Pollut. Bull., 48(5-6): 572-86.

Drakvik, E., Altenburger, R., Aoki, Y., Backhaus, T., Bahadori, T., Barouki, R., Brack,W., Cronin, M. T., Demeneix, B. and Bennekou, S. H. 2020. Statement on advancing the assessment of chemical mixtures and their risks for human health and the environment. Environ. Int., 134(10): 52-67.

Fang, Y., Yang, H. and Liu, B. 2012. Tissue specific response of metallothionein and superoxide dismutase in the clam Mactra veneriformis under sublethal mercury exposure. Ecotoxicology, 21: 1593–1602.

Filho, D. W, Tribess, T., Ga′spari, C., Claudio, F. D., Torres, M. A. and Magalh'aes, A. R. M. 2001. Seasonal changes in antioxidant defenses of the digestive gland of the brown mussel (Perna perna). Aquaculture, 203: 149–158.

Green, M. R., Sambrook, J. 2012. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York.

Heldal, K. K., Barregard, L., Ellingsen, D. G. 2016. Biomarkers of inflammation in workers exposed to compost and sewage dust. Int Arch Occup Environ Health, 89(5): 711-8.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 2020. Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans, Lyon, France.

Jalali, M., Zare, M. J., Bahrami, A., Berijani, N. and Mahjub, H. 2016. Oxidative Stress Biomarkers in Exhaled Breath of Workers Exposed to Crystalline Silica Dust by SPME-GC-MS. J Res Health Sci, 16(3): 153-161.

Kinoshita, E., Kinoshita-Kikuta, E., Nakashima, H. and Koike, T. 2009. Genotyping and mapping assay of single-nucleotide polymorphisms in CYP3A5 using DNA-binding zinc(II) complexes. Clin Biochem, 43(3): 302-6.

Leelapongwattana, S. and Bordeerat, N. K. 2020. Induction of genotoxicity and mutagenic potential of heavy metals in Thai occupational workers. Mutat Res, 50: 856-857.

Livingstone, D. R. 2001. Contaminated stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organism. Marine pollution Bulletin, 42(8): 656-666.

Llop, S., Tran, V., Ballester, F., Barbone, F. and Broberg, K. 2017. CYP3A genes and the association between prenatal methylmercury exposure and neurodevelopment. Environ Int, 105: 34-42.

Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F. and Rocher, B. 2004. Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels Mytilus edulis collected from a polluted area, major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. Aquatic Toxicology, 70: 83–93.

Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry, 47(3): 469-474.

McGevin, L. E. 2011. Mussels, Anatomy, Habitat and Environmental Impact. pp. 542, Nova Science Publishers Inc.

McHale, C. M., Lan, Q., Corso, C., Li, G., Zhang, L., Vermeulen, R., Curry, J. D., Shen, M., Turakulov, R., Higuchi, R., Germer, S., Yin, S., Rothman, N. and Smith, M. T. 2008. Chromosome translocations in workers exposed to benzene. J Natl Cancer Inst Monogr, 39: 74-7.

Migliore, L., Naccarati, A., Zanello, A., Scarpato, R., Bramanti, L. and Mariani, M. 2002. Assessment of sperm DNA integrity in workers exposed to styrene. Hum Reprod, 17(11): 2912-8.

Mitchelmore, C. L. and Chipman, J. K. 1998. DNA strand breakage in aquatic organisms and the potential value of the comet assay in environmental monitoring. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 399(2): 135-47.

Moro, A. M., Brucker, N., Charão, M., Bulcão, R., Freitas, F., Baierle, M., Nascimento, S., Valentini, J., Cassini, C. and Salvador, M. 2012. Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen,746: 42–48.

Moulin, J. J. 1997. A meta-analysis of epidemiologic studies of lung cancer inwelders, Scand. J. Work Environ. Health, 23: 104–113.

Nadji, S., Amrani, A., Mebarki, R. and Khebbeb, M. E. 2010. Acetylcholinesterase and catalase activities in several tissues of a bivalve mollusc (Ruditapes decussatus)fished from Mellah lagoon (North East of Algeria after malathion exposure. Annals of Biological Research, 1(4): 138-144.

Nair, R. R., Khanna, A. and Singh, K. 2013. Association of GSTT1 and GSTM1 polymorphisms with early pregnancy in Indian population and meta-analysis. Reproductive Biomedicine Online, 26(4): 313-322.

Nakai, K. and Satoh, H. 2002. Developmental neurotoxicity following prenatal exposures to methylmercury and PCBs in humans from epidemiological studies. Tohoku J Exp Med, 196(2): 89-98.

Nilsson, T., Burström, L., Hagberg, M. and Lundström, R. 2008. Thermal perception thresholds among young adults exposed to hand-transmitted vibration. Int Arch Occup Environ Healt, 81(5), 519-33.

Olakolu, F. C., Hassan, A. A. and Renner, K. O. 2012. Lipid Peroxidation and Antioxidant Biomarker Activities as Indicator of Pollution in Blue Crab Callinectes amnicola from Lagos lagoon. British Journal of Science, 5(2): 47-56.

Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M. and Cajaraville, M. P. 2002. Interactive effects of benzo(a)pyrene and cadmium and effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on

antioxidant and peroxisomal enzymes and peroxisomal volume density in the digestive gland of mussel Mytilus galloprovinciali s Lmk. Biomarkers, 7(1): 33-48.

Otitoloju, A. and Olagoke, O. 2011. Lipid peroxidation and antioxidant defense enzymes in Clarias gariepinus as useful biomarkers for monitoring exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. Environ. Monit. Assess., 182: 205–213.

Sahan, A., Belge, E. and Altun, T. 2010. The determination of biochemical indicators (Biomarkers) in the common Carp (Cyprinus carpio) to the Physico-chemical parameters of Ceyhan river (Adana-Turkey). Ekoloji, 19(76): 8-14.

Sani, A. 2017. Evaluation of some heavy metals concentration in body fluids of metal workers in Kano metropolis, Nigeria. Toxicol Rep, 4: 72-76.

Sarkar, A., Sandi, S. P. and Kumar, R. H. P. 2010. Measurement of DNA strand breaks as a biomarker of Genotoxic Pollutants, National Conference on Emerging Trends in Engineering, Technology and Management, MS2K 10. SSBT's College of Eng.

Sedlak, J. and Lindsay, R. H. 1968. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. Analytical Biochemistry, 25: 192-205.

Sevcikova, M., Modra, H., Slaninova, A. and Svobodova, Z. 2011. Metals as a cause of oxidative stress in fish Review. Veterinarni medicina, 11: 537-546.

Sferlazza, S. J. and Beckett, W.S. 1991. The respiratory health of welders, Am. Rev. Respir. Dis., 143: 1134–1148.

Shaw, J. P., Large, A. T., Donkin, P., Evans, S. V., Staff, F. J., Livingstone, D. R., Chipman, J. K. and Peters, L. D. 2004. Seasonal variation in cytochrome P450 immunopositive protein levels, lipid peroxidation and genetic toxicity in digestive gland of the mussel Mytilus edulis. Aquatic Toxicology, 67: 325–336.

Shi, P., Jing, H. and Xi, S. 2019. Urinary metal/metalloid levels in relation to hypertension among occupationally exposed workers. Chemosphere, 234: 640-647.

Staudinger, K. C., Roth, V. S. and Kumar, R. H. P. 1998. Occupational lead poisoning. Am Fam Physician, 57(4): 719-26.

Stönner, C., Erdtbauer, A. and Williams, J. 2007. Real-world volatile organic compound emission rates from seated adults and children for use in indoor air studies. Indoor Air, 28: 164–172.

Suzuki, E., Matsunaga, T., Aonuma, A., Sasaki, T., Nagata, K. and Ohmori, S. 2012. Effects of hypoxia-inducible factor-1α chemical stabilizer, CoCl(2) and hypoxia on gene expression of CYP3As in human fetal liver cells. Drug Metab Pharmacokinet, 27(4): 398-404.

Teh, S. J., Clark, S. L., Brown, C. L., Luoma, S. N. and Hinton, D. E. 1999. Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of contaminant exposure and effect in Asian clam (Potamo corbula amurensis). Biomarkers, 4(6): 497–509.

Tranfo, G. 2020. The Growing Importance of the Human Biomonitoring of Exposure. Int. J. Environ. Res. Public Health, 17: 39-44.

Valavanidis, A., Vlahogianni, Th., Dassenakis, M. and Scoullos, M. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 64(2): 178–189.

Werk, A. N. and Cascorbi, I. 2014. Functional gene variants of CYP3A4. Clin Pharmacol Ther, 96(3): 340-8.

Zhang, L., Wang, L., Song, L., Zhao , J., Qiu, L., Dong, C.,Li, F., Zhang, H. and Yang, G. 2010. The involvement of HSP22 from bay scallop Argopectenirradians in response to heavy metal stress. MolBiol Rep, 37(4): 1763-71.

EKLER

EK1. A1 ve C1 dizisi

EK1. A1 ve C1 dizisi

A1 dizisi

AGCATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAATA
CAACATTATTTTTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTG
AAGGAGAAGTTCTGAAGGACTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGA
GCAAACCTCATGCCAATGCAGTTTCTGGGTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATA
TGTAAGGATCTATGTTGTCCTTGTTCTTCTTGCTGAATCTGGTTCCACGTTGG
TAGATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACCCCTAAGAGTTACATGTTAGGG
TTTCTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACAGGATACTTTTGTG
GGCTGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGTAAGCT
ACAGATCCTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGA
TGAGATAAATAGTGTTGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATAT
TCAGGGTGGT

A1'in (predispoze kişi) Homo sapiens sitokrom P450 ailesi 3 alt ailesi A üyesi 4 (CYP3A4), kromozom 7 üzerinde RefSeqGene ile hizalanması ID: NG_008421.1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
979 bits(530)	0,0	530/530(100%)	0/530(0%)	Plus/Minus

