

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

**OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK  
HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzm. Dr. Sultan Pınar ÇETİNTEPE**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**

**2024**



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

**OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK  
HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzm. Dr. Sultan Pınar ÇETİNTEPE**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. A. Nurşen BAŞARAN**

**ANKARA**

**2024**

**OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK  
HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzm. Dr. Sultan Pınar ÇETİNTEPE**

**Danışman: Prof. Dr. A. Nursen BAŞARAN**

Bu tez çalışması 30.07.2024 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Toksikoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:**

*Prof.Dr.Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT  
(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:**

*Prof.Dr.Mustafa Necmi İlhan  
(Gazi Üniversitesi)*

**Üye:**

*Prof.Dr.Sevtap AYDIN DİLSİZ  
(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:**

*Doç.Dr.Gözde GİRGİN  
(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:**

*Prof.Dr.Merve GÜDÜL BACANLI  
(Sağlık Bilimleri Üniversitesi)*

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN*

**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

30 / 07 / 2024

Sultan PINAR ÇETİNTEPE

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.  
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu Prof. Dr. A. Nurşen BAŞARAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

*Sultan Pınar ÇETİNTEPE*

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde beni destekleyen, deneyimleri ile beni yönlendiren, bilgisi ile bana akademik danışmanlık yapan danışman hocam Prof. Dr. A. Nurşen BAŞARAN'a,

Tecrübeleri, destekleri ve yardımları için Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ'e,  
Tez deneylerimde bana yardımcı olan Ecz. Merve HAZAR, Ecz. İzem BİLİNMIŞ,

Bilimsel deneyim kazanmamda emeği geçen Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine,

Örneklerinin toplanmasında ve organizasyonunda emeği geçen hastane çalışanlarına ve Ankara Mesleki ve Çevresel Hastalıklar Hastanesi başhekimine teşekkür ederim.

Beni her zor zamanımda ayağa kaldıran ve destekleyen eşim Dr Çağrı Çetintepe'ye, oğlum Arda Çetintepe'ye, annem ve babama,

Doktora Tez Projesi kapsamında destek veren Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Teşekkür ederim.

## ÖZET

**Çetintepe, P. Otomotiv Sanayisi Çalışanlarında Olası Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024.** Otomotiv üretim sektöründe dünya çapında ve ülkemizde oldukça fazla insan istihdam edilmektedir. Otomotiv üretimi, kaynak dumanı, boya, tiner, ağaç tozu ve talaşa maruz kalmanın farklı düzeylerde olduğu birçok adımdan oluşur. Otomotiv boya endüstrisi, özellikle benzen türevi uçucu organik bileşikler, alifatik izosiyanatlar ve ağır metaller gibi işçi sağlığı ve çevre üzerinde olumsuz etkisi olabilecek tehlikeli kimyasallar kullanır. Bu maruziyetlerden kaynaklı meslek hastalıkları gelişebilmektedir. Otomotiv boya işçilerin genotoksisite, oksidatif stres, ve immün parametrelerini değerlendiren çok sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmada Ankara ilinde otomotiv boyama alanında çalışan işçilerde çoklu kimyasal madde maruziyetinin DNA hasarı üzerine etkileri, oksidatif stresle ve bazı immün yanıtlarla olan ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. DNA hasarı lenfositlerde tek hücre jel elektroforez tekniği ile değerlendirilmiştir. Oksidatif stres göstergelerinden; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GRx) enzimleri ile glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) ve düzeyleri, 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri ve ayrıca mesleki maruziyetin önemli inflamatuvar yanıtlarından TNF-alfa, Clara hücre protein (CC16), interlökin-1 beta, IL-17, IL-23 ve IL-27 düzeyleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. DNA hasarı işçilerde (n= 110) kontrol grubuna (n=60) göre anlamlı derecede yükselmiştir. Kontrol grubuna kıyasla işçilerde GPx, GR ve GSH düzeyleri anlamlı olarak düşük, MDA ve 8-OHdG düzeyleri ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, otomotiv endüstrisi boya çalışanları için immünotoksik ve genotoksik risk olasılığını göstermektedir. Sonuçların daha kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Otomotiv Sanayisi, mesleki maruziyet, genotoksisite

**Destekleyen Kurum:** Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi Hızlı Destek Projesi (Proje No: THD-2021-19840)



## ABSTRACT

**Çetintepe, S.P. Evaluation of Potential Genotoxic Damage in Automotive Industry Workers, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Doctor of Philosophy Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2024.** A lot of people have been employed in the automotive production sector worldwide and our country. Automotive production consists of many steps, at which there are different levels of exposure to welding fumes, paint, thinner, wood, and sawdust. The automotive paint industry uses hazardous chemicals, especially benzene-derived volatile organic compounds, aliphatic isocyanates, and heavy metals, which may adversely affect workers' health and the environment. Occupational diseases may develop due to these exposures. There are very limited studies evaluating the genotoxicity, oxidative stress and immune parameters of automotive paint workers. This study aimed to evaluate the effects of occupational exposure to multiple chemicals on DNA damage, its relationship with oxidative stress, and some immune responses in workers working in the automotive painting field in Ankara. Genotoxicity was evaluated by the single-cell gel electrophoresis technique in the lymphocytes. The levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione Reductase (GRx) enzymes and glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA), which are oxidative stress indicators, 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels (an indicator of oxidative DNA damage), and also the levels of TNF-alpha, Clara cell protein (CC16), interleukin-1beta, IL-17, IL-23, and IL-27, which are important inflammatory responses of occupational exposure, were examined spectrophotometrically. DNA damage was significantly higher in workers (n=110) compared to the control group (n=60). GPx, GR, and GSH levels were significantly lower, however, MDA and 8-OHdG levels were significantly higher, in workers compared to the control group. The results show the possibility of immunotoxic and genotoxic risks for automotive industry paint workers. The results need to be supported by more comprehensive studies.

**Key Words:** Automotive Industry, occupational exposure, genotoxicity

**Supported by:** Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit Rapid Support Project (Project no: THD-2021-19840)

## İÇİNDEKİLER

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Otomotiv Üretim Sektörü	3
2.1.1. Otomotiv Üretim Sektörünün Dünyada ve Türkiye'deki Durumu	4
2.1.2. Otomotiv Üretim Basamakları	4
2.2. Otomotiv Üretim Sektöründe Karşılaşılan Sorunlar	6
2.2.1. Presleme Sırasında Karşılaşılan Sorunlar	7
2.2.2. Kaynaklama İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar	7
2.2.3. Boyama İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar	9
2.2.4. Montaj İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar	13
2.2.5. Otomotiv Üretim Sektöründe Maruz Kalınan Kimyasal Maddeler Nedeniyle Gelişebilen Hastalıklar	14
2.3. DNA Hasarı- Genotoksisite	18
2.3.1. Oksidatif DNA Hasarı	20
2.3.2. Oksidan Ve Antioksidan Sistemleri	21
2.4. Genotoksisite Testleri	25
2.4.1. Tek Hücre Jel Elektroforez (Comet) Yöntemi	26

2.4.2.	Mikroçekirdek Yöntemi	27
2.4.3.	Otomotiv Sektörü Çalışanlarında Gözlenebilen Genotoksisite Çalışmaları	30
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1.	Kimyasal Maddeler	37
3.2.	Araç ve Gereçler	38
3.3.	Çalışma ve Kontrol Gruplarının Seçimi	40
3.4.	Çalışma ve Kontrol Gruplarından Biyolojik Örneklerin Alınması	40
3.5.	Hazırlanan Çözeltiler	41
3.5.1.	Oksidatif ve İmmün Göstergelerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Çözeltiler	41
3.5.2.	Tek Hücre Jel Elektroforez Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	48
3.6.	Hemogram ve Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi	50
3.7.	Oksidatif Stres ve İmmün Parametrelerinin Değerlendirilmesi	50
3.7.1.	Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyinin Ölçümü	50
3.7.2.	Katalaz Enzim Düzeyinin Ölçümü	52
3.7.3.	Glutasyon Peroksidaz Enzim Düzeyinin Ölçümü	54
3.7.4.	Glutasyon Redüktaz Enzim Düzeyinin Ölçümü	55
3.7.5.	Glutasyon Düzeyinin Ölçümü	57
3.7.6.	Malondialdehit Düzeyinin Ölçümü	59
3.7.7.	8-OHdG Düzeyinin Ölçümü	60
3.7.8.	TNF-alfa Düzeyinin Ölçümü	62
3.7.9.	IL-1beta Düzeyinin Ölçümü	64
3.7.10.	IL-17 Düzeyinin Ölçümü	65
3.7.11.	IL-23 Düzeyinin Ölçümü	67
3.7.12.	CC16 Düzeyinin Ölçümü	68

3.8.	Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemi	70
3.9.	İstatistiksel Yöntemler	71
4.	BULGULAR	72
4.1.	Demografik Bulgular	72
4.2.	Biyokimyasal Parametrelere İlişkin Bulgular	74
4.3.	Oksidatif Stres ve İmmün Parametrelere İlişkin Bulgular	75
4.4.	DNA Hasarına İlişkin Bulgular	80
5.	TARTIŞMA	82
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	87
7.	KAYNAKLAR	88
8.	EKLER	103
8.1.	EK-1: Orjinallik Raporu	103
8.2.	EK-2: Benzerlik Raporu	104
8.3.	EK-3: Etik Kurul İzin Belgesi	105
8.4.	EK-4: Anket Formu	106
8.5.	EK-5: Tez Çalışması ile İlgili Yayın	110
8.6.	EK-6: Özgeçmiş	111

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>8-OHdG</b>	8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin
<b>8-oxoGua</b>	8-okso-7,8-dihidroguanin
<b>8-oxodGuo</b>	8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin
<b>8-oxoGuo</b>	8-okso-7,8-dihidroguanozin
<b>ACGIH</b>	<i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists,</i> Amerikan Hükümet Endüstriyel Hijyenistler Konferansı
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>BMN</b>	Bukkal mikroçekirdek
<b>CA</b>	<i>Chromosomal aberrations,</i> Kromozomal aberasyonlar
<b>CAT</b>	<i>Calatase,</i> Katalaz
<b>CC16</b>	Clara hücre sekresyon proteini 16
<b>CBMN</b>	Sitokinez-blok mikro-çekirdek testi
<b>Comet</b>	Tek hücre jel elektroforezi
<b>DMSO</b>	Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	Etilendiamin tetraasetik asit
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
<b>EMN</b>	Eritrosit mikronükleus deneyi
<b>EPA</b>	<i>Environmental Protection Agency,</i> Çevre Koruma Ajansı
<b>EtBr</b>	Etidyum bromür
<b>Fpg</b>	Formamidopirimidin-glikosilaz
<b>GPx</b>	Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	Glutasyon redüktaz
<b>GSH</b>	Redükte glutasyon
<b>GSSG</b>	Okside glutasyon, glutasyon disülfid
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>HCT</b>	<i>Hematocrit,</i> Hematokrit
<b>HG</b>	Hemoglobin
<b>HR</b>	Homolog rekombinasyonlar

<b>HRP</b>	<i>Horseradish peroksidaz</i> , Yaban turpu peroksidaz
<b>HRQOL</b>	<i>Health-Related Quality of Life</i> , psikososyal iş faktörlerinin sağlıkla ilgili yaşam kalitesi
<b>HCT</b>	<i>Hematocrit</i> , Hematokrit
<b>IARC</b>	<i>International Agency for Research on Cancer</i> , Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>IR</b>	İyonize radyasyon
<b>KKE</b>	Kişisel koruyucu ekipmanlar
<b>KOAH</b>	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
<b>LD<sub>50</sub></b>	Hayvan popülasyonunun %50'sinde ölüm meydana getiren doz
<b>LMPA</b>	Düşük erime noktalı agar
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MN</b>	Mikronükleus
<b>mRNA</b>	Haberci ribonükleik asit
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>NADP<sup>+</sup></b>	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NADPH</b>	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NaOH</b>	Sodyum hidroksit
<b>NMPA</b>	Normal erime noktalı agar
<b>NO·</b>	Nitrik oksit
<b>NRBC</b>	<i>Nucleated RBC</i> , Çekirdekli kırmızı kan hücresi
<b>O<sub>2</sub></b>	Moleküler oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Süperoksit
<b>OD</b>	Optik yoğunluğu
<b>OECD</b>	<i>The Organisation for Economic Co-operation and Development</i> , Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
<b>OH·</b>	Hidroksil
<b>ONOOH</b>	Peroksinitrit
<b>PAH</b>	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
<b>PBMC</b>	<i>Peripheral Blood Mononuclear</i> , Periferik kan mononükleer hücre
<b>PBS</b>	Fosfat tamponlu serum fizyolojik

<b>PCE</b>	Perkloroetilen
<b>PLT</b>	<i>Platelet</i> , Trombosit
<b>RBC</b>	<i>Red Blood Cell</i> , Kırmızı kan hücresi
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>RNA</b>	Ribonükleik asid
<b>RNS</b>	Reaktif azot türleri
<b>SCE</b>	<i>Sister Chromatid Exchange</i> , Kardeş Kromatid Değişimi
<b>SD</b>	Sprague Dawley
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
<b>TCE</b>	Trikloroetilen
<b>Th17</b>	T helper-17
<b>TK</b>	Toplam kolesterol
<b>TMB</b>	Tümör mutasyon yükü
<b>TNB</b>	5-tiyo-2-nitrobenzoik asit
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktör
<b>UVR</b>	Ultraviyole radyasyon
<b>VOC</b>	<i>Volatile Organic Compounds</i> , Uçucu organik bileşikler
<b>WBC</b>	<i>White Blood Cell</i> , Beyaz kan hücresi

**ŞEKİLLER****Şekil****Sayfa no****Şekil 4.1.** Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarları..... 80



**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa no</b>
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma gruplarının özellikleri.....	73
<b>Tablo 4.2.</b> Çalışma gruplarının biyokimyasal parametreleri. ....	74
<b>Tablo 4.3.</b> Çalışma gruplarının oksidatif stres ve bağışıklık parametreleri.....	76
<b>Tablo 4.4.</b> Maruz kalma süresinin oto boyama işçilerinin oksidatif stres ve bağışıklık parametrelerine etkisi. ....	79
<b>Tablo 4.5.</b> Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarları. ....	81

## 1. GİRİŞ

Dünya genelinde otomotiv üretiminde 10 milyondan fazla kişi çalışmaktadır (1, 2), ve bu çalışanların 50 bininden fazlası Türkiye'de istihdam edilmektedir (3). Otomotiv sektörü, motor parçalarının, gövde bileşenlerinin ve plastiklerin üretiminden araçların montajına kadar geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır. Bu geniş çalışma alanı, çeşitli fiziksel, biyolojik ve kimyasal mesleki ve çevresel riskleri beraberinde getirmektedir.

Otomotiv üretiminin farklı aşamalarında, özellikle oto boyama işlemlerinde, çalışanlar yapıştırıcılar, asitler, ve bazlar gibi çeşitli aşındırıcı ve tahriş edici kimyasallara maruz kalmaktadır. Oto boyama işlemlerinde kullanılan tehlikeli maddeler arasında boyalar, boya sökücüler, solventler, ağır metaller (örneğin kurşun), tozlar, vernikler, reçineler, yağlar, yapıştırıcılar, yağ gidericiler, yüzey hazırlama ürünleri, ve pas dönüştürücüler bulunmaktadır. Sprey boyama ve toz kaplama süreçleri, bu tehlikeli maddelerin kullanımı, taşınması ve depolanmasıyla ilgili risklerin birleşmesi nedeniyle özellikle tehlikelidir.

Boya ürünleri, pigmentler, bağlayıcılar, katkı maddeleri ve solventler (toluen, ksilen, ketonlar, alkoller, esterler ve glikol eterler) gibi bileşenlerden oluşmakta ve bunlar farklı oranlarda bulunmaktadır (4). Toluen, endüstriyel boya sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, trikloroetilen, diklorometan (metilen klorür) ve perkloretilen gibi klorlu solventler, boya kalıntılarının temizlenmesinde kullanılmaktadır.

Boyalarla uğraşan çalışanlar, iş ortamında buhar ve gazların solunması, deri yoluyla emilmesi ve/veya yutulması yoluyla uçucu organik bileşiklere (Volatile Organic Compounds: VOC) önemli ölçüde maruz kalmaktadır. Bu kimyasalların merkezi sinir sistemi semptomlarına, karaciğer hastalıklarına, dermatit, kısırlık ve kanser gibi akut ve kronik sağlık sorunlarına neden olduğu bilinmektedir (5).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer: IARC) boya ile mesleki maruziyeti akciğer ve mesane kanseri gelişimi için yüksek riskli grup olarak sınıflandırmıştır (6). Bu

nedenle, iş güvenliği uzmanlarının, mevzuatın belirttiği aralıklarla işyeri ortamında düzenli ölçümler yapmaları ve işyeri hekimlerinin çalışanları düzenli olarak periyodik muayenelerden geçirmeleri gerekmektedir.

Tehlikeli maddelere mesleki olarak maruz kalan işçilerin maruziyetin ve genotoksik, oksidatif ve inflamatuvar etkilerin biyobelirteçlerini kullanılarak biyoizleme işlemi erken toksisitenin tespiti için yararlı veriler sağlayabilmektedir. Ayrıca, bu yöntem sağlık risklerini tahmin ederek bozuklukların önlenmesine yardımcı olabilmektedir (7-11). Oto boyalarına maruz kalmayla ilişkili genotoksik etkiler hakkındaki mevcut bilgiler sınırlı ve tartışmalıdır. Otomobil kaplamalarına ve genel olarak otomobil boyasına maruz kalan işçilerde daha yüksek kromozomal aberasyonlar (Chromosomal aberrations: CA), kardeş kromatid değişimi (Sister chromatid Exchange: SCE), mikronükleuslar (MN) ve lökositlerde comet testi ile tespit edilen DNA hasarı rapor edilmiştir (12, 13). Öte yandan, Cárdenas-Bustamante ve ark. (14) boya fabrikası işçilerinde organik solventlere bağlı genotoksik etkileri MN ve Comet testi kullanarak araştırmış ve maruz kalan ve maruz kalmayan işçiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamıştır.

Oksidatif stres, birçok hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (15-17). Az sayıda çalışma olmasına rağmen, VOC'lerin, özellikle toluen ve ağır metallerin, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtları indükleyebileceği öne sürülmektedir. Birçok çalışma, VOC'lerin toksisitesinin ana mekanizmalarından biri olarak oksidatif stresi göstermiştir (18-20). Boyacılar da yapılan bir çalışmada, toluene maruz kalan boyacılar da katalaz (Catalase: CAT) seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (11), oysa Cassini ve ark. (21) maruz kalan ve maruz kalmayan işçiler arasında CAT aktivitelerinde bir fark bulamamıştır. Bu az sayıdaki çalışma, tolueni ana sorumlu bileşik olarak göstermiş olsa da, boya endüstrisinde bulunan birçok tehlikeli kimyasala maruziyet oksidatif stresin neden olduğu hasara katkıda bulunabilmekte ve mesleki hastalıklara yol açabilmektedir. VOC'lerin nükleik asitlere zarar vererek oksidatif stres, genotoksisite ve inflamasyona neden olabileceği

bildirilmektedir (22, 23). Nükleik asit oksidatif hasar biyobelirteçleri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) dahil olmak üzere, akciğer, mesane kanseri ve hematolojik maligniteler gibi kronik hastalıkların potansiyel riskini gösterebilmektedir (24).

Bu çalışmanın amacı, Ankara, Türkiye'deki otomotiv boya işçilerinin genotoksisite, oksidatif stres ve bağışıklık sistemi parametrelerini değerlendirmektir. Çalışanların lenfositlerinde alkali comet testi ile Deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı belirlenmiştir. Ayrıca, oksidatif strese bağlı DNA hasarının bir göstergesi olarak 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyeleri, oksidatif stres parametreleri arasında bulunan glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) incelenmiştir. İnflamatuvar yanıt parametreleri arasında ise tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa), interlökin (IL)-1beta, interlökin 17 (IL-17), interlökin 23 (IL-23) ve Clara hücre sekresyon proteini 16 (CC16) seviyeleri araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Otomotiv Üretim Sektörü

Dünya genelinde otomotiv üretim sektöründe 10 milyondan fazla insan çalışmakta olup, Türkiye'de bu sektörde 50 binden fazla işçi istihdam edilmektedir (2). Otomotiv endüstrisi, motor parçaları, araç gövdeleri ve plastik bileşenlerin üretiminden nihai montaja kadar birçok fiziksel, biyolojik ve kimyasal riski barındırmaktadır. Özellikle sprey ve toz boyama işlemlerinde kullanılan pigmentler, bağlayıcılar, katkı maddeleri ve çözücüler solunum ve deri tahrişine neden olabilmektedir. İşçiler ayrıca tekrarlayan hareket yaralanmaları ve ağır kaldırma gibi fiziksel risklere ve üretim süreçlerinde kullanılan çeşitli kimyasal risklere maruz kalmaktadır. Bu risklerin yönetimi, kapsamlı risk değerlendirmeleri ve sağlam sağlık ve güvenlik protokollerinin uygulanmasını gerektirir, böylece iş gücünün korunması ve sürdürülebilir sanayi uygulamalarına katkı sağlanabilmektedir.

### 2.1.1. Otomotiv Üretim Sektörünün Dünyada ve Türkiye'deki Durumu

1990'ların büyüme döneminde, küresel otomotiv endüstrisi her yıl yaklaşık 70 milyon araba üretmiş ve dünya ekonomisinde önemli bir rol oynayarak toplumların refahına katkıda bulunmuştur. Sanayileşmiş ülkeler, ulusal ekonomilerinin ana katkı sağlayıcısı olarak otomotiv sektörünü belirlemiş ve bu sektörün rekabetçiliğini artırmak ekonomik açıdan büyük önem taşımıştır. Türkiye'de zamanla otomotiv endüstrisi ülkenin en büyük imalat sektörlerinden biri haline gelmiş ve ihracatının önde gelen kaynağı olmuştur. Avrupa Birliği ile yapılan Gümrük Birliği anlaşmasının ardından, Türkiye'nin küresel üretim ağlarına entegrasyonu hızlanmış ve otomotiv endüstrisi, ülkenin ekonomik büyümesinde kritik bir rol oynamaya başlamıştır (25).

Otomotiv endüstrisindeki stratejik anahtar faktörler arasında yatırım, işletme politikalarındaki değişimler ve küreselleşme stratejileri bulunmaktadır. Türkiye, Japon ve Koreli şirketlerin yatırımları ve mevcut ortak girişimlerini genişletmeleri sayesinde otomotiv endüstrisinde önemli bir konuma gelmiştir. Otomotiv endüstrisi, büyük çok uluslu şirketlerin ortak girişimleri ve Türkiye'nin sunduğu araştırma geliştirme (Ar-Ge) teşvikleri ile güçlenmiş, bu sayede Türk özel sektörü tarafından yürütülen Ar-Ge harcamalarının önemli bir kısmını oluşturmuştur. Bu gelişmeler, Türkiye'nin otomotiv endüstrisinin küresel değer zincirlerine entegrasyonunu ve rekabet gücünü artırmıştır (26).

### 2.1.2. Otomotiv Üretim Basamakları

Otomotiv üretim basamakları aşağıdaki şekillerde sınıflanmaktadır: **1) Presleme:** Çelik rulolar, özel şekillerde düz plakalara dönüştürülür. Metal plakalar, pres hattında kolay şekil alabilecek geometrilere kesilmektedir. İki hat halinde yerleştirilmiş olan preslerde kesilmiş metal plakalar, kalıplar arasında üzerlerine basınç uygulanarak şekillendirilmektedir. **2) Kaynak:** Pres fabrikasında üretilmiş olan parçalar, hassas bir şekilde birleştirilmektedir. Bazı fabrikalarda bu aşama robotlar

tarafından yapılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise bu aşama insanlar tarafından yapılmaktadır. **3) Boyama:** Boya havuzunda kalan gövdeler, ardından fırına girmektedir. İlk uygulanan renk her zaman beyazdır ve ultraviyole ışınlarına karşı dayanıklılığı sağlamak için bu işlem yapılmaktadır. Ardından araç fırına gönderilip son rengine boyanmaktadır. **4) Boya artıklarını temizleme:** Bu bölümde tiner ve diğer bazı solventlerle boya artıkları çalışanlar tarafından temizlenmektedir. **5) Montaj:** Araçlar montaj fabrikasına girer girmez, "manifest" adı verilen ve araç ile ilgili tüm özellikleri anlatan bir kağıt üzerlerine yerleştirilmektedir. Araçlar ana hatta ilerlerken, mükemmel bir senkroizasyonla alt parçaların üretildiği hatlar üzerinde parça üretimine başlanılmaktadır. Elektronik aksam ve yer yüzey döşeme yerleştirilmektedir. **6) Kalite kontrol:** Araçlar son kullanıcılarına ulaşmadan önce, birçok ayar ve testten geçmektedir. Araç performans kontrolü birçok aşamada yapılmaktadır. Bu basamaklarda görev alan çalışanlarda çeşitli iş sağlığı riskleri mevcuttur. Çok sayıda kimyasalın yoğun olarak kullanıldığı ve işlem sonucu kimyasal inhalasyonun beklendiği kaynak, boyama, boya artıklarını temizleme ve montaj kısmında çalışanların sağlık riskleri özellikle dikkat edilmesi gereken konuları oluşturmaktadır (27).

Otomotiv üretiminin çeşitli aşamalarında, özellikle oto boyama sürecinde, yapıştırıcılar, asitler ve bazlar gibi birçok aşındırıcı ve tahriş edici kimyasal madde kullanılmaktadır. Oto boyama işlemlerinde kullanılan tehlikeli maddeler arasında boyalar, boya sökücüler, çözücüler, kurşun gibi ağır metaller, tozlar, vernikler, reçineler, yağlar, yapıştırıcılar, yağ gidericiler, yüzey hazırlama ürünleri, pas dönüştürücüler ve çeşitli tozlar bulunmaktadır.

Oto boyama süreçleri, özellikle spreyci boyama ve toz boyama işlemleri, tehlikeli maddelerin kullanımı, taşınması ve depolanması gibi çeşitli faktörler nedeniyle yüksek risk taşımaktadır. Boya ürünleri, farklı oranlarda pigmentler, bağlayıcılar, katkı maddeleri ve çözücülerden oluşmaktadır. Bu çözücüler genellikle toluen, ksilen, ketonlar, alkoller, esterler ve glükol eterler gibi kimyasalları içermektedir (4).

Spreyci boyama işlemlerinde, boyanın ince partiküllere atomize

edilmesi, solunum yoluyla maruz kalma riskini artırırken, uçucu çözücülerin kullanımını da solunum ve deri tahrişi gibi tehlikelere yol açabilmektedir. Toz boyama işlemleri, bazı çözücüyle ilgili riskleri azaltmakla birlikte, ince partikül madde yönetimi ve sıkı toz kontrol önlemleri gerektirmesi gibi kendi zorluklarını da beraberinde getirmektedir. Bu tehlikeli maddelerin uygun şekilde kullanımı ve depolanması, kapsamlı güvenlik önlemleri ve düzenleyici standartlara uyum gerektirmektedir.

