



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**İNSAN MEME KANSERİNDE ÇEVRESEL
KİRLETİCİ İNTERNAL DOZ DÜZEYLERİYLE
HASTALIK İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

İlgen ONAT

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**İNSAN MEME KANSERİNDE ÇEVRESEL
KİRLETİCİ İNTERNAL DOZ DÜZEYLERİYLE
HASTALIK İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

İlgen ONAT

Danışman
Prof. Dr. Hilmi ORHAN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr. Hilmi ORHAN

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Ferzan LERMİOĞLU ERCİYAS

Üye : Prof. Dr. Hande GÜRER ORHAN

Üye : Prof. Dr. Sinan SÜZEN

Üye : Prof. Dr. Sait Cemil SOFUOĞLU

Üye : Prof. Dr. Mehmet Nurullah ORMAN

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 26.12.2019

Önsöz

2010 Yılında kendimi geliştirmek, akademik anlamda çalışma yapmak isteğiyle o dönemde çalışmakta olduğum Tarım ve Orman Bakanlığı, İzmir Gıda Kontrol Laboratuvarını ziyaret eden danışmanım Prof. Dr. Hilmi Orhan'la tanıştım. Kendisine bu düşünceyi açıkladım ve bu şekilde doktora çalışmalarına başlamış oldum. Zaman içerisinde Ege Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda çok fazla sayıda bilimsel, aynı zamanda sosyal anı biriktirdim; makale ve seminer saatleri, doktora dersleri ve sınavları, eşzamanlı çalışmaya başladığım birkaç proje ve ardından kendi doktora çalışmam, sayısız yılbaşı, bayram ve yaş günü kutlaması. Farklı bir iřte çalışırken doktora yapmış olmak benim için kolay olmasa da bu zorlu sürecin sonunda güzel bir iç yaptığım düşüncesindeyim; kadınlar için çağın hastalığı olan meme kanserinde önemli bir araştırma yapmış olmak ve heyecan verici yeni sonuçlara ulaşmaktan, bu konuda bilimsel literatüre katkı yapmış olmaktan dolayı çok mutluyum.

İzmir, 19.12.2019

İlgen ONAT

Özet

İnsan Meme Kanserinde Çevresel Kirletici İnternal Doz Düzeyleriyle Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Bu tez çalışmasında meme dokusunda kalıcı organik kirleticinin (KOK) konsantrasyonları ile meme kanseri oluşumu ve/veya gelişimi arasında bir ilişki olup olmadığı, ayrıca söz konusu kirleticilerin kan ve doku miktarları arasında bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Yanı sıra KOK türevlerinin biyotransformasyonunda rol alması beklenen enzimlerde olası genetik varyasyonların meme kanseri için risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla tümör nedeniyle meme cerrahisi uygulanan hastalardan ve estetik amaçlı meme küçültme operasyonuna giren kişilerden doku ve kan örnekleri toplanmıştır. Bu örneklerde toplamda 32 KOK türevinin konsantrasyonları, gaz kromatografisi-elektron yakalayıcı deteksiyon (GC-ECD) tekniği ile belirlenmiştir. Kan örneklerinden genomik DNA izole edilerek KOK türevlerinin Faz I biyotransformasyonunda rol alması olası olan sitokrom P450 1A1 (CYP1A1), Faz II konjugasyonunda rol alması beklenen glutatyon S-transferaz M1, T1 ve P1 enzimlerinin genetik varyasyonları ve DNA oksidatif hasar onarım enzimlerinden birisi olan insan 8-okzoguanin glikozilaz 1'in de (hOGG1) genetik varyasyonu, PCR-RFLP tekniği ile analiz edilmiştir. Kanserli ve sağlıklı meme dokularında ölçülen KOK konsantrasyonları karşılaştırıldığında bazı türevlerin miktarının kanser grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır; dolayısıyla bu sonuç, söz konusu türevlerle meme kanseri arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir. KOK türevlerinin konsantrasyonları doku ve kanda ayrı ayrı ölçülmüş ve toplamda 9 türev için pozitif korelasyon gözlenmiş olup, kan düzeylerinin dokudaki kimyasal madde miktarını öngörmede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. KOK türevlerinin biyotransformasyonunda rol alması beklenen enzimlerden CYP1A1 ve GSTT1'deki genetik varyasyonun meme kanseri için risk faktörü olabileceği belirlenmiş, ayrıca yaş ve sigara kullanımı ile de meme kanseri oluşumu ya da gelişiminin ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler; Kalıcı organik kirleticiler; meme kanseri; biyogösterge; genetik polimorfizm, risk faktörleri

Abstract

Investigation of the Association Between the Internal Dose Levels of Environmental Pollutants and Disease in Human Breast Cancer

In this thesis, a possible relation between initiation and/or progression of breast cancer and persistent organic pollutants (POPs), as well as correlation between blood and breast tissue levels of POPs were investigated. In addition, it was evaluated whether genetic polymorphisms in enzymes possibly catalyse either phase I and phase II biotransformation reactions of POPs in vivo represent a risk factor for breast cancer. In order to perform these, breast tumour tissues from patients who undergone tumour surgery and healthy breast tissues from individuals, who undergone breast reduction surgery, as well as blood samples from both groups were collected. In total concentrations of 32 POP derivatives were determined in these samples by gas chromatography electron capture detection (GC-ECD). Genomic DNAs were isolated from each blood sample and genetic variations of phase I enzyme CYP1A1, and phase II enzymes GSTP1, GSTM1 and GSTT1 that expected to catalyse biotransformation of POP derivatives, and DNA oxidative damage repair enzyme hOGG1 were analysed by PCR-RFLP. Significantly higher POP concentrations were observed when compared between control and cancer groups, which suggested a possible relation between breast cancer and POP exposure. For 9 POP derivatives, positive correlations were determined between blood and tissue concentrations and it was concluded that blood levels of these POPs can be used as surrogate for predicting tissue concentrations of the same compounds. It was concluded that genetic variations in CYP1A1 and GSTT1, which were expected to catalyse POPs biotransformation, may be risk factors for breast cancer. In addition, it was determined in all groups that both age and cigarette smoking may also be risk factors for initiation and/or progression of breast cancer.

Key words: Persistent organic pollutants; breast cancer; biomarker; genetic polymorphism; risk factors

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	V
Tablolar Dizini.....	VII
Şekiller Dizini	XII
Kısaltma Listesi	XVIII
Giriş.....	1
Genel Bilgiler	5
2.1. Organoklorlu Pestisitler (OCPs).....	5
2.2. Poliklorlu Bifeniller (PCBs)	7
2.3. Polibromlu Difenil Eterler (PBDEs).....	9
2.4. Kalıcı Organik Kirleticilerin Kansere Dışı Toksik Etkilerine İlişkin Çalışmalar	10
2.4.1. İnsan Dokularında KOK düzeyleri çalışmaları	13
2.5. KOK'ların Karsinojenik Potansiyellerine İlişkin Çalışmalar	14
2.5.1. IARC'ye Göre KOK'ların Karsinojenite Sınıflandırması	14
2.5.2. Meme Kanseri.....	15
2.5.3. KOK Toksisitesine ait İnsan Verileri	23
Gereç ve Yöntem	27
3.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler	27
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.2. Biyolojik Örnekleme	28
3.2.1. Hasta Seçimi	28
3.2.2. Demografik Özellikler	29
3.2.3. Örneklerin Toplanması ve Analize Hazırlanması.....	32
3.3. Yöntem	34
3.3.1. Geçerlendirme (Validasyon) Çalışmaları	34
3.3.1.1. Biyolojik Örneklerde KOK Ölçümü Geçerlendirmesi	34
3.3.1.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu Geçerlendirme Çalışması.....	40
3.3.2. KOK Türevlerinin Analizi için Biyolojik Örnek Hazırlığı	41

3.3.2.1. Kan Örnekleri Hazırlığı	41
3.3.2.2. Meme Doku Örnekleri Hazırlığı.....	41
3.3.3. Gaz Kromatografi - Elektron Yakalayıcı Deteksiyon Çalışma Koşulları ve Uygulanması	42
3.3.4. Genetik Varyasyon (Polimorfizm) Analizleri	43
3.3.4.1. KOK Biyotransformasyonu Enzimleri Genetik Varyasyon Analizi	44
3.4. İstatistiksel Analiz	46
Bulgular.....	47
4.1. Analitik Geçerlendirme Çalışması Bulguları	47
4.1.1. Kromatografik Teknik Belirlenmesi ve Yöntem Kurulması Bulguları	47
4.1.1.1. GC/MS ve GC-ECD Teknikleri Hassasiyet Karşılaştırması Bulguları	52
4.1.1.2. Kan ve Doku Örneklerinden Geri Alım Çalışması Bulguları.....	59
4.1.2. Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu Çalışması Bulguları	71
4.2. Hasta Kan ve Meme Dokularında KOK Düzeyleri	77
4.2.1. Meme Kontrol ve Kanser Gruplarında KOK Düzeyleri.....	81
4.2.1.1. Kan OCP Düzeyleri.....	81
4.2.1.2. Kan PCB Düzeyleri.....	84
4.2.1.3. Kan PBDE Düzeyleri	87
4.2.1.4. Doku OCP Düzeyleri	88
4.2.1.5. Doku PCB Düzeyleri.....	91
4.2.1.6. Doku PBDE Düzeyleri	95
4.3. Kan ve Meme Dokusu KOK Konsantrasyonları Çapraz Korelasyon Bulguları	97
4.4. KOK Biyotransformasyonu ve DNA Onarım Enzimleri Genetik Varyasyon Çalışması Bulguları	100
Tartışma	108
Sonuç ve Öneriler.....	115
KAYNAKLAR	116
Ekler	127
Teşekkür	134
Özgeçmiş	135

Tablolar Dizini

Tablo 2.5.1.1 IARC'ye göre tez çalışmasında analiz edilen KOK türevlerinin karsinojenisite sınıflandırması	15
Tablo 3.2.2.1 Meme sağlıklı kontrol grubu ve meme kanser grubuna ait demografik özellikler. Bireyler 4 farklı yaş grubunda ayrı ayrı ve toplu olarak gruplandırılmış, ancak her bir alt grupta sayıların düşük olması nedeniyle analiz edilen parametreler açısından toplu değerlendirilmişlerdir	29
Tablo 3.2.3.1 Sağlıklı kontrol ve hasta grubu kan ve meme dokusu örneklerinde kalitatif ve kantitatif analiz gerçekleştirilen kalıcı organik kirletici grupları	33
Tablo 3.3.1.1.1.1 GC/MS parametreleri ve sıcaklık gradiyenti tablosu	36
Tablo 3.3.1.1.1.2 GC-ECD parametreleri ve sıcaklık gradiyentleri tablosu	37
Tablo 3.3.3.1 GC-1 ve GC-2 analiz yöntemlerine ait cihaz parametreleri.....	42
Tablo 4.1.1.1. KOK türevlerinin GC-ECD'ye doğrudan enjeksiyonu ile elde edilen kalibrasyon doğrusu formülleri ($y=ax+b$) ve alıkonma zamanları ve regresyon katsayıları (R^2)	47
Tablo 4.1.1.1.1 GC/MS-SIM (Selected Ion Monitoring) modunda gerçekleştirilen KOK türevleri analizinde izlenen iyonlar ve alıkonma zamanları	52
Tablo 4.1.1.1.2 GC-ECD ve GC-MS teknikleri ile elde edilen KOK türevlerine ait LOD ve LOQ değerleri. Her iki değer, ilgili madde pikinin 0.5 dk öncesi ve 0.5 dk sonrası kromatogram kesitinin zemin sinyali (noise signal) yükseklik ortalamalarının sırasıyla 3 ve 10 katı olacak şekilde hesaplanmıştır.	58
Tablo 4.1.1.2.1 Silika kolon fraksiyonlandırması sonucunda her bir KOK kimyasal grubu için elde edilen en düşük ve en yüksek %Verim değerleri. %Verim değerleri ilk sütunda elde edilen doğrudan verim, 2. ve 3. sütunlarda ise analizlerde kullanılan her iki I.S.'a göre oranlanmış olarak bildirilmiştir.....	60
Tablo 4.1.1.2.2 Sağlıklı gönüllü bireylerden alınan kan örneklerinde <i>ng/mL Tam Kan</i> cinsinden KOK konsantrasyonlarının saptanması, ortalama değer ve standart sapmaları	63