Query 23
AGCATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAA
TACAACATTA 82

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28449
AGCATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAA
TACAACATTA 28390

Query 83
TTTTTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTGAAGGAGA
AGTTCTGAA 142

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28389
TTTTTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTGAAGGAGA
AGTTCTGAA 28330

Query 143
GGACTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGAGCAAACCTCATGCCA
ATGCAGTTTC 202

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28329
GGACTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGAGCAAACCTCATGCCA
ATGCAGTTTC 28270

Query 203
TGGGTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATATGTAAGGATCTATGTTGTCCTTGT
TCTTCTTGC 262

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28269
TGGGTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATATGTAAGGATCTATGTTGTCCTTGT
TCTTCTTGC 28210

Query 263
TGAATCTGGTTCCACGTTGGTAGATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACC
CCTAAGAGT 322

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28209
TGAATCTGGTTCCACGTTGGTAGATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACC
CCTAAGAGT 28150

Query 323
TACATGTTAGGGTTTCTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACA
GGATACTTT 382

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28149
TACATGTTAGGGTTTCTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACA
GGATACTTT 28090

Query 383
TGTGGGCTGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGT
AAGCTACAG 442

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28089
TGTGGGCTGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGT
AAGCTACAG 28030

Query 443
ATCCTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGATGA
GATAAATAG 502

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 28029
ATCCTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGATGA
GATAAATAG 27970

Query 503
TGTTGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATATTCAGGGTGGT
552

||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||

Sbjct 27969
TGTTGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATATTCAGGGTGGT
27920

C1 dizisi

ATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAATACAA
CATTATTTTTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTGAAG
GAGAAGTTCTGAAGGACTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGAGCA
AACCTCATGCCAATGCAGTTTCTGGGTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATATGT
AAGGATCTATGTTGTCCTTGTTCTTCTTGCTGAATCTGGTTCCACGTTGGTAG
ATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACCCCTAAGAGTTACATGTTAGGGTTT
CTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACAGGATACTTTTGTGGGC
TGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGTAAGCTACA

GATCCTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGATGA
GATAAATAGTGTTGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATATTCA
GGGTGG

C1 hizalaması (Kontrol kişisi) Homo sapiens sitokrom P450 ailesi 3 alt ailesi A üyesi 4 (CYP3A4), kromozom 7 üzerinde RefSeqGene Sekansı ID: NG_008421.1

Score	**Expect**	**Identities**	**Gaps**	**Strand**
972 bits(526)	0,0	526/526(100%)	0/526(0%)	Plus/Minus

Query 1
ATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAATAC
AACATTATTT 60
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28446
ATATTCTTTTTAAAAAATACAGACCACTCAGTTAAAAGAATTATTAATAC
AACATTATTT 28387
Query 61
TTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTGAAGGAGAAG
TTCTGAAGGA 120
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28386
TTATAGAAAATTGACTAACCTGTGTTTCTTTACAAGGTTTGAAGGAGAAG
TTCTGAAGGA 28327
Query 121
CTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGAGCAAACCTCATGCCAATG
CAGTTTCTGG 180
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28326
CTCTGATTAGAGCAAGTTTCATGTTCATGAGAGCAAACCTCATGCCAATG
CAGTTTCTGG 28267
Query 181
GTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATATGTAAGGATCTATGTTGTCCTTGTTCT
TCTTGCTGA 240
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28266
GTCCACTTCCAAAGGGTGTGTATATGTAAGGATCTATGTTGTCCTTGTTCT
TCTTGCTGA 28207
Query 241
ATCTGGTTCCACGTTGGTAGATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACCCCT
AAGAGTTAC 300
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28206
ATCTGGTTCCACGTTGGTAGATTTTTAAAAAGTTAATGACATAATACCCCT
AAGAGTTAC 28147

Query 301
ATGTTAGGGTTTCTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACAGG
ATACTTTTGT 360
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28146
ATGTTAGGGTTTCTTACTTAGGGGCCACCCCTCAACTAGTAGTACACAGG
ATACTTTTGT 28087
Query 361
GGGCTGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGTAAG
CTACAGATC 420
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28086
GGGCTGGTCATTGAAATCCTGCTATGCTTATTTTGCTATGAGAATTGTAAG
CTACAGATC 28027
Query 421
CTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGATGAGAT
AAATAGTGT 480
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 28026
CTTTCTACTCTCCTGACACTATAGGAGCTTTCAGTCTTGTTGAGATGAGAT
AAATAGTGT 27967
Query 481
TGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATATTCAGGGTGG 526
||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 27966
TGCAAAGAATACTTATTTCTAAACACTGAAATTATATTCAGGGTGG 27921

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Mareh Dheyaa Zaki BAREAM

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	Babylon Üniversitesi Fen Fakültesi Yaşam Bilimleri Bölümü	1996-2001