## 2.2. Otomotiv Üretim Sektöründe Karşılaşılan Sorunlar

**a) Ergonomi Sorunları:** Otomotiv üretimi esnasında tekrarlayıcı hareketler, ağır yüklerin kaldırılması, yanlış pozisyonlarda uzun süre çalışma gibi durumlar, işçilerde kas-iskelet sistemi rahatsızlıklarına neden olabilmektedir. Bu durum kronik sırt ağrıları, bel sorunları gibi sağlık problemlerine yol açabilmektedir (28).

**b) Kimyasal Maruziyet:** Boya, solventler, yağlar gibi endüstriyel kimyasallara maruz kalmasına neden olabilmektedir. Bu durum uzun vadede ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (28).

**c) Gürültü ve Titreşim:** Otomotiv üretim tesislerinde iş makineleri, robotlar ve montaj hatlarındaki süreçlerden kaynaklanan gürültü işitme kaybı, kulak çınlaması gibi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (29).

**d) Isı ve Hava Kalitesi:** Bazı üretim hatlarında sıcak iş ortamları olabilmektedir. Bu durum işçilerde sıcak çarpması, yorgunluk, solunum problemleri gibi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Ayrıca hava kalitesinin düşük olması solunum problemlerini tetikleyebilmektedir (30).

**e) Stres ve Zihinsel Sağlık:** Otomotiv üretiminde yüksek tempolu çalışma ve sürekli değişen iş talepleri işçilerde stres, kaygı ve zihinsel sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (31). Bu sağlık sorunlarını azaltmak için iş sağlığı ve güvenliği önlemlerinin alınması gerekmektedir. Ergonomik çalışma koşulları sağlanmalı, kimyasal maruziyet kontrol altına alınmalı, gürültü ve titreşim düzeyleri azaltılmalı, işçilere sağlık eğitimi verilmeli ve stres yönetimi desteklenmelidir. Bu önlemler çalışanların

sağlığını korumaya ve iş verimliliğini artırmaya yardımcı olabilmektedir.

### 2.2.1. Presleme Sırasında Karşılaşılan Sorunlar

Otomotiv parçaları ve bileşenlerinin üretimi esnasında pres makineleri kullanılmaktadır. Çalışma ortamında presin neden olduğu kazalardan kaynaklanan ampütasyon veya ciddi yaralanmalar görülebilmektedir. Pres makinelerinin güvenli kullanımını sağlamak için iş güvenliği önlemlerin alınması gerekmektedir (31).

Pres makinesi, bir iş parçasının şeklini basınç uygulayarak değiştiren bir makine aracıdır. Pres makineleri, basıncı oluşturan enerji kaynağına göre 4 türe ayrılabilir.

- i. Mekanik Pres** - enerji, volan dönme enerjisinden kaynaklanır.
- ii. Servo Pres** - enerji, dişli servo motorundan kaynaklanır.
- iii. Hidrolik Pres** - enerji, hidrolik güç ünitesinden kaynaklanır.
- iv. Pnömatik Pres** - enerji, sıkıştırılmış hava kaynağından gelir.

Mekanik, servo ve pnömatik preslerin kaydırma hareketi hidrolik presden daha hızlıdır. Daha hızlı hareket, kaza olasılığını artırmaktadır. Pres makinesindeki kaza, kaydırma hareketinin aşağı doğru insanın pres çalışma alanında etkileşime girmesi durumunda meydana gelmektedir. Ana kaza türlerini sıkışma, çarpma, ve ezilme oluşturmaktadır (32).

### 2.2.2. Kaynaklama İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar

Kaynak, metalleri birleştirmek için kullanılan bir işlem olup kaynak dumanlarına mesleki maruziyet önemli bir iş sağlığı problemi olarak öne çıkmaktadır (33). Kaynakçılar, kaynak sırasında toz, ağır metaller, florür, ozon, nitrojen oksitleri, karbon monoksit ve gürültü gibi birçok mesleki tehlikeye maruz kalmaktadır. Bu tehlikeler, pnömokonyoz, zehirlenme, işitme bozuklukları gibi bazı meslek hastalıklarına neden olabilmektedir. Kaynak dumanları, farklı metallerin kompleks bir karışımından oluşmaktadır (33).

Akut etkiler, kaynak dumanına maruziyetten sonra kısa süre içinde



ortaya çıkmakta ve genellikle boğaz kuruluğu, öksürük veya göğüste sıkıntıya neden olmaktadır. Bu etkiler genellikle kısa ömürlü olmaktadır. Özellikle tungsten inert gaz kaynağı sırasında aşırı ozona maruz kalma akciğerde sıvı birikimine yol açabilmektedir. Ark kaynağı sırasında oluşan nitrojen oksitleri de tahrişe neden olabilmektedir. Kaynakçılar, metal dumanı ateşi olarak bilinen grip benzeri semptomlar yaşayabilmekte ve bu durum genellikle haftanın başında daha kötü olmaktadır. Metal dumanı ateşi, galvanizli metallerde kaynak veya sıcak işlemlerle ilişkili olmaktadır. Ayrıca, kaynak dumanına maruz kalan kaynakçılar, ciddi ve bazen ölümcül olabilen pnömoni riski taşımaktadır (34).

Kronik etkiler, kaynak dumanına maruziyetten sonra daha yavaş gelişmekte ve akciğer kanseri, KOAH ve mesleki astım gibi daha ciddi hastalıklara neden olabilmektedir. Mesleki astım, kaynak dumanındaki metaller tarafından tetiklenebilmektedir. Kaynakçı akciğeri, kaynak dumanına maruziyetten sonra akciğerde metal birikimi olarak tanımlanmakta ve zararsız bir pnömokonyoz türü olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, dar alanlarda kaynak yapmak, boğulma riskine yol açabilmektedir. Cilt etkileri arasında nikel ve krom alerjik dermatiti ve ultraviyole radyasyona bağlı cilt sorunları bulunmaktadır. Nörolojik etkiler ise özellikle manganiz maruziyetiyle ilişkilendirilmekte ve Parkinson benzeri semptomlara yol açabilmektedir. Göz sağlığı açısından da kaynak dumanına maruziyet, göz melanomuna ve kaynakçı gözü olarak bilinen akut göz yaralanmalarına neden olabilmektedir (34).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, tüm kaynak dumanını akciğer ve böbrek kanserine neden olabileceği için Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırmaktadır. Hem demir içeren yumuşak çelik hem de krom ve nikel içeren paslanmaz çelik kaynak dumanlarının akciğer kanseri riskini artırdığına dair insan kanıtları bulunmaktadır. Hayvan çalışmaları, kaynak dumanlarının, krom ve nikel gibi potansiyel karsinojen metallerin varlığı veya yokluğuna bakılmaksızın akciğer tümörlerini teşvik edebileceğini göstermektedir. Çinko oksit ile birlikte, bakır, magnezyum ve kadmiyum gibi metaller de kaynak dumanlarının sağlık etkilerine neden olabilmektedir.

Polimer duman ateşi florlu polimer ürünlerinin inhalasyonu ile ilişkilendirilmiştir ve bu durum ciddi pulmoner inflamasyona neden olabilmektedir (35).

Kaynak dumanları, özellikle alüminyum nanopartiküller gibi bileşenler aracılığıyla mesleki maruziyetin ana kaynaklarını oluşturmaktadır. Bu nanopartiküllere inhalasyon yoluyla maruz kalan işçiler, alüminozis, akciğer parankimasında inflamasyon, öksürük veya nefes darlığı gibi solunum belirtileri yaşayabilmekte ve uzun vadede bu kişilerde pulmoner fibrozis gelişebilmektedir (34). Krom bileşikleri de birçok endüstride yaygın olarak kullanılmakta olup, toksik, kanserojen ve mutajen özellikleri nedeniyle erkek üreme sağlığı üzerinde zararlı etkilere sahip olabilmektedir. Bu bileşikler, özellikle fare spermatogenezi üzerinde ciddi lezyonlara yol açabilmektedir (36).

### **2.2.3. Boyama İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar**

Antik çağlardan beri, kumaşlar mineraller, bitkiler ve hayvanlardan elde edilen özlerle boyanmıştır. Ancak 1856'da bilim insanları sentetik boyaları keşfettiklerinde, yıllar içinde bu boyaların etkileri çevre ve kamu sağlığı uzmanları için büyük bir endişe konusu olmuştur (37). Gelişmekte olan ülkelerde, boyama endüstrisinde çalışan çoğu kişi vasıfsızdır ve kumaşların balmumlanması, beyazlatılması ve boyanması sırasında kimyasallarla ve sentetik boyalarla temasları nedeniyle çeşitli tehlikelere maruz kalmaktadır (38). Boyama ve işleme süreçleri ile ilişkilendirilen en yaygın sağlık sorunları tahriş edici kimyasallara maruziyetten kaynaklanmaktadır. Bunlar arasında formaldehit bazlı reçineler, amonyak, asetik asit, bazı optik beyazlatıcılar, soda külü, kostik soda ve ağartıcı bulunmaktadır. Bazı reaktif boyalar da cilt duyarlılaştırıcı olarak kabul edilmektedir (39).

#### **2.2.3.1. Boyama İşlemi Esnasında Maruz Kalınan Kimyasal Maddeler**

Metal yongaları, özellikle krom gibi metallere çıkararak kişiye

çarpıtığında tehlikeli hale gelebilmektedir. Boya endüstrilerde kullanılan çoğu boya maddesi cilt tahrişine neden olabilmektedir (40). Sülfür boyaları, su içinde çözünmeyen boyalardır; bu nedenle, alkali bileşiklerin (örneğin sodyum sülfid veya sodyum hidrosülfid) eklenmesiyle çözünür hale getirilmekte, bu bileşikler indirgeyici ajan olarak işlev görmektedir. Aynı zamanda sodyum dikromat ve hidrojen peroksit gibi oksitleyici ajanlar da kullanılmaktadır (40). Formaldehit de indirgeyici ajanlardan biridir; formaldehit maruziyeti burun, akciğer ve beyinde kansere neden olabilmektedir. Ayrıca solunum zorlukları ve egzama oluşturabilmektedir (41).

### 2.2.3.2. Boya Artıklarının Temizleme İşleminde Karşılaşılan Sorunlar

Otomotiv sektöründe boya artıklarının temizlenmesi, üretim süreçlerinde kaliteyi korumak ve çevresel düzenlemelere uyum sağlamak için önem arz etmektedir. Boya artıklarının temizlenmesi genellikle aşağıdaki yöntemlerle yapılmaktadır (42):

**a) Kimyasal Temizleyiciler:** Özel olarak formüle edilmiş çözücüler ve temizleyiciler, boya artıklarını çözmek ve temizlemek için kullanılmaktadır. Bu temizleyiciler genellikle yağ, gres ve boya gibi maddeleri etkili bir şekilde çözebilmektedir.

**b) Yüksek Basıncılı Su Jetleri:** Yüksek basınçlı su jetleri, boya kabinlerinden ve ekipmanlardan boya artıklarını fiziksel olarak temizlemek için kullanılmaktadır. Su, çevre dostu bir temizleme seçeneği olarak kabul edilmekte ve doğru kullanıldığında etkili bir temizlik sağlamaktadır.

**c) Buhar Temizleme:** Buhar temizleyiciler, yüksek sıcaklıkta buhar üreterek boya artıklarını çözmekte ve temizlemektedir. Buharın sıcaklığı, boyanın yapısını bozarak kolayca temizlenmesini sağlamaktadır.

**d) Ultrasonik Temizleme:** Ultrasonik temizleyiciler, yüksek frekansta ses dalgaları kullanarak ince çatlak ve boşluklardaki boya artıklarını temizlemektedir. Bu yöntem, özellikle karmaşık şekillerdeki veya hassas parçalardaki artıkları temizlemek için uygundur.

**e) Aşındırıcı Blasting:** Kumlama veya diğer aşındırıcı

malzemelerle blasting, boya artıklarını yüzeylerden fiziksel olarak çıkarmak için kullanılmaktadır. Bu yöntem, özellikle zorlu artıklar için etkilidir ancak yüzeylere zarar verebilmekte, bu nedenle dikkatli kullanılması gerekmektedir.

**f) Manuel Temizlik:** Fırçalar, spatulalar ve diğer manuel araçlar, erişilmesi zor alanlardaki boya artıklarını temizlemek için kullanılabilir. Bu yöntem, diğer yöntemlerin uygunsuz olduğu durumlar için bir tamamlayıcı olarak kullanılmaktadır.

**g) Çevre Dostu Solventler:** Geleneksel solventlerin yerine, çevreye daha az zararlı, biyolojik olarak parçalanabilen veya su bazlı solventler tercih edilmektedir. Bu solventler, etkili temizlik sağlarken çevreye verdiği zarar nispeten azdır.

**h) Atık Yönetimi ve Geri Dönüşüm:** Temizleme işlemleri sırasında ortaya çıkan atıkların uygun şekilde toplanması, işlenmesi ve gerektiğinde geri dönüştürülmesi önemlidir. Bu, çevresel düzenlemelere uyumu sağlamak ve sürdürülebilirlik pratiklerine katkıda bulunmaktadır.

Otomotiv sektöründe boya artıklarının temizlenmesi, iş güvenliği ve sağlığı ile çevresel koruma standartlarına uygun olarak yapılması gerekmektedir. Bu, işletmelerin yasal gerekliliklere uyumunu sağlamanın yanı sıra çalışma alanlarının güvenli ve temiz tutulmasına da yardımcı olmaktadır (42, 43).

### **2.2.3.3. Boya Artıklarının Temizleme İşleminde Maruz Kalınan Kimyasal Maddeler**

Organik çözücüler genel olarak hidrokarbonlar, eterler, aldehytlar, alkoller, ketonlar veya aminleri içermektedir (44, 45). Bazı solventler diğerlerine göre daha nörotoksiktir ve bazıları, maruz kalınan birincil ajanlardan (örneğin, n-heksan veya metil-bütül keton) daha toksik ikincil ajanlara metabolize olmaktadır. Bu ikincil ajanlar DNA, proteinler veya Ribonükleik asid (RNA)'ya bağlanabilmektedir. Yüksek seviyede akut maruziyetler deliryum, solunum depresyonu ve/veya ölüme yol açabilmektedir (46).

Mesleki maruziyette, solvent buharının inhalasyonu genellikle en

önemli yoldur. Deri yoluyla emilim, sıvı solventlerin cildin doğrudan teması durumunda önemlidir, ancak bu yol genellikle göz ardı edilmektedir. Mesleki ortamda solventlerin klinik olarak önemli miktarlarda yutulması çok nadiren gerçekleşmektedir. Solventlerin buharlaşması ve havadaki konsantrasyonlarının artması, uygun egzoz ventilasyon sistemlerinin olmaması ve iş ortamının nispeten yüksek sıcaklığı inhalasyon yoluyla alımı artırabilmektedir. Fiziksel egzersizin derecesi ventilasyon hacmini ve dolayısıyla absorbe edilen solvent buharı miktarını arttırarak inhalasyon yoluyla solvent alımının önemli bir belirleyicisi olabilmektedir (47).

Klorlu solventlere maruz kalmanın, 80 yıldır vaka raporlarında böbrek ve karaciğer hasarı ile ilişkilendirildiği ve yaklaşık 20 yıldır daha sistematik olarak incelendiği bilinmektedir (48). Vaka-kontrol ve kesitsel çalışmalar, klorlu solventlere maruz kalan ve maruz kalmayan bireylerin idrarındaki somatik hücre mutasyonlarını ve böbrek proteinlerini incelemiştir; ancak, solvante maruz kalan ve maruz kalmayan bireylerin idrarındaki çeşitli protein seviyeleri arasındaki farklar, böbrek hasarının klinik belirtileri ile ilişkilendirilmemiştir (49). Aritmi ve diğer geçici olumsuz kardiyak etkiler, metilen klorür, kloroform ve Trikloroetilen (TCE)'ye mesleki maruziyet ile ilişkilendirilmiştir (50).

Solvante maruz kalmış işçilerde otoimmün hastalıkların ortaya çıkışı dahil olmak üzere immünolojik etkiler üzerine birkaç çalışma yapılmıştır; bazıları artmış risk bildirirken, diğerleri riskin olmadığını rapor etmiştir (51, 52). Hayvan çalışmaları ve insanlarda klorlu solvent maruziyeti sonucu karaciğer, safra yolları ve idrar organlarındaki hasar vakalarına dayanarak, bu organlar epidemiyoloji araştırmalarının odak noktası haline gelmiştir. Birçok vaka-kontrol çalışmada solvent maruziyeti ile karaciğer, safra yolları ve genitoüriner organlar (53, 54), meme ve sinir sistemi kanserleri ilişkisi araştırılmıştır (54, 55).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, örneklerin az olması ve sigara içimi ve karma mesleki maruziyetlerin kontrol edilememesi gibi diğer faktörler nedeniyle sınırlı kalmıştır. Ancak, perkloroetilen (PCE)'e maruz kalanlarda mesane ve serviks kanseri (56, 57), trikloroetilen (TCE)'ye maruz

kalanlarda ise böbrek, karaciğer ve beyin kanseri vakalarında artışlar saptanmıştır (54, 58). Perkloroetilen (PCE)' e maruz kalan erkek ve kadınlarda, spontan düşük veya diğer üreme sorunları ve nörolojik problemler de sıklıkla bildirilmiştir (59-61).

#### **2.2.4. Montaj İşlemi Esnasında Karşılaşılan Sorunlar**

Uzun süreli ve kesintisiz oturma, fiziksel ve zihinsel sağlık için önemli bir risk faktörü olarak saptanmıştır. Öte yandan, uzun süre ayakta durmak, alt ekstremitelerde kas-iskelet rahatsızlıklarının, varislerin ve diğer bilinen problemlerin gelişmesi için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (62). Bu durumlar, bireylerin iş göremezliğine, iş verimliliğinde düşmeye yol açabilmekte ve çalışanlar, işverenler ve toplum için önemli maliyetlere neden olabilmektedir (63). Bir kişi iş esnasında sadece bir iş istasyonunu kullanabilmekte veya yapılan aktivite türüne bağlı olarak farklı iş istasyonları arasında hareket ettirilebilmektedir (64). Oturma iş istasyonunun neden olduğu hastalıklar arasında tip 2 diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar (65) meme, kolorektal, endometrium, over, prostat ve akciğer kanserleri gibi bazı kanser türleri (66) ve erken ölüm bulunmaktadır (67). Ayrıca, bazı çalışmalar oturma iş istasyonunda çalışmanın yorgunluk riski ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (68).

Ayakta duruş pozisyonu (ayakta durma iş istasyonu), ergonomik açıdan oturma iş istasyonundan daha avantajlı olabilmektedir. Ayrıca ayakta pozisyonda, omurga nötr duruşunda konumlandırılmakta ve doğal eğriliğini korumaktadır. Bu durumda, intervertebral diskler üzerine daha az basınç uygulanmaktadır. Ayrıca, ayakta duruş daha az kas aktivitesi ile sürdürülebilmekte ve ayakta pozisyondaki gövde kaslarının gücü oturma pozisyonundakinden iki kat daha fazla olmaktadır (69, 70).

Otomotiv montaj ve damgalama tesislerinde yapılan bir analiz, hastalık ve kaza sigortası talepleri üzerinden mesleki sağlık sorunlarının belirlenebileceğini göstermiştir. Bu çalışmada, boya operasyonları, final montajı ve metal montaj alanlarında solunum ve kas-iskelet sistemi ile ilgili

engellilik oranlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Yeni işe başlayanlarda ilk aylarında, solunum ve kas-iskelet sorunları oranlarında belirgin artışlar gözlemlenmiştir (71). Malezya'daki erkek otomotiv montaj tesis çalışanlarında, psikososyal iş faktörlerinin sağlıkla ilgili yaşam kalitesi (Health-Related Quality of Life: HRQOL) üzerindeki etkisini incelemiştir (72). Araştırma, çalışanların %64,9'unun genel HRQOL'lerini iyi veya çok iyi olarak bildirdiğini, %53,7'sinin ise genel sağlıklarını iyi veya çok iyi olarak değerlendirdiğini ortaya koymuştur. Çalışma, beceri kullanımı ve sosyal destek gibi pozitif iş faktörlerinin, çalışanların fiziksel, psikolojik, sosyal ve çevresel yaşam kalitesi alanlarında olumlu etkilere sahip olduğunu; iş güvencesizliği ve tehlikeli çalışma koşulları gibi negatif iş faktörlerinin ise bu alanlarda olumsuz etkiler yarattığını göstermiştir (72).

### **2.2.5. Otomotiv Üretim Sektöründe Maruz Kalınan Kimyasal Maddeler Nedeniyle Gelişebilen Hastalıklar**

Otomotiv üretim sektörü, esas olarak boya uygulama süreçlerinden kaynaklanan toksik maddelerin emisyonları nedeniyle ulusal ve yerel düzenlemelere tabi olmaktadır. Bu emisyonlar insan sağlığı ve çevre için tehlikeli olabilmektedir. Boya, istenilen boya özelliklerini sağlayan katkı maddeleri ile birlikte bağlayıcı (reçine), uçucu çözücü veya su ve pigment partiküllerinin bir sıvıda çözülmesiyle oluşmaktadır (73). Boyalarda kullanılan organik çözücüler arasında, boyacıların genellikle maruz kaldığı birincil çözücü toluendir (74). Tayland'da yapılan bir çalışma, Bangkok'taki 94 otomotiv boya atölyesinde benzen ve toluen iş yeri ortam konsantrasyonları ölçmüştür ve toluenin en fazla bulunan tür olduğunu ortaya koymuştur (19).

Otomobil boyalarında bulunan uçucu organik bileşikler, otomotiv boyama işlemi sırasında iş yerine yayılmaktadır. Bu emisyonların çoğu, boyaların püskürtme işlemleri yoluyla gerçekleşmekte, çünkü püskürtme kabini havası, gaz halindeki çözücü bileşikleri ve fazla püskürtülmüş boya materyallerinin hepsini içermektedir. Uçucu organik bileşikler; aromatik ve alifatik hidrokarbonlar, esterler, alkoller, ketonlar ve glikol eterlerinden

oluşmaktadır (75). Toluene boyalar, yapıştırıcılar, mürekkepler, kozmetikler, kaplamalar ve temizlik ürünleri gibi birçok ticari üründe kullanılmaktadır. Boyama, baskı, ayakkabı yapımı ve otomotiv gibi endüstrilerde çalışan işçiler, yüksek konsantrasyonlarda toluene maruz kalma riski altında bulunmaktadır (11). Solunum cihazları, koruyucu gözlükler ve eldivenler gibi kişisel koruyucu ekipmanlar (KKE), otomotiv boyacılarının organik çözücülere maruziyetini azaltabilmekte ve iş yerinde kullanıldığında çeşitli tehlikelere maruziyeti en aza indirebilmektedir. Toluene, beyin ve karaciğer gibi yüksek lipid içeriğine sahip dokularda birikmektedir (76). Toluene maruziyeti işçi sağlığını ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Toluenein merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri sedatif-hipnotiklerinkilere benzemektedir (77). Tayland'ın Nakhon Si Thammarat ilinde gerçekleştirilen bir çalışma, otomotiv garajlarında çalışan işçilerin kimyasal maddelere maruziyetinin sağlık üzerindeki etkilerini ve işçilerin hijyen davranışlarını incelemiştir. Toplam 140 işçi üzerinde yapılan yüz yüze anketler ve gaz kromatografisi ile yapılan toluene ölçümleri, işçiler arasında cilt problemleri, solunum yolu tahrişi, bulantı ve baş dönmesi gibi sağlık sorunlarının yüksek oranlarda olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, otomotiv garajı çalışanlarının kişisel hijyenine ve koruyucu ekipman kullanımına eğitim programlarında daha fazla önem verilmesi gerektiği vurgulanmıştır (78). Bir çalışmada oto boyacılarının tiyol-disülfid homeostazındaki değişiklikleri incelenmiştir. Bulgular, oto boyacılarının daha yüksek idrar hippurik asit seviyelerine ve artmış tiyol-disülfid oranlarına sahip olduğunu göstermiştir. Bu durum, toluene maruziyetinin oksidatif stresle ilişkilendirilebileceğini ve bu işçilerde potansiyel sağlık risklerine işaret ettiğini ortaya koymuştur (79). Kolombiya'daki otomotiv sektöründeki boyacıların uçucu organik solventlere maruz kalma durumunu araştıran bir çalışmada, boyacıların kişisel maruziyetleri incelenmiştir. Bulgular, bazı şirketlerde toluene, karbon tetraklorür, ksilen, etilbenzen ve n-bütanol gibi solventlere karşı orta düzeyde maruziyet riski olduğunu göstermiştir. Ancak, Kolombiya yönetmeliklerince belirlenen kabul edilebilir limitlerin aşılmadığı, sadece bazı kirleticiler için değerlerin fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışma, iş sağlığı ve güvenliği



yönetim sistemlerinde düzelme yapılmasını önermekte ve boyacıların çalışma koşullarının iyileştirilmesi ve meslek hastalıklarının önlenmesine katkıda bulunmayı hedeflemektedir (74).

Otomotiv üretim fabrikalarında döküm ve metal işleme faaliyetleri, işçilerin çeşitli sağlık riskleriyle karşılaşmalarına neden olmuştur. Döküm çalışmalarında akciğer kanseri, kanser dışı solunum hastalıkları ve kalp hastalığı rapor edilmiştir (80). Metal işleme işiyle uğraşan insanlarda yüksek oranda sindirim ve solunum yolu kanserleri ve diğer hastalıklar gözlemlenmiştir. Araştırmalar, nitrozaminlerin mide kanseriyle, düz yağ işleme sıvılarının pankreas kanseriyle ve metal işleme sıvılarının karaciğer sirozu ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür. Ayrıca, döküm maruziyeti, silika, çekirdek yapımı, ısıl işlem ve motor testleri akciğer kanseriyle ilişkilendirilmiştir. Akciğer hastalıkları döküm temizleme ve işleme operasyonlarındaki silika ve diğer toz maruziyetleriyle ilişkilendirilirken, kalp hastalığı karbon monoksit veya diğer döküm maruziyetleriyle, diyabet ve inme ise bilinmeyen işleme tesisi maruziyetleri ve ısıl işlem maruziyeti ile ilişkilendirilmiştir (81).

Kurşun, krom ve kadmiyum, boya pigmentlerinin bileşenleri olarak otomobil boyalarına eklenen toksik metallerdir. Metal pigmentlere örnek olarak kurşun oksit (kırmızı kurşun), kurşun kromat (krom sarısı), krom oksit (krom yeşili) ve kadmiyum sülfid (kadmiyum sarısı) verilebilir. Hat Yai Şehri, Songkhla İli, Tayland'daki oto gövde tamir atölyelerinde bu üç metalin çevresel seviyeleri bir çalışmada rapor edilmiştir (82). Bu metaller, oto parçalarının zımparalanması ve kaynak yapılması sırasında ve boya püskürtme işlemi sırasında salınabilmektedir. Ayrıca, kullanılmış araçların yeniden işlenmesi sırasında çıkarılan araba boyası tozunun da metal maruziyetlerinin bir kaynağı olduğu öne sürülmüştür (83). Metallerin dermal absorpsiyonu genellikle düşüktür (84). Kişisel hijyen alışkanlıkları kötü olan işçilerde elleri ağıza götürme davranışı sonucu metaller için bir başka maruz kalma yolu da oral yoldur. Kurşunun inhalasyonu veya yutulması, beyin, böbrekler ve üreme organlarına zararlı etkilerine neden olmaktadır. Yüksek düzeyde kadmiyum tozu solunması akciğerlere ciddi zarar verebilmektedir.