Tablo 4.1.1.2.3 Analiz prosedüründe yer alan başlıca farklılıklar	64
Tablo 4.1.1.2.1.1 Asitli silika kolon uygulamasının KOK türevlerine etkisi.....	68
Tablo 4.1.1.2.1.2 Doğrudan asit uygulamasının KOK türevleri geri alım oranlarına etkisi.....	70
Tablo 4.1.1.2.1.3 Analizlerde ölçümü yapılan KOK türevleri	70
Tablo 4.1.2.1 Farklı marka kit ve farklı başlangıç aşamaları ile aynı kişiden alınan kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyonu (ng/μL), DNA miktarı (ng), A260, A280, 260/280 ve 260/230 sonuçları. Sonuçlar <i>ortalama değer ± standart sapma</i> olarak bildirilmiştir	71
Tablo 4.1.2.2 Başlangıç aşamasına lenfosit izolasyon prosedürü eklenmesinin ve kit prosedürüne RNase enziminin eklenmesinin DNA saflaştırmasına etkisi. Kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon (ng/μL), 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorbans, A260/A280 ve A260/A230 oranlarına ait sonuçlar <i>ortalama değer ± standart sapma</i> olarak verilmiştir	73
Tablo 4.1.2.3 Farklı saklama sıcaklıklarının DNA saflaştırmasına etkisi. Kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon (ng/μL) ve A260/A280 oranlarına ait sonuçlar <i>ortalama değer ± standart sapma</i> olarak verilmiştir	74
Tablo 4.1.2.4. Farklı araştırmacıların yaptığı ve farklı lenfosit izolasyonunun DNA saflaştırmasına etkisi. Aynı kişiden alınana kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon (ng/μL), 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorbans, A260/A280 ve A260/A230 oranlarına ait sonuçlar <i>ortalama değer ± standart sapma</i> olarak bildirilmiştir. R ve İ harfleri analizi yapan kişileri kodlamaktadır	75
Tablo 4.2.1.1.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen OCP türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/mL tam kan</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir Medyan değerinin altındaki n sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	81
Tablo 4.2.1.2.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen PCB türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/mL tam kan</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan	

önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki <i>n</i> sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	84
Tablo 4.2.1.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen PBDE türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/mL tam kan</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki <i>n</i> sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	87
Tablo 4.2.1.4.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen OCP türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/g yağ</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki <i>n</i> sayıları, türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	89
Tablo 4.2.1.5.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen PCB türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/g yağ</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki <i>n</i> sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	92
Tablo 4.2.1.6.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen PBDE türevlerine ait konsantrasyonlar (<i>ng/g yağ</i>). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki <i>n</i> sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.....	95
Tablo 4.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan ve meme dokusu KOK konsantrasyonları arası korelasyon analizi. İlk kolonda kontrol ve kanser gruplarında kan ve doku değerleri, istatistik gücü artırmak amacıyla ayrı ayrı teker grup olarak analiz edilmiştir. İkinci ve üçüncü kolonlarda ise her iki grubun kan ve doku düzeyleri kendi içerisinde korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Veriler normal dağılım göstermediğinden dolayı parametrik olmayan Spearman korelasyon testi ile analiz edilmişlerdir	97
Tablo 4.4.1. Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutatyon S-transferaz P1 (GSTP1) enziminin yabancıl tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları.	101

Tablo 4.4.2 Meme kanseri grubunda GSTP1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant (M) bireyler bir arada “varyant gen” olarak değerlendirilmiş ve yabancı tipe (WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır.	101
Tablo 4.4.3 Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutatyon S-transferaz M1 (GSTM1) enzimi açısından pozitif ve negatif (null) olan bireylerin yüzde dağılımları.	102
Tablo 4.4.4 Meme kanser grubunda GSTM1 null bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri.	103
Tablo 4.4.5 Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutatyon S-transferaz T1 (GSTT1) enzimi açısından pozitif ve negatif (null) olan bireylerin yüzde dağılımları.	103
Tablo 4.4.6 Meme kanser grubunda GSTT1 null bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri.	104
Tablo 4.4.7 Meme kontrol ve meme kanser grubunda DNA oksidatif hasar onarım enzimlerinden human oxoguanineglycosylase 1 (hOGG1) enziminin yabancı tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları	105
Tablo 4.4.8 Meme kanseri grubunda OGG1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant (M) bireyler bir arada “varyant gen” olarak değerlendirilmiş ve yabancı tipe (WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır.	105
Tablo 4.4.9 Meme kontrol ve meme kanser grubunda faz I oksidatif biyotransformasyon enzimlerinden cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) enziminin yabancı tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları	106
Tablo 4.4.10 Meme kanser grubunda CYP1A1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant	

(M) bireyler bir arada “varyant gen” olarak değerlendirilmiş ve yabancı tipe
(WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır 106



Şekiller Dizini

Şekil 2.1.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen OCP türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri.....	6
Şekil 2.2.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen PCB türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri.....	8
Şekil 2.3.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen PBDE türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri.....	10
Şekil 2.5.2.1 Meme Anatomisi (Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri), Meme Anatomisi, 2019).....	16
Şekil 2.5.2.2 Meme kanseri türleri (Breastcancer.org, 2018) (The American Cancer Society, 2018) (Breastcancer.org, 2018)	16
Şekil 2.5.2.3 Yayılım gösterme özelliği açısından meme kanseri türleri. Soldaki in situ (invazif olmayan) tipte bazal membran aşılmamış ve yayılma gözlenmiyor, sağdaki invazif tipte ise kanser hücreleri bazal membranı aşmış ve diğer dokulara yayılım var (Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri) İn Situ ve İnvaziv Kanser, 2018).	17
Şekil 2.5.2.4 Duktal in situ karsinomanın meme kesiti ve ductus kesiti temsili görüntüsü (National Cancer Institute visualsonline, 2019).....	18
Şekil 2.5.2.5 Meme ve lobül kesitinde lobüler in situ karsinomanın temsili görüntüsü (National Cancer Institute, 2019).....	19
Şekil 2.5.2.6 Meme ve ductus kesitinde invazif duktal karsinomanın temsili görüntüsü (Oncology Nurses, 2019)	20
Şekil 2.5.2.7 Meme ve lobül kesitinde invazif lobüler karsinomanın temsili görüntüsü (Oncology Nurses, 2019)	20
Şekil 2.5.2.8 IARC'nin 2018 yılı küresel kanser ve meme kanseri insidens ve mortalite oranları. A, tüm kanserlerde her yaşta kadında tahmini yeni vaka sayısı; B, tüm kanserlerde her yaşta kadında tahmini ölüm sayısı; C, her yaşta kadında ülkelere göre en çok görülen kanserin tahmini yeni vaka sayısı; D, her yaşta kadında ülkelere göre en çok görülen kanserin tahmini ölüm sayısı; E, meme kanserinde yaş göre standardize edilmiş tahmini ölüm oranları; F, her yaşta kadında tüm kanserlerin tahmin edilen vaka sayısının prevalansı (5 yıl) (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018).....	22

Şekil 4.1.1.1 İki farklı GC-ECD metodundaki (GC-1 ve GC-2) sıcaklık gradiyentine ait grafik. 49

Şekil 4.1.1.2 GC-1 yöntemi ile analiz edilen 15 pg/µL'lik OCP, PCB, PBDE ve db-PCB'lere ait temsili kromatogramlar. Toplam 50 dk olan kromatogram görsellik açısından 16-22, 22-30, 30-36, 36-50. dk'lar arası olmak üzere 4 parçada gösterilmiştir. Piklerin üzerindeki numaralar sırasıyla; 1: α-HCH, 2: β-HCH, 3: γ-HCH, 4: δ-HCH, 5: PCB-28, 6: heptaklor, 7: PCB-52, 8: aldrin, 9: heptaklor endoepoksit, 10: PCB-101 ve 11: α-endosülfan, 12: 4-4'-DDE, 13: PCB-81, 14: dieldrin ve PCB-77, 15: PBDE-17, 16: endrin ve PCB 123, 17: PCB 118, 18: β-endosülfan, 19: PCB 114, 20: PCB-138, 21: 4,4'-DDD, 22: PCB-105, 23: endrin aldehit, 24: endosülfan.SO₄, 25: PCB-153, 26: PCB-167, 27: 4,4'-DDT, 28: metoksiklor ve PCB-156, 29: PCB-157, 30: PCB-180, 31: PBDE-66 ve PCB-169, 32: PCB-189 ve 33: PBDE-100..... 50

Şekil 4.1.1.3 GC-2 Metodu ile analiz edilen 15 pg/µL'lik OCP, PCB, PBDE ve db-PCB'lere ait (int. std. içermektedir) kromatogramları göstermektedir. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar herbir KOK türevini simgelemektedir. 1: α-HCH, 2: β-HCH, 3: γ-HCH, 4: δ-HCH, 5: PCB 28, 6: Heptaklor, 7: PCB 52, 8: Aldrin, 9: Hept.endoepoks., 10: PCB-101, 11: α-Endosülfan, 12: PCB-81, 13: 4-4'-DDE, 14: Dieldrin 15: PCB-77, 16: PBDE-17, 17: Endrin, 18: PCB-118 ve PCB-123 ve β-Endosülfan, 19: 4,4'-DDD 20: PCB-114, 21: Endrin aldehit, 22: PCB-138, 23: PCB-105, 24: Endosülfan.SO₄, 25: 4,4'-DDT, 26: PCB-153, 27: PCB-26, 28: PCB-167, 29: PCB-156, 30: Metoksiklor, 31: PCB-157, 32: PCB-180, 33: PBDE-47, 34: PBDE-66, 35: PCB-169, 36: PCB-189 ve 37: PBDE-100'ü göstermektedir. 51

Şekil 4.1.1.1.1 HCH (heksaklorosikloheksan) izomerlerine ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: α-HCH (25 pg/µL) A.Z.= 7.132, B: β-HCH (25 pg/µL) A.Z.= 7.640, C: γ-HCH (25 pg/µL) A.Z.= 7.753, D: δ-HCH (25 pg/µL) A.Z.= 8.289 54

Şekil 4.1.1.1.2 Klordan grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Heptaklor (20 pg/µL); A.Z.= 9.57, B: Heptaklor endoepoksit (25 pg/µL) A.Z.= 12.586 55

Şekil 4.1.1.1.3 Drin grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Aldrin (25 pg/µL) A.Z.= 10.719, B: Dieldrin (25

pg/ μ L) A.Z.= 14.165, C: Endrin (20 pg/ μ L) A.Z.= 14.667, D: Endrin aldehit (20 pg/ μ L) A.Z.= 15.283.....	55
Şekil 4.1.1.1.4 Sülfan grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Alfa-Endosülfan (25 pg/ μ L) A.Z.= 13.505, B: β -Endosülfan (50 pg/ μ L) A.Z.= 14.883, C: Endosülfan.SO ₄ (20 pg/ μ L) A.Z.= 15.72.....	56
Şekil 4.1.1.1.5 DDT grubuna ve metoksiklora ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: 4,4'-DDE (20 pg/ μ L) A.Z.= 14.280, B: 4,4'-DDD (20 pg/ μ L) A.Z.= 15.157, C: 4-4'-DDT (20 pg/ μ L) A.Z.= 15.865, D: Metoksiklor (20 pg/ μ L) A.Z.= 16.906.	56
Şekil 4.1.1.1.6 PCB grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). 15 pg/ μ L PCB mix'e ait PCB-28 A.Z.= 9.14, PCB-52 A.Z.= 10.289, PCB-101 A.Z.= 13.512, PCB-118 A.Z.= 14.970, PCB-138 A.Z.= 15.43, PCB-153 A.Z.= 15.930, PCB-180 A.Z.= 17.130.	57
Şekil 4.1.1.1.7 PBDE grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: PBDE-17 (20 pg/ μ L) A.Z.= 14.634, B: PBDE-47 (50 pg/ μ L) A.Z.= 17.157, C: PBDE-66 (50 pg/ μ L) A.Z.= 17.496, D: PBDE-100 (20 pg/ μ L) A.Z.= 19.284.....	57
Şekil 4.1.1.2.1 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve "B" kodlu gönüllü kan örneğinin analizine ait türevlerinin GC-1 yöntemine göre analiz edilen 16 – 25. dk. arası GC-ECD kromatogramları. A , 16-20. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; B , 16-20. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram; C , 20-25. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; D , 20-25. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram.	61
Şekil 4.1.1.2.2 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve "B" kodlu gönüllü kan örneğinin analizine ait türevlerinin GC-1 yöntemine göre analiz edilen 25 – 46. dk. arası GC-ECD kromatogramları. E , 25-30. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; F , 25-30. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram; G , 32-46. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; H , 32-46. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram.	62
Şekil 4.1.1.2.3 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve kas dokusu örneğine ait GC-1 yöntemine göre analiz edilen 16 – 32. dk. arası GC-ECD kromatogramları. Mavi , doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait	

kromatogram; **Kırmızı**, örnek hazırlama işleminden geçirilmiş KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Yeşil**, standart KOK çözeltisi eklenmiş kas dokusuna ait kromatogram; **Pembe**, kas dokusuna ait kromatogram 65

Şekil 4.1.1.2.4 KOK standart çözeltisi (15 pg/µL) ve kas dokusu örneğine ait GC-1 yöntemine göre analiz edilen **32– 52. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi**, doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Kırmızı**, örnek hazırlama işleminden geçirilmiş KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Yeşil**, standart KOK çözeltisi eklenmiş kas dokusuna ait kromatogram; **Pembe**, kas dokusuna ait kromatogram 66

Şekil 4.1.1.2.5 Dioksin benzeri PCB türevleri standart çözeltisi (15 pg/µL) ve kas dokusu örneğine ait GC-2 Yöntemine göre analiz edilen 28 – 55. dk. arası GC-ECD kromatogramları. **Mavi**, doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Yeşil**, standart KOK çözeltisi eklenmiş (final konsantrasyonu 15 pg/µL) kas dokusuna ait kromatogram; **Kırmızı**, kas dokusuna ait kromatogram. **A**, 28-43. dk. arası kromatogram; **B**, 28-43. dk. arası büyütülmüş kromatogram; **C**, 43-55. dk. arası kromatogram; **D**, 43-55. dk. arası büyütülmüş kromatogram 67

Şekil 4.2.1 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **kanlarında** KOK türevlerinin analizine ait **1 – 32. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 pg/µL konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. **A**, total kromatogram; **B**, 12-21. dk. arası kromatogram; **C**, 21-33. dk. arası kromatogram. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir. 1: α-HCH, 2: β-HCH, 3: γ-HCH, 4: δ-HCH, 5: PCB-28, 6: Heptaklor, 7: PCB-101, 8: α-Endosülfan, I.S.: internal standart 78

Şekil 4.2.2 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **kanlarında** KOK türevlerinin analizine ait **33 – 52. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 pg/µL konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. **D**, 33-41. dk.

arası kromatogram; **E**, 41-48. dk. arası kromatogram; **F**, 48-52. dk. arası kromatogram. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir; 9: 4-4'-DDE, 10: PCB-77, 11: PBDE-17, 12: 4,4'-DDD, 13: PCB-138, 14: PCB-105, 15: Endosulfan.SO₄, 16: 4,4'-DDT, 17: PCB-153, 18: PCB-26, 19: PCB-167, 20: PCB-156, 21: PCB-157, 22: PCB-180, 23: PBDE-47, 24: PBDE-66, 25: PCB-169, I.S.: internal standart..... 79

Şekil 4.2.3 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **dokularında** KOK türevlerinin analizine ait **1 – 52. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 pg/µL konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir. 1: α-HCH, 2: β-HCH, 3: γ-HCH, 4: δ-HCH, 5: PCB-28, 6: Heptaklor, 7: PCB-101, 8: α-Endosülfan, 9: 4-4'-DDE, 10: PCB-77, 11: PBDE-17, 12: 4,4'-DDD, 13: PCB-138, 14: PCB-105, 15: Endosülfan.SO₄, 16: 4,4'-DDT, 17: PCB-153, 18: PCB-26, 19: PCB-167, 20: PCB-156, 21: PCB-157, 22: PCB-180, 23: PBDE-47, 24: PBDE-66, 25: PCB-169 80

Şekil 4.2.1.1.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **OCB türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/mL tam kan*) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir..... 83

Şekil 4.2.1.2.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PCB türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/mL tam kan*) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir..... 86

Şekil 4.2.1.2.2 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **dioksin benzeri PCB türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/mL tam kan*) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir. 86

Şekil 4.2.1.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PBDE türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/mL tam kan*) grafikleri. 88

Şekil 4.2.1.4.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen OCP türevlerine ait box-plot konsantrasyon (<i>ng/g yağ</i>) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.....	90
Şekil 4.2.1.5.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen PCB türevlerine ait box-plot konsantrasyon (<i>ng/g yağ</i>) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.....	93
Şekil 4.2.1.5.2 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen dioksin benzeri PCB türevlerine ait box-plot konsantrasyon (<i>ng/g yağ</i>) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.....	94
Şekil 4.2.1.6.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen PBDE türevlerine ait box-plot konsantrasyon (<i>ng/g yağ</i>) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.....	96
Şekil 4.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan ve doku KOK konsantrasyonları arası korelasyon analizine ait istatistiksel açıdan önemli bulunan türevlerin grafikleri.	99

Kısaltma Listesi

AJE	Agaroz jel elektroforez
CYP1A1	Sitokrom P4501A1
db-PCB	Dioksin benzeri poliklorlu bifenil
DCIS	Duktal Karsinoma İn Situ
GC-ECD	Gaz kromatografisi-elektron yakalayıcı deteksiyon
GC-MS	Gaz kromatografisi-elektron impakt kütle spektrometresi
GSTM1	Glutasyon S-transferaz mu 1
GSTP1	Glutasyon S-transferaz pi 1
GSTT1	Glutasyon S-transferaz teta 1
H	Heterozigot
M	Mutant
H+M	Varyant
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer)
IDC	İnvazif Duktal Karsinoma
ILC	İnvazif Lobüler Karsinoma
IS	İnternal standart
KOK	Kalıcı organik kirletici
LCIS	Lobular Karsinoma İn Situ
LOD	Tespit sınır değerleri (Limit of detection-LOD)
LOQ	Ölçüm sınır değerleri (Limit of quantitation-LOQ)
OCP	Organoklorlu pestisit
OGG1	Okzoguanin glikozilaz 1
OR	Odds ratio
PBDE	Polibromlu difenil eter
PCB	Poliklorlu bifenil
PCDD	Poliklorlu dibenzo- <i>p</i> -dioksin
PCDF	Poliklorlu dibenzofuran
PCR-RFLP	Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaction-PCR-Restriction fragment length polymorphism-RFLP)
PJE	Poliakrilamid jel elektroforez
r	Korelasyon katsayısı
r ²	Regresyon katsayısı
RE	Restriksiyon enzimi
RPUP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm
SAT	Deri altı yağ dokusu
SIM	Seçilmiş iyon izlenmesi (Selected ion monitoring-SIM)
WT	Yabanıl tip; wild type
VAT	Viseral yağ dokusu
WHO	Dünya sağlık örgütü (World Health Organization)

Giriş

Kalıcı organik kirleticiler (KOK) doğada uzun süre bozulmadan kalan, başta rüzgar ve su hareketleri ile uzun mesafeler boyunca taşınan, canlıların yağ dokusunda birikme özelliği olan ve aynı zamanda çevre ve insan sağlığı üzerinde yüksek toksisite riski taşıyan kimyasallardır. Çevreye salındıklarında fizikokimyasal özelliklerinden dolayı kimyasal, mikrobiyolojik ve enzimatik bozunmaları çok düşüktür (Roos ve diğerleri, 2013). İnsanlar da dahil olmak üzere canlı organizmaların yağ dokularında birikirler ve besin zinciri boyunca canlı dokularda konsantrasyonları giderek artar. Çok uzun yıllar vücutta kalmalarının nedeni yüksek lipid-çözünürlük, düşük uçuculuk, dayanıklılık ve kimyasal açıdan nispeten inert olmalarıyla açıklanır (Wolff M. S., 1995). Yabani canlılarda ve insanlarda farklı nitelik ve derecelerde toksik etkilere neden olurlar. Bazı alanlarda literatür bilgileri yeterli olmasa da KOK türevleri çeşitli kanser türleri, alerjik reaksiyonlar ve hipersensitivite, merkezi ve periferik sinir sistemi hasarları, üreme bozuklukları ve bağışıklık sisteminde işlev bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir. Bazı türevler hormonal sistemi değiştirerek hem maruz kalan bireyin, hem de yavruların üreme ve bağışıklık sistemlerinde bozulmalara yol açarlar, bu nedenle “endokrin bozucu” olarak tanımlanırlar. Diğer bazıları ise gelişimsel toksisiteye ve karsinojenik etkilere neden olmaktadır (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü kimyasallar yönetimi dairesi başkanlığı, 2018).