Daha düşük seviyede kadmiyumun uzun süreli yutulması, böbreklerde kadmiyum birikimine yol açabilmektedir (85). Ayrıca, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı boyacılar arasında mesane ve akciğer kanseri risklerinin arttığını belirleyen epidemiyolojik çalışmalara dayanarak ticari boyama işlerindeki mesleki maruz kalınmaları grup 1 kanserojenler olarak sınıflandırmıştır (73, 86). Otomotiv endüstrisinde nadiren kullanılan bir toz boyadan kaynaklanan mesleki astım vakası da bildirilmiştir. Toz boyada triglisidil izosiyanürat veya organik asit anhidritleri gibi diğer olası etken maddelerin bulunmaması durumunda, alüminyum hidroksit en olası alerjen olarak görünmektedir (86).

Nikelin yüksek doz veya uzun süreli teması çeşitli yan etkilere neden olabilmektedir. Nikel alerjisi olan kişilerin sayısı gün geçtikçe artmakta, bu durum kadınlarda daha sık görülmekte ve birçok şekilde ortaya çıkabilmektedir. Nikele karşı aşırı duyarlılık aynı zamanda mesleki de olabilmektedir. Nikel alerjilerinin artan yaygınlığı nedeniyle, günlük kullanım ürünlerinde bu metalin içeriğini azaltmak için mevzuatta düzenlemeler yapılmıştır (87).

Otomotiv sektörü, araç üretiminde geniş çapta kullanılan manganez elementinin önemli bir tüketim sanayisini oluşturmaktadır. Manganez, çelik ve alüminyum alaşımlarının dayanıklılığını ve sertliğini artırarak motor blokları, şasi bileşenleri ve diğer kritik parçaların üretiminde temel bir rol oynamaktadır. Ancak, manganezle ilgili sağlık riskleri de göz ardı edilmemelidir. İşçiler, manganez tozları ve dumanlarına maruz kaldıklarında solunum yolu hastalıkları, nörolojik bozukluklar ve manganizm adı verilen bir sağlık sorunu geliştirme riski taşımaktadır. Manganizm, parkinson hastalığına benzer semptomlarla karakterize edilmektedir. Bu nedenle, otomotiv üretim tesislerinde çalışanların manganez maruziyetini azaltmak için uygun koruyucu önlemler alınmakta ve düzenli sağlık kontrolleri yapılmaktadır (88).

Kobalt, otomotiv sanayinde kritik bir metaldir. Özellikle elektrikli araçların bataryalarında kullanılan lityum-iyon pillerin üretiminde hayati bir bileşen olarak öne çıkmaktadır. Kobalt, bataryaların enerji yoğunluğunu ve

ömrünü artırarak elektrikli araçların menzilin ve performansını iyileştirmektedir. Ayrıca, kobalt alaşımları yüksek sıcaklıklara ve aşınmaya dayanıklı oldukları için motor parçaları, türbinler ve egzoz sistemleri gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır. Ancak, kobaltın madenciliği ve işlenmesi sırasında işçiler ciddi sağlık riskleriyle karşılaşabilmektedir. Kobalt maruziyeti, solunum problemleri, cilt rahatsızlıkları ve kobalt zehirlenmesi gibi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Bu nedenle, otomotiv sektöründe kobalt kullanımında güvenlik protokollerine sıkı sıkıya uyulmakta ve işçilerin korunması için gerekli önlemler alınmaktadır (89).

Bir kohort çalışmasında, otomotiv endüstrisi işçilerinin çalışma süresi ile böbrek fonksiyonlarında bozulma düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Metal dumanlarına düşük düzeyde maruz kalan işçilerin glomerüler filtrasyon hızı, kreatinin klirensi, ürik asit ve ortalama kan basıncı değerleri üzerinde anlamlı bir etki gözlenmemiştir (90).

### **2.3. DNA Hasarı- Genotoksisite**

DNA hasarı, genetik materyalin kimyasal yapısındaki değişiklikler veya bozulmalar olarak tanımlanmakta ve çeşitli içsel ve dışsal faktörler tarafından tetiklenebilmektedir. Bu hasar, ultraviyole (UV) ışınları, iyonize radyasyon, kimyasal maddeler, serbest radikaller ve bazı virüsler gibi dış kaynaklardan veya hücrel metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen türleri gibi iç faktörlerden kaynaklanabilmektedir (91). DNA hasarı, baz çiftlerinin yanlış eşleşmesi, tek veya çift sarmallı kırılmalar, ve kimyasal modifikasyonlar gibi çeşitli biçimlerde ortaya çıkabilmektedir (92). Hücreler, bu hasarı onarmak için bir dizi mekanizmaya sahip olsa da, onarım sürecindeki hatalar mutasyonlara yol açabilmekte ve bu da kanser, yaşlanma ve çeşitli genetik hastalıklar gibi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (93). Bu nedenle, DNA hasarının doğru ve etkin bir şekilde onarılması, hücrelerin genetik bütünlüğünü korumak ve organizmanın sağlıklı kalmasını sağlamak için hayati öneme sahiptir. Öte yandan, DNA hasarı, çevresel, fiziksel ve kimyasal ajanların DNA'ya zarar vermesiyle

meydana gelir. Örnekler arasında; iyonize ve UV radyasyon, alkilleştirici ajanlar, aromatik aminler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar bulunmaktadır (93).

İyonize radyasyon (İR) , DNA'ya doğrudan veya çevredeki suyun radyolizi gibi dolaylı yollarla, son derece reaktif hidroksil radikalleri kümesi üreterek zarar verebilmektedir. Çevredeki oksijen ve diğer reaktif türlerin varlığı, İR tarafından diğer DNA-reaktif serbest radikallerin oluşumunu da artırmaktadır (94). Reaktif hidroksil radikallerinden kaynaklanan dolaylı DNA hasarı, radyasyon kaynaklı DNA hasarının yaklaşık %65'ini oluşturmaktadır. Bu nedenle, İR, Reaktif oksijen türleri (ROS) türleri tarafından üretilenlere benzer bir baz lezyonları spektrumu üretmektedir. Ana lezyonlar arasında 8-oksoguanin, timin glikol ve formamidopirimidinler bulunmaktadır. Baz lezyonlarına neden olmanın yanı sıra, iyonize radyasyon 3'-OH uçları yerine 3' fosfat veya 3'-fosfoglukolat uçlarına sahip DNA kırıkları ile karakterize tek zincir kırıklarına da neden olmaktadır (95).

Ultraviyole radyasyonu güneşten yayılan ve insanlarda cilt kanserlerinin önde gelen nedeni olan bir radyasyon türüdür. Genellikle, UV radyasyonu dalgaboyu aralığına göre üç sınıfa ayrılır: UV-C (190–290 nm), UV-B (290–320 nm) ve UV-A (320–400nm). Memeli hücrelerinde, yakın ve uzak UV radyasyonları DNA protein çapraz bağlarına neden olurken, UV-A radyasyonu DNA zincir kırıklarına yol açmaktadır. UV lezyonları, UV hasarlı bazların doğrudan tersine çevrilmesi, ara zincir çapraz bağ (ICL) onarımı, translesyon sentezi veya homolog rekombinasyonlar (HR) yoluyla onarılmaktadır (96).

Metil metansülfonat, etil metansülfonat, N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin ve metilnitrozourea, sülfür ve azot hardalları gibi alkilleyici maddeler; esas olarak diyet bileşenlerinden, tütün dumanından, fosil yakıtlarından, endüstriyel işlemlerden ve kemoterapötik ajanlardan üretilmektedir. Elektrofilik alkilleyici ajanlar, özellikle guanin'in N7'si ve adenin'in N3'ü olmak üzere yüksek nükleofilik baz halka nitrojenlerine artan bir afinite ile adenin, guanin, sitozin ve timin ile katım ürünleri oluşturmaktadır. Alkilleyici ajanlar DNA ile tepkimeye girerek mutajenik ve

kanserojen lezyonlar oluşturmaktadır (97).

Aminofluoren ve N-asetil-2-aminofluoren gibi aromatik aminler, sigara dumanı, yakıt, kömür, endüstriyel boyalar, pestisitler ve yüksek sıcaklıkta pişirme işlemlerinden sonra üretilmektedir. P450 monooksijenaz sistemi tarafından aktive edildikten sonra, aromatik aminler, guanin'in C8 pozisyonuna saldıran karsinojenik (ester ve sülfat) alkilleyici ajanlara dönüştürülmektedir (98).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), iki veya daha fazla aromatik halkaya sahip karbon bileşikleridir ve genellikle inert, polar olmayan ve çevrede yaygın olarak bulunan kanserojenler olarak bilinmektedir (99).

### **2.3.1. Oksidatif DNA Hasarı**

Reaktif oksijen türleri (ROS), aerobik organizmalarda hücre solunum sırasında elektron taşıma zincirinin ürünleridir ve katabolik oksidazlardan, anabolik süreçlerden ve peroksizomal metabolizmadan türetilmektedir (100). Genellikle, ROS'un hücrelerdeki zararlı sonuçları mitokondriyal bölünme esnasında solunumu sınırlayarak ve DNA'yı histonlarla kompleksleştirerek veya antioksidan enzimler süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksiredoksin tarafından düzenlenmektedir (101). Buna rağmen, ROS türlerinin artışı kanser, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, diyabet ve kalp yetmezliği ile ilişkilendirilmektedir (102-104).

Reaktif oksijen türlerinin en belirgin olanları süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalidir (105). Elektrofilik hidroksil ( $\bullet\text{OH}$ ) radikalleri, DNA bazları ile 1) çift bağlarına eklenerek, 2) metil gruplarından hidrojen atomlarını çekerek ve 3) yakın çevrelerindeki şeker artığına saldırarak tepkimeye girmektedir (106). Örneğin, timin glikol artıkları, timinin C5/C6 çift bağlarına  $\bullet\text{OH}$  saldırısı sonucu oluşmaktadır. Benzer şekilde, hidrojen peroksit ve  $\text{Fe}^{2+}$ 'nin Fenton reaksiyonunun bir yan ürünü olarak üretilen  $\bullet\text{OH}$  radikali, guanin ve adenin içindeki imidazol halkasının açılmasına neden olarak parçalanmış purin yapısı formamidopirimidini

oluşturmaktadır (94). Guaninin C-8 artığının hidroksilasyonundan oluşan başka bir biyolojik olarak önemli doymuş imidazol halkası 7,8 dihidro-8-okso-guanin'dir. 8-okso-guanin, sitozin yerine yanlışlıkla adenin ile eşleşir, bu da genel mutasyon yükünü artırmakta ve düşük oksidasyon potansiyeli nedeniyle diğer zararlı ikincil DNA lezyonlarına daha fazla oksitlenmektedir (107).

Reaktif Oksijen Radikalleri, DNA bazlarına saldırmanın yanı sıra, memeli hücrelerinde saatte hücre başına tahmini 2300 tek zincir kırığına neden olarak DNA omurgasını da tehlikeye atabilmektedir. Oksitlenmiş bazları Baz Çıkartma Onarımı yolu onarıırken, DNA omurgasındaki kırıklar tek zincir kırığı onarım yolları veya çift zincir kırığı onarım yolları tarafından onarılmaktadır (108). Son olarak, hidroksil radikalleri tarafından lipid moleküllerinin oksidasyonu olan lipid peroksidasyonu, adenin, guanin ve sitozin ile tepkimeye girerek mutajenik ürünler oluşturabilen malondialdehit ve 4-hidroksinonenal gibi aldehit ürünleri üretmektedir (109).

### **2.3.2. Oksidan Ve Antioksidan Sistemleri**

Organizmanın oksidan ve antioksidan sistemleri, hücrel dengeyi ve genel sağlığı korumada hayati bir rol oynamaktadır. Oksidanlar, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) gibi moleküller, normal hücrel metabolizma sırasında veya dış etkenler sonucu oluşmakta ve hücrel yapılar üzerinde hasara yol açabilmektedir. Bu hasar, DNA, proteinler ve lipidlerin oksidasyonu gibi çeşitli şekillerde ortaya çıkabilmektedir (110).

Antioksidan sistemler, bu oksidatif hasarı önlemek veya onarmak için devreye girmektedir. Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz bulunmaktadır. Bu enzimler, serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin oksidatif stresten korunmasını sağlamaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise vitamin C, vitamin E, glutatyon ve flavonoidler gibi molekülleri içermekte ve bu

moleküller serbest radikallerle doğrudan etkileşime girerek onları etkisiz hale getirmektedir (111).

Bu dengeyi korumak için organizmalar çeşitli mekanizmalara sahip olsalar da, aşırı oksidatif stres durumları hücrel hasara ve çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Bu nedenle, oksidan ve antioksidan sistemlerin dengesi, hücrel fonksiyonların ve genel sağlığın korunmasında kritik öneme sahiptir (112).

### **SOD (Süperoksit Dismutaz)**

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen peroksit moleküllerine dönüşümünü katalize eden bir enzimdir, bu da hücreleri oksidatif strese karşı korumaktadır. SOD, insanlarda üç ana formda bulunmaktadır: sitozolde bulunan CuZn-SOD, mitokondride bulunan Mn-SOD ve ekstraselüler alanlarda bulunan EC-SOD. Bu enzim, DNA, proteinler ve lipitler gibi hücrel bileşenlere zarar veren süperoksit radikallerinin zararlı etkilerini nötralize ederek hücrel savunmada önemli bir rol oynamaktadır. SOD aktivitesi, oksidatif stresin ve vücudun bu zararlı bileşikleri detoksifiye etme kapasitesinin değerlendirilmesinde sıkça kullanılan bir belirteçtir (112).

### **CAT (Katalaz)**

Katalaz (CAT), hemen hemen tüm oksijene maruz kalan canlı organizmalarda bulunan bir enzimdir. Bu enzim, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayarak hücreleri reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasardan korumaktadır. Hidrojen peroksit, birçok hücrel süreçte bir yan ürün olarak oluşmakta ve birikmesi durumunda zararlı olabilmektedir. Katalaz, SOD ve GPx gibi diğer antioksidan enzimlerle birlikte çalışarak oksidatif stresi azaltmaktadır. Katalaz aktivitesi, hücrel ve dokusal sağlığın genel değerlendirilmesinde önemli bir göstergedir (113).

### **GPx (Glutasyon Peroksidaz)**

Glutasyon peroksidaz (GPx), hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin glutasyon kullanarak azaltılmasını katalize eden bir enzim ailesidir. GPx, hücrel redoks dengesinin korunmasında ve hücreleri oksidatif hasardan korumada kritik bir rol oynamaktadır. GPx aktivitesindeki

azalma, genellikle artan oksidatif stresin bir göstergesi olup, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (112).

### **GR (Glutasyon Redüktaz)**

Glutasyon redüktaz (GR), glutasyonun (GSH) indirgenmiş formunu koruyan ve hücrel detoksifikasyon süreçlerinde kritik bir rol oynayan bir enzimdir. GR, Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) kullanarak glutasyon disülfidi GSH'ya indirgenmektedir. Bu reaksiyon, GPx ve diğer antioksidan enzimler için substrat olarak işlev gören GSH'nin yeniden üretilmesi için hayati öneme sahiptir. GR aktivitesi, oksidatif stresin ve hücrelerin oksidatif hasara karşı koyma kapasitesinin değerlendirilmesinde önemli bir belirteçdir (113).

### **GSH (Glutasyon)**

Glutasyon (GSH), glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan bir tripeptittir ve en önemli hücre içi antioksidanlardan birisidir. GSH, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve reaktif azot türlerini (RNS) nötralize ederek, redoks dengesini koruyarak ve GPx ve GR gibi diğer antioksidan enzimlerin işlevini destekleyerek hücreleri korumaktadır. GSH/GSSG oranı, hücrel oksidatif stresin bir göstergesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (112).

### **MDA (Malondialdehit)**

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun bir yan ürünüdür ve oksidatif stres ve hücrel hasarın biyobelirteçi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. MDA, hücrel membranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerine ROS tarafından saldırıldığında oluşmakta ve hücrel işlev bozukluğu ve hasara yol açabilmektedir. Artan MDA seviyeleri, artmış lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi göstermekte ve kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve kanser gibi çeşitli patolojik durumlarla ilişkili olabilmektedir (112).

### **8-OHdG (8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin)**

8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), ROS etkisiyle DNA'da oluşan modifiye bir bazdır ve oksidatif DNA hasarının yaygın bir biyobelirteçleridir. Biyolojik örneklerde (idrara, kan, dokular) artan 8-OHdG



seviyeleri, artmış oksidatif stresin ve mutajenez ve karsinogenez riskinin göstergesidir. 8-OHdG'nin ölçülmesi, çevresel toksinlerin, yaşam tarzı faktörlerinin ve hastalıkların DNA bütünlüğü üzerindeki etkilerini değerlendirmede kritik öneme sahiptir (112).

### **TNF-alfa (Tümör Nekroz Faktörü-alfa)**

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa), sistemik inflamasyonda rol oynayan bir pro-inflamatuar sitokindir ve vücudun bağışıklık yanıtının bir parçasıdır. Başlıca aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilmekte olup ateş, apoptoz, inflamasyon indüklemeye ve tümörigenez ve viral replikasyonu inhibe etme gibi çeşitli işlevleri vardır. Yüksek TNF-alfa seviyeleri, kronik inflamatuvar hastalıklar ve otoimmün bozukluklarda saptanabilmektedir (113).

### **IL-1beta (İnterlökin-1beta)**

İnterlökin-1beta (IL-1beta), aktive olmuş makrofajlar, monositler ve diğer hücreler tarafından üretilen bir pro-inflamatuar sitokindir. Enfeksiyonlara ve yaralanmalara karşı immün ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. IL-1beta, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, diğer sitokinlerin üretimini ve T ve B lenfositlerinin aktivasyonunu arttırmaktadır (113).

### **IL-17 (İnterlökin-17)**

İnterlökin-17 (IL-17), T helper-17 (Th17) hücreleri olarak bilinen bir T hücre alt grubu tarafından üretilen bir pro-inflamatuar sitokindir. IL-17, bakteri ve mantar enfeksiyonlarına karşı konak savunmasında önemli bir rol oynamakta ve çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde yer almaktadır. Diğer pro-inflamatuar sitokinlerin, kemokinlerin ve matriks metalloproteinazların üretimini uyararak nötrofillerin toplanmasını ve inflamasyonun teşvik edilmesini sağlamaktadır (112).

### **IL-23 (İnterlökin-23)**

İnterlökin-23 (IL-23), Th17 hücrelerinin farklılaşması ve proliferasyonunda önemli bir rol oynayan bir sitokindir. Dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından üretilmekte ve Th17 hücrelerinin bakımı ve IL-17 üretimi için esas teşkil etmektedir. IL-23, sedef hastalığı, inflamatuvar

bağırsak hastalığı ve romatoid artrit gibi çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer almaktadır (112).

### **CC16 (Clara Hücre Sekretuar Proteini)**

Clara hücre sekretuar proteini (CC16), solunum epiteli tarafından salgılanan bir proteindir ve anti-inflamatuvar ve immünomodülatör özelliklere sahiptir. CC16, akciğer epitelyal hasarının ve solunum yolu hastalıklarının biyobelirteci olarak hizmet etmektedir. Serum veya bronkoalveolar lavaj sıvısındaki CC16 seviyelerinin düşmesi, akciğer hasarı, KOAH, astım ve çevresel toksinlere maruz kalma ile ilişkilidir. CC16 seviyelerinin ölçülmesi, akciğer sağlığını ve epitelyal hasarın boyutunu değerlendirmede önemlidir (112).

## **2.4. Genotoksisite Testleri**

Genetik hasarın indüklenmesi ve onarılamaması kanserin oluşumunda kritik bir adımdır (114). Kanserojen potansiyeli olan maddelerin onkojenik etkilerinin incelendiği genotoksisite testleri giderek önem kazanmaktadır. Maddelerin genetik hasar değerlendirilmelerinde kromozom anormallikleri testi, mikroçekirdek testi, bakteriyel ters mutasyon testi (Ames testi) ve Comet testi gibi genotoksisite testleri kullanılarak belirlenebilmektedir.

Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (The Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD) test yönergeleri olarak resmi olarak onaylanan in vitro genotoksisite testleri arasında bakteriyel ters mutasyon testi, kromozom sapmaları testi, mikronükleus testi ve kardeş kromatit değişim analizi bulunmaktadır. İn vitro testler, maddelerin (örneğin ilaç adayları, tıbbi bitki ekstraktları, kimyasal maddeler vb.) taraması ve başlangıç güvenliğinin değerlendirilmesi için geçerli genotoksisite testleri olarak kabul edilmektedir. In vivo testler, in vitro testin doğrulanması ve insanlar için risk değerlendirmelerinde önemli süreçler olarak bilinmekte ve in vitro testlere kıyasla daha fazla etkiye sahip oldukları belirtilmektedir. In vivo comet yöntemi de özellikle insan biyoizleme çalışmalarında sık olarak kullanılan bir yöntemdir (115).

### 2.4.1. Tek Hücre Jel Elektroferez (Comet) Yöntemi

Comet deneyi, ökaryotik organizmaların her türlü hücre tipine ve aynı zamanda kültürdeki hücrelerde, mayada, bitki ve hayvan hücrelerindeki DNA hasarının değerlendirilmesi için de kullanılan bir yöntemdir. İlk olarak Östling ve Johanson tarafından tek hücre düzeyinde DNA iplik kırıklarının ve DNA hasarı ve onarım düzeyinin incelenmesi için geliştirilen basit ve hassas bir yöntemdir (116, 117). Çevresel ve mesleki maruziyetlerin etkilerini değerlendirmek amacıyla, özellikle beyaz kan hücreleri üzerinde uygulanmak üzere, insan biyoizleme çalışmalarında geniş bir şekilde kullanılmıştır. Beslenme ve terapötik uygulamaların yaşlanma ve bazı hastalıkların DNA hasarı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (118). Yöntem her tür omurgasız ve omurgalı türlerden alınan örnekler üzerinde uygulanabilmektedir. Beyaz kan hücreleri, kemik iliği, karaciğer, böbrek, beyin, mesane, akciğer, mide, solungaç, hemolenf, sindirim bezi, embriyo hücreleri, yumurtalık ve testis gibi çeşitli hücre türleri ve dokulara ve aynı zamanda germ hücreleri (oositler ve sperm) ve hatta embriyolar üzerinde de uygulanabilen masraflı olmayan hızlı bir yöntemdir. Comet yönteminde tam kan ve özellikle izole polimorfonükleer (PMN) hücreler en çok kullanılan örneklerdendir. Ayrıca insan biyoizleme programlarında, bukkal mukozanın epitelyal hücreleri, nazal epitelyum ve lens epitelyumu, kornea ve gözyaşı kanalı dahil olmak üzere oküler hücreler ve tükürük kullanılan noninvaziv örneklerdendir (118).

Hücreler düşük erime noktalı (LMP) agaroz içinde 37 °C'de süspansiyon haline getirilerek mikroskop lamaları üzerine yayılmakta ve agarozun katılaşması sağlanmaktadır. Jel içine gömülü hücreler daha sonra membranlar ve diğer sitoplazmik materyallerin uzaklaşması ve proteinlerden arındırılmış ve nükleer matrise bağlı süperkoillenmiş DNA içeren çekirdeklerin (nükleotidlerin) oluşması için lize edilmektedir. Daha sonra, hücreler alkali ortamda elektroforeze tabi tutulmaktadır. Elektroferez sırasında 'kuyruklu yıldızlar' oluşmaktadır. Kırıklar içeren ve süper sarmalı

bozulmuş DNA döngüleri, (DNA negatif yüklü olduğu için) anoda doğru hareket etmekte ve kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturmakta, oysa zincir kırıkları olmayan DNA hareket etmemektedir. Kuyruklu yıldızın kuyruğundaki toplam DNA oranı, hücredeki DNA kırıklarının sıklığının nicel bir göstergesidir. Elektroforezden sonra, nötralizasyon (yani, jellerden alkali çözeltinin çıkarılması) ve slaytların yıkanması gerçekleşmektedir. Daha sonra deneyin son aşamasında DNA'nın boyanması, kuyruklu yıldızların görselleştirilmesi ve niceliklerinin hesaplanması yer almaktadır (119).

#### **2.4.2. Mikroçekirdek Yöntemi**

Mikronükleus hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan ve tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan, esas çekirdeğe dahil olmayan oluşumlar olarak tanımlanmaktadır. Genellikle hücre siklusunu kontrol eden genlerdeki eksikliklerden, mitotik iğdeki hatalardan, kinetokor fonksiyon bozukluklarından veya kromozomal hasarlardan kaynaklanmaktadır. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak kabul edilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarken, klastojenler kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle, MN sayısındaki artış somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. MN testi, kolay skorlanabilir, ek kültür işlemi gerektirmeyen ve farklı hücre tiplerinde uygulanabilen bir testtir (120). Klastojenik etkili bileşiklerin oluşturduğu kromozomal hasarların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan standart bir genotoksisite testidir ve hem in vivo hem de in vitro uygulanabilmektedir. MN'ler hücre döngüsü boyunca meydana gelen hasarlardan kaynaklandığı için, kromozomal aberasyonların aksine, hücre bölünmesi süresince oluşmaktadır. MN testi, kromozom analizine göre kolay uygulanabilmesi, daha fazla sayıda hücre sayılabilmesi ve istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi

gibi avantajları sayesinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (120).

Mikronükleus testi, kromozom seviyesindeki DNA hasarının (örn. kromozomal istikrarsızlığın taraması, DNA tamir kapasitesi, nükleer bölünme hızı, mitojenik yanıt ve nekrotik ile apoptotik hücrelerin insidansı) güvenilir, hızlı ve geniş spektrumlu bir şekilde tespit edilmesinde son derece etkilidir (121). Comet testinin yanı sıra, hücrelerde mikronükleus olarak bilinen küçük zarla çevrili DNA parçacıklarının oluşumunu indükleyen kimyasalların genotoksisite ve mutajenite tespiti için MN testi geliştirilmiştir (122). Esas olarak, MN testi, kromozom yapısını değiştirebilen ve segregasyon hatasını indükleyebilen potansiyel genotoksik kimyasalları tespit edebilmektedir (123). Birçok araştırmada, MN testinde kullanılan standart laboratuvar hayvan suşları F344 sıçanı, Sprague Dawley (SD) sıçanı ve Swiss Webster Albino kırmızı gözlü beyaz (CD-1) faresidir. MN testini kullanan son çalışmalar, artan MN frekansının kanser riski ile ilişkili olduğunu göstermekte ve böylece MN'nin kanserojenin bir biyobelirteci olabileceğine dair kanıtları desteklemektedir (124). MN Testi, çevresel ve mesleki genotoksik ajanlara inhalasyon ve yerel maruz kalmanın biyomonitörizasyonunda yaygın olarak uygulanmaktadır. Son yıllarda bu teste artan ilgi oral kanser ve premalign lezyonların takibi ile de ilişkilendirilmiştir. Ağız hücrelerindeki MN frekansı, birçok çalışmada ağız hastalıkları ve kanseri için prognostik bir belirteç olarak gösterilmekte ve oral kanser biyomonitörizasyonu için iyi bir aday gibi görünmektedir (125). Oral epitel, mekanik, kimyasal ve termal travmalara sık maruz kalma nedeniyle farklı klinik sonuçlar ve malignite dereceleri ile karakterize lezyonların gelişimi için hedeftir. Lökoplaki, oral liken planus ve oral submuköz fibrozis gibi bazı oral lezyonlar premalign olarak tanımlanmakta ve oral skuamöz hücreli karsinom geliştirme riskinin artması ile ilişkilendirilmektedir. Klinik analizleri tamamlamak için spesifik biyobelirteçlerin kullanımı, kanser için artmış riski olan bireyleri tanımlamada önemli olabilmektedir (126). MN testi, ağız içi hücrelerde kullanılmakta ve bu biyobelirtecin kanser riski veya yatkınlığını gösterme potansiyeli baş ve boyun dışındaki çeşitli vücut bölgelerinde tümörü olan hastalarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır

(127, 128). Bu yaklaşım, çok sayıda çalışmada araştırılmakta ve geniş bir kanser türü yelpazesinde kullanım olanağı sunduğu öne sürülmektedir. Ayrıca, diyabet ve çeşitli kronik hastalıklara ilişkin araştırmalarda MN frekansında artış gözlemlenmekte, bunun hücrel hasar veya stresin tespitinde kanser dışında daha geniş bir uygulama alanına işaret ettiği belirtilmektedir (129). Mikronükleusların yanı sıra, ağızdan atılan hücrelerdeki piknozis, karyoliz ve karyoreksis gibi diğer nükleer değişiklikler sitotoksik etkilerin ve hücrel ölüm süreçlerinin belirteçleri olarak tanımlanmış, bu da ağız içi hücre analizinin hücrel sağlık ve hastalık mekanizmalarını anlamada çeşitli uygulamalarını vurgulamıştır (130, 131).