KOK'lar tarım ilacı olarak kullanılan organoklorlu pestisitleri (OCP), endüstriyel kimyasal amaçlı kullanılan poliklorlu bifenilleri (PCB) ve polibromlu difenil eterleri (PBDE) kapsamaktadır. Aslında bir çok türevinin üretimi ve kullanımı yasaklanmış olmasına karşın doğadaki kalıcı özellikleri nedeniyle yasaklanma öncesi yoğun kullanılan OCP ve PCB türevleri, insan dokularında ve anne sütünde hala önemli miktarlarda bulunur (Roos ve diğerleri, 2013). Bu maddelerin insan ve diğer türler üzerindeki toksik etkilerinin fark edilmeye başlaması 1970’li yılların başına denk gelir; ilk olarak DDT’nin yabani kuşlarda reproduktif toksisiteye yol açtığı fark edilmiş (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018), sonrasında önce DDT, ardından bilimsel bulgular elde edildikçe diğer OCP türevleri yasaklanmaya başlamıştır; en son 2009 yılında son OCP türevi olarak endosülfan yasaklanmıştır (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2018). Bu süre içerisinde çevre ve

insan sağlığının bu maddelerden korunması amacıyla 22 Mayıs 2001’de uluslararası bir antlaşma olan Stockholm Sözleşmesi imzalanmış ve bu antlaşma 17 Mayıs 2004’de yürürlüğe girmiştir. KOK'ların üretimini ve kullanımını ortadan kaldırmayı veya kısıtlamayı amaçlayan, toplam 179 ülkenin taraf olduğu Stockholm Sözleşme’sini Türkiye 23 Mayıs 2001 tarihinde imzalanmış ve 12 Ocak 2010 tarihi itibariyle taraf olmuştur. Stockholm sözleşmesi kapsamında başlangıçta on iki KOK türevi madde ya da madde grubu “yüksek öncelikli kimyasallar; *high priority chemicals*” olarak kabul edilmiş ve “on iki” sayısından dolayı “dirty dozen” olarak adlandırılmıştır. Bunlar pestisitler (aldrin, klordan, DDT, dieldrin, endrin, heptaklor, heksaklorobenzen, mireks, toxafen), endüstriyel kimyasallar (heksaklorobenzen, poliklorlu bifeniller-PCB'ler) ve üretim sırasında kasıtsız oluşan kimyasallar (heksaklorobenzen; poliklorlu dibenzo-*p*-dioksinler ve poliklorlu dibenzofuranlar (PCDD / PCDF) ve PCB'ler) olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018), (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2018) (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, 2017).

Sonraki yıllarda Stockholm Sözleşmesi kapsamında toksisite potansiyeli açısından önem kazanmaya başlayan pestisitlerden klordekon, α -heksaklorosikloheksan, β -heksaklorosikloheksan, lindan, pentaklorobenzen, endosulfan; endüstriyel kimyasallar grubundan heksabromobifenil, heksabromobifenil eter, heptabromobifenil eter, pentaklorobenzen, perflorooktan sülfonik asit tuzları, perflorooktan sülfonil florür, tetrabromodifenil eter, pentabromodifenil eter; üretim sırasında kasıtsız oluşan α -heksaklorosikloheksan, β -heksaklorosikloheksan ve pentaklorobenzen listeye dahil edilmişlerdir (The new POPs under the Stockholm Convention, 2017) .

Meme dokusu glandüler, fibröz ve adipöz dokudan oluşan bir sekresyon bezidir (Kossoff, 1973). Adipöz doku yağda çözünen kimyasalların, özellikle de KOK'ların depolanması için çok uygun bir ortamdır. Adipöz dokuda biriken kimyasallar dokunun işlevlerini değiştirebilir; adipöz doku inflamasyonunu artırabilir ve/veya adipöz doku prekürsör hücrelerinin farklılaşmasını etkileyebilir (Merrill, 2013). Meme dokusundaki KOK konsantrasyonu ile meme kanseri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek için şimdiye kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler çok sınırlı ve çelişkilidir. En başta gelen sınırlayıcı faktör, çalışmalarda kullanılan maruz kalma verilerinin sözlü beyana dayalı olmasıdır; herhangi bir cerrahi

endikasyonu olmayan bir insandan doku örneği almak imkansız olduğu için ölüm sonrası otopsi ya da cerrahi operasyon dışında insan dokusuna ulaşmak ve analiz yapmak mümkün değildir. Bu nedenle bilimsel literatürde bu konuda yayınlanmış çalışmaların çok büyük çoğunluğunda maruz kalınmış olan KOK miktarları dokularda analitik ölçüm yoluyla değil, hasta ile yapılan görüşmede meslek, çalışma yılı gibi bilgilerden türetilerek tahminen elde edilmektedir, dolayısıyla bu tahmini maruz kalma düzeylerinin doğruluğu oldukça sorgulanır bir durum oluşturmaktadır. Tümör cerrahisi nedeniyle operasyon geçiren hastalardan meme dokusu elde etmek mümkün olsa da, kontrol grubu olarak kanser olmayan kişilerden doku elde etmek söz konusu değildir; Bu nedenle literatürde KOK'lara maruz kalımın değerlendirilmesi için sözlü beyan yanında venöz kan konsantrasyonları sık kullanılmaktadır (Artacho-Cordón ve diğerleri, 2015). Ancak kan kullanımındaki sorun, kan KOK düzeylerinin aynı bireyin doku KOK düzeyleri ile korele olup olmadığının bilinmemesidir. Daha önce vurgulandığı gibi KOK türevlerine maruz kalım bazı hastalıkların yanı sıra kanser türleriyle de ilişkilendirildiği için bu tez çalışmasında meme kanseri ile KOK türevleri arasındaki ilişki, çeşitli yönleriyle araştırılmıştır. Tümör cerrahisi nedeniyle çıkarılan kanserli dokularda ve meme küçültme ameliyatından sağlanan sağlıklı meme dokularında KOK konsantrasyonları ölçülmüş, iki grubun sonuçları karşılaştırılarak söz konusu kimyasallar ile kanser arasında bir ilişki olup olmadığı analiz edilmiştir. Aynı kimyasallar hasta ve sağlıklı kontrol grubundan sağlanan kan örneklerinde de ölçülmüş, kan ve doku miktarları arasında bir korelasyon olup olmadığı araştırılmış ve kan düzeylerinin dokudaki KOK miktarını öngörmeye kullanılıp kullanılmayacağı belirlenmiştir.

Bazı araştırmacılar, serum ve adipöz doku KOK konsantrasyonları arasında güçlü bir korelasyon bildirmesine rağmen diğer bazıları ise serum KOK konsantrasyonlarının tüm koşullarda bu kimyasalların vücut yükünü doğru bir şekilde yansıtıp yansıtamayacağının belirsiz olduğu sonucuna varmışlardır (López-Carrillo ve diğerleri, 1999) (Pauwels ve diğerleri, 1996-1998) (Waliszewski, 2004) (Whitcomb, 2005) (Aronson ve diğerleri, 2000) (Arrebola ve diğerleri, 2012) (Mussalo-Rauhamaa, 1991) (Rusiecki ve diğerleri, 2005) (Wolff, Zeleniuch-Jacquotte, Dubin, & Toniolo, 2000).

Bu çalışmada ayrıca KOK türevlerinin bioaktivasyonunda rol alması beklenen sitokrom P4501A1 (CYP1A1), detoksifikasyonunda rol alması beklenen glutatyon

S-transferaz (GST) izozimleri olan GSTT1, GSTP1 ve GSTM1 ve DNA oksidatif hasar-onarım enzimlerinden olan insan oxoguanine-glycosylase-1 (hOGG1) enzimlerinin kanser hastalarında sağlıklı popölasyona göre önemli bir genetik varyasyon gösterip göstermediği, dolayısıyla bu enzimlerde saptanması olası herhangi bir genetik polimorfizmin meme kanseri için risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır.

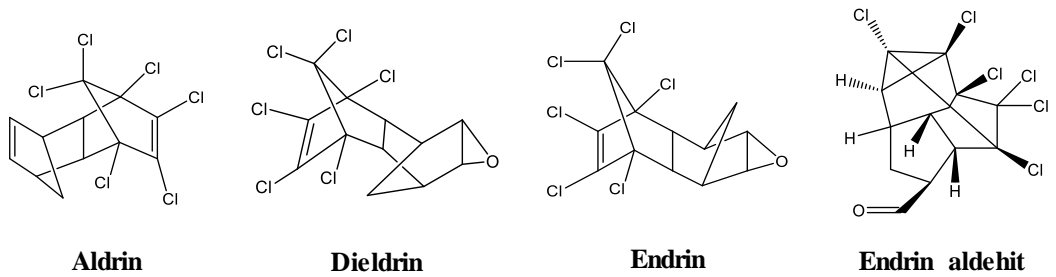
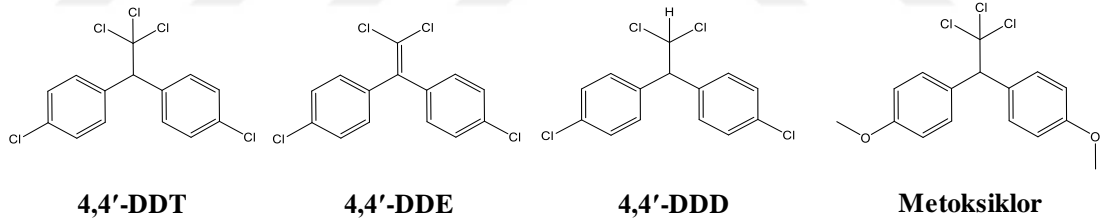
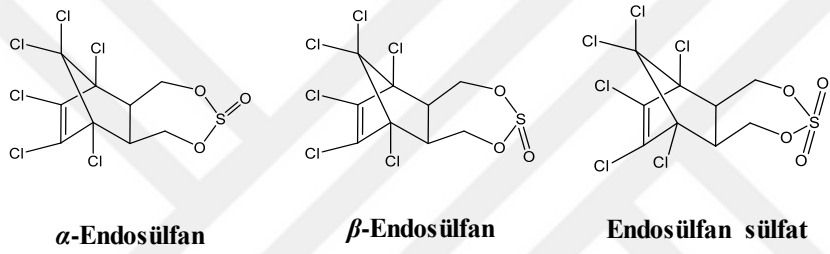
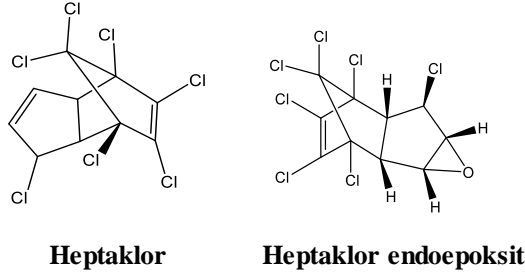
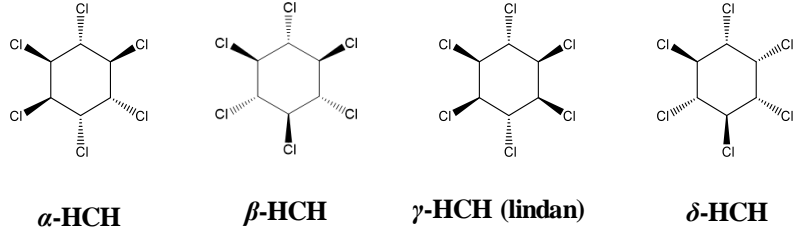


Genel Bilgiler

2.1. Organoklorlu Pestisitler (OCPs)

Organoklorlu pestisitler adından anlaşılacağı üzere kimyasal yapılarında bir ya da daha fazla klor atomu taşıyan bileşiklerdir; Tablo 2.1.1.'de kimyasal yapıları gösterilmiştir. İlk sentezlendikleri 1940 yılından yasaklandıkları farklı yıllara kadar başta tarım olmak üzere çok yoğun kullanılmışlardır. İnsektisit grubunda olan DDT, ilk olarak II. Dünya Savaşı sırasında sıtma taşıyan sivrisinekleri ve tifüse neden olan bitleri öldürmek amacıyla piyasaya sürülmüş, 1970'lerin başında ABD ve diğer sanayileşmiş ülkelerde yasaklanana kadar yaygın bir böcek öldürücü olarak kullanılmıştır. (Buser, 1995).