**Sitokinez-blok mikro-çekirdek testi (CBMN):** İnsan, kemirgen, tavşan, balık, köpek, primatlarının lenfositleri veya hücre hatları için ve insan biyoizleme çalışmalarında, in vitro veya in vivo genotoksisite çalışmalarında kullanılmaktadır. MN, sitokinezin sitokalazin B eklenmesiyle durdurulduğu iki çekirdekli hücrelerde sayılmaktadır. In vitro ve in vivo en popüler MN testidir. Sadece MN sayımı dışında, deney nükleoplazmik köprüler, nükleer tomurcuklar, nükleer kabarcıklar, nekrotik ve/veya apoptotik hücreler gibi diğer biyobelirteçlerin tespiti ile genişletilebilmektedir. Bu tür deneylere CBMN sitometri deneyi denir ve DNA hasarı ve onarımı, sitostaz ve sitotoksisite hakkında ek bilgiler vermektedir (132).

**Memeli Eritrosit mikro-çekirdek testi:** İnsan, kemirgen, tavşan, balık, köpek ve primatların olgunlaşmamış eritrositlerinde kullanılmaktadır. Testler genellikle genç kemirgenler üzerinde yapılmakta, ancak periferik kan ölçümüne dayalı insan popülasyonunun biyoizlemesi mümkün olmaktadır. Periferik kanda eritrositlerde tamamlandığında, dalak seçimi göz önünde bulundurulmaktadır. Eritrosit mikronükleus deneyi (EMN), başlangıçta genç fareler ve sıçanların kemik iliğinden alınan olgunlaşmamış eritrositler üzerinde gerçekleştirilmektedir (133). EMN, radyoterapi ve kemoterapi sonrası sitogenetik hasarı belirlemek için insan kemik iliğinden alınan hücrelerde uygulanmıştır (134). Yöntemin girişimsel olması nedeniyle, periferik kanda olgunlaşmamış eritrositlerdeki MN frekansının değerlendirilmesine dayanan alternatif bir yaklaşım geliştirilmektedir.

Olgunlaşma sırasında, eritrosit öncül hücreleri çekirdeklerini kaybetmekte ancak, çekirdekli aşamada oluşan MN'yi korumaktadır. Olgunlaşmamış eritrositler sitoplazmalarında hala RNA içerdikleri için olgun eritrositlerden kolayca ayırt edilebilmektedir (135).

**Bukkal mikro-çekirdek (BMN) testi:** İnsan epitel bukkal hücreleri için kullanılmaktadır. Pek çok faktörün; sigara ve alkol tüketimi gibi yaşam tarzı alışkanlıklarının, kimyasalların, hastalıkların genotoksik ve sitotoksik sonuçlarını değerlendirmek ve insan biyoizleme çalışmaları için uygundur. BMN yaklaşık 40 yıldır kullanılmakla birlikte, pratikliği ve invaziv olmayan bir yöntem olması nedeniyle son yıllarda daha fazla ilgi görmektedir (136). MN, oral epitelde bölünen bazal hücrelerde oluşmakta ancak bukkal yüzeyde keratinize tabakada farklılaşmış hücrelerde gözlemlenmektedir (137). MN'nin yanı sıra, hücre ölümü ile ilgili olanlar da dahil olmak üzere bazı diğer sitogenetik biyobelirteç de analiz edilebilmekte, bu da DNA hasarının kökeni, sitostaz ve sitotoksosite hakkında daha fazla bilgi vermektedir (130). Bu yaklaşım BMN deneyi olarak da adlandırılmaktadır (131).

Bukkal hücrelerdeki MN, hızla bölünen bukkal epitel dokusunda oluşmaktadır. Oral boşluktan alınan hücreler, inhalasyon ve gıda alımı yoluyla genotoksik veya sitotoksik faktörlere periferik kan lenfositlerinden daha fazla maruz kalmaktadır (138). BMN, beslenmenin, yaşam tarzı faktörlerinin, genotoksin ve sitotoksin maruziyetinin etkisini araştırmak için kullanılmaktadır. Bukkal hücrelerdeki MN frekansı ile hızlandırılmış yaşlanma riskinin, belirli kanser türlerinin ve nörodejeneratif hastalıkların artması arasında bir korelasyon bulunmaktadır (139). BMN muhtemelen minimal invaziv bir işlem olması, uygulamanın kolay olması ve hücre örneklerinin oral boşluktan alınması gibi nedenlerle giderek daha popüler bir sitogenetik yöntem olarak kabul edilmektedir.

### **2.4.3. Otomotiv Sektörü Çalışanlarında Gözlenebilen Genotoksosite Çalışmaları**

Yakın dönem çalışmalarına göre, boyalara mesleki maruziyet,

akciğer, mesane ve pankreas kanseri gibi çeşitli kanser türlerinin yanı sıra lenfatik ve hematopoetik tümör riskini artırabilmektedir. Bu bulgular, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın 1989 yılında yayınladığı raporla uyumlu olup, raporda boyama işleminin mesleki bir kanser nedeni olarak sınıflandırıldığı ve boya üretim sürecine maruz kalmanın belirli kanser türlerinin riskini artırdığına dair daha fazla kanıt sunulmaktadır (140).

Boya ürünlerinin üretiminde birçok kimyasal bileşen kullanılmaktadır; bunlar arasında pigmentler, dolgular, bağlayıcılar, katkı maddeleri ve çözücüler (toluen, ksilen, ketonlar, alkoller, esterler ve glikol eterler) bulunmaktadır. Boya üretimi çalışanları, boya ürünlerinde bulunan kimyasallara maruz kalabilir, ancak bireysel ajanlara maruz kalma düzeyleri ve modelleri boyacılardan farklı olabilmektedir (141).

Otomobil üretim sanayisinde boya ve yapıştırıcılara maruz kalan işçilerde, lenfositlerde ve oral kromozomal aberasyonlar, kardeş kromatid değişimi, mikronükleuslar ve lökositlerde Comet testi ile tespit edilen DNA hasarı bildirilmiştir (13). Diaz ve arkadaşlarının (142) yaptığı bir çalışmada, Küba'daki boya endüstrisi çalışanlarının periferik lenfositlerinde ve oral mukozal hücrelerinde MN artışı gözlenmiştir. In vivo genotoksisite çalışmaları, kurşun bazlı boyaların toz ve dumanlarının boyacılarda kromozomal hasara ve kalıtsal kromozomal aberasyon seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğunu göstermiştir (4). Cárdenas-Bustamante ve arkadaşları (14) boya fabrikası çalışanlarında organik çözücülere maruz kalma derecesi ile MN ve Comet testi kullanarak sitogenetik değişiklikler arasındaki ilişkiyi araştırmış ve maruz kalan ile maruz kalmayan çalışanlar arasında genetik biyogöstergeler açısından istatistiksel bir fark bulamamışlardır.

Toluen, endüstriyel boya sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Trikloroetilen, diklorometan (metilen klorür) ve perkloroetilen gibi klorlu çözücüler de boya kalıntılarının temizlenmesinde kullanılmaktadır. Boyalarla uğraşan çalışanlar, buhar ve gazların solunması, dermal emilim ve/veya yutma yoluyla iş ortamında uçucu organik bileşenlere önemli ölçüde maruz kalmaktadır. Bu kimyasalların akut ve kronik sağlık



etkilerine neden olduğu bilinmektedir (143).

Organik çözücüler endüstride yaygın olarak kullanılmakta ve dünya genelinde büyük miktarlarda tüketilmektedir. Organik çözücüler, boyalar, ilaçlar, yağ çözücüler, yapıştırıcılar, baskı mürekkepleri, pestisitler, kozmetikler ve ev temizleyicileri gibi alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca, çevresel mevzuat, Kuzey Amerika ve Avrupa'da daha geleneksel, çözücü bazlı boyaların yerine su bazlı boyaların kullanımının artmasına yol açmıştır (144). 1987 Montreal Protokolü, çevresel düzenlemelerde bazı çözücülerin, özellikle kloroflorokarbonların troposferik ozona zararlı etkileri sonucu ozon tüketen çözücülerin üretiminin kısıtlanmasına veya kademeli olarak durdurulmasına yol açmıştır (144). Son zamanlarda, 1,1,1-trikloroetan (metilkloroform) gibi ozon tüketen ajanların yerine kullanılan 1-bromopropan çözücüsünün insanlarda nörotoksik olduğu gösterilmiştir (145).

Kohort çalışmaları çözücülerin yoğun maruz kalan işçilerde bilişsel işlevleri etkileyebileceğini öne sürmektedir (146). Çözücü maruziyetlerinin etkilediği bilişsel alanlar arasında dikkat, sözel hafıza ve görsel-mekansal beceriler bulunmaktadır. Çözücü nörotoksitesinin, en az 10 yıl boyunca çözücülere mesleki maruziyeti olanlarda daha yaygın olduğuna dair bazı kanıtlar bulunmaktadır (146). Çözücü karışımlarının sinir sistemi üzerine olumsuz etki mekanizması belirsizdir, ancak çözücülerin toksik ara ürünlere metabolize edilmesinin önemli olabileceği düşünülmektedir. Sorumlu ajanı tanımlamak zordur çünkü birçok işçi endüstriyel çözücü karışımlarına maruz kalmaktadır (147).

Bir çalışmada çözücülere maruz kalan Parkinson hastalarının ortalama olarak beklenenden üç yaş daha genç olduğu ve Parkinson tanılı ve çözücülere maruz kalmamış hastalara göre L-dopa'ya daha az yanıt verdikleri bulunmuştur (148). Şiddetli vakalarda hastalık, iş değişikliğine veya erken emekliliğe yol açabilmektedir. Çözücü maruziyetleri, esansiyel tremor için olası bir risk faktörü olarak öne sürülmekte, ancak ilişki göstermeyen çalışmalarda bulunmaktadır (148).

Bazı çözücülerin periferik nöropatiye neden olabileceğine dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (149). Klinik olarak, önce ayaklarda ve alt

bacaklarda belirtilerle kendini göstermekte ve sonra elleri etkileyecek şekilde ilerlemektedir. Belirtiler arasında duyuusal-motor nöropati, duyu değişikliği, titreşim algısının kaybı, bozulmuş propriosepsiyon, kötü denge ve distal kas erimesi bulunmaktadır. En çok araştırılan ajan n-heksandır (149). Ohio'daki bir tekstil baskı fabrikasında periferik nöropati olgularının fazlalığı sonucunda metil n-bütil ketonun nörotoksik olduğu gösterilmiştir (150). Yaygın olarak kullanılan ketonların (aseton, metil etil keton ve metil izobütil keton) n-heksan ve diğer çözücülerin toksisitesini artırabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmaktadır, maruziyetlerin toplamılığına dayanarak karışık çözücü maruziyetlerinin hesaplanması yönteminde şüpheler uyandırmaktadır (151). Tehlikeli maddelere mesleki olarak maruz kalan işçilerin, maruziyet biyobelirteçleri ve genotoksik, oksidatif ve inflamatuvar etkilerin biyobelirteçlerini kullanarak biyoizleme, toksisitenin erken tespiti için yararlı veriler sağlayabilmektedir. Ayrıca, sağlık risklerinin tahmin edilmesinde önemli bir rol oynayarak hastalıkların önlenmesine yardımcı olabilmektedir (75). Çok düşük seviyelerde ksenobiyotiklere kronik maruz kalma durumunda veya birkaç maddeye maruz kalma durumunda bile, işyeri maruziyetlerinin sağlık etkisini ölçmemize izin verecektir. Bu, tehlikeli olarak kabul edilmeyen koşullarda bile geçerli olmaktadır (152).

Tersane boyacılarında yapılan çalışmada uçucu organik bileşiklere maruziyetin neden olduğu erken sitojenotoksik, oksidatif ve inflamatuvar etkileri değerlendirmek için hassas ve invazif olmayan biyobelirteçleri belirlemeyi amaçlamıştır (7). 11'i sprey ve 6'sı rulo boyacı olmak üzere 17 boyacı ve 18 sağlıklı kontrol grubu üzerinde BMN testi; lenfositlerde comet testi; idrarda 8-oxoGua (8-oxo-7,8-dihidroguanin), 8-oxodGuo (8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin) ve 8-oxoGuo (8-okso-7,8-dihidroguanozin) tespiti ve serumda sitokin salınımı ölçümleri yapılmıştır. BMN testiyle sitojenotoksikite ve rulo boyacılarda daha düşük VOC konsantrasyonlarına maruz kalanlarda inflamatuvar etkiler (IL-6 ve TNF $\alpha$ ) saptanmıştır. Her iki işçi grubunda da comet testiyle direkt ve oksidatif DNA hasarı (ruloda biraz daha yüksek oksidatif DNA hasarı) ve kontrollere kıyasla idrada 8-oxoGuo artışı ve 8-oxodGuo ve 8-oxoGua azalması bulunmuştur. İşçi sayısının az olması

bir sınırlılık olmakla birlikte, çalışma, boyacılar gibi karmaşık karışımlara maruz kalan işçilerde kullanılan biyobelirteçlerin risk değerlendirmesinde yararlılığını göstermektedir (7). Moro ve ark. (11) düşük toluen seviyelerine sahip endüstriyel boyacıların lenfositlerinde DNA hasarını comet yöntemiyle yüksek tespit etmişler ancak mikronükleus sıklığında bir artış gözlememişlerdir. Brezilyalı boya endüstrisi çalışanlarında da benzer şekilde comet testi ile lenfositlerde DNA hasarının yüksek olduğu ancak yanak hücrelerinde mikronükleus indüksiyonu bulunmadığı de Oliveira ve ark. (4) tarafından bulunmuştur. Brezilyalı otomobil boyacılarının yanak hücrelerinde BMN testini kullanarak sitotoksik veya genotoksik etkiler gözlenmiştir (153). Chang ve ark. (154) sprey boyacılarında etilbenzene maruz kalma ile idrarda 8-OHdG arasında anlamlı bir korelasyon bildirmiştir. Organik çözücülere ve boyalara maruz kalma, aynı zamanda otomobil boyacılarının lenfositlerinde formamidopirimidin-glikosilaz (Fpg) comet testi ile değerlendirilen oksidatif DNA hasarı ile de ilişkilendirilmiştir (9).

Açık havada boyacılık yapanlarda yapılan bir çalışmada, mesleki maruziyet riskini belirlemek amacıyla bir hasta takip çalışması tasarlanmıştır (155). Grup seçimi, yaşam tarzı ve tıbbi geçmiş hakkında sorular içeren bir anketin uygulanmasından sonra yapılmıştır ve diğer potansiyel genotoksik kaynaklara maruziyeti dışlamak için yapılmıştır. Sigara ve alkol alışkanlıkları da dikkate alınmıştır. 25 kamu binası boyacısından ve yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş benzer sayıda kontrolden kan ve bukkal hücre örnekleri alınmıştır. Boya örneklerinde ve bireylerin kanında kurşun seviyeleri ölçülmüştür. Kan örneklerinde organik çözücüler ve/veya metabolitleri de belirlenmiştir. Periferik kan lenfosit kültürlerinde kromozomal aberasyonlar ve kardeş kromatid değişimleri düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca, bukkal hücrelerde mikronükleus sıklığı araştırılmıştır. Boyacılarda kanlarında daha yüksek kurşun seviyeleri ( $p<0.05$ ); lenfositlerde CA ve SCE ile epitel hücrelerinde MN de yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Sitogenetik hasar, mesleki maruziyet süresi ile anlamlı bir şekilde ilişkilendirilmiş ancak kandaki kurşun seviyeleri ile ilişkilendirilmemiştir (155). Otomobil boyacıları grubunda ortalama sapma gösteren metafazlarda

iki kat artış bulunmuştur (156). Buna karşılık, Haglund ve arkadaşlarının (157), İsveç boyama endüstrisi çalışanları üzerinde yaptığı araştırmada, kardeş kromatid değişimi veya kromozomal aberasyonlarda önemli bir artış bulamamıştır. Araştırma, ksilen veya toluen gibi organik çözücülere maruz kalan 17 işçi ve eşleştirilmiş referans grubu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, hem SCE hem de CA açısından maruz kalan grup ile referans grup arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir (157).

Testa ve arkadaşlarının (13) "Otomobil Boyacılarında DNA Hasarının Çoklu Biyobelirteç Analizi" başlıklı çalışması, otomobil boyama işlemi ile ilişkili genotoksik etkileri bir dizi biyobelirteç kullanarak araştırmıştır. Araştırmacılar, İtalya'daki çeşitli oto boyama atölyelerinde çalışan 25 otomobil boyacısında (12'si sigara içen, 13'ü içmeyen) ve yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 37 kontrol deneğinde kromozomal aberasyonlar, kardeş kromatid değişimi ve mikronükleus sıklığını değerlendirmiştir. Çalışma ortamlarından alınan hava örneklerinde sürekli olarak yüksek düzeyde benzen ve toluen tespit edilmiştir. Boyacılar da CA, MN ve SCE sıklıkları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Ayrıca, hem deney hem de kontrol grupları GSTM1 ve GSTT1 genetik polimorfizmleri açısından değerlendirilmiş, ancak bu genotipler ile biyobelirteç yanıtları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Sonuçlar, otomobil boyacılarında klastojenik hasar seviyelerinin arttığını ve sigara içmenin genotoksik yanıtlar için bir karıştırıcı faktör olabileceğini göstermektedir (13).

Bogotá'daki iki boya fabrikasında ve maruz kalmayan bir kontrol grubunda benzen, toluen ve ksilene maruz kalma biyobelirteçleri olarak sırasıyla idrarda fenol, hippürik ve metilhippürik asitlerin atılımı incelenmiştir (14). Ayrıca iş ortamında hava benzen, toluen ve ksilenin konsantrasyonları ölçülmüştür. Erken genetik etkileri değerlendirmek için periferik kan örneklerindeki mononükleer hücrelerde mikronükleus ve DNA zincir kırılma frekansı değerlendirilmiştir. Hippürik asit konsantrasyonu ortalama değerler içinde bulunmuş; buna karşılık, fenol ve metil hippürik asit örnek konsantrasyonları sırasıyla ortalama değerlerin %3,3 ve %50,8'in

üzerinde saptanmıştır. Hava benzen konsantrasyonu fabrikalardan birinde izin verilen sınırların üzerinde bulunmuştur. Maruz kalan ve maruz kalmayan çalışanlar arasında genetik biyobelirteçler açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır (14).

Çalışma sayısı az olmakla birlikte, VOC'lerin, özellikle toluen ve ağır metallerin, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtları tetikleyebileceği öne sürülmektedir. Birçok çalışma, VOC'lerin toksisitesinin ana mekanizmalarından birinin oksidatif stres olduğunu göstermiştir (18). Boyacılar üzerinde yapılan bir çalışmada, toluene maruz kalan boyacılarda katalaz aktivitesinin, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (18). Birkaç çalışma, tolueni ana sorumlu bileşik olarak gösterse de, boyahane endüstrisinde bulunan birçok tehlikeli kimyasalın bir arada maruziyetinin, oksidatif stresle indüklenen hasara katkıda bulunabileceği ve meslek hastalıklarına yol açabileceği belirtilmektedir. VOC'lerin, nükleik asitlere zarar vererek oksidatif stres, genotoksisite ve inflamasyona neden olabileceği bildirilmiştir (143).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

8-OHdG, Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Glutasyon Redüktaz (GR), Glutasyon (GSH), Malondialdehit (MDA) Ölçüm Kitleri	Shanghai SunRed Biological Technology
İnsan TNF-alfa, IL-1beta, IL-17, IL-23, CC16 ELISA Kitleri	ELK Biotechnology
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich
Düşük Erime Noktalı Agar (LMPA)	Sigma
Etidiyum Bromür (EtBr)	Sigma-Aldrich
Etil Alkol	Sigma-Aldrich
Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)	Sigma-Aldrich
Ficoll (Histopaque-1077)	Sigma
Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik (PBS) Tablet	Sigma
Nitrik asit (HNO <sub>3</sub> ) (% 65)	Merck
Metil Alkol	Sigma-Aldrich
N-Lauril Sarkosinat Sodyum Tuzu	Sigma-Aldrich
Normal Erime Noktalı Agar (NMPA)	Sigma
Pierce™ BCA Protein Test Kiti	ThermoFisher Scientific
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma-Aldrich
Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma
Tris	Sigma
Triton X-100	Sigma

### 3.2. Araç ve Gereçler

Buzdolabı	Hotpoint
Cam Pastör Pipeti	Interlab
Comet Bilgisayarlı Görüntüleme Sistemi	Comet Analysis Software
Derin Dondurucu (-20 <sup>0</sup> C)	Ariston
Derin Dondurucu (-80 <sup>0</sup> C)	Revco
Distile Su Cihazı	Mes
Elektroforez	Biometra Analitik
Elektroforez Güç Kaynağı	Power Pack P25
Floresan Mikroskop	Leica
Hematoloji Otoanalizörü	Sysmex XN-2000
İnkübatör	Heraeus Instruments
Karıştırıcı-Isıtıcı	Jankel&Kunkel, Ikamag
Kırık Buz Makinası	Scotsman AF100
Lam (26x76mm)	Marienfeld
Lamel (24x60mm)	Marienfeld
Manyetik Karıştırıcı	Stuart Scientific
Mikrodalga Fırını	Vestel
Mikropipet, 8 kanallı (5-300 µl)	Eppendorf
Mikropipetler (1 µl, 10 µl, 200 µl, 1000 µl)	Discovery Confort
Mikrosantrifüj	Hettich
Mikrosantrifüj Tüpü (15 ml)	Eppendorf
<i>Neubauer</i> Camı (Hücre sayım camı)	Marienfeld
pH metre	Cyberscan
pH metre elektrodu	Hanna HI 1131
Pipet Ucu (0,5-10, 10-200, 100-1000 µl)	Eppendorf
Santrifüj	Heraeus, Hettich
Santrifüj Tüpü (Falcon 15 ml)	Isolab
Spektrofotometre	Spektramax M2
Su Banyosu	Termal Lab. Aletleri
Terazi (Hassas)	Mettler Toledo

Ultrasonik Banyo  
Vorteks

Transsonic 460/H  
Heidolph Reax 2000



### 3.3. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Seçimi

Araştırmaya dahil edilen çalışma grubu, Ankara’da oto boyama alanında en az bir yıl çalışmış 110 erkek işçiden oluşmuştur. Katılımcıların yaş, sigara içme ve alkol kullanma alışkanlıkları ve iş yerinde koruyucu ekipman (maske, eldiven, gözlük) kullanımını sorgulanmıştır. Çalışmaya aktif enfeksiyon geçiren, kronik hastalıkları ve solunum sıkıntıları olan, radyoterapi veya kemoterapi geçmişi olan bireyler dahil edilmemiştir.

Kontrol grubu işleri gereği olarak kimyasal madde maruziyet öyküsü olmayan ve benzer yaş, sigara içme alışkanlıkları ve yaşam tarzına sahip 60 erkek ofis çalışanından oluşmaktadır. Çalışma grubuna benzer şekilde, aktif enfeksiyon, kronik hastalıklar, solunum semptomları, radyoterapi veya kemoterapi geçmişi olan bireyler kontrol grubu olarak değerlendirilmemiştir.

Çalışma ve kontrol grupları çalışmanın amacı hakkında bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır. Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan Helsinki Bildirgesi’ne uygun olarak onay alındıktan sonra başlanmıştır (etik kurul onay tarihi: 29 Haziran 2021, numara: GO 21/ 883) (Bkz. Ek-2).

Çalışma ve kontrol gruplarına yaş, sağlık durumu, tıbbi geçmiş, sigara ve alkol kullanımı, beslenme alışkanlıkları ve eğitim durumu hakkında detaylı bir anket uygulanmıştır (Bkz. Ek-3).

### 3.4. Çalışma ve Kontrol Gruplarından Biyolojik Örneklerin Alınması

Çalışmamızda kullanılan işçi ve kontrol grubunun kan örnekleri Ankara Mesleki ve Çevresel Hastalıkları Hastanesi'nde mesai bitiminde alınmıştır. Her gönüllüden toplam 10 ml periferik kan örneği alınmış, alınan tüm kan örnekleri +4 °C'de saklanmış ve 6 saat içinde işlenmiştir. Kan örneklerinin toplanması sırasında, hemogram ve biyokimyasal analizler için 2 ml kan EDTA içeren tüplerde toplanmış, hemen 4000 rpm'de 15 dakika santrifüje edilerek plazma ayrılmıştır ve örnekler Ankara Mesleki ve Çevresel Hastalıkları Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında ölçülmüştür. Ayrıca, DNA hasar, oksidatif stres ve immün parametrelerin analizi için

8 ml kan sodyum heparin içeren tüplerde toplanmış, 2 ml heparinize kan DNA hasarının analizi için kullanılmıştır. Her bir gönüllüden alınan kan örneği soğuk taşıma kabında ve ışıktan korunarak 6 saat içinde Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na ulaştırılmıştır. Oksidatif stres ve immün parametrelerinin analizi için 6 ml heparinize kan santrifüje edildikten sonra ayrılan plazma örnekleri -20 °C'de dondurulmuştur ve analiz gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır.

### 3.5. Hazırlanan Çözeltiler

Plazma örneklerinde protein tayini yapıldıktan sonra oksidatif stres ve immün parametreler için plazma örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), tümör nekroz faktör-alfa (TNF-alfa), interlökin (IL)-1beta, IL-17, IL-23 ve Clara hücre sekretuar protein (CC16) düzeyleri ELISA test kitleri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

#### 3.5.1. Oksidatif ve İmmün Göstergelerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Çözeltiler

Oksidatif hasarın değerlendirilmesi için plazma SOD, CAT, GPx, GR, GSH, MDA, 8-OHdG düzeyleri Shanghai SunRed Biological Technology Co., Ltd'den (Baoshan Bölgesi, Çin) temin edilen ELISA tayin kitleri ile ve immün hasar göstergelerinin değerlendirilmesi için plazma TNF-alfa, IL-1beta ve CC16 seviyeleri ELK Biotechnology Co., Ltd'den (Denver, ABD) temin edilen ELISA test kitleri kullanılarak üretici talimatlarıyla spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Bu kitler, uygun şekilde hazırlanmaları için oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Hazırlık ve saklama sırasında steril teknikler kullanılarak enzimin hassasiyeti korunmuştur.