Stabilitesi, kalıcılığı (uygulamadan 10-15 yıl sonra toprakta % 50 oranında bulunur) ve yaygın kullanımı, DDT kalıntılarının her yerde bulunabilmesine neden olur (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018). Kutup bölgesi çevresel örneklerde ve kutup ayılarının dokularında dahi DDT tespit edilmiştir. Aldrin ise termit, çekirge, mısır kök kurdu ve diğer tarım zararlısı böcekleri öldürmek için toprağa uygulanan bir pestisittir. İnsanlar çoğunlukla aldrine et ve süt ürünleri aracılığı ile maruz kalmaktadır. Böcek zararlılarını öldürmek için tarım ilacı olarak kullanılan dieldrinin toprakta yarılanma ömrü yaklaşık beş yıldır. Aldrin hızla dieldrin'e dönüştürülür, bu nedenle çevredeki dieldrin konsantrasyonu tek başına dieldrin kullanımından daha yüksektir. Endrin, insektisit ve kemirgen popülasyonunu kontrol etmek için kullanılır; toprakta yarılanma ömrü 12 yıldır. Öncelikle toprak böcekleri ve termitleri öldürmek için kullanılan heptaklor pamuk böcekleri, çekirge, diğer bitki zararlıları ve sıtma taşıyan sivrisinekleri öldürmek için yaygın şekilde kullanılmıştır. Laboratuvar testleri mink, sığan ve tavşanlara uygulanan heptaklorun yüksek dozda öldürücü olduğunu, düşük dozlarda ise advers davranış değişikliklerine ve üreme başarısında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Heptaklor olası bir insan karsinojeni olarak sınıflandırılmaktadır. Heptaklor için başlıca maruz kalma kaynağı gıdadır; ABD ve Avustralya'da sığırların kanında tespit edilmiştir (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018). Organoklorlu pestisitlerin çoğu aynı zamanda endokrin bozucu kimyasallardır.



Şekil 2.1.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen OCP türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri

Endokrin bozucu kimyasallar genellikle vücudun doğal hormonlarını taklit eder, normal fonksiyonlarını bozar ve sağlık üzerindeki advers etkiler meydana getirirler. Bu özelliklerinden dolayı vücudun hormonal sistemlerine toksik etkileri gözlenmektedir (Lemaire, 2004).

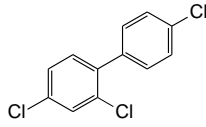
Organoklorlu pestisitler yağlanmayı artırabilir. Örneğin, Rivett ve ark. 1978 yılında yaptıkları çalışmada köpeklere düşük dozda lindan vermişlerdir. Bunun sonucunda köpeklerin vücut ağırlıklarının arttığı gözlenmiştir (Rivett, 1978) Yüksek toksisite potansiyelleri nedeniyle gelişmiş ülkelerle birlikte Türkiye’de de 1980’li yılların başından itibaren kademeli olarak kullanımları yasaklanmıştır, en son yasaklanan türev 2009 yılında endosülfandır (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, 2018). Buna karşın bir çok gelişmekte olan ülkede halen kullanımları devam etmektedir.

2.2. Poliklorlu Bifeniller (PCBs)

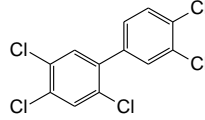
PCB’ler ilk olarak 1881 yılında sentezlenmiş (Schmidt, 1881), 1929 yılından itibaren ticari kullanım için üretilmeye başlamıştır (EPA, 2018). Bu grupta yer alan bileşikler Şekil 2.2.1’de kimyasal yapılarıyla birlikte gösterilmiştir. Bu bileşikler, endüstride elektrik transformatörlerinde ve kondensatörlerinde ısı değişim sıvıları olarak aşırı ısınmayı ve yangın olasılığını önlemek amacıyla kullanılmışlardır. Diğer kullanım yerleri yine benzer amaçlarla boya, karbonsuz kopya kağıdı ve plastiklerdir. 209 farklı PCB türevinden 13 tanesi dioksin benzeri toksik etkilere neden olur. Çevredeki kalıcılıkları yapılarındaki klor sayısına göre belirlenir ve yarı ömürleri 10 gün ile bir buçuk yıl arasında değişmektedir. PCB'ler balıklarda düşük dozlarda yumurtlama bozukluklarına, yüksek dozlarda ise öldürücü toksik etkiye neden olur (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018). Ayrıca fok ve mink gibi yabanıl hayvanlarda üreme bozukluğu ve bağışıklık sisteminin baskılanması ile ilişkilendirilmektedir (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018). İnsanların çoğu gıda kontaminasyonu yoluyla PCB'lere maruz kalmaktadır. 1968'de Japonya ve 1979'da Tayvan'da PCB ile kontamine olmuş pirinç yağının tüketilmesi, tırnak ve mukoz membranlarda hiperpigmentasyon, göz kapaklarında şişme, yorgunluk, bulantı ve kusmaya neden olmuştur. Tayvandaki bu olayda PCB'lerin dokularındaki kalıcılığı nedeniyle maruz kalan kadınlardan olay sonrası yedi yıla kadar doğan çocuklarda gelişimsel gecikmeler ve davranış bozuklukları gözlenmiştir (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018). Bu veriler elde

edildikten sonra 1970'lerde sanayilemiş ülkelerde PCB üretimi durdurulmuştur (Harrad, 2010). PCB'ler Stockholm Sözleşmesi kapsamında yasaklanan ilk 12 adet KOK listesinde yer almışlardır (The 12 initial POPs under the Stockholm Convention, 2018).

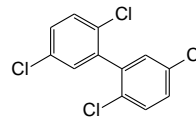
İndikatör PCB'ler



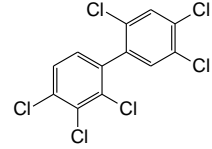
PCB 28
2,4,4'-trichlorobiphenyl



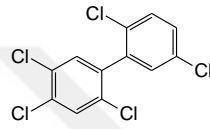
PCB 118
2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl



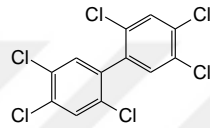
PCB 52
2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl



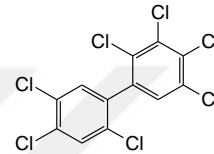
PCB 138
2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl



PCB 101
2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl

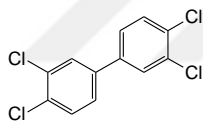


PCB 153
2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl

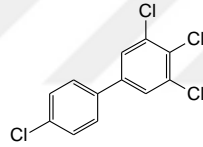


PCB 180
2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl

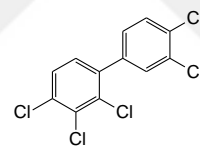
Dioksin-benzeri PCB'ler



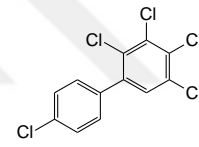
PCB 77
3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl



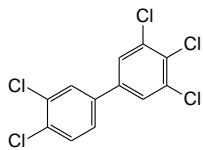
PCB 81
3,4,4',5-tetrachlorobiphenyl



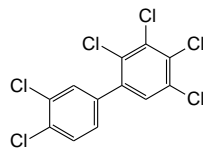
PCB 105
2,3,3',4,4'-pentachlorobiphenyl



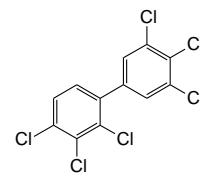
PCB 114
2,3,4,4',5-pentachlorobiphenyl



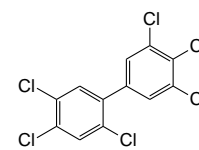
PCB 126
3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl



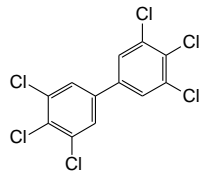
PCB 156
2,3,3',4,4',5-hexachlorobiphenyl



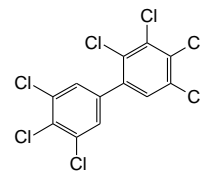
PCB 157
2,3,3',4,4',5'-hexachlorobiphenyl



PCB 167
2,3',4,4',5'-hexachlorobiphenyl



PCB 169
3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl



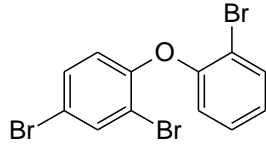
PCB 189
2,3,3',4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl

Şekil 2.2.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen PCB türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri

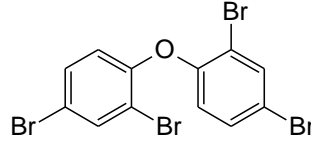
2.3. Polibromlu Difenil Eterler (PBDEs)

PBDE'ler ilk olarak 1970'lerde üretilmiştir (EPA, 2018). Brom atomlarının konumuna ve sayısına bağlı olarak teorik açıdan 209 türev olasılığı vardır (Fromme, 2009) bu grupta yer alan bileşiklerden tez çalışması kapsamında kan ve dokularda ölçümü yapılan türevlerin kimyasal yapıları ve isimleri, Şekil 2.3.1'de gösterilmiştir. PBDE'ler materyallerin alev almasını zorlaştırarak yangın olasılığını azaltmak amacıyla plastik, tekstil, mobilya, uçak ve araç iç aksamaları, elektrikli veya elektronik cihazlar gibi bir çok malzemeye katkı maddesi olarak üretim sırasında eklenir (Kemmler, Hahn, & Jann, 2003). PBDE'lerin ticari olarak en çok kullanılanları deca-BDE, penta-BDE ve okta-BDE formülasyonlarıdır. Bunların tümü farklı BDE türevlerinin karışımlarını içerir. Örneğin, deca-BDE'de bulunan ana türev PBDE 209'dur (EPA, 2018). Ancak 2000 yılından itibaren kalıcılık, biyoakümülyasyon ve çevrede uzun mesafelere taşınma potansiyeline sahip olan PBDE'ler için çevresel kaygılar ortaya çıkmaya başlamıştır (Jinhui, Yuan, & Wenjing, 2015). Çevrede bulunan PBDE'lerin başlıca kaynakları PBDE içeren eşyaların üretimi, kullanımı ve bertarafıdır (Jinhui, Yuan, & Wenjing, 2015). Okta-BDE ve penta-BDE'nin üretimi, 2004 yılında artan sağlık ve çevre endişeleri sonrasında üreticiler tarafından tamamen durdurulmuştur (EPA, 2018). 2009 yılında ticari okta-BDE ve penta-BDE, Stockholm Sözleşmesi kapsamındaki KOK'lar listesine eklenmişlerdir. (The new POPs under the Stockholm Convention , 2017). PBDE'lerle yapılan çalışmalarda hava, arıtma çamuru, sediment gibi abiyotik örneklerin yanı sıra tavuk ve balık gibi biyolojik örnekler, memeliler ve insan vücudundaki miktarlara odaklanılmıştır (Sjodin A. C., 2001) (Sellstrom, 2005) (Oros, 2005) (Hakk, 2010) (Hale, 2001) (Sjodin A. P., 2003).

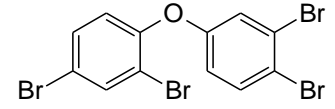
Yakın zamanda yapılan bir çalışmada araştırmacılar, PBDE'lerin oda sıcaklığında (20°C) bile tekstil ürünlerinden ortama yayılabildiğini ve PBDE eklenmiş döşemelik kumaşların iç mekan havasında ve tozundaki PBDE'lerin ana kaynağı olduğunu göstermişlerdir (Kajiwara, 2013).