Her bir kit, biyotin konjuge birincil antikörlerin tespiti için gerekli olan, *horseradish peroksidaz* (yaban turpu peroksidaz) (HRP) enzimi ile kovalen olarak bağlanmış streptavidin proteini içeren HRP-Konjuge Streptavidin Reaktifi içermektedir. Bu reaktif, 4°C'de saklandığında iki ay boyunca stabil kalmaktadır.

Ayrıca kitler, 20 ml 20X veya 30X Yıkama Tamponu içermektedir. Kullanılmadan önce, bu yıkama tamponu distile su ile seyreltilerek 1X çözelti elde edilir. Hem HRP-Konjuge Streptavidin Reaktifi hem de yıkama tamponu 4°C'de saklandığında iki ay boyunca stabilitesini korumaktadır.

Shanghai SunRed Biological Technology firmasından temin edilen ELISA kitleri ayrıca 6 ml Kromojen Çözeltisi A ve 6 ml Kromojen Çözeltisi B içermektedir. ELISA'larda HRP için substrat olarak kullanılan 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) kromojen çözeltisi karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir.

### **Standart SOD Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit SOD stok çözeltisi (Cu/Zn-SOD formunda, 160 ng/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. SOD stok çözeltisinden 1:1 dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanmıştır. Bu işlem için 6 temiz ve etiketlenmiş deney tüpü gerekmektedir. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiş ve ilk tüpe, 120 µl SOD stok çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışımdan 120 µl alınıp bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Bu işlem, kalan tüplerin hepsi için tekrarlanmıştır. Son tüpe stok çözeltisi eklenmemiş ve bu şekilde, 80, 40, 20, 10, 5 ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler elde edilmiştir. Kit 1ml biotinle işaretli SOD-1 anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Standart seyreltme tamponu ve biotinle işaretli SOD-1 anti-insan antikoru 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart CAT Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit katalaz (CAT) stok çözeltisi (400 ng/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. CAT stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, CAT stok çözeltisinden 120 µl eklenir ve karıştırılır; daha sonra bu çözeltilerden 120 µl

alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece, 200, 100, 50, 25, 12,5 ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olmaktadır. Kit 1ml biotinle işaretli CAT anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli CAT anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart GPx Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit GPx stok çözeltisi (240 ng/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. GPx stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, GPx stok çözeltisinden 120 µl eklenmiş ve karıştırılmış; daha sonra bu çözülden 120 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece, 120, 60, 30, 15, 7,5 ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kit 1ml biotinle işaretli GPx anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli GPx anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart GR Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit GR stok çözeltisi (160 ng/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. GR stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, GR stok çözeltisinden 120 µl eklenmiş ve karıştırılmış; daha sonra bu çözülden 120 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti

eklenmemiştir. Böylece, 80, 40, 20, 10, 5 ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kit 1ml biotinle işaretli GR anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli GR anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart GSH Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit GSH stok çözeltisi (24 nmol/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. GR stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, GSH stok çözeltisinden 120 µl eklenmiş ve karıştırılmış; daha sonra bu çözeltiden 120 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece, 12, 6, 3, 1,5, 0,75 ve 0 (kör) nmol/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kit 1ml biotinle işaretli GSH anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli GSH anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart MDA Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit MDA stok çözeltisi (128 nmol/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. GR stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, MDA stok çözeltisinden 120 µl eklenmiş ve karıştırılmış; daha sonra bu çözeltiden 120 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece, 64, 32, 16, 8, 4 ve 0 (kör) nmol/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kit 1ml biotinle işaretli MDA anti-insan antikoru

içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli MDA anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

MDA çözeltisi, TBA ile reaksiyona girerek ölçülebilir bir kompleks oluşturur, bu nedenle çözeltinin doğruluğunu sağlamak için bu reaksiyonun uygun şekilde yapılması önemlidir.

### **Standart 8-OHdG Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 500 µl sığır eritrosit 8-OHdG stok çözeltisi (128 ng/ml) ve 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmıştır. GR stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 6 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 120 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe, 8-OHdG stok çözeltisinden 120 µl eklenmiş ve karıştırılmış; daha sonra bu çözeltilerden 120 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Aynı işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece, 64, 32, 16, 8, 4 ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kit 1ml biotinle işaretli 8-OHdG anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli 8-OHdG anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

### **Standart TNF-alfa Çözeltisinin Hazırlanışı**

Kit 2 vial liyofilize edilmiş 1000 pg sığır eritrosit TNF-alfa ve 20 ml seyreltme çözeltisi içermektedir. Standart çözeltiler her zaman taze olarak hazırlanmış ve 15 dakika içinde kullanılmıştır. Liyofilize TNF-alfa içeren vial 1000×g'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve üzerine 1 ml standart seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklenmiş ve köpürtmemek için yavaşça karıştırılmıştır. Böylece 1000 pg/ml stok çözelti elde edilmiştir. TNF-alfa stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 7 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 500 µl

standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe TNF-alfa stok çözeltisinden 500 µl eklenmiş ve karıştırılmış, daha sonra bu çözeltiden 500 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır; benzer işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7,82 ve 0 (kör) pg/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

### **Standart IL-1 beta Çözeltisinin Hazırlanması**

Kit 2 vial liyofilize edilmiş 1000 pg sıgır eritrosit IL-1 beta ve 20 ml seyreltme çözeltisi içermektedir. Standart çözeltiler her zaman taze olarak hazırlanmış ve 15 dakika içinde kullanılmıştır. Liyofilize IL-1 beta içeren vial 1000×g'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve üzerine 1 ml standart seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklenmiş ve köpürtmemek için yavaşça karıştırılmıştır. Böylece 1000 pg/ml stok çözelti elde edilmiştir. IL-1 beta stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 7 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 500 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe IL-1 beta stok çözeltisinden 500 µl eklenmiş ve karıştırılmış, daha sonra bu çözeltiden 500 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmış; benzer işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7,82 ve 0 (kör) pg/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

### **Standart IL-17 Çözeltisinin Hazırlanması**

Kit 2 vial liyofilize edilmiş 1000 pg sıgır eritrosit IL-17 ve 20 ml seyreltme çözeltisi içermektedir. Standart çözeltiler her zaman taze olarak hazırlanmış ve 15 dakika içinde kullanılmıştır. Liyofilize IL-17 içeren vial 1000×g'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve üzerine 1 ml standart seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklenmiş ve köpürtmemek için yavaşça karıştırılmıştır. Böylece 1000 pg/ml stok çözelti elde edilmiştir. IL-17 stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 7 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 500 µl

standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe IL-17 stok çözeltisinden 500 µl eklenmiş ve karıştırılmış, daha sonra bu çözeltiden 500 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmış; benzer işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,82 ve 0 (kör) pg/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

### **Standart IL-23 Çözeltisinin Hazırlanması**

Kit 2 vial liyofilize edilmiş 1000 pg sığır eritrosit IL-17 ve 20 ml seyreltme çözeltisi içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmış ve 15 dakika içinde kullanılmıştır. Liyofilize IL-17 içeren vial 1000×g'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve üzerine 1 ml standart seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklenmiş ve köpürtmemek için yavaşça karıştırılmıştır. Böylece 1000 pg/ml stok çözelti elde edilmiştir. IL-17 stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 7 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 500 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe IL-17 stok çözeltisinden 500 µl eklenmiş ve karıştırılmış, daha sonra bu çözeltiden 500 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmış; benzer işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,82 ve 0 (kör) pg/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

### **Standart CC16 Çözeltisinin Hazırlanması**

Kit 2 vial liyofilize edilmiş 20 ng sığır eritrosit CC16 ve 20 ml seyreltme çözeltisi içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanmış ve 15 dakika içinde kullanılmıştır. Liyofilize CC16 içeren vial 1000×g'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve üzerine 1 ml standart seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklenmiş ve köpürtmemek için yavaşça karıştırılmıştır. Böylece 10 ng/ml stok çözelti elde edilmiştir. CC16 stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler oluşturulmuştur. Bu işlem için 7 adet temiz ve kodlanmış deney tüpü kullanılmıştır. Her bir tüpe 500 µl standart seyreltme tamponu eklenmiştir. İlk tüpe CC16 stok çözeltisinden 500 µl eklenmiş ve karıştırılmış, daha sonra bu çözeltiden



500 µl alınarak bir sonraki tüpe aktarılmış; benzer işlem diğer tüpler için tekrarlanmıştır. En sondaki tüpe stok çözelti eklenmemiştir. Böylece 10, 5, 2,5, 1,25, 10,63, 0,32, 0,16, ve 0 (kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

### **3.5.2. Tek Hücre Jel Elektrophorez Yönteminde Kullanılan Çözeltiler**

#### **Düşük Erime Sıcaklıklı Agaroz (LMPA) Çözeltisi**

1 g düşük erime sıcaklıklı agaroz (LMA), mikrodalga kullanılarak 100 ml PBS içinde çözülerek %1'lik LMPA çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden küçük hacimler alınarak buzdolabında saklanmıştır.

#### **Elektrophorez Tampon Çözeltisi**

1705 ml soğuk distile su, 52,8 ml 10 N NaOH ve 8,8 ml 200 mM EDTA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu tampon çözeltisi deney günü taze hazırlanmıştır. NaOH ve EDTA distile suda çözülmüş ve pH >13,0 olacak şekilde ayarlanmıştır.

#### **Etanol Çözeltisi (%50)**

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 150,3 ml alınmış ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanmıştır.

#### **Etanol Çözeltisi (%75)**

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 225,5 ml alınmış ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanmıştır.

#### **Etanol Çözeltisi (%98)**

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 294,5 ml alınmış ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanmıştır.

#### **Etidiyum Bromür (EtBr) Çözeltisi (20 µg/ml)**

10 mg EtBr, 50 ml distile suda çözülerek 200 µg/ml'lik stok EtBr çözeltisi hazırlanmıştır. Oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır.

**EDTA Çözeltisi (200 mM)**

14,89 g EDTA, 200 ml distile suda çözülmüş ve pH 10'a ayarlanmıştır. Çözelti oda sıcaklığında saklanmıştır.

**Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik (PBS) Çözeltisi**

Bir adet PBS tableti, 200 ml distile suda çözülmüştür. Çözelti 4°C'de saklanmıştır. PBS tamponunda hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. Hücrelerin taze ve canlı olmasına dikkat edilmiştir.

**Lizis Çözeltisi**

146,1 g NaCl, 37,2 g EDTA ve 1,2 g Tris 500 ml distile suda çözülmüştür. 10 g NaOH eklenerek pH 10'a ayarlanmıştır. Ardından, 10 g N-Lauril sarkosinat sodyum tuzu eklenmiş ve distile su ile son hacim 890 ml'ye tamamlanmıştır. Maddeler tamamen çözünene kadar karıştırılarak stok lizis çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti oda sıcaklığında saklanmıştır. 178 ml stok lizis çözeltisi, 2 ml Triton X-100 ve 20 ml Dimetil sülfoksit (DMSO) ile karıştırılmıştır. Bu karışım deney günü taze hazırlanmış ve kullanılacağı zamana kadar 4°C'de tutulmuştur. Deney sırasında soğuk olarak kullanılmıştır.

**NaOH (10 N)**

200 g NaOH, 500 ml distile suda çözülmüştür. Çözelti 4°C'de saklanmıştır.

**Normal Erime Noktalı Agar (NMPA) Çözeltisi**

1000 mg NMPA, mikrodalga kullanılarak 100 mL PBS içinde çözümlenerek %1'lik NMPA çözeltisi hazırlanmıştır. Yarı-buzlu lamlar NMPA (%1) çözeltisi ile kaplanmıştır. Lamlar oda sıcaklığında saklanmıştır.

**Nötralizasyon Tampon Çözeltisi:**

48,5 mg Tris, 750 ml distile suda çözülmüş ve pH 7,50'ye ayarlanmıştır. Çözelti, distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında saklanmıştır.

### 3.6. Hemogram ve Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Plazma örneklerinden beyaz kan hücresi (White Blood Cell, WBC), kırmızı kan hücresi (Red Blood Cell, RBC), hemoglobin (Hemoglobin, Hgb), hematokrit (Hematocrit, HCT), trombosit (platelet, PLT), glukoz, kreatinin, karaciğer fonksiyon parametreleri (aspartate aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) parametreleri (AST, ALT) Sysmex XN-2000 cihazı (Sysmex Europe GMBH, Bornbarch 1, 22848, Norderstedt, Germany) kullanılarak turbidemtrik yöntemle analiz edilmiştir. Örnekler duplike çalışılmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. Birimleri ise şu şekildedir: WBC, PLT, için  $10^3/\mu\text{l}$ ; RBC için  $10^6/\mu\text{l}$ ; Hgb için g/dl; HCT için %; glukoz ve kreatinin için mg/dl; AST ve ALT için U/l'dir.

### 3.7. Oksidatif Stres ve İmmün Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Plazma örneklerinde protein tayini yapıldıktan sonra oksidatif stres ve immün yanıt göstergelerinden SOD, CAT, GPx, GR, GSH, MDA, 8-OHdG plazma düzeyleri ELISA test kitleri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Birimleri ise şu şekildedir: SOD, CAT, GPx, GR, 8-OHdG için ng/ml; GSH ve MDA için nmol/ml; TNF-alfa, IL-1beta, IL-17, IL-23 ve CC16 için pg/ml olarak ifade edilmiştir.

#### 3.7.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyinin Ölçümü

Yöntem temel olarak enzim aracılığıyla antikor-antijen kompleksinden oluşan ürünün belirlenmesi esasına dayanmaktadır. SOD-1'e özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara SOD-1 eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş SOD-1 antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiye asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilerek sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan SOD enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon

mevcuttur.

### **Yönteminin Uygulanışı**

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile (80, 40, 20, 10, 5, 0 ng/ml) (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl SOD antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µl seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikropłaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kağıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri,

kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.

14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. SOD düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.2. Katalaz Enzim Düzeyinin Ölçümü

Özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara CAT eklenerek inkübe edilmiştir. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş CAT antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmaktadır. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan CAT enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Stok CAT çözeltisinin 1:1 dilüsyonları ile 200, 100, 50, 25, 12,5, 0 ng/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50  $\mu$ l standart ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40  $\mu$ l numune ve sonra 10  $\mu$ l CAT antikor ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50  $\mu$ L seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen

solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır).

5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikropkala çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. CAT düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.

17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Düzeyinin Ölçümü

Glutasyon Peroksidaza özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara GPx eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş GPx antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan GPx enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Stok GPx çözeltisinin 1:1 dilüsyonları ile 120, 60, 30, 15, 7,5, 0 ng/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50  $\mu$ l standart ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40  $\mu$ l numune ve sonra 10  $\mu$ l GPx antikor ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50  $\mu$ L seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikroparka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350  $\mu$ l 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kağıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu

uzaklaştırılmıştır.

9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. GPx düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

#### 3.7.4. Glutatyon Redüktaz Enzim Düzeyinin Ölçümü

Glutatyon Redüktaza özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara GR eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş GR antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözeltili oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı



450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan GR enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

#### **Yönteminin Uygulanışı**

1. Stok GR çözeltisinin 1:1 dilüsyonları ile 80, 40, 20, 10, 5, 0 ng/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl GR antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µl seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikrolaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kağıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri,

kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.

14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. GR düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.5. Glutasyon Düzeyinin Ölçümü

Glutatyona özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara GSH eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş GSH antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan GSH konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile 12, 6, 3, 1,5, 0,75, 0 nmol/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50  $\mu$ l standart ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40  $\mu$ l numune ve sonra 10  $\mu$ l GSH antikor ve 50  $\mu$ l Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50  $\mu$ L seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer

işlemler aynıdır).

5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmış ve mikroparka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. GSH düzeyi nmol/ml olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.6. Malondialdehit Düzeyinin Ölçümü

Malondialdehite özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara MDA eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş MDA antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan MDA konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile 64, 32, 16, 8, 4, 0 nmol/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl MDA antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır)).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikrolaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.

9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. MDA düzeyi nmol/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.7. 8-OHdG Düzeyinin Ölçümü

8-OHdG'e özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara 8-OHdG eklenmiş ve inkübasyon yapılmıştır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş 8-OHdG antikorları eklenmiş ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanmıştır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşmuştur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılmıştır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilmiş ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanmıştır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Renk şiddeti ile

örneklerde bulunan 8-OHdG konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon mevcuttur.

### **Yönteminin Uygulanışı**

1. Stok standardın 1:1 dilüsyonları ile 64, 32, 16, 8, 4, 0 ng/ml (6 adet) standart serisi hazırlanmıştır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl 8-OHdG antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilmiştir (diğer işlemler aynıdır).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikrolaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri,

kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.

14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
16. 8-OHdG düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.8. TNF-alfa Düzeyinin Ölçümü

TNF-alfa ölçüm kitinde sandviç enzim immünolojik test tekniği kullanılmıştır. Bu kitle kuyucuklar TNF-alfa'ya özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun kuyucuklara eklendikten sonra TNF-alfa'ya özgü biyotin konjuge edilmiş bir antikor eklenmiştir. Daha sonra HRP konjugatı her kuyucuğa eklenmiş ve inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra, yalnızca TNF-alfa, biyotin konjuge antikor ve HRP konjugatı içeren oyuklar renk değişikliği göstermektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmış ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerdeki TNF-alfa konsantrasyonu daha sonra numunelerin absorbansı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Kuyucuklar belirlendikten sonra ilgili kuyucuklara 100  $\mu$ L standart çalışma çözeltileri veya 100  $\mu$ L örnek eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 200  $\mu$ l 1X yıkama çözeltisi eklenmiş ve 1~2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır. Son yıkamadan sonra plaka ters çevrilerek fazla sıvıyı atmak için temiz kağıt havlularla

kurulanmıştır.

3. Tüm kuyucuklara 100 µl Biotinlenmiş antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
5. Tüm kuyucuklara 100 µl 1X Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak 37 °C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 5 kere tekrarlanmıştır.
7. Tüm kuyucuklara 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak karanlıkta 37 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. TMB substrat çözeltisi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi maviye dönmüştür.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi eklenmiştir. Durdurma reaktifi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi sarıya dönmüştür.
9. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
10. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
11. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
12. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
13. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
14. TNF-alfa düzeyi pg/ml olarak ifade edilmiştir.
15. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.



### 3.7.9. IL-1beta Düzeyinin Ölçümü

IL-1beta ölçüm kitinde sandviç enzim immünolojik test tekniği kullanılmıştır. Bu kitte kuyucuklar IL-1beta'ya özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun kuyucuklara eklendikten sonra IL-1beta'ya özgü biyotin konjuge edilmiş bir antikor eklenmiştir. Daha sonra HRP konjugatı her kuyucuğa eklenmiş ve inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra, yalnızca IL-1beta, biyotin konjuge antikor ve HRP konjugatı içeren oyuklar renk değişikliği göstermektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmış ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerdeki IL-1beta konsantrasyonu daha sonra numunelerin absorbanı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Kuyucuklar belirlendikten sonra ilgili kuyucuklara 100 µL standart çalışma çözeltileri veya 100 µL örnek eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 200 µl 1X yıkama çözeltisi eklenmiş ve 1~2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır. Son yıkamadan sonra plaka ters çevrilerek fazla sıvıyı atmak için temiz kağıt havlularla kurulanmıştır.
3. Tüm kuyucuklara 100 µl Biyotinlenmiş antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
5. Tüm kuyucuklara 100 µl 1X Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak 37 °C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 5 kere tekrarlanmıştır.
7. Tüm kuyucuklara 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak karanlıkta 37 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. TMB substrat çözeltisi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi maviye dönmüştür.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi eklenmiştir. Durdurma reaktifi

- eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi sarıya dönmüştür.
9. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
  10. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
  11. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
  12. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
  13. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
  14. IL-1beta düzeyi pg/ml olarak ifade edilmiştir.
  15. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.10.IL-17 Düzeyinin Ölçümü

IL-17 ölçüm kitinde sandviç enzim immünolojik test tekniği kullanılmıştır. Bu kitte kuyucuklar IL-17'ye özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun kuyucuklara eklendikten sonra IL-17'ye özgü biyotin konjuge edilmiş bir antikor eklenmiştir. Daha sonra HRP konjugatı her kuyucuğa eklenmiş ve inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra, yalnızca IL-17, biyotin konjuge antikor ve HRP konjugatı içeren oyuklar renk değişikliği göstermektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmış ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerdeki IL-17 konsantrasyonu daha sonra numunelerin absorbansı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

### Yönteminin Uygulanışı

1. Kuyucuklar belirlendikten sonra ilgili kuyucuklara 100 µL standart çalışma çözeltileri veya 100 µL örnek eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 200 µl 1X yıkama çözeltisi eklenmiş ve 1~2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır. Son yıkamadan sonra plaka ters çevrilerek fazla sıvıyı atmak için temiz kağıt havlularla kurulanmıştır.
3. Tüm kuyucuklara 100 µl Biotinlenmiş antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
5. Tüm kuyucuklara 100 µl 1X Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak 37 °C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 5 kere tekrarlanmıştır.
7. Tüm kuyucuklara 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak karanlıkta 37 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. TMB substrat çözeltisi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi maviye dönmüştür.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi eklenmiştir. Durdurma reaktifi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi sarıya dönmüştür.
9. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
10. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
11. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
12. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmış ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
13. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde

edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.

14. IL-17 düzeyi pg/ml olarak ifade edilmiştir.
15. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.11.IL-23 Düzeyinin Ölçümü

IL-23 ölçüm kitinde sandviç enzim immünolojik test tekniği kullanılmıştır. Bu kitte kuyucuklar IL-23'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun kuyucuklara eklendikten sonra IL-23'e özgü biyotin konjuge edilmiş bir antikor eklenmiştir. Daha sonra HRP konjugatı her kuyucuğa eklenmiş ve inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra, yalnızca IL-23, biyotin konjuge antikor ve HRP konjugatı içeren oyuklar renk değişikliği göstermektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmış ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerdeki IL-23 konsantrasyonu daha sonra numunelerin absorbansı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

#### Yönteminin Uygulanışı

1. Kuyucuklar belirlendikten sonra ilgili kuyucuklara 100  $\mu$ L standart çalışma çözeltileri veya 100  $\mu$ L örnek eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 200  $\mu$ l 1X yıkama çözeltisi eklenmiş ve 1~2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır. Son yıkamadan sonra plaka ters çevrilerek fazla sıvıyı atmak için temiz kağıt havlularla kurulanmıştır.
3. Tüm kuyucuklara 100  $\mu$ l Biyotinlenmiş antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
5. Tüm kuyucuklara 100  $\mu$ l 1X Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi eklenmiştir.

Plaka kapağı kapatılarak 37 °C’de 50 dakika inkübe edilmiştir.

6. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 5 kere tekrarlanmıştır.
7. Tüm kuyucuklara 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak karanlıkta 37 °C’de 20 dakika inkübe edilmiştir. TMB substrat çözeltisi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi maviye dönmüştür.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi eklenmiştir. Durdurma reaktifi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi sarıya dönmüştür.
9. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
10. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
11. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
12. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
13. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılmıştır.
14. IL-23 düzeyi pg/ml olarak ifade edilmiştir.
15. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.7.12. CC16 Düzeyinin Ölçümü

CC16 ölçüm kitinde sandviç enzim immünolojik test tekniği kullanılmıştır. Bu kitte kuyucuklar CC16'ya özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun kuyucuklara eklendikten sonra CC16'ya özgü biyotin konjuge edilmiş bir antikor eklenmiştir. Daha sonra HRP konjugatı her kuyucuğa eklenmiş ve inkübe edilmiştir. TMB substrat solüsyonu eklendikten sonra, yalnızca CC16, biyotin

konjuge antikor ve HRP konjugatı içeren oyuklar renk değişikliği göstermektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırılmış ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerdeki CC16 konsantrasyonu daha sonra numunelerin absorbansı standart eğri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

#### **Yönteminin Uygulanışı**

1. Kuyucuklar belirlendikten sonra ilgili kuyucuklara 100 µL standart çalışma çözeltileri veya 100 µL örnek eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 80 dakika inkübe edilmiştir.
2. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 200 µl 1X yıkama çözeltisi eklenmiş ve 1~2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır. Son yıkamadan sonra plaka ters çevrilerek fazla sıvıyı atmak için temiz kağıt havlularla kurulanmıştır.
3. Tüm kuyucuklara 100 µl Biotinlenmiş antikor çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plak kapağı kapatılarak 37°C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
5. Tüm kuyucuklara 100 µl 1X Streptavidin-HRP çalışma çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak 37 °C'de 50 dakika inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır ve 2. adımda belirtilen yıkama işlemi 5 kere tekrarlanmıştır.
7. Tüm kuyucuklara 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenmiştir. Plaka kapağı kapatılarak karanlıkta 37 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. TMB substrat çözeltisi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi maviye dönmüştür.
8. Tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi eklenmiştir. Durdurma reaktifi eklendiğinde plakadaki çözeltinin rengi sarıya dönmüştür.
9. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
10. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
11. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri,

kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır

12. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
13. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır.
14. CC16 düzeyi pg/ml olarak ifade edilmiştir.
15. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

### 3.8. Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemi

1. DNA hasarının belirlenmesi için tek hücre jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır (116).
2. *Ficoll-hypaque* gradient santrifüj yöntemi ile periferik kan mononükleer hücreleri (*Peripheral Blood Mononuclear Cell*, PBMC) elde edilmiştir. Heparinli tüpe alınan 2 ml kan örneği, 2 ml PBS ile 1:1 oranında seyreltilmiştir. 2 ml Ficoll üzerine seyreltilmiş kan örneği pastör pipeti ile yavaşça yayılmıştır. Ficoll-kan karışımı oda sıcaklığında 2000 rpm'de 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda Ficoll üzerindeki ara fazda ince bir tabaka halinde bulunan PBMC'ler pastör pipeti ile dikkatle toplanmıştır.
3. İzole edilen hücreler PBS ile iki kere yıkanmıştır. Yıkama işlemi için, izole edilen hücreler steril tüpe alınarak üzerine PBS eklenmiştir. 2300 rpm'de 10 dk süre ile santrifüje edilerek süpernatant kısım atılmıştır. Yıkama işleminin ardından çöken kısımdaki hücreler *Neubauer* lamında sayıldıktan sonra PBS ile seyreltilerek hücre konsantrasyonları yaklaşık  $2 \times 10^5$  hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Hücre canlılığı tripan mavisi ile kontrol edilmiştir ve % 85'in üzerinde olduğu doğrulanmıştır.
4.  $37 \pm 0,5$  °C'de eritilmiş 75  $\mu$ l % 1'lik LMPA, 50  $\mu$ l hücre süspansiyonu ile karıştırıldıktan sonra, daha önceden hazırlanan % 1'lik NMPA çözeltisine daldırılıp agar ile kaplanmış lamlara yayılmıştır ve üzerine lamel kapatılmıştır.