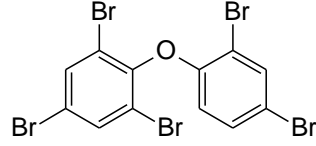
PBDE 17
2,2',4-tribromodiphenyl ether



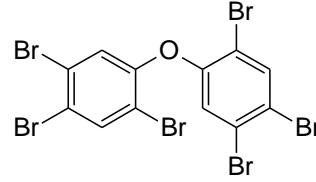
PBDE 47
2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether



PBDE 66
2,3',4,4'-tetrabromodiphenyl ether



PBDE 100
2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether



PBDE 153
2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ether

Şekil 2.3.1 Hasta ve gönüllü kan ve meme dokularında analiz edilen PBDE türevlerinin açık kimyasal formülleri ve isimleri

2.4. Kalıcı Organik Kirleticilerin Kansere Dışı Toksik Etkilerine İlişkin Çalışmalar

2010 yılında pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki olası etkilerini belirlemek amacıyla gen düzenlenmesini değiştiren farklı mekanizmaları değerlendirmeye yönelik yeni bir yaklaşım geliştirilmiştir. Bu yeni yaklaşım, epigenetik etki varlığını belirleme açısından umut verici bir araç gibi görünmektedir (Collotta, Bertazzi, & Bollati, 2013). Epigenetik, DNA baz diziliminde bir değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunda ortaya çıkan kalıtsal değişikliklerin çalışıldığı alandır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve mikroRNA ekspresyonu da dâhil olmak üzere birçok epigenetik mekanizma, çevresel faktörler tarafından tetiklenebilir (Collotta, Bertazzi, & Bollati, 2013). Gerçekten de son zamanlarda hem deneysel, hem de epidemiyolojik çalışmalarda bazı çevresel faktörler, epigenetik yollardaki anormal değişikliklerle ilişkili bulunmuştur (Howell, 2001) (Rusiecki ve diğerleri, 2008). Bu nedenle epigenetik mekanizmaların özgül toksisite mekanizmalarına aracılık edebileceğine dair yorumlar vardır (Marsit, 2006). Pestisitlerin insan ve diğer canlılarda neden olduğu bir dizi toksik etkide epigenetik mekanizmaların rolü konusundaki çalışmalar artmaktadır. Nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde

çevresel yoldan kimyasallara maruz kalmayı takiben DNA metilasyonunun rolü olabileceği bildirilmiştir (Kwok, 2010).

Pestisitlerin akut toksik etkileri nispeten iyi bilinirken, kronik etkileri konusunda belirsizlikler halen devam etmektedir. Bazı pestisitlerin endokrin bozucu yolla genotoksik etki gösterebilecekleri düşünülmektedir (De Coster, 2012). Bununla birlikte bugüne kadar, KOK'lara maruz kalmayla bağlantılı toksik sağlık etkilerine yönelik özgül moleküler mekanizmalar halen ortaya konamamıştır.

DDT'ye maruz bırakılan genç erkek sıçanlarda hipotalamustaki metilasyon paterninin değiştiği gözlenmiştir. Shutoh ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada 6 CpG nükleotid bölgesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde daha düşük metillendiği gösterilmiştir. Düşük oksidatif stres koşullarında DNA metilasyon mekanizmasının işlevi bozulur, bu durum spesifik gen bölgelerinin eksik metilasyonuna neden olur (Shutoh, 2009).

Bazı pestisitler epigenetik etkileri olduğu düşünülen endokrin bozucu özelliğe sahiptir (McLachlan, 2006). Bunların arasında bu tez çalışmasında da yer alan OCP türevi metoksiklorun farede erkek üreme sistemini etkilediği bildirilmiştir. Metoksiklora gestasyonel maruz kalma durumunda yetişkinlikte dişi üreme sistemi bozulur ve üreme işlevini kontrol eden hipotalamik genlerin ekspresyonu yeniden programlanır. Pestisit uygulandığı farelerde iki paternal imprint (H19 ve Meg3 (Gtl2)) ve üç maternal imprint (Mest (Peg1), Snrpn ve Peg3) genlerin farklı metilasyona uğradığı gözlenmiştir (Stouder, 2011).

Global DNA metilasyon düzeylerinin, yağ dokusunda biriken KOK'ların kan düzeyleri ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Kim ve ark. KOK'lara, özellikle de OCP'lere düşük dozda maruz kalan sağlıklı gönüllülerde DNA hipometilasyonu gözlemişlerdir (Kim K. K., 2010). Grönland'ta yapılan bir başka çalışmada, insanlarda plazma KOK konsantrasyonları ile global DNA metilasyon düzeyleri arasında aynı ilişki gözlenmiştir (Rusiecki ve diğerleri, 2008). DDT, DDE, β -BHC, oksiklordan, α -klordan, mireks, çeşitli PCB'ler ve tüm KOK'ların toplamı için anlamlı ters doğrusal ilişki bulunmuştur. Bu çalışmanın bulguları, KOK'lar gibi potansiyel karsinogenik bileşiklere maruz kalmanın DNA metilasyonunu etkileyebileceği hipotezini desteklemektedir. 2008 Yılında yapılan bu çalışma, aynı

zamanda insanlarda çevresel KOK'lara maruz kalım ile DNA metilasyon düzeylerini araştıran ilk çalışma özelliğini taşır (Rusiecki ve diğerleri, 2008).

Artan bilimsel kanıtlar, histon değişikliklerinin hücre ölümünde kritik bir rol oynadığını göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan bir herbisit olan parakuat ve OCP türevi dieldrin, potansiyel olarak Parkinson hastalığı ile ilişkili çevre kimyasalları arasında yer almaktadırlar. Histon asetilasyonu, nörotoksik hasar sırasında dopaminerjik nöronal hücrelerdeki temel epigenetik değişikliği temsil eder. Deneysel kanıtlar, N27 dopaminerjik hücrelerde Song ve arkadaşları tarafından yürütülen araştırmalardan elde edilmiştir (Song, Kanthasamy, Anantharam, Sun, & ve Kanthasamy, 2010) (Song, Kanthasamy, Jin, & Kanthasamy, 2011). Mezensefalik dopaminerjik nöron hücrelerinde dieldrin ile indüklenen proteazomal işlev bozukluğu nedeniyle çekirdek histon H3 ve H4'ün asetilasyonunda zamana bağlı bir artış ortaya çıkar, bu da önemli derecede *histon asetiltransferaz* birikmesine neden olur. Ayrıca uzun süre dieldrine maruz bırakılan farelerde, striatum ve substantia nigra'da histon hiperasetilasyonunun indüklendiği gözlenmiştir (Song, Kanthasamy, Anantharam, Sun, & ve Kanthasamy, 2010) (Song, Kanthasamy, Jin, & Kanthasamy, 2011). Kanthasamy ve ark., nigral dopaminerjik nöronlarda nörotoksik maddelerin neden olduğu nörodejeneratif süreçlerde histon ve non-histon proteinlerin asetilasyonunun rolünü tanımlamışlardır (Kanthasamy ve diğerleri, 2012). Pestisitlerin neden olduğu epigenetik değişikliklerin amiloid- β proteininin üretimini artırabileceği ve Alzheimer hastalığına neden olabileceği ileri sürülmüştür (Maloney, 2012).

Çevresel faktörlere maruz kalma sonucunda DNA metilasyon düzeylerinin değişmesi, hücre transformasyonu ve tümörleşmeye yol açan gen ekspresyon düzeylerinde değişikliklere neden olabilir. Tüm bu bulgular pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerinde epigenetik modifikasyonların önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir (Collotta, Bertazzi, & Bollati, 2013).

Bazı KOK türevlerinin DNA metilasyonunda veya mikroRNA ekspresyonunda değişikliklere neden olması obeziteniteyle de sonuçlanabilir, yine de bu değişikliklerin doğrudan obezitenik etki ile ilişkili olup olmadığı halen çok net değildir (Baccarelli ve diğerleri, 2009) (Manikkam, Guerrero-Bosagna, Tracey, Haque, & Skinner, 2012) (McClure, North, Kaminski, & Goodman, 2011).

Hekzaklorobenzen (HCB) uygulanan kemirgenlerde vücut ağırlığı kaybıyla birlikte HCB'in beyin dokusundaki konsantrasyonunda zamana bağlı bir artış gözlenmiştir (Jandacek ve diğerleri, 2005). DDT verilen farelerde ağırlık kaybı, kas dışında incelenen tüm dokularda (beyin, akciğer, kalp, dalak, böbrek, karaciğer, yağ dokusu, kan) DDT konsantrasyonunun artışına yol açmıştır. Kilo verildiği zaman yağ dokusundan salınmaları nedeniyle diğer dokularda KOK dağılımı artar. Beyinde artan DDT'nin lokalizasyonu, santral sinir sistemi toksisitesiyle ilişkili bulunmuştur (Ohmiya & Nakai, 1977). Deneysel çalışmalar organoklorlu pestisitlere maruz kalımın sistemik lipotoksositeye neden olduğunu göstermektedir; örneğin dieldrine maruz bırakılan sıçanlarda trigliserid sentezinde artış gözlenmiştir (Bhatia & Venkitasubramanian, 1972).

2.4.1. İnsan Dokularında KOK düzeyleri çalışmaları

İsveç'te 70 yaş bireylerde yapılan bir çalışmada, düşük klorlu PCB türevleri (105 ve 118), DDE, HCB ve trans-nonklordan'ın plazma konsantrasyonları ile hem viseral yağ dokusu (VAT), hem de deri altı yağ dokusu (SAT) konsantrasyonları arasında pozitif ilişkili gözlenmiştir. Aynı çalışmada yüksek sayıda klorlanmış poliklorlu bifenil türevlerinin (molekül başına 6 veya daha fazla klor) plazmadaki konsantrasyonları ile hem VAT, hem de SAT konsantrasyonları arasında ise negatif ilişki gözlenmiştir. Sonuç olarak yaşlı popülasyonda plazmadaki OCP ve PCB konsantrasyonları ile VAT ve SAT arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (Roos ve diğerleri, 2013).

Amerika Birleşik Devletleri-Kaliforniya eyaletinde görev yapan itfaiyecilerin serum örneklerinde toplam PBDE konsantrasyonu ölçülmüş ve genel popülasyondan önemli derecede yüksek bulunmuştur; itfaiyecilerde 59.1 ng/g yağ, genel popülasyonda ise 36 ng/g yağ). İstatiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen Hispanik beyazlarda ve yüksek yaş grubundaki itfaiyecilerde PBDE konsantrasyonu, beyazlara ve düşük yaş grubuna göre genellikle daha düşük düzeylerde tespit edilmiştir. İtfaiyecilerin serum örneklerinde PCB ve OCP konsantrasyonları ise genel popülasyonun konsantrasyon değerlerini aşmamıştır. Yazarlar, itfaiyecilerde yangın söndürme işinin PBDE'lere maruz kalma ihtimalini arttırmış olabileceğini bildirmişlerdir (Park ve diğerleri, 2015).