5. Lamlar, soğuk metal üzerinde 5 dakika bekletilerek ağarın katılaşması sağlanmıştır. Ardından agar üzerindeki lamel zedelenmeden alınmıştır.
6. Lamlar, önceden hazırlanıp 4°C’de saklanan soğuk lizis çözeltisine daldırılarak en az 1 saat 4°C’de bekletilmiştir.
7. Lizis çözeltisinden çıkarıldıktan sonra lamlar süzülerek elektroforez için hazır hale getirilmiştir.
8. Elektroforez işlemi için tank soğuk elektroforez çözeltisi ile doldurulmuştur.
9. Lamlar agar yayılan kısımları üste gelecek şekilde elektroforez tankının içine yerleştirilerek akım uygulanmadan elektroforez kuvvetinin içerisinde 20 dakika bekletilmiştir.
10. Elektroforez 25 volt ve 300 mA akım uygulayarak 20 dakika 4°C’de elektroforez uygulanmıştır.
11. Elektroforez işlemi bittikten sonra alınan lamlar 5 dakika distile suda, takiben 15 dakika nötralizasyon tampon çözeltisinde bekletilmiştir. Ardından lamlar sırası ile 5’er dakika % 50, % 75 ve % 98’lik etanol çözeltisinde bekletilmiştir ve okuma öncesinde lamlar kuruması için en az 1 gün bekletilmiştir.
12. Okuma sırasında kurutulmuş lamlar üzerine 30 µl 20 µg/ml EtBr çözeltisi ilave edilmiştir.
13. Her bir gönüllü için 2 lama uygulama yapılmıştır ve agaroz jeldeki DNA fragmanlarının elektroforetik göçünden sonra DNA hasarının boyutunu belirlemek için toplam 100 hücre 400x büyütme ile floresan mikroskopunda bilgisayarlı görüntüleme sistemi ile (Comet Analysis Software, version 4.0, Kinetic Imaging Ltd., Liverpool, İngiltere) değerlendirilmiştir.
14. DNA hasar derecesinde kuyruk yoğunluğu esas alınmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Tüm işlemler ek bir DNA hasarını önlemek amacı ile karanlıkta yapılmıştır.

### 3.9. İstatistiksel Yöntemler

Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (*SPSS*) for *Windows 20.0* bilgisayar programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiştir. Varyansın homojenliği ise Levene testi ile araştırılmıştır. Sürekli değişkenler için veriler ortalama  $\pm$  standart



sapma ve kategorik değişkenler ise vaka sayısı (n) ve yüzdesi (%) olarak ifade edilmiştir.

Normal dağılıma sahip gruplar arasındaki farklılıklar ANOVA (*One-Way Variance Analysis*) testi ile değerlendirilmiştir ve grup farklılıklarının post-hoc analizi LSD (*Least Significant Difference*) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Normal dağılım göstermeyen gruplar arasındaki farklılıklar iki grup için Mann-Whitney U ve ikiden fazla grup için Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir.

Doğrusal ilişkinin büyüklüğü Pearson korelasyon analizi ile hesaplanmıştır. Parametreleri belirlemek için çoklu doğrusal regresyon analizi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler için z-testi uygulanmıştır. 0.05'ten küçük p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışanlar ve kontrol gruplarının yaş, maruz kalma süresi, vücut kitle indeksi, sigara alışkanlıkları, alkol kullanımı, maske, eldiven ve gözlük gibi koruyucu ekipman kullanımı ve eğitim durumu Tablo 4.1'de sunulmuştur. Çalışanların ve kontrol grubunun ortalama yaşları sırasıyla  $36,02 \pm 8,02$  yıl (25-54 yıl) ve  $37,60 \pm 7,12$  yıl (21-51 yıl) olarak belirlenmiştir. 40 yaş altı gönüllüler genç yaş grubu, 40 yaş üstü gönüllüler ise orta yaş grubu olarak tanımlanmıştır. Çalışan grubunda genç işçilerin oranı %64,55 (n = 71) ve orta yaş grubundaki işçilerin oranı %35,29 (n = 36) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda gençlerin oranı %50 (n = 30) ve orta yaş grubundakilerin oranı %50 (n = 30) olarak belirlenmiştir.

Çalışanların ortalama çalışma süresi  $8,33 \pm 7,78$  yıl (2-35 yıl arası) olarak hesaplanmıştır. Çalışanların %54,55'i 1-5 yıl (kısa süre), %24,54'ü 6-15 yıl (orta süre) ve %20,91'i 16-35 yıl (uzun süre) arasında çalışmıştır. Vücut kitle indeksleri ( $\text{kg/m}^2$ ) çalışanlarda  $26,38 \pm 3,67 \text{ kg/m}^2$  (18,31-35,11  $\text{kg/m}^2$  arası) ve kontrol grubunda  $27,49 \pm 3,32 \text{ kg/m}^2$  (19,05-34,33  $\text{kg/m}^2$  arası) olarak bulunmuştur.

Çalışanların ortalama sigara tüketimi günlük  $10,66 \pm 8,26$  adet/gün (1-20) sigara ve kontrol grubunda  $7,00 \pm 9,50$  adet/gün (2-30) sigara olarak belirlenmiştir.

Sigara içen çalışanların oranı %70,91 (n = 78) ve kontrol grubunda %45,00 (n = 27) olarak bulunmuştur. Yaş, vücut kitle indeksi, sigara içme durumu ve alkol kullanımı açısından çalışanlar ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p > 0.05) (Tablo 4.1).

Neredeyse tüm çalışanlar %97,27'si maske, %100'ü eldiven ve %93,64'ü gözlük kullanmıştır. Ancak bu koruyucu maskelerin geçirgen kumaşlardan yapıldığı ve daha iyi koruma için uygun olmadığı bildirilmiştir.

**Tablo 4.1.** Çalışma gruplarının özellikleri.

	<b>Çalışan (n = 110)</b>	<b>Kontrol (n = 60)</b>
Yaş (yıl)	36,02 ± 8,02 (25-54)	37,60 ± 7,12 (21-51)
< 40 (genç yaş) [n (%)]	71 (64,55)	30 (50) <sup>a</sup>
≥ 40 (orta yaş) [n (%)]	36 (35,29)	30 (50) <sup>a</sup>
Çalışma süresi (maruziyet yılı)	8,33 ± 7,78 (2-35)	-
1-5 yıl [n (%)]	3,63 ± 1,10 [60 (54,55)]	-
6-15 yıl [n (%)]	7,16 ± 2,59 [27 (24,54)]	
16-35 yıl [n (%)]	22,29 ± 5,09 [23 (20,91)]	
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	26,38 ± 3,67 (18,31-35,11)	27,49 ± 3,32 (19,05-34,33)
Sigara içme durumu [n (%)]		
Sigara içmeyen	32 (29,09)	33 (55,00) <sup>a</sup>
Sigara içen	78 (70,91)	27 (45,00) <sup>a</sup>
Toplam sigara paketi yılı *	6,72 ± 6,20 (0,25-30)	8,16 ± 13,20 (2-45)
Alkol alımı [n (%)]		
Hayır	100 (90,91)	57 (95,00)
Evet	10 (9,09)	3 (5,00)
Eğitim durumu [n (%)]		
İlk okul	19 (17,27)	12 (20,00)

Orta okul	26 (23,64)	4 (6,67) <sup>a</sup>
Lise	59 (53,64)	24 (40,00) <sup>a</sup>
Yüksek okul	6 (5,45)	20 (33,33) <sup>a</sup>
Koruyucu maske kullanımı		-
[n (%)]		
Hayır	3 (2,73)	
Evet	107 (97,27)	
Koruyucu eldiven kullanımı		-
[n (%)]		
Hayır	0 (0,0)	
Evet	110 (100,0)	
Koruyucu gözlük kullanımı		-
[n (%)]		
Hayır	7 (6,36)	
Evet	103 (93,64)	

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. \* Her iki grupta da en az 1 yıl süreyle günde 10 adetten fazla sigara içenler sigara içiyor olarak kabul edilmiştir. n: denek sayısı. <sup>a</sup>p<0.05; kontrollere göre kıyaslanmıştır.

#### 4.2. Biyokimyasal Parametrelere İlişkin Bulgular

Çalışma gruplarının biyokimyasal parametreleri Tablo 4.2'de sunulmuştur. Çalışanlar ve kontrol grubu arasında WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, AST ve ALT dahil tüm biyokimyasal parametrelerde anlamlı bir fark bulunmamıştır (p > 0.05). Tüm parametreler, sağlıklı bir kişiden beklenen referans değerler içinde yer almıştır (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Çalışma gruplarının biyokimyasal parametreleri.

Parametre	Çalışan (n = 110)	Kontrol (n = 60)	p Değeri
-----------	----------------------	---------------------	----------

WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	7,89 ± 1,76 (4,87–16,99)	7,57 ± 2,21 (4,58–13,94)	0.399
RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	5,57 ± 0,39 (4,70–7,03)	5,40 ± 0,58 (4,64–8,09)	0.182
HGB (g/dl)	16,37 ± 0,99 (13,3–18,6)	15,80 ± 1,19 (12,0–17,4)	0.187
HCT (%)	50,08 ± 2,82 (41,8–55,8)	48,18 ± 3,16 (38,6–53,5)	0.151
PLT ( $10^3/\mu\text{l}$ )	243,80 ± 53,02 (134–377)	240,83 ± 60,42 (132–445)	0.781
Glukoz (mg/dl)	103,07 ± 33,17 (78–341)	106,00 ± 31,76 (76–252)	0.621
Kreatinin (mg/dl)	0,83 ± 0,11 (0,59–1,15)	0,81 ± 0,09 (0,64–1,10)	0.296
AST (U/l)	21,81 ± 6,21 (10–43)	22,05 ± 8,12 (14–62)	0.867
ALT (U/l)	28,98 ± 16,04 (5–82)	29,19 ± 16,08 (11–86)	0.943

Veriler ortalama ± standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. <sup>a</sup>p < 0.05, kontrol grubuna göre anlamlı fark. WBC: Beyaz kan hücresi; RBC: Kırmızı kan hücresi; HGB: Hemogloblin; HCT: Hematokrit; PLT: Trombosit; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz.

### 4.3. Oksidatif Stres ve İmmün Parametrelere İlişkin Bulgular

Çalışanlar ve kontrol gruplarının oksidatif stres ve bağışıklık parametreleri Tablo 4.3'te verilmiştir. Çalışma grupları arasında SOD, CAT, TNF-alfa, IL-1beta, IL-17, IL-23 ve CC16 seviyeleri arasında fark bulunmamıştır (p > 0.05). Çalışanların GPx

ve GR enzim seviyeleri sırasıyla kontrol grubuna göre % 35,22 (0,65 kat) ve % 24,14 (0,76 kat) daha düşüktür ( $p < 0.05$ ). Çalışanların GSH seviyeleri kontrol grubuna göre % 37,53 (0,62 kat) daha düşüktür ( $p < 0.05$ ). Çalışanların MDA ve 8-OHdG seviyeleri sırasıyla kontrol grubuna göre % 94,17 (1,94 kat) ve % 17,97 (1,18 kat) daha yüksektir ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.3).

Maruz kalma süresinin oto boyama işçilerinin oksidatif stres ve bağışıklık parametrelerine etkisi **Tablo 4.4**'te sunulmuştur. Genel olarak, çalışanlar ve kontroller arasında SOD ve CAT seviyeleri açısından anlamlı bir fark olmamasına rağmen, 15 yıldan fazla oto boyama alanında çalışan işçilerin SOD ve CAT seviyeleri, 5 yıldan az çalışan işçilere göre sırasıyla % 58,58 (0,41 kat) ve % 36,90 (0,63 kat) daha düşüktür ( $p < 0.05$ ). 15 yıldan fazla çalışan işçilerin GR seviyeleri, 15 yıldan az çalışan işçilere göre % 80,23 (1,80 kat) daha yüksektir ( $p < 0.05$ ) (**Tablo 4.4**).

İşçilerde maruz kalma süresi açısından GPx, GSH, MDA, 8-OHdG, TNF-alfa, IL-1beta, IL-17, IL-23 ve CC16 seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.4). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, uzun süre çalışan işçilerin IL-1beta ve IL-17 seviyeleri sırasıyla kısa süre çalışan işçilere göre % 35.00 (1.35 kat) ve % 41.01 (1.41 kat) daha yüksek, TNF-alfa seviyeleri ise % 34.41 (0.66 kat) daha düşüktür ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.4).

Çalışanlarda maruz kalma süresi ile GPx, GSH, MDA, IL-1beta, IL-23 seviyeleri arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Ancak, maruz kalma süresi ile GR, IL-17, CC16 seviyeleri arasında düşük pozitif korelasyon, SOD seviyeleri arasında orta derecede negatif korelasyon ve CAT, 8-OHdG, TNF-alfa seviyeleri arasında düşük negatif korelasyon bulunmuştur. Maruz kalma süresi arttıkça, oto boyama alanında çalışan işçilerin GR (regresyon katsayısı ( $r$ ) = 0.21), IL-17 ( $r$  = 0.20), CC16 ( $r$  = 0.20) seviyeleri artmış ve SOD ( $r$  = -0.35), CAT ( $r$  = -0.25), 8-OHdG ( $r$  = -0.10), TNF-alfa ( $r$  = -0.22) seviyeleri azalmıştır.

**Tablo 4.3.** Çalışma gruplarının oksidatif stres ve bağışıklık parametreleri.

Parametre	Çalışan (n = 110)	Kontrol (n = 60)	p Değeri
-----------	-------------------	------------------	----------

SOD (ng/ml)	13,23 ± 13,38 (0,27–59,79)	14,01 ± 13,44 (1,26–75,17)	0.797
CAT (ng/ml)	78,35 ± 54,13 (4,25–221,9)	84,31 ± 42,81 (11,23–254,5)	0.573
GPx (ng/ml)	15,08 ± 12,17 (1,63–63,40) <sup>a</sup>	23,28 ± 11,93 (8,63–69,63)	<b>0.024</b>
GR (ng/ml)	31,46 ± 19,73 (1,63–91,28) <sup>a</sup>	41,47 ± 18,44 (0,12–99,95)	<b>0.021</b>
GSH (nmol/ml)	2,83 ± 1,89 (0,01–9,65) <sup>a</sup>	4,53 ± 2,77 (0,18–16,40)	<b>0.004</b>
MDA (mmol/ml)	14,33 ± 8,89 (2,97–46,91) <sup>a</sup>	7,38 ± 4,63 (1,16–19,31)	<b>&lt;0.001</b>
8-OHdG (ng/ml)	32,62 ± 9,33 (12,86–60,53) <sup>a</sup>	27,65 ± 7,25 (11,94–44,16)	<b>0.017</b>
TNF-alfa (pg/ml)	162,7 ± 121,5 (21,13–613,0)	128,2 ± 120,2 (21,00–613,0)	0.208
IL-1beta (pg/ml)	36,04 ± 29,93 (13,0–138,7)	40,34 ± 31,73 (15,02–125,0)	0.537
IL-17 (pg/ml)	319,4 ± 336,55 (82,34–1158)	255,8 ± 140,6 (62,00–718,6)	0.214
IL-23 (pg/ml)	225,1 ± 119,17 (61,02–529,5)	225,9 ± 108,8 (85,92–516,3)	0.976
CC16 (ng/ml)	1,23 ± 1,28 (0,42–7,36)	1,40 ± 0,74 (0,52–3,00)	0.438

Veriler ortalama ± standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. <sup>a</sup> p < 0.05, kontrol grubuna göre anlamlı fark. SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; GPx: Glutatyon peroksidaz; GR: Glutatyon redüktaz; GSH: Glutatyon; MDA: Malondialdehit; 8-

OHdG: 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin; TNF-alfa: Tümör nekroz faktörü-alfa; IL: İnterlökin; CC16: Clara hücre sekresyon proteini 16.

**Tablo 4.4.** Maruz kalma süresinin oto boyama işçilerinin oksidatif stres ve bağışıklık parametrelerine etkisi.

<b>Faktörler</b>	<b>Kısa Süreli (0–5 yıl) (n = 60)</b>	<b>Orta Süreli (6–15 yıl) (n = 27)</b>	<b>Uzun Süreli (16–35 yıl) (n = 23)</b>
SOD (ng/ml)	17,77 ± 17,44 (1,49–59,79)	11,59 ± 6,40 (3,37–24,06)	7,36 ± 5,17 (0,27–19,15) <sup>b</sup>
CAT (ng/ml)	95,37 ± 65,46 (5,16–221,90)	66,85 ± 38,09 (10,85–112,70)	60,18 ± 35,22 (4,25–116,80) <sup>b</sup>
GPx (ng/ml)	17,42 ± 16,14 (1,63–63,40)	11,23 ± 5,81 (3,28–19,39)	14,25 ± 6,84 (5,32–33,66)
GR (ng/ml)	31,14 ± 20,31 (1,63–88,01)	21,65 ± 14,74 (2,93–42,96)	39,02 ± 19,62 (3,65–91,28) <sup>c</sup>
GSH (nmol/ml)	2,92 ± 2,31 (0,12–9,65)	2,53 ± 1,85 (0,01–4,99)	2,91 ± 1,14 (0,31–4,55)
MDA (mmol/ml)	15,59 ± 9,70 (6,53–46,91)	11,64 ± 6,64 (2,97–22,05)	14,31 ± 8,98 (4,43–37,48)
8-OHdG (ng/ml)	34,09 ± 11,84 (12,86–60,53)	30,18 ± 6,75 (23,03–45,26)	32,10 ± 5,82 (23,33–45,47)
TNF-alfa (pg/ml)	196,39 ± 163,04 (21,13–613,00)	136,85 ± 51,61 (21,13–211,70)	129,01 ± 51,68 (58,98–256,00)
IL-1beta (pg/ml)	31,91 ± 23,72 (13,99–128,00)	35,02 ± 33,26 (13,00–138,70)	43,08 ± 36,07 (14,30–120,70)
IL-17 (pg/ml)	258,65 ± 238,40 (82,69–1158,0)	258,35 ± 274,54 (85,85–1117,3)	364,72 ± 246,16 (82,34–875,00)
IL-23 (pg/ml)	222,95 ± 118,83 (64,25–529,50)	221,76 ± 127,00 (61,02–484,10)	230,80 ± 120,78 (90,69–497,50)

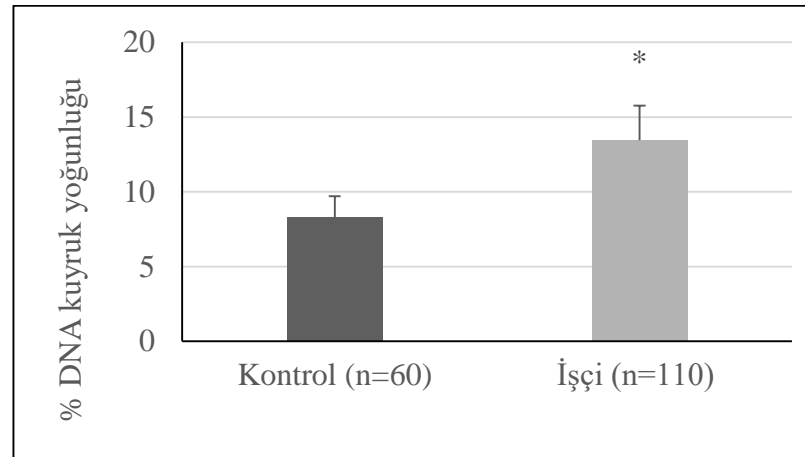


CC16 (ng/ml)	1,17 ± 0,95 (0,42–4,73)	0,83 ± 0,29 (0,51–1,61)	1,62 ± 1,95 (0,52–7,36)
-----------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

Veriler ortalama ± standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. <sup>a</sup>p < 0.05, Kısa süreli maruz kalma ile orta süreli maruz kalma karşılaştırıldığında; <sup>b</sup>p < 0.05, Kısa süreli maruz kalma ile uzun süreli maruz kalma karşılaştırıldığında; <sup>c</sup>p < 0.05, Orta süreli maruz kalma ile uzun süreli maruz kalma karşılaştırıldığında. SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; GR: Glutasyon redüktaz; GPx: Glutasyon peroksidaz; GSH: Glutasyon; MDA: Malondialdehit; 8-OHdG: 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin; TNF-alfa: Tümör nekroz faktörü-alfa; IL: İnterlökin; CC16: Clara hücre sekresyon proteini 16.

#### 4.4. DNA Hasarına İlişkin Bulgular

Oto boya işçilerinin ve kontrol grubunun lenfositlerindeki DNA hasarları Şekil 4.1 ve **Tablo 4.5**'te sunulmuştur. DNA hasarı, lenfositlerdeki % DNA kuyruk yoğunluğu olarak ifade edilmiştir. İşçilerin DNA hasarı, kontrollerden anlamlı derecede yüksek (% 27,66; 1,28 kat) bulunmuştur (p < 0.05) (Şekil 4.1) (Tablo 4.5).



**Şekil 4.1.** Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarları.

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. DNA hasarı, kuyruk yoğunluğu (% DNA kuyrukta) olarak ifade edilmiştir. \*: p < 0.05.

İşçilerde kısa, orta ve uzun süreli maruz kalma arasında DNA hasarı açısından fark bulunmamıştır. Ancak, maruz kalma süresi arttıkça DNA hasarının arttığı gözlemlenmiş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.5).

Oto boya işçilerinde maruz kalma süresi ile % DNA kuyruk yoğunluğu arasında düşük pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.12$ ). Orta yaş grubundaki işçilerin DNA hasarı, genç işçilere göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ancak, hem işçilerde hem de kontrollerde sigara içenler ile sigara içmeyenler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarları.

Faktörler	Kuyruk yoğunluğu (kuyruktaki % DNA)*	
	Çalışan (n= 110)	Kontrol (n= 60)
Yaş (yıl)	6.00 ± 2.31 (2.33-13.00) <sup>a</sup>	4.70 ± 1.44 (2.42-7.44)
Genç yaş grup (<40)	5.62 ± 2.01 (2.38-10.35) <sup>a</sup>	4.73 ± 1.47 (2.79-7.35)
Orta yaş grup (≥40)	6.69 ± 2.66 (2.33-13.00) <sup>a,b</sup>	4.59 ± 1.43 (2.42-7.44)
Sigara içenler		
[İşçi(n)/kontrol(n)]		
Sigara içmeyenler (32/33)	5.96 ± 2.45 (2.33-13.00)	4.91 ± 1.51 (2.62-7.44)
Sigara içenler (78/27)	6.02 ± 2.26 (2.38-11.99) <sup>a</sup>	4.05 ± 1.34 (2.42-7.35)
Maruz kalma süresi (yıl)		
Kısa süre (0-5)	5.57 ± 1.99 (2.38-9.62)	-
Orta süre (6-15)	6.48 ± 2.58 (3.00-11.99)	-
Uzun süre (16-35)	6.56 ± 2.62 (2.33-13.00)	-

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. \*DNA hasarı, kuyruk yoğunluğu (kuyruktaki DNA yüzdesi) olarak ifade edilmiştir. <sup>a</sup>p <0.05, kontrollere göre kıyaslandı; <sup>b</sup>p <0.05, sigara içenler ile içmeyenler karşılaştırıldı; <sup>c</sup>p <0.05, orta yaş grubu genç yaş grubuna göre kıyaslandı; <sup>d</sup>p <0.05, kısa ve orta maruz kalma süresine kıyasla uzun maruz kalma süresi kıyaslanmıştır.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Ankara ilinde bir oto boya alanında çalışan işçilerde oksidatif stres ile genotoksisite ve immünotoksisite mekanizmalarına odaklanılmıştır. Otomotiv endüstrisindeki işçiler, özellikle oto boyacılar, VOC'ler, kurşun içeren pigmentler ve artık plastik monomerler gibi tehlikeli kimyasallara mesleki olarak maruz kalmaktadır. Toluene, ksilen, stiren, etilbenzen, aseton ve metiletilketon, boya bileşiminde en sık kullanılan VOC'lerden bazılarını oluşturmaktadır. Başta toluene olmak üzere VOC'lerin genel toksik etkileri uzun yıllardır incelenmektedir ve boyalara mesleki maruziyet, akciğer ve mesane kanseri gelişimi için yüksek risk grubu olarak sınıflandırılmıştır (73) ancak oto boyacılarının genotoksisitelerine ilişkin verileri, oksidatif hasar ve inflamasyon çalışmaları sayıca az olup hem ilişkili hem de genotoksisite ile ilişkisiz sonuçları açıklanmıştır. Çalışmaların çoğu az sayıda çalışanla yapılmış ve sadece bir veya iki parametre çalışılmıştır. Çalışmamızda çok sayıda işçi ve kontrolde genotoksisite, oksidatif hasar ve inflamasyonun detaylı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. DNA hasarı, deneklerin lenfositlerinde alkaline comet tahlili ile belirlenmiş ve oksidatif strese bağlı DNA hasarının bir göstergesi olarak plazma 8-OHdG seviyeleri de ölçülmüştür. 110 işçinin lenfositlerinde % DNA kuyruk yoğunluğu olarak ifade edilen DNA hasarı, kontrollere (n: 60) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 40 yaşın altındaki işçiler, 40 yaşından büyük işçilere göre daha fazla DNA hasarına sahip gibi görünmekte olup, bu da DNA onarım sistemlerinin sürece dahil olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca sigara içen çalışanlarda DNA hasarı sigara içmeyen çalışanlara göre daha fazla olduğu için sigara içmek DNA hasarını arttırdığı düşünülmüştür. Oto boyacıların genotoksisitesine ilişkin verilerimiz, boyalara maruz kalmayla ilişkili genotoksik etkilere ilişkin bazı sınırlı çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur. Boyalara mesleki olarak maruz kalan sprey boyacılar da oksidatif DNA hasarında ve ayrıca idrar 8-OHdG seviyelerinde bir artış da Chang ve

arkadaşları (154) tarafından rapor edilmiştir. Comet yöntemi ile bukkal hücreler ve lenfositler üzerinde DNA hasarının uyarılması, de Oliveira ve arkadaşları (4) tarafından Brezilya boya endüstrisi işçilerinde bulunmuştur. Oksidatif DNA'daki artış, araba boyacılarının lenfositleri üzerinde formamidopirimidin-glikozilaz (Fpg) comet testi ile de belirlenmiştir (158).

Oto boyacılarda genotoksisitenin arttığını gösteren çalışmamız, kromozomal aberasyonların, kardeş kromatid değişiminin, mikronükleusların (lenfositlerde ve oral mukoza hücrelerinde) ve DNA hasarının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalarla da tutarlı bulunmuştur. DNA hasarı Comet yöntemi sayesinde otomobil kaplama kimyasallarına maruz kalan işçilerin ve genel olarak boyacıların lökositlerinde saptanmıştır (12, 13). Madhavi ve ark. (159), kurşun bazlı boyalara mesleki maruziyetin, kontrollere kıyasla işçilerde kanser sıklığındaki artışla ilişkili olduğunu bildirmiştir. Brezilya'daki araba boyacılarının CA'sını bildiren başka bir çalışma, araba boyacılarının periferik lenfositlerinde kontrol deneklerine göre önemli ölçüde daha yüksek sıklıkta anöploidiler ve kromozom silmeleri olduğunu göstermiştir (160). Pinto ve arkadaşları (155) tarafından dış mekan boyacılarında mesleki maruziyet riskini belirlemek için bir hasta izleme çalışması tasarlanmıştır. Boyacıların lenfositlerinde kontrol grubuna göre CA ve SCE'de ve oral epitel hücrelerinde MN'de artış gösterilmiştir. CA, SCE ve Comet testleri ile yapılan çalışmaların çoğu boya işçilerinde genotoksik hasarı doğrulamış, ancak MN testi ile elde edilen veriler çelişkili bulunmuştur (155).

Boya işçilerinin yanak hücrelerinde MN sıklığında artış olduğunu gösteren farklı ülkelerden çalışmalar olmasına rağmen (9, 13, 21, 142, 155, 160) birkaç çalışmada MN sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını öne sürmektedir (4, 14). Bizim çalışmamızda da boya işçilerinde MN sıklığı kontrollere göre anlamlı bulunmuştur.

Cassini ve ark. (21), boyaya maruz kalan 33 işçide olası oksidatif ve genotoksik etkileri değerlendirmiş ve sonuçları, boyaya maruz kalmayan 29 kontrol ile karşılaştırmıştır. Comet yöntemi kullanılarak yapılan DNA hasar seviyelerinin, maruz kalan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Lenfositlerde ve bukkal hücrelerde MN sıklığında anlamlı bir farklılık gözlenmese de, işçilerin yanak hücrelerinde lenfositlerde nükleer tomurcuk frekansında artış ve yoğunlaştırılmış

kromatin artışı tespit edilmiştir (21). Moro ve ark. (11) ayrıca düşük toluen seviyelerine maruz kalan endüstriyel boyacılarda kuyruklu yıldız tahlili ile değerlendirilen DNA hasarının indüksiyonunu bulmuş, ancak mikronükleuslarda bu görülmemiştir. Cavallo ve ark. (7) 17 tersane boyacısı (11 sprej ve 6 silindiri) ile yaptığı çalışmada, tüm işçilerde Fpg-kuyruklu yıldız tahlili ile daha yüksek doğrudan ve oksidatif DNA hasarı bulunmuştur. Çalışmalarında kontrollerle karşılaştırıldığında işçilerde idrar 8-okso-7,8-dihidroguanin (8-oksoGua), 8-okso-7,8-dihidro-20-deoksiguanozin (8-oksodGuo) ve (8-okso-7, de 8- dihidroguanozin (8-oxoGuo) düzeyinde anlamlı artış bulunmuştur. Ancak yalnızca sprej boyacılardan daha düşük VOC konsantrasyonlarına maruz kalan rulo boyacıların bukkal hücrelerinde, BMN tahlili ile değerlendirilen sito-genotoksitenin indüksiyonu gözlemlenmiştir. Bu durumun da çalışmanın özelliği ve koruyucu ekipmanların kullanımındaki farklılıklarla ilgili olduğu öne sürülmüştür (7).

2003 yılında on araba boyacısının mesleki maruziyetiyle ilişkili bukkal hücrelerde MN ve comet yöntemi ile değerlendirilen genotoksik risk çalışması yapılmıştır (161). Öte yandan, Cardenas-Bustamante ve ark. (14), comet testini kullanarak lenfositlerdeki MN frekansını ve DNA hasarını belirleyerek boya fabrikası işçilerinde organik çözücülere maruz kalma derecesini ve buna bağlı genotoksik sonuçları araştırmıştır. Maruz kalan ve maruz kalmayan işçiler arasında istatistiksel bir fark bulamamışlardır (14).

Öte yandan, oksidatif stresin boyalarda bulunan organik çözücüler ve ağır metaller gibi bazı kimyasalların toksik etkilerinin önemli mekanizmalarından biri olduğu ileri sürülmektedir (18, 20, 162). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimindeki artış ve/veya antioksidan sistemlerindeki azalma, bir dengesizlik yaratarak doymamış lipidler, proteinler ve DNA gibi birçok hücrenel bileşende hasara neden olmaktadır (163, 164). Önceki çalışmalar, yüksek konsantrasyonlarda çözücülere mesleki maruziyetin lipid peroksidasyonunu indüklediğini ve vücutta GSH, SOD ve GPx gibi endojen antioksidanları azalttığını göstermiştir (11, 159).

Çalışmamızda oto boya işçilerinin oksidatif ve immün durumunu anlamak için GSH, MDA, SOD, CAT, GPx, GR gibi oksidatif stres parametreleri ve TNF-alfa, IL1beta, IL-17, IL-23 ve CC16 seviyeleri ölçülmüştür. İşçilerin MDA seviyeleri, kontrollere göre yaklaşık 2 kat daha yüksek saptanmış olup, bu da lipid

peroksidasyonunun ve oksidatif stresin arttığını göstermektedir. MDA, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA düzeyi yaygın olarak oksidatif stres ve antioksidan durumunun bir belirteci olarak kullanılmaktadır (111, 165). Çalışmamızda, çalışma grupları arasında antioksidan SOD ve CAT düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmemesine rağmen, çalışanların GSH, GPx ve GR düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olması, çalışanların antioksidan sistemlerinde azalma olduğunu düşündürmektedir.

GSH, enzimler için bir koenzim görevi görmekte ve oksijen radikallerine ve toksik bileşiklere karşı korumaktadır. GPx, indirgenmiş GSH'nin disülfid formuna oksidasyonu yoluyla çeşitli hidroperoksitlerin (örn. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) suya indirgenmesini katalize etmektedir. Bu da lipid peroksidasyonunun önlenmesine ve hücre içi homeostazın yanı sıra redoks dengesinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Bildiğimiz kadarıyla boya işçilerinde oksidatif hasar ile ilgili detaylı çalışmalar bulunmamaktadır. Bu küçük ölçekli çalışmaların birçoğunda sadece SOD, CAT ve MDA düzeylerindeki değişiklikler bildirilmiştir. Toplamda SOD ve CAT düzeylerinde farklılık gözlemlemesek de maruz kalma süresinin oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendirdiğimizde maruz kalma süresi arttıkça SOD ve CAT düzeylerinin azaldığını gözlemlemiştik. Sektörde 5 yıldan fazla çalışan oto boyacıların SOD ve, CAT düzeylerinin 6 yıldan fazla çalışanlara göre daha düşük olduğu görülmektedir. Maruz kalma süresi dikkate alındığında, azalan SOD ve CAT seviyelerine ilişkin verilerimiz birkaç çalışma ile uyumludur (21, 79, 166).

MDA seviyeleri, SOD ve CAT enzim aktiviteleri de maruz kalmayan 30 kontrol ile karşılaştırıldığında 48 boyacıda önemli ölçüde artmış olarak bulunmuştur (11). CAT aktiviteleri farklı olmamakla birlikte, başka bir çalışmada da (21) boyacılarda kontrollere göre daha yüksek hippurik asit ve delta-aminolaevulinik asit seviyeleri ve daha düşük SOD aktivitesi gözlenmiştir. Bu fark muhtemelen enzimleri tüketen boyalar tarafından süperoksit radikal oluşumunu düşürmüştür (21).

Bu çalışmada otomobil endüstrisindeki VOC ve ağır metal maruziyeti ile ilgili bazı önemli parametreler, projenin finansal kısıtlılığı nedeniyle değerlendirilememiştir. Ancak Büyükşekerci ve ark. (79), toluene maruz kalmanın bir biyobelirteci olan hippurik asit ve ağır metal maruziyetinin bir göstergesi olan kan kurşun seviyeleri, Ankara'da bulunan aynı otomobil firmasının farklı oto boya

işçilerinde analiz edilmiştir. İdrar hippurik asit (5 kat) ve kan kurşun düzeyleri (1,4 kat) işçilerde kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup, kurşun düzeyleri Amerikan Hükümet Endüstriyel Hijyenistler Konferansı (American Conference of Governmental Industrial Hygienists: ACGIH) tarafından önerilen değerlerin oldukça altında (1,6 mg/dL'ye karşı 30 mg/dL) olarak saptanmıştır. İdrar fenol, trikloroasetik asit, hekzanedion, arsenik ve kan manganez düzeyleri açısından oto boyacılar ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.005$ ) (79). Çalışmamızda elde ettikleri sonuçlara paralel olarak, boya işçilerinde idrar hippurik asit ve kan kurşun düzeylerinin potansiyel olarak kontrollerden daha yüksek olabileceği varsayılmıştır. Büyükşekerci ve ark. (79), ortalama disülfür seviyesi, disülfür/doğal tiyol oranı ve disülfid/toplam tiyol oranının oto boyacılarında kontrollerine kıyasla daha yüksek olduğunu bulmuş; bu, mesleki olarak toluene maruz kalmayla ilişkili oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Çalışmada CAT aktivitelerinde boya işçileri ve kontroller arasında fark olmadığı rapor edilmiştir (79).

Çalışmamızda TNF-alfa, IL-1beta, IL-17, IL-23 ve CC16 düzeylerini içeren inflamatuvar yanıt parametreleri de değerlendirilmiştir ancak işçiler ve kontroller arasında fark bulunamamıştır. Maruz kalma süresinin inflamatuvar parametreler üzerindeki etkisini değerlendirdiğimizde, maruz kalma süresi arttıkça IL-17, CC16 düzeylerinin arttığını ancak TNF-alfa düzeylerinin düştüğünü, bu da daha fazla çalışan işçilerde enflamasyonun arttığını göstermektedir. 6 yıl. CC16, pulmoner fibroz, astım ve mesleki veya çevresel akciğer hasarı gibi çeşitli hastalık durumlarında akciğer epitel hasarının potansiyel bir biyobelirteci olarak incelenmiştir (167). IL-17 sinyalinin aktivasyonu genellikle çeşitli otoimmün bozuklukların patogeneğinde çalışılmıştır (168). Bu nedenle, verilerimiz uzun süre maruz kalan işçilerde bağışıklık sisteminin olası bir aktivasyonunu öngörmektedir.

Bu çalışmanın bazı sınırlamaları mevcuttur. İlk olarak, Türkiye'de sadece solunabilir toz ölçümleri zorunlu olduğundan, çalışma alanlarının ortam havasındaki uçucu bileşikler tespit edilememiştir. Farklı boyama alanlarındaki ikincil, uçucu organik bileşik seviyeleri değişebilmekte ve bu nedenle bu gruptaki tahminler tüm oto-boya endüstrilerini yansıtmayabilmektedir. Solventlere maruz kalma, iş vardiyası sırasında kişisel hava örnekleme ve idrar örnekleme ile değerlendirilmemiştir. Araştırma sonuçlarının doğruluğunu artırmak için daha fazla gönüllünün katılımıyla

araştırmanın kapsamı genişletilmesi gereklidir ancak yapılamamıştır. İşyeri ortam hava kalitesinin anlık ölçüm değerleri, biyolojik numunelerin alındığı gün analiz edilebilmesi gerekirdi ancak ölçülememiştir. Maruz kalma konsantrasyonu ile incelenen parametreler arasındaki ilişki (korelasyonlar) incelenmemiştir. Comet yöntemi ile tespit edilen DNA hasarının, hücresel DNA onarım mekanizması ile onarılacağı varsayılmaktadır ve DNA hasarının biyobelirteçlerini ölçmek için kullanılan bukkal mikronükleus testi gibi ileri genotoksisite testi, mesleki maruziyet sonucu vücuda giren potansiyel kanserojenlerin bir sonucu olarak erken genotoksik olayları izlemek için yapılmalıydı ancak yapılamamıştır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışmamız bazı sınırlılıklara rağmen otomotiv endüstrisinde kimyasallara mesleki maruziyetin oksidatif stres tepkisini değiştirebileceğini ve oksidatif strese bağlı DNA hasarına yol açabileceğini göstermektedir. Sınırlamalara rağmen, bu araştırma, mesleki ortamda sağlık riskinin azaltılmasına katkıda bulunan solvent maruziyeti ile farklı doz ve etki biyobelirteçleri arasındaki yararlı ilişkileri bulmak için daha fazla araştırma için yararlı bir paradigmayı temsil edebilir.

Sonuçlar, boya endüstrisinde çalışan işçiler için immünotoksik ve genotoksik risk olasılığı olduğunu göstermektedir. Maruz kalınan boyaların sağlık etkilerinden hem uçucu solvanların hem de ağır metallerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Boyama alanlarında mesleki maruziyet riskini azaltmak için havalandırma sistemlerinin iyileştirilmesi, uygun koruyucu maskelerin kullanılması ve sınır değerlerin düşürülmesi gerekli görülmektedir.

Havalandırma uygulamalarının iyileştirilmesi ve uygun koruyucu ekipmanların kullanılması işyeri sağlığı açısından gerekli görülmektedir. Oto boya sektöründe çalışan işçilerde maruz kalmanın uzun dönemli etkilerinin retrospektif çalışmalarla izlenmesi ve gösterilmesi çok önemlidir ve önerilmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. (ILO) ILO. ILO Meets with High-Level Experts to Discuss the Crisis and the Future of the Automotive Industry, 22 May 2009. Project code: ILO/09/30. <https://www.ilo.org/global/about-the-ilo/newsroom/news/WC> MS\_106403. (Accessed 4 August 2023). 2009 [
2. OICA. International Organization of Motor Vehicle Manufacturers. <https://www.oica.net/category/production-statistics/2020-statistics>. (Accessed 4 December 2021). 2021.
3. UIB TOER. Uludag `Ihracatçı Birlikleri Genel Sekreterliđi AR-GE S,ubesi-2021. <https://uib.org.tr/tr/kbfile/turkiye-otomoti> v-endustrisi-raporu. (Accessed 4 December 2021). 2021.
4. de Oliveira HM, Dagostim GP, da Silva AM, Tavares P, da Rosa LA, de Andrade VM. Occupational risk assessment of paint industry workers. *Indian J Occup Environ Med.* 2011;15(2):52-8.
5. Dick FD. Solvent neurotoxicity. *Occup Environ Med.* 2006;63(3):221-6, 179.
6. Cancer) IIAfRo. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France2010.
7. Cavallo D, Ursini CL, Fresegna AM, Ciervo A, Maiello R, Buresti G, et al. Occupational Exposure in Industrial Painters: Sensitive and Noninvasive Biomarkers to Evaluate Early Cytotoxicity, Genotoxicity and Oxidative Stress. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(9).
8. Chaouni S, Lecomte DD, Stefan D, Leduc A, Barraux V, Leconte A, et al. The Possibility of Using Genotoxicity, Oxidative Stress and Inflammation Blood Biomarkers to Predict the Occurrence of Late Cutaneous Side Effects after Radiotherapy. *Antioxidants-Basel.* 2020;9(3).
9. Celik A, Diler SB, Eke D. Assessment of genetic damage in buccal epithelium cells of painters: micronucleus, nuclear changes, and repair index. *DNA Cell Biol.* 2010;29(6):277-84.
10. da Silva J. DNA damage induced by occupational and environmental exposure to miscellaneous chemicals. *Mutat Res-Rev Mutat.* 2016;770:170-82.

11. Moro AM, Brucker N, Charao M, Bulcao R, Freitas F, Baierle M, et al. Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. *Mutat Res-Gen Tox En.* 2012;746(1):42-8.
12. Pina-Calva A, Madrigal-Bujaidar E, Fuentes MV, Neria P, Perez-Lucio C, Velez-Zamora NM. Increased frequency of chromosomal aberrations in railroad car painters. *Arch Environ Health.* 1991;46(6):335-9.
13. Testa A, Festa F, Ranaldi R, Giachelia M, Tirindelli D, De Marco A, et al. A multi-biomarker analysis of DNA damage in automobile painters. *Environ Mol Mutagen.* 2005;46(3):182-8.
14. Cardenas-Bustamante O, Varona-Uribe M, Patino-Florez RI, Groot-Restrepo H, Sicard-Suarez D, Torres-Carvajal MM, et al. [Bogota paint-industry workers exposure to organic solvents and genotoxic effects]. *Rev Salud Publica (Bogota).* 2007;9(2):275-88.
15. Delgado-Roche L, Mesta F. Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Arch Med Res.* 2020;51(5):384-7.
16. Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Cardiovasc Ther.* 2012;30(1):49-59.
17. Wu GY, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004;134(3):489-92.
18. Costa C, De Pasquale R, Silvari V, Barbaro M, Catania S. In vitro evaluation of oxidative damage from organic solvent vapours on human skin. *Toxicol in Vitro.* 2006;20(3):324-31.
19. T. Prechthai IN, C. Singhakant et al. A survey of BTEX concentrations in selected automotive paint shops and their vicinities in Thailand. *Journal of Public Health.* 2010;40(1):65-75.
20. Radwan MA, El-Gendy KS, Gad AF. Oxidative stress biomarkers in the digestive gland of *Theba pisana* exposed to heavy metals. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2010;58(3):828-35.
21. Cassini C, Calloni C, Bortolini G, Garcia SC, Dornelles MA, Henriques JA, et al. Occupational risk assessment of oxidative stress and genotoxicity in workers

exposed to paints during a working week. *Int J Occup Med Environ Health*. 2011;24(3):308-19.

22. de Los AGM, Palmieri MA, Giuliani DS, Colman Lerner JE, Maglione G, Andrinolo D, et al. Monitoring human genotoxicity risk associated to urban and industrial Buenos Aires air pollution exposure. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020;27(12):13995-4006.

23. Kwon JW, Park HW, Kim WJ, Kim MG, Lee SJ. Exposure to volatile organic compounds and airway inflammation. *Environ Health-Glob*. 2018;17.

24. Audi C, Baiz N, Maesano CN, Ramousse O, Reboulleau D, Magnan A, et al. Serum cytokine levels related to exposure to volatile organic compounds and PM in dwellings and workplaces in French farmers - a mechanism to explain nonsmoking COPD. *Int J Chronic Obstr*. 2017;12:1363-74.

25. Barnes J, Kaplinsky, R. Globalisation and the death of the local firm? The automobile components sector in South Africa. *Regional studies*. 2000;34(9):797-812.

26. Yücel F. Cumhuriyet Türkiye'sinin Sanayileşme Öyküsü (Industrialisation Story of the Republican Turkey). In: Publication TFFTD, editor.: Ankara; 2015.

27. Sara Bysko JK SB. Simulation and virtual commissioning for intelligent buffer control system. 2nd International Conference on Robotics and Automation Engineering (ICRAE). 2017.

28. Hassam SF, & Mahamad, K. A. K. A study of occupational safety hazards: Safety and health issues in automotive industry. *International Conference on Statistics in Science, Business and Engineering (ICSSBE)2012*. p. 1-6.

29. Neitzel R, Yost M. Task-based assessment of occupational vibration and noise exposures in forestry workers. *AIHA J (Fairfax, Va)*. 2002;63(5):617-27.

30. Krishnamurthy M, Ramalingam P, Perumal K, Kamalakannan LP, Chinnadurai J, Shanmugam R, et al. Occupational Heat Stress Impacts on Health and Productivity in a Steel Industry in Southern India. *Saf Health Work*. 2017;8(1):99-104.

31. Michie S, Williams S. Reducing work related psychological ill health and sickness absence: a systematic literature review. *Occup Environ Med*. 2003;60(1):3-9.

32. Department of Occupational Health and Safety mohr. Guidelines for press machines. In: Department of Occupational Health and Safety mohr, editor. Malaysia2024.

33. Balkhyour MA, Goknil MK. Total fume and metal concentrations during welding in selected factories in Jeddah, Saudi Arabia. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(7):2978-87.
34. HSE. Health risks from welding In: HSE, editor.: OSH Guide; 2024.
35. Zeidler-Erdely PC, Falcone LM, Antonini JM. Influence of welding fume metal composition on lung toxicity and tumor formation in experimental animal models. *J Occup Environ Hyg*. 2019;16(6):372-7.
36. Pereira SC, Oliveira PF, Oliveira SR, Pereira ML, Alves MG. Impact of Environmental and Lifestyle Use of Chromium on Male Fertility: Focus on Antioxidant Activity and Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(9).
37. Brautbar N, Williams J. Industrial solvents and liver toxicity: Risk assessment, risk factors and mechanisms. *Int J Hyg Envir Heal*. 2002;205(6):479-91.
38. SR O. Cottage dyeing industry and environmental hazards created by the use of commercial dyes and chemicals. *J arts & ideas* 2001;17:45-51.
39. HSE. Dyes and chemicals in textile finishing: An introduction. Dyeing and Finishing Information Sheet No 1 1996.
40. Strother J.M. NAK. Dyeing, Printing and Finishing. *Encyclopaedia of Occupational Health & Safety*; 2011.
41. Department OSaHBL. Chemical Safety in the Workplace. 2003.
42. Akafuah NK, Poozesh S, Salaimh A, Patrick G, Lawler K, Saito K. Evolution of the Automotive Body Coating Process-A Review. *Coatings*. 2016;6(2).
43. Duarte JM, Sales NGS, Sousa MH, Bridge C, Maric M, Gomes JD. Automotive paint analysis: How far has science advanced in the last ten years? *Trac-Trend Anal Chem*. 2020;132.
44. NIOSH NifOSaH. Organic Solvent Neurotoxicity. In: Division EaI, editor. Washington, DC1987.
45. Dobbs MR. Toxic Encephalopathy. *Semin Neurol*. 2011;31(2):184-93.
46. Ridgway P, Nixon TE, Leach JP. Occupational exposure to organic solvents and long-term nervous system damage detectable by brain imaging, neurophysiology or histopathology. *Food Chem Toxicol*. 2003;41(2):153-87.

47. Astrand I E-SH, Kilbom A, Ovrum P. Toluene exposure. I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise. *Work Environ Health* 1972;9:119-30.
48. Phillips SD, Waksman JC. Hepatorenal solvent toxicology. *Clin Occup Environ Med.* 2004;4(4):731-40, vi.
49. Bolt HM, Lammert M, Selinski S, Brüning T. Urinary  $\alpha$ -microglobulin excretion as biomarker of renal toxicity in trichloroethylene-exposed persons. *Int Arch Occ Env Hea.* 2004;77(3):186-90.
50. Blair A, Hartge P, Stewart PA, McAdams M, Lubin J. Mortality and cancer incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up. *Occupational and Environmental Medicine.* 1998;55(3):161-71.
51. Garabrant DH, Lacey JV, Laing TJ, Gillespie BW, Mayes MD, Cooper BC, et al. Scleroderma and solvent exposure among women. *Am J Epidemiol.* 2003;157(6):493-500.
52. Diot E, Lesire V, Guilmot JL, Metzger MD, Pilore R, Rogier S, et al. Systemic sclerosis and occupational risk factors: a case-control study. *Occupational and Environmental Medicine.* 2002;59(8):545-9.
53. Bond GG, McLaren EA, Sabel FL, Bodner KM, Lipps TE, Cook RR. Liver and Biliary-Tract Cancer among Chemical Workers. *Am J Ind Med.* 1990;18(1):19-24.
54. Dosemeci M, Cocco P, Chow WH. Gender differences in risk of renal cell carcinoma and occupational exposures to chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Am J Ind Med.* 1999;36(1):54-9.
55. Cantor KP, Stewart PA, Brinton LA, Dosemeci M. Occupational Exposures and Female Breast-Cancer Mortality in the United-States. *Journal of Occupational and Environmental Medicine.* 1995;37(3):336-48.
56. Blair A, Petralia SA, Stewart PA. Extended mortality follow-up of a Cohort of dry cleaners. *Ann Epidemiol.* 2003;13(1):50-6.
57. Ruder AM, Ward EM, Brown DP. Mortality in dry-cleaning workers: An update. *Am J Ind Med.* 2001;39(2):121-32.

58. Henschler D, Vamvakas S, Lammert M, Dekant W, Kraus B, Thomas B, et al. Increased Incidence of Renal-Cell Tumors in a Cohort of Cardboard Workers Exposed to Trichloroethene. *Arch Toxicol.* 1995;69(5):291-9.
59. Eskenazi B, Fenster L, Hudes M, Wyrobek AJ, Katz DF, Gerson J, et al. A Study of the Effect of Perchloroethylene Exposure on the Reproductive Outcomes of Wives of Dry-Cleaning Workers. *Am J Ind Med.* 1991;20(5):593-600.
60. Chia SE, Ong CN, Tsakok MFH, Ho A. Semen parameters in workers exposed to trichloroethylene. *Reprod Toxicol.* 1996;10(4):295-9.
61. Ruder AM. Potential health effects of occupational chlorinated solvent exposure. *Ann Ny Acad Sci.* 2006;1076:207-27.
62. Westgaard RH, Vasseljen O, Holte KA. Trapezius muscle activity as a risk indicator for shoulder and neck pain in female service workers with low biomechanical exposure. *Ergonomics.* 2001;44(3):339-53.
63. Noben CYG, Evers SMAA, Nijhuis FJ, de Rijk AE. Quality appraisal of generic self-reported instruments measuring health-related productivity changes: a systematic review. *Bmc Public Health.* 2014;14.
64. Choobineh A SE, Mohammad Beigi A. Musculoskeletal symptoms among workers of metal structure manufacturing industry in Shiraz,2005. *Iran J Epidemiology* 2009;5:35-43.
65. Thorp AA, Owen N, Neuhaus M, Dunstan DW. Sedentary Behaviors and Subsequent Health Outcomes in Adults A Systematic Review of Longitudinal Studies, 1996-2011. *Am J Prev Med.* 2011;41(2):207-15.
66. Lynch BM. Sedentary Behavior and Cancer: A Systematic Review of the Literature and Proposed Biological Mechanisms. *Cancer Epidem Biomar.* 2010;19(11):2691-709.
67. Choobineh AR, Daneshmandi H, Aghabeigi M, Haghayegh A. Prevalence of Musculoskeletal Symptoms among Employees of Iranian Petrochemical Industries: October 2009 to December 2012. *Int J Occup Env Med.* 2013;4(4):195-204.
68. Daneshmandi H, Choobineh A, Ghaem H. Psychometric properties of the persian version of the "Multidimensional Assessment of Fatigue Scale". *Int J Preventive Med.* 2019;10.

69. Júdice PB, Hamilton MT, Sardinha LB, Zderic TW, Silva AM. What is the metabolic and energy cost of sitting, standing and sit/stand transitions? *Eur J Appl Physiol.* 2016;116(2):263-73.
70. Moshref Javadi AM, Choobineh A, Razeghi M, Ghaem H, Daneshmandi H. Adverse Effects of Sit and Stand Workstations on the Health Outcomes of Assembly Line Workers: A Cross-sectional Study. *J Prev Med Hyg.* 2022;63(2):E344-E50.
71. Park RM, Krebs JM, Mirer FE. Occupational disease surveillance using disability insurance at an automotive stamping and assembly complex. *Journal of Occupational and Environmental Medicine.* 1996;38(11):1111-23.
72. Edimansyah BA, Rusli BN, Naing L, Rusli BAM, Winn T. Relationship of psychosocial work factors and health-related quality of life in male automotive assembly workers in Malaysia. *Ind Health.* 2007;45(3):437-48.
73. IARC. Painting, firefighting, and shiftwork. In: *Humans IMotEoCRt*, editor. 2010. p. 9–764.
74. Castaño BP, Ramírez V, Cancelado JA. Controlling Painters' Exposure to Volatile Organic Solvents in the Automotive Sector of Southern Colombia. *Saf Health Work-Kr.* 2019;10(3):355-61.
75. Kim JH, Moon JY, Park EY, Lee KH, Hong YC. Changes in Oxidative Stress Biomarker and Gene Expression Levels in Workers Exposed to Volatile Organic Compounds. *Ind Health.* 2011;49(1):8-14.
76. Angerer J, Kramer A. Occupational chronic exposure to organic solvents .16. Ambient and biological monitoring of workers exposed to toluene. *Int Arch Occ Env Hea.* 1997;69(2):91-6.
77. Gericke C, Hanke B, Beckmann G, Baltes MM, Kühl KP, Neubert D, et al. Multicenter field trial on possible health effects of toluene -: III.: Evaluation of effects after long-term exposure. *Toxicology.* 2001;168(2):185-209.
78. Decharat S. Urinary toluene levels and adverse health symptoms among automotive garage workers, Nakhon Si Thammarat province, Thailand. *Environ Anal Health Toxicol.* 2021;36(3):e2021018-0.
79. Büyüksekerci M, Gündüzöz M, Özakinci OG, Karatas M, Senat A, Neselioglu S, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis as indicator of oxidative stress in automotive workers. *Biomarkers.* 2020;25(3):274-80.