2.5. KOK'ların Karsinojenik Potansiyellerine İlişkin Çalışmalar

2.5.1. IARC'ye Göre KOK'ların Karsinojenisite Sınıflandırması

WHO-IARC (World Health Organization-International Agency for Research on Cancer) insanların maruz kalma olasılığı olan kimyasal maddeleri karsinojenisite potansiyelleri açısından bilimsel literatür verilerine dayalı olarak değerlendiren Dünya Sağlık Örgütü'ne bağlı uluslararası bilimsel kuruldur. IARC kimyasal maddeleri bu açıdan aşağıdaki ölçütlere göre değerlendirir ve sınıflandırır:

Grup 1: İnsan karsinojeni; insanda karsinojenik olduğuna dair yeterli kanıt olan kimyasallardır, bu grupta 2019 Aralık ayı itibariyle 120 kimyasal madde vardır.

Grup 2A: Büyük olasılıkla insan karsinojeni; insanda karsinojenik olduğuna dair sınırlı kanıt, deney hayvanında karsinojenik olduğuna dair ise yeterli kanıt olan kimyasallardır, bu grupta 2019 Aralık ayı itibariyle 82 kimyasal madde vardır.

Grup 2B: Muhtemel insan karsinojeni; insanda karsinojenik olduğuna dair sınırlı kanıt, deney hayvanında karsinojenik olduğuna dair yetersiz kanıt olan kimyasallardır, bu grupta 2019 Aralık ayı itibariyle 311 kimyasal madde vardır.

Grup 3: İnsanda karsinojenik potansiyel açısından sınıflandırılmayanlar; insanda karsinojenik olduğuna dair yetersiz kanıt ve deney hayvanlarında yetersiz veya sınırlı kanıt olan kimyasallardır, bu grupta 2019 Aralık ayı itibariyle 500 kimyasal madde vardır.

Grup 4: İnsanda karsinojenik olmayanlar; insanda ve deney hayvanlarında karsinojenik olduğuna dair kanıt bulunmayan kimyasallardır (Agents Classified by the IARC Monographs, 2018) (Agents Classified by the IARC Monographs, 2018) (Agents classified by the IARC Monographs, 2015).

Bu tez çalışmasında hasta ve sağlıklı bireylerin kan ve meme dokularında miktar tayini yapılan KOK türevleri, IARC'nin 12 Aralık 2019 tarihli en son güncellenmiş listelerinde karsinojenisite açısından Tablo 2.5.1.1'de görüldüğü şekilde sınıflandırılmıştır (Agents Classified by the IARC Monographs Volumes 1–117, 2018) (Agents Classified by the IARC Monographs Volumes 1–121, 2018) (Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1–125, 2019).

Tablo 2.5.1.1 IARC'ye göre tez çalışmasında analiz edilen KOK türevlerinin karsinojenisite sınıflandırması

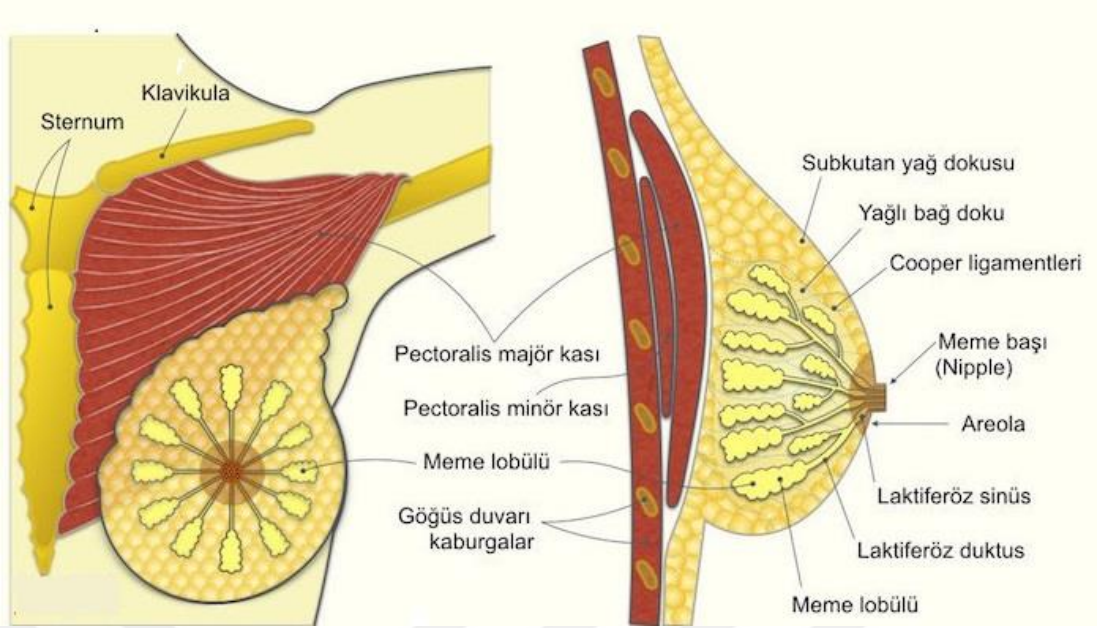
	KOK türevleri
Grup 1	γ -HCH, PCB-77, PCB-81, PCB-105, PCB-114, PCB-126, PCB-156, PCB-157, PCB-167, PCB-169 ve PCB-189
Grup 2A	<i>p,p'</i> -DDT
Grup 2B	heptaklor
Grup 3	Endrin ve metoksiklor
Grup 4	-

2.5.2. Meme Kanseri

Meme kanseri, kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Her yıl tüm dünyada 2,1 milyon kadını etkilemektedir ve kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. 2018 yılında 627.000 kadının meme kanserinden öldüğü bildirilmiştir, bu da kadınlarda tüm kanser-nedenli ölümlerin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır (WHO, 2018). Kadınlara oranla çok daha düşük sıklıkta rastlanmakla birlikte erkeklerde de meme kanseri görülebilmektedir; erkeklerde görülme sıklığı tüm meme kanserinin içinde %1'dir (Özmen ve diğerleri, 2012) (Ly, Forman, Ferlay, Brinton, & Cook, 2013).

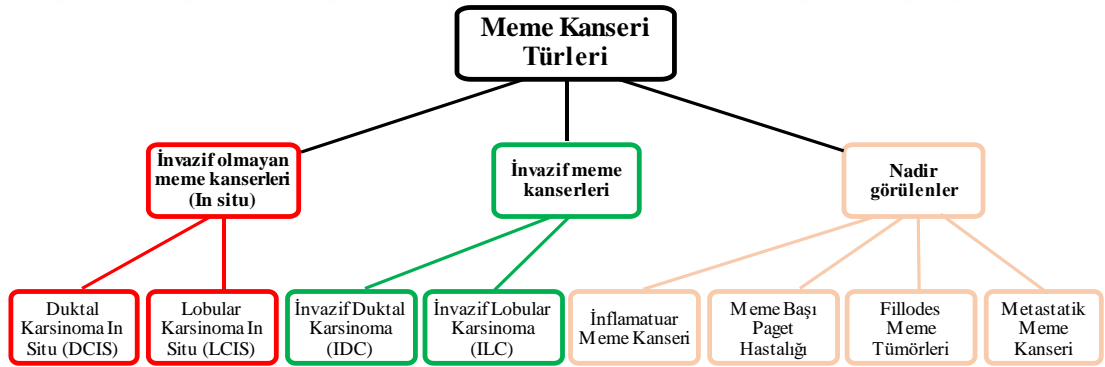
Kadınlarda meme dokusu, meme bezlerinin yanısıra yağ ve bağ dokusundan oluşmaktadır. Her meme, birçok lobül bulunan 15-20 lobdan oluşmaktadır, lobüller süt yapımını sağlayan bezlerdir ve birbirlerine süt kanalları (ductus) ile bağlıdır. Bu kanallar meme başına doğru birleşir. Memedeki bu yapılar genellikle kanserleşmenin başladığı yapılardır (Özmen ve diğerleri, 2012) (National Breast Cancer Foundation ,INC., 2018) (The American Society of Breast Surgeons Foundation, 2018).

Memenin anatomik yapısı Şekil 2.5.2.1'de gösterilmiştir;



Şekil 2.5.2.1 Meme Anatomisi (Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri), Meme Anatomisi, 2019).

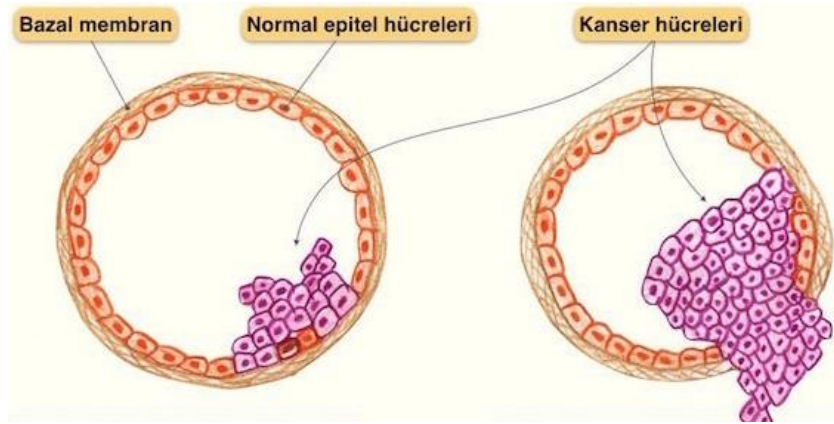
Meme kanserleri Şekil 2.5.2.2’de gösterildiği şekilde “invazif olmayan”, “invazif” ve “nadir görülenler” olacak şekilde 3 ana grupta sınıflandırılabilir:



Şekil 2.5.2.2 Meme kanseri türleri (Breastcancer.org, 2018) (The American Cancer Society, 2018) (Breastcancer.org, 2018).

İnvazif olmayan meme kanserleri, memedeki süt kanalları veya lobüller içerisinde kalır, meme içinde veya dışında normal dokulara yayılmazlar. İnvazif olmayan kanserler “in situ karsinom” veya “ön kanserler” olarak adlandırılmaktadır (Breastcancer.org, 2018). İnvazif meme kanserleri ise çevredeki meme dokusuna yayılma eğilimindedirler (The American Cancer Society, 2018).