80. Vena JE, Sultz HA, Fiedler RC, Barnes RE. Mortality of Workers in an Automobile Engine and Parts Manufacturing Complex. *Brit J Ind Med*. 1985;42(2):85-93.
81. Andjelkovich DA, Mathew RM, Yu RC, Richardson RB, Levine RJ. Mortality of Iron Foundry Workers .2. Analysis by Work Area. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 1992;34(4):391-401.
82. Vitayavirasuk B, Junhom S, Tantisraanee P. Exposure to lead, cadmium and chromium among spray painters in automobile body repair shops. *J Occup Health*. 2005;47(6):518-22.
83. Nduka JK, Kelle HI, Amuka JO. Health risk assessment of cadmium, chromium and nickel from car paint dust from used automobiles at auto-panel workshops in Nigeria. *Toxicol Rep*. 2019;6:449-56.
84. IARC. Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts. In: Organization DftIAfRoCbtSotWH, editor. Geneva, Switzerland2012.
85. O. Faroon AA, S. Wright Toxicological Profile for Cadmium, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US). Atlanta, GA, USA2012.
86. Vattanasit U, Sukchana J, Kongsanit S, Dumtip P, Sirimano V, Kongpran J. Toluene and Heavy Metals in Small Automotive Refinishing Shops and Personal Protection of the Workers in Nakhon Si Thammarat, Thailand. *J Environ Public Health*. 2021;2021:8875666.
87. Zdrojewicz Z PE, Winiarski J. Nikiel. rola w organizmie człowieka i działanie toksyczne [Nickel - role in human organism and toxic effects]. *Pol Merkur Lekarski*. 2016;41(242):115-8.
88. Clarke C, Upson S. A global portrait of the manganese industry-A socioeconomic perspective. *Neurotoxicology*. 2017;58:173-9.
89. Fischer T, Rystedt I. Cobalt Allergy in Hard Metal Workers. *Contact Dermatitis*. 1983;9(2):115-21.
90. Assadi SN. Is a long term work in automotive industry a risk factor for renal dysfunction. *Ann Med Health Sci R*. 2015;5(2):103-7.
91. Visconti R, Grieco D. New insights on oxidative stress in cancer. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2009;12(2):240-5.



92. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med.* 2010;49(11):1603-16.
93. Perrone S, Lotti F, Geronzi U, Guidoni E, Longini M, Buonocore G. Oxidative Stress in Cancer-Prone Genetic Diseases in Pediatric Age: The Role of Mitochondrial Dysfunction. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:4782426.
94. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(3):497-516.
95. Desouky O, Ding N, Zhou GM. Targeted and non-targeted effects of ionizing radiation. *J Radiat Res Appl Si.* 2015;8(2):247-54.
96. Sancar A. DNA excision repair. *Annual Review of Biochemistry.* 1996;65:43-81.
97. Wyatt MD, Pittman DL. Methylating agents and DNA repair responses: Methylated bases and sources of strand breaks. *Chemical Research in Toxicology.* 2006;19(12):1580-94.
98. Skipper PL, Kim MY, Sun HLP, Wogan GN, Tannenbaum SR. Monocyclic aromatic amines as potential human carcinogens: old is new again. *Carcinogenesis.* 2010;31(1):50-8.
99. Yu HT. Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons: photochemistry and phototoxicity. *J Environ Sci Heal C.* 2002;20(2):149-83.
100. Henle ES, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 1997;272(31):19095-8.
101. Mates JM S-JF. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci (Elite Ed).* 1999;4:339-45.
102. Giacco F, Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058-70.
103. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Res.* 2010;44(5):479-96.
104. Hafstad AD, Nabeebaccus AA, Shah AM. Novel aspects of ROS signalling in heart failure. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(4).
105. BE T. Molecular biology, From gene to protein. Jones & Bartlett Learning 2011. p. 1100.

106. Winterbourn CC. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol.* 2008;4(5):278-86.
107. Cadet J, Douki T, Ravanat JL. Oxidatively generated base damage to cellular DNA. *Free Radic Biol Med.* 2010;49(1):9-21.
108. Demple B, Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annu Rev Biochem.* 1994;63:915-48.
109. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000;21(3):361-70.
110. Huff AC, Topal MD. DNA Damage at Thymine N-3 Abolishes Base-Pairing Capacity during DNA-Synthesis. *Journal of Biological Chemistry.* 1987;262(26):12843-50.
111. Jena AB, Samal RR, Bhol NK, Duttaroy AK. Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomed Pharmacother.* 2023;162:114606.
112. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19.
113. Hong Y, Boiti A, Vallone D, Foulkes NS. Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and Evolution. *Antioxidants (Basel).* 2024;13(3).
114. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature.* 2009;458(7239):719-24.
115. Brendler-Schwaab S, Hartmann A, Pfuhler S, Speit G. The comet assay:: use and status in genotoxicity testing. *Mutagenesis.* 2005;20(4):245-54.
116. Singh NP, Mccoy MT, Tice RR, Schneider EL. A Simple Technique for Quantitation of Low-Levels of DNA Damage in Individual Cells. *Exp Cell Res.* 1988;175(1):184-91.
117. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.* 2000;35(3):206-21.
118. Collins A, Moller P, Gajski G, Vodenkova S, Abdulwahed A, Anderson D, et al. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. *Nat Protoc.* 2023;18(3):929-89.

119. Moller P, Knudsen LE, Loft S, Wallin H. The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidem Biomar.* 2000;9(10):1005-15.
120. Şekeroğlu V A-ŞZ. Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2011;68(4):241-52.
121. Hovhannisyanyan GG. Fluorescence in situ hybridization in combination with the comet assay and micronucleus test in genetic toxicology. *Mol Cytogenet.* 2010;3.
122. Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The HUman MicroNucleus Project - An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res-Fund Mol M.* 1999;428(1-2):271-83.
123. Savage JRK. A Comment on the Quantitative Relationship between Micronuclei and Chromosomal-Aberrations. *Mutation Research.* 1988;207(1):33-6.
124. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28(3):625-31.
125. Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, Chen YJ, Chiang CP, Liu BY, et al. Carcinoma and dysplasia in oral leukoplakias in Taiwan: Prevalence and risk factors. *Oral Surg Oral Med O.* 2006;101(4):472-80.
126. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *Ca-Cancer J Clin.* 2002;52(4):195-215.
127. Mandard AM, Duigou F, Marnay J, Phmasson, Lang QS, Shu YJ, et al. Analysis of the Results of the Micronucleus Test in Patients Presenting Upper Digestive-Tract Cancers and in Non-Cancerous Subjects. *Int J Cancer.* 1987;39(4):442-4.
128. Flores-García A, Torres-Bugarín O, Velarde-Félix JS, Rangel-Villalobos H, Zepeda-Carrillo EA, Rodríguez-Trejo A, et al. Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal mucosa cells of Mexican women with breast cancer. *J Buon.* 2014;19(4):895-9.
129. Zuniga-Gonzalez GM, Batista-Gonzalez CM, Gomez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez AL, Munoz-Magallanes T, et al. Micronuclei in diabetes: folate

supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutat Res.* 2007;634(1-2):126-34.

130. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols.* 2009;4(6):825-37.

131. Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Thomas P, Fenech M. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery. *Mutat Res.* 2013;753(2):100-13.

132. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2007;2(5):1084-104.

133. von Ledebur M, Schmid W. The micronucleus test. Methodological aspects. *Mutat Res.* 1973;19(1):109-17.

134. Abe T, Isemura T, Kikuchi Y. Micronuclei in Human Bone-Marrow Cells - Evaluation of the Micronucleus Test Using Human-Leukemia Patients Treated with Antileukemic Agents. *Mutation Research.* 1984;130(2):113-20.

135. Heddle JA, Fenech M, Hayashi M, MacGregor JT. Reflections on the development of micronucleus assays. *Mutagenesis.* 2011;26(1):3-10.

136. Stich HF, San RHC, Rosin MP. Adaptation of the DNA-Repair and Micronucleus Tests to Human Cell-Suspensions and Exfoliated Cells. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1983;407(Jun):93-105.

137. Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res-Rev Mutat.* 2008;659(1-2):93-108.

138. de Oliveira FM, Carmona AM, Ladeira C. Is mobile phone radiation genotoxic? An analysis of micronucleus frequency in exfoliated buccal cells. *Mutat Res-Gen Tox En.* 2017;822:41-6.

139. Fenech M, Holland N, Zeiger E, Chang WP, Burgaz S, Thomas P, et al. The HUMN and HUMN

international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells-past, present and future. *Mutagenesis.* 2011;26(1):239-45.

140. Brown LM, Moradi T, Gridley G, Plato N, Dosemeci M, Fraumeni JF. Exposures in the painting trades and paint manufacturing industry and risk of cancer among men and women in Sweden. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2002;44(3):258-64.
141. IARC. Some Organic Solvents, Resin Monomers and Related Compounds, Pigments and Occupational Exposures in Paint Manufacture and Painting. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans IARC; 1989.
142. Diaz S, Fonseca G, Fernandez I. Analysis of Lymphocyte and Oral-Mucosa Cell Micronuclei in Cuban Paint Industry Workers. *Hereditas*. 1990;113(1):77-80.
143. Dick FD. Solvent neurotoxicity. *Occupational and Environmental Medicine*. 2006;63(3):221-6.
144. Programme UND. The Montreal Protocol. 2005.
145. Sclar G. Encephalomyeloradiculoneuropathy following exposure to an industrial solvent. *Clin Neurol Neurosurg*. 1999;101(3):199-202.
146. Daniell WE, Claypoole KH, Checkoway H, Smith-Weller T, Dager SR, Townes BD, et al. Neuropsychological function in retired workers with previous long-term occupational exposure to solvents. *Occup Environ Med*. 1999;56(2):93-105.
147. Ahmadi A, Jönsson P, Flodin U, Söderkvist P. Interaction between smoking and glutathione S-transferase polymorphisms in solvent-induced chronic toxic encephalopathy. *Toxicol Ind Health*. 2002;18(6):289-96.
148. Louis ED, Applegate LM, Factor-Litvak P, Parides MK, Andrews L. Essential tremor - Occupational exposures to manganese and organic solvents. *Neurology*. 2004;63(11):2162-4.
149. Passero S, Battistini N, Cioni R, Giannini F, Paradiso C, Battista F, et al. Toxic Polyneuropathy of Shoe Workers in Italy - a Clinical, Neurophysiological and Follow-up-Study. *Ital J Neurol Sci*. 1983;4(4):463-72.
150. Allen N MJR, Billmaier D J. Toxic polyneuropathy due to methyl n-butyl ketone. An industrial outbreak. *Arch Neurol* 1975;32(20):218.
151. Noraberg J, Arlien-Soborg P. Neurotoxic interactions of industrially used ketones. *Neurotoxicology*. 2000;21(3):409-18.

152. Tranfo G. The Growing Importance of the Human Biomonitoring of Exposure. *Int J Env Res Pub He.* 2020;17(11).
153. Dos Reis AP, Silveira MAD, Demarco NR, D'Arce LPG. Increased DNA Damage, Instability and Cytokinesis Defects in Occupationally Exposed Car Painters. *In Vivo.* 2019;33(6):1807-11.
154. Chang FK, Mao IF, Chen ML, Cheng SF. Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine as a Biomarker of Oxidative DNA Damage in Workers Exposed to Ethylbenzene. *Ann Occup Hyg.* 2011;55(5):519-25.
155. Pinto D, Ceballos JM, García G, Guzmán P, Del Razo LM, Vera E, et al. Increased cytogenetic damage in outdoor painters. *Mutat Res-Gen Tox En.* 2000;467(2):105-11.
156. Gajalakshmi P, Balasundaram A, Venkatesan P, Santhiya ST, Ramesh A. Cytogenetic studies on spray painters in south India. *Mutat Res-Gen Tox En.* 2002;514(1-2):1-6.
157. Haglund U, Lundberg I, Zech L. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Swedish paint industry workers. *Scand J Work Environ Health.* 1980;6(4):291-8.
158. Londono-Velasco E, Martinez-Perafan F, Carvajal S, Garcia-Vallejo F, Hoyos-Giraldo LS. Evaluation of oxidative and methylating DNA damage in painters occupationally exposed to organic solvents and paints. *Biomedica.* 2019;39(3):464-77.
159. Madhavi D, Devi, K.R. Effects of paint particles inhalation on superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in industrial painters. *Toxicol Environ Chem* 2007;90:341–7.
160. Silva JMGC, SantosMello R. Chromosomal aberrations in lymphocytes from car painters. *Mutat Res-Genet Tox.* 1996;368(1):21-5.
161. Martino-Roth MG, Viégas, J., Roth, D.M. Occupational genotoxicity risk evaluation through the comet assay and the micronucleus test. *Genet Mol Res* 2003;2(4):410–7.
162. Pratheepa SN, Kaur S, Reddy KS, Vivekanandam S, Ramachandra RK. Micronucleus Index: An Early Diagnosis In Oral Carcinoma. *J Anat Soc India.* 2008;57(1):8-13.

163. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408(6809):239-47.
164. Gutteridge JMC, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000 - A historical look to the future. *Reactive Oxygen Species: From Radiation to Molecular Biology*. 2000;899:136-47.
165. Torun AN, Kulaksizoglu S, Kulaksizoglu M, Pamuk BO, Isbilen E, Tutuncu NB. Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;70(3):469-74.
166. Brum EDS, da Silva LM, Teixeira TP, Moreira LDR, Kober H, Lavall MC, et al. DNA damage and inflammatory response in workers exposed to fuels and paints. *Arch Environ Occup Health*. 2021;76(3):152-62.
167. Kropski JA, Fremont RD, Calfee CS, Ware LB. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. *Chest*. 2009;135(6):1440-7.
168. Sutton CE, Lalor, S.J., Sweeney, C.M., Brereton, C.F., Lavelle, E.C., Mills, K.H. Interleukin-1 and IL-23 induce innate IL-17 production from gamma delta T cells, amplifying Th17 responses and autoimmunity. *Immunity*. 2009;31(2):331-41.

## 8. EKLER

### 8.1. EK-1: Orjinallik Raporu

EK: Dijital makbuz



## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: sultan cetintepe  
Ödev başlığı: OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK ...  
Gönderi Başlığı: OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK ...  
Dosya adı: TEZ\_SPC\_25.07.24\_-\_BENZERL\_K.pdf  
Dosya boyutu: 994.24K  
Sayfa sayısı: 101  
Kelime sayısı: 23,073  
Karakter sayısı: 154,189  
Gönderim Tarihi: 30-Tem-2024 01:34ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 2414762554

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK  
HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzm. Dr. Sultan Pinar CETİNTEPE

Farmasötik Toksikoloji Programı  
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. A. Nuryen BASARAN

ANKARA  
2024



## 8.2. EK-2: Benzerlik Raporu

### OTOMOTİV SANAYİSİ ÇALIŞANLARINDA OLASI GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

#### ORJİNALLIK RAPORU

% <b>16</b>	% <b>12</b>	% <b>10</b>	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	Sultan Pınar Cetintepe, Merve Hazar, Izem Bilinmiş, Sevtap Aydın dilsiz, Nursen Basaran. "Evaluation of genotoxicity, oxidative stress and immune parameters of auto-paint workers", Environmental Research, 2023 Yayın	% <b>3</b>
<b>2</b>	<a href="https://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	<a href="https://pdffox.com">pdffox.com</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>4</b>	<a href="https://docplayer.biz.tr">docplayer.biz.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="https://dspace.gazi.edu.tr">dspace.gazi.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="https://acikerisim.medipol.edu.tr">acikerisim.medipol.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="https://acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080">acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>

### 8.3. EK-3: Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 1339

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 29 HAZİRAN 2021 SALI  
**Toplantı No** : 2021/13  
**Proje No** : GO 21/883 (Değerlendirme Tarihi: 29.06.2021)  
**Karar No** : 2021/13-110

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nurşen BAŞARAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Ecz. Merve HAZAR ile birlikte çalışacakları ve Uzm. Dr. Sultan Pınar ÇETİNTEPE'nin doktora tezi olan, GO 21/883 kayıt numaralı "*Otomotiv Sanayisi Çalışanlarında Olası Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması imzalanması kaydı ile 01 Ekim 2021-01 Ekim 2022 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

- |                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| 1. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Başkan) | 7. Doç. Dr. Nüket Paksoy ERBAYDAR (Üye) |
| 2. Prof. Dr. G. Burça AYDIN (Üye)     | 8. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTIK (Üye)   |
| 3. Prof. Dr. M. Özgür UYAR (Üye)      | 9. Doç. Dr. Hande Güney DENİZ (Üye)     |
| 4. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER (Üye)     | 10. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR (Üye)     |
| 5. Doç. Dr. H. Tuna Çak ESER (Üye)    | 11. Av. Serap MORALIOĞLU (Üye)          |
| 6. Doç. Dr. Can Ebru KURBAN (Üye)     |   |

#### 8.4. EK-4: Anket Formu

##### Kişisel Bilgiler

1. ~~Ad~~
2. ~~Soyad~~
3. Yaş
4. Cinsiyet
  - Erkek:
  - Kadın:
5. Eğitim düzeyi
  - İlkokul
  - Ortaokul
  - Lise
  - Üniversite
6. Medeni Hal
  - Evli
  - Bekar
  - Boşanmış

##### Şimdiki ve Geçmiş Meslek Öyküsü

7. Şu anda çalışıyor musunuz? Evet  Hayır
8. Şu anda çalışmakta olduğunuz veya en son çalıştığınız şirketin adı nedir?
9. Otomotiv sektöründe kaç yıl çalıştınız?
10. Daha önce çalıştığınız/rotasyon yaptığınız bölüm var mı? Evet ise nerede ve ne kadar süre? .....
11. Yaptığınız iş nedir?
12. Haftanın kaç günü çalışıyorsunuz?
13. Günde kaç saat çalışıyorsunuz?
14. Maske kullanıyor musunuz? Evet  Hayır
15. Ne kadar sıklıkta kullanıyorsunuz? Devamlı  Ara sıra  Hiç
16. Hobileriniz var mı? Evet ise neler.....

Evet  Hayır

### Maruziyet Öyküsü (İş-çevresel)

17. İşinizde aşağıdakilerden herhangi birine maruz kaldınız mı?

Maruziyet	EVET	HAYIR
Asbest		
Radyasyon		
Kömür		
Metal dumanı		
Odun tozu		
Pestisit/herbisit		
Petrol ürünleri		
Boya		
Solvent/Tiner		
Başka kimyasal		

18. Son 1 yıldır işyerinde solunum veya deri yoluyla etkilendiğiniz ve ismini bildiğiniz spesifik kimyasallar nelerdir?

19. Son 1 yıldır hobi olarak veya mesleki olmayan koşullarda solunum veya deri yoluyla etkilendiğiniz ve ismini bildiğiniz spesifik kimyasallar nelerdir?

### Sigara İçme Durumu

20. Sigara içiyor musunuz?

Evet

Hayır

21. Sigara içiyorsanız günde kaç paket?.....

22. Sigara içiyorsanız kaç yıldır?.....

23. Sigarayı bıraktıysanız bırakma süreniz:.....

24. Tütün çiğniyor musunuz? Evet  Hayır

25. Son 1 yıl içerisinde hekim tarafından reçetendirilmiş ilaç kullandınız mı?

Evet  Hayır

26. Evet ise: İlaç adı.....dozu.....Günde kaç defa.....kaç yıl.....

27. Son 1 yıl içerisinde hekim tarafından reçete edilmemiş ilaç kullandınız mı?

Evet  Hayır

28. Evet ise: İlaç adı.....dozu.....Günde kaç defa.....kaç yıl.....

29. Şu anda veya son 6 aydır vitamin kullandınız mı? Evet  Hayır

30. Evet ise: Hangi vitaminler.....dozu.....haftada kaç adet.....

31. Aşağıdaki hastalıklardan herhangi birinin tanısını aldınız mı?

Hastalık	Evet	Hayır
Kanser		
Hepatit		
Mononükleozis		
Herpes		
AIDS		
Menenjit		
Bakteriyal/viral enfeksiyon		
Kardiyovasküler hastalık		
Diyabet		
Diğer kronik hastalıklar		

32. Ek hastalığınız var ise adı.....kaç yıldır mevcut.....tedaviler.....

33. Son 1 yıldır tanısı konulan hastalıklar ve tedaviler nelerdir?.....

34. Son 1 yıldır aşı olduysanız, bu aşılar nelerdir?.....

35. Son 10 yıldır çekilen röntgen var mı?.....Neden çekilmişti?.....Ne zaman çekilmişti?.....

36. Geçen yıl cerrahi operasyon geçirdiniz mi?.....tarih?.....Ne zaman.....

### Diyet Öyküsü

37. Sadece sebze ile mi beslenirsiniz? Evet  Hayır

38. Et yer misiniz? Evet  Hayır

39. Evet ise aşağıdaki listeye göre hangi sıklıkta:

	Gün			
	1-2	3-4	5-6	Her gün
Kırmızı et				
Balık				
Tavuk				
Diğer				

40. Kırmızı eti nasıl pişmiş yersiniz? Az pişmiş  Orta  İyi pişmiş

41. Tatlandırıcı kullanır mısınız? Günde kaç defa.....

42. Yaptığınız özel bir diyet var ise belirtiniz (Ketojenik diyet, vb).....

43. Kahve içiyor musunuz? Evet  Hayır

44. Evet ise, günde kaç adet?.....

45. Çay içer misiniz? Evet  Hayır

46. Evet ise, günde kaç bardak?.....

47. Alkol kullanıyor musunuz?.....evet ise haftada kaç gün?.....Kaç adet.....

### Genetik Öykü

48. Doğumsal/ genetik ailesel sendrom tanısıyla takipli anne, baba, kardeş veya çocuğunuz ır mı? E  Hayır

49. Evet ise anlatınız.....

50. İnfertilite sorunu yaşadınız mı? (12 aydan uzun süre geçmesine rağmen gebe kalamama)

Evet  Hayır

## 8.5. EK-5: Tez Çalışması ile İlgili Yayın

Environmental Research 237 (2023) 116970



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envres](http://www.elsevier.com/locate/envres)



### Evaluation of genotoxicity, oxidative stress and immune parameters of auto-paint workers

Sultan Pınar Cetintepe<sup>a</sup>, Merve Hazar<sup>b</sup>, Izem Bilinmiş<sup>c</sup>, Sevtap Aydın Dilsiz<sup>d</sup>, Nursen Basaran<sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Public Health, Faculty of Medicine, Gazi University, 06500, Ankara, Türkiye

<sup>b</sup> Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ağı Ibrahim Çeçen University, Ağı, 04100, Türkiye

<sup>c</sup> Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Başkent University, Ankara, 06790, Türkiye

<sup>d</sup> Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara, 06100, Türkiye

#### ARTICLE INFO

Handling Editor: Jose L. Domingo

#### Keywords:

Occupational exposure  
Automotive industry  
Oxidative stress  
DNA damage  
Comet assay  
Specific information

#### ABSTRACT

The automotive industry is a very wide area from the manufacturing of the pieces of the engine, the body, plastics to the assembly of the car. There is a chemical risk at different stages of production because of the requirement of the use of many corrosive and irritant chemicals such as paints, adhesives, acids, and bases. The aim of the study was to determine the genotoxicity, oxidative stress and immune parameters of automotive paint workers in Ankara, Türkiye. DNA damage of workers mainly responsible from the painting of the automobiles were evaluated using the alkaline comet assay and the levels of some oxidative stress and immune biomarkers were also investigated. Increased lymphocyte DNA damage and also higher 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and malondialdehyde (MDA) levels were observed while decreased glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione reductase (GR) levels were found in the workers compared to their controls. There were no significant differences between the study groups in the levels of interleukin (IL)-1beta, IL-17, IL-23, Clara cell secretory protein (CC16), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD). The results show that occupational exposure to chemicals in automotive industry may cause DNA damage in workers due to oxidative stress.

#### 1. Introduction

More than 10 million people work in the automotive production worldwide (ILO, 2009; OICA, 2021), while more than 50 thousand workers are employed in the automotive industry in Türkiye (UIB, 2021). Since automotive industry is a very wide area from the manufacturing of the pieces of the engine, the body, plastics to the assembly of the car, it consists of many steps with physical, biological and chemical occupational and environmental risks. At different stages of production, specially in auto painting many corrosive and irritant chemicals such as adhesives, acids and bases have been used. Hazardous substances in auto painting include; paints, paint removers, solvents, heavy metals such as lead, powders, lacquers, resins, oils, adhesives, degreasers, surface preparation products, rust converters, and dusts. The processes involved in spray painting and powder coating are particularly risky due to a combination of factors such as the use, handling, and storage of hazardous substances. Paint products contain pigments,

binders, additives, and solvents (toluene, xylene, ketones, alcohols, esters and glycol ethers) in varying proportions (de Oliveira et al., 2011). Toluene is widely used in the industrial paint industry. Chlorinated solvents such as trichloroethylene, dichloromethane (methylene chloride) and perchlorethylene are also used for the cleaning of paint residues. Workers dealing with paints are significantly exposed to volatile organic compounds (VOCs) in the work environment via inhalation of vapors and gases, dermal absorption and/or ingestion. These chemicals are known to cause acute and chronic health effects such as central nervous system symptoms, liver diseases, dermatitis, infertility, and cancer (Dick, 2006). The IARC classified occupational exposure to paints as a high-risk group for lung and bladder cancer development (IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2010). Therefore regular measurements of workplace environment by occupational safety experts at the time intervals specified by the regulations and regular periodic examination of workers by workplace physicians are necessary.

\* Corresponding author. ERT Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Başkent University, 06790, Ankara, Türkiye.  
E-mail addresses: [anbasaran@baskent.edu.tr](mailto:anbasaran@baskent.edu.tr), [nbasaran@hacettepe.edu.tr](mailto:nbasaran@hacettepe.edu.tr) (N. Basaran).

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116970>

Received 13 August 2023; Received in revised form 22 August 2023; Accepted 22 August 2023

Available online 23 August 2023

0013-9351/© 2023 Elsevier Inc. All rights reserved.

**8.6. EK-6: Özgeçmiş****ÖZGEÇMİŞ****A. KİŞİSEL BİLGİLER**

<b>A.1</b>	<b>Adı ve Soyadı:</b> Sultan Pınar ÇETİNTEPE
------------	--