In situ ve invazif meme kanser türleri Şekil 2.5.2.3’de şematize edilmiştir:

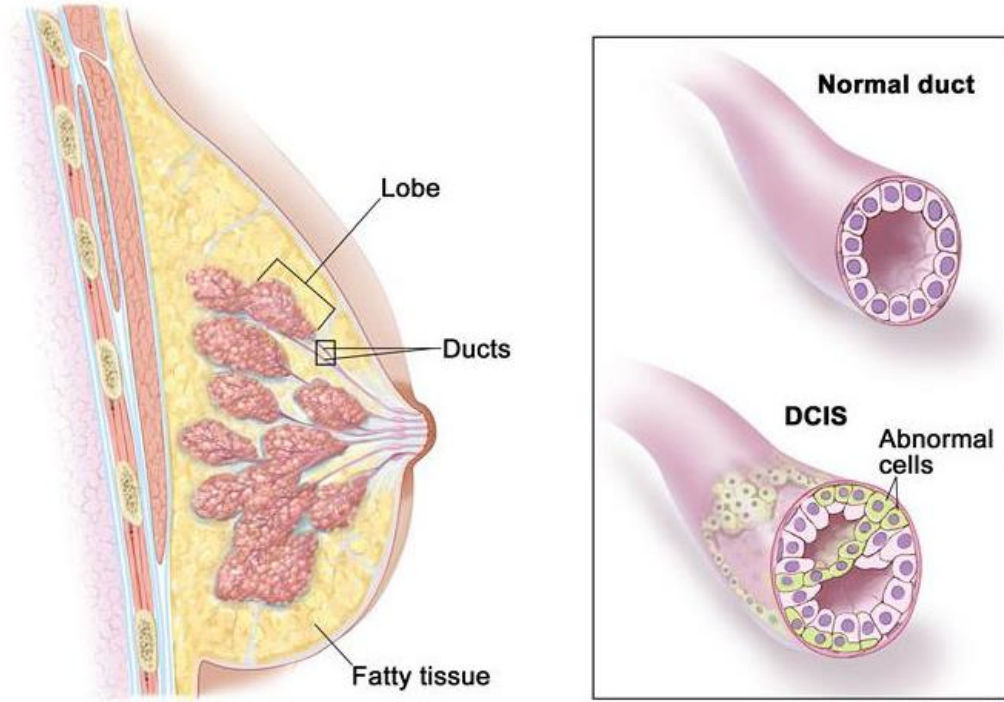


Şekil 2.5.2.3 Yayılım gösterme özelliği açısından meme kanseri türleri. Soldaki in situ (invazif olmayan) tipte bazal membran aşılmamış ve yayılma gözlenmiyor, sağdaki invazif tipte ise kanser hücreleri bazal membranı aşmış ve diğer dokulara yayılım var (Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri) İn Situ ve İnvaziv Kanser, 2018).

Meme kanseri kanallarda, lobüllerde ya da aradaki doku olmak üzere memenin farklı bölgelerinde başlayabilir (Breastcancer.org, 2018).

Duktal Karsinoma In Situ (DCIS), süt kanalı içinde kalan invaziv olmayan bir kanserdir (Breastcancer.org, 2018). Kanalları düzenleyen hücreler kanser hücrelerine dönüşür, ancak Şekil 2.5.2.3 ve Şekil 2.5.2.4’de görüldüğü gibi kanalların duvarlarından yakındaki meme dokusuna yayılmazlar (The American Cancer Society, 2018). Duktal Karsinoma In Situ’nun yapısı, Şekil 2.5.2.4’de gösterilmiştir.

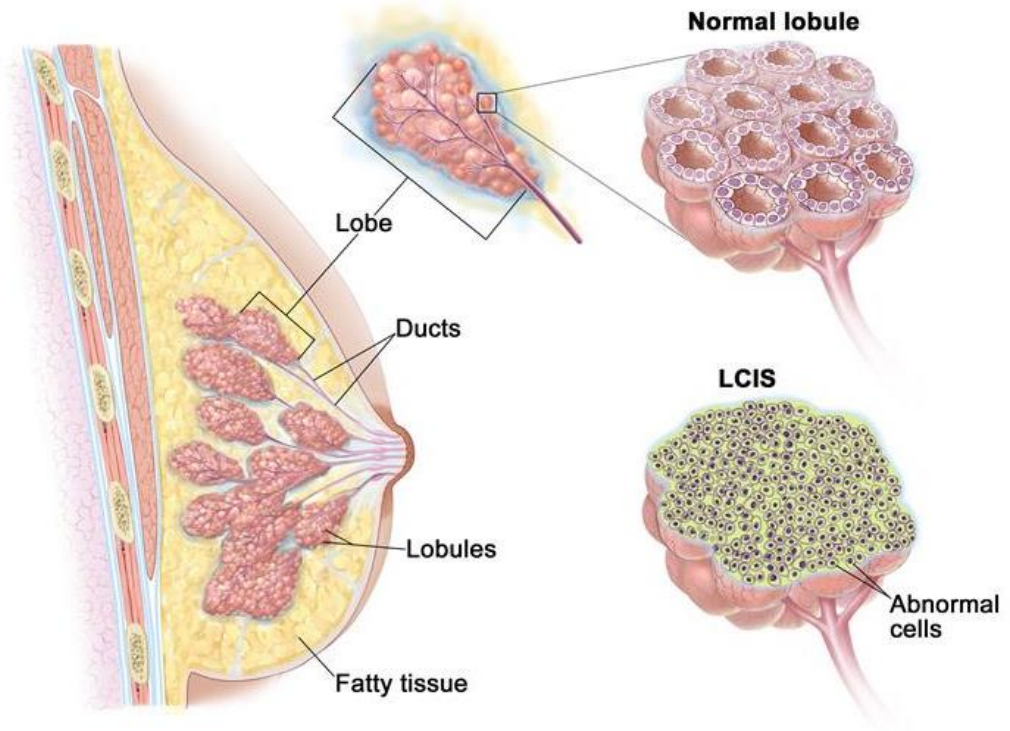
Ductal Carcinoma In Situ (DCIS)



Şekil 2.5.2.4 Duktal in situ karsinomunun meme kesiti ve ductus kesiti temsili görüntüsü (National Cancer Institute visualsonline, 2019).

Lobular Karsinoma In Situ (LCIS) ise lobül içinde kalan hücrelerin büyümesidir. (Breastcancer.org, 2018). Kanser hücrelerine benzeyen hücreler, memenin süt üreten bezleri olan lobüllerde büyür, ancak lobüllerin çeperi boyunca büyümeyebilirler (The American Cancer Society, 2018). LCIS gerçek bir meme kanseri değildir. Bu nedenle bazı uzmanlar “lobüler karsinom” yerine anormal hücrelerin çoğalması olan “lobüler neoplazi” terimini tercih etmektedirler. Ancak LCIS’li bir kişinin gelecekte meme kanseri olma riski diğer bireylere göre daha fazladır (The American Cancer Society, 2018). Lobular Karsinoma In Situ’nun görünümü Şekil 2.5.2.5’de gösterilmiştir.

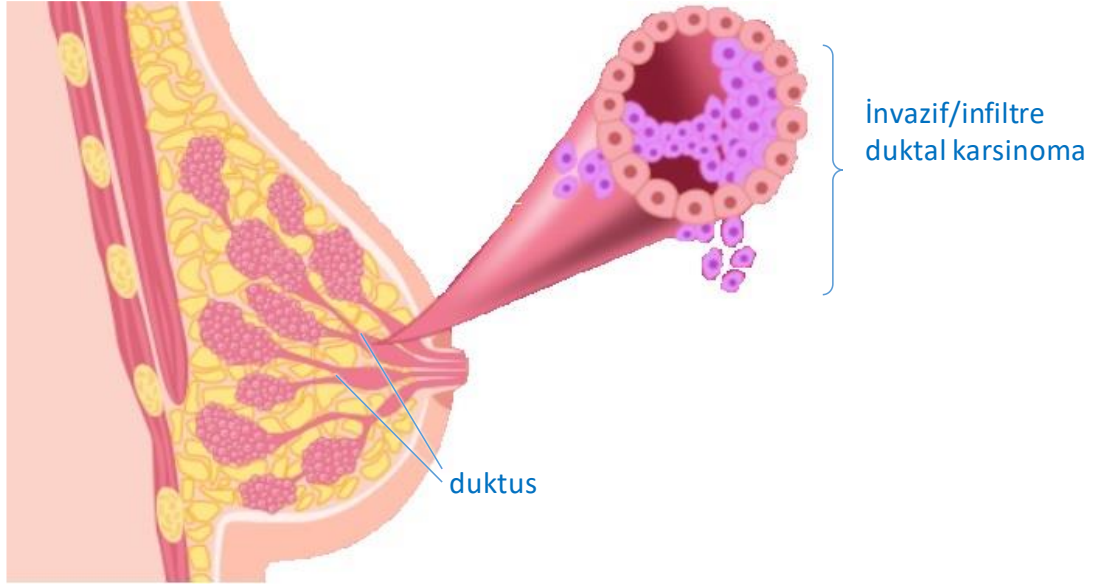
Lobular Carcinoma In Situ (LCIS)



Şekil 2.5.2.5 Meme ve lobül kesitinde lobüler in situ karsinomanın temsili görüntüsü (National Cancer Institute, 2019).

İnvazif Duktal Karsinoma (IDC), en yaygın meme kanseri türüdür; invazif meme kanserlerinin yaklaşık % 80'ini oluşturmaktadır (Breastcancer.org, 2018). IDC memedeki bir süt kanalını düzenleyen hücrelerde başlar, kanalın duvarını hasara uğratar ve yakındaki meme dokularına doğru büyür (The American Cancer Society, 2018).

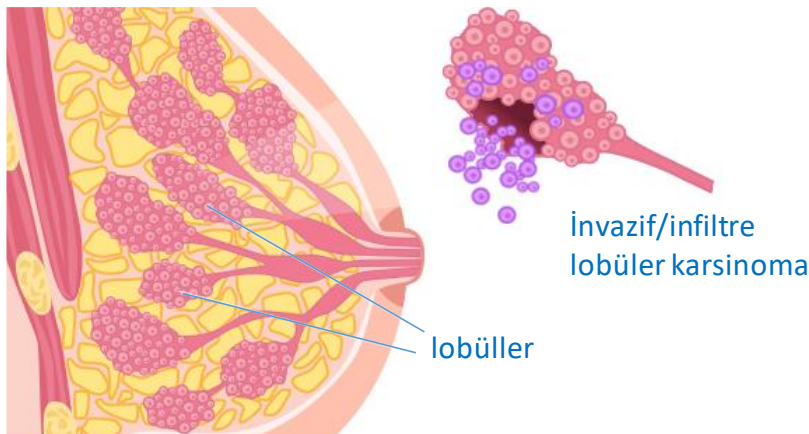
İnvazif Duktal Karsinomanın şematik yapısı Şekil 2.5.2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.5.2.6 Meme ve duktus kesitinde invazif duktal karsinomunun temsili görüntüsü (Oncology Nurses, 2019).

İnvazif Lobüler Karsinoma (ILC) ise süt üreten bezlerde, yani lobüllerde başlar. Lobül duvarını hasara uğratar ve memenin dokularını istila etmeye başlar. İnvazif duktal karsinomdan sonra en sık görülen ikinci meme kanseri türüdür, invazif meme kanserlerinin yaklaşık % 10'unu oluşturmaktadır (The American Cancer Society, 2018) (Breastcancer.org, 2018).

İnvazif Lobüler Karsinoma'nın yapısı Şekil 2.5.2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5.2.7 Meme ve lobül kesitinde invazif lobüler karsinomunun temsili görüntüsü (Oncology Nurses, 2019).

İnflamatuvar meme kanseri genellikle belirgin bir şişlik yerine memenin kızarması ve bütün halde şişmesi ile başlayan ve hızlı gelişen nadir bir meme kanseri türüdür (Breastcancer.org, 2018). Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %1 - 5'ini oluşturur (The American Cancer Society, 2018).

Meme başı Paget hastalığı, kanser hücrelerinin meme ucunun içinde veya çevresinde toplandığı nadir bir meme kanseri türüdür (Breastcancer.org, 2018). Tüm meme kanseri olgularının sadece %1-3'ünü oluşturur (The American Cancer Society, 2018).

Fillodes meme tümörleri, memenin bağ dokusundan başlayan ve yaprak yapısında hızla gelişen, yine oldukça nadir görülen meme tümörleridir (Breastcancer.org, 2018). Tüm meme tümörlerinin %1'inden daha azını oluştururlar (Breastcancer.org, 2018).

Metastatik meme kanseri vücudun başka bir yerine ve en sık karaciğer, beyin, kemik veya akciğerlere yayılan meme kanseri türüdür (Breastcancer.org, 2018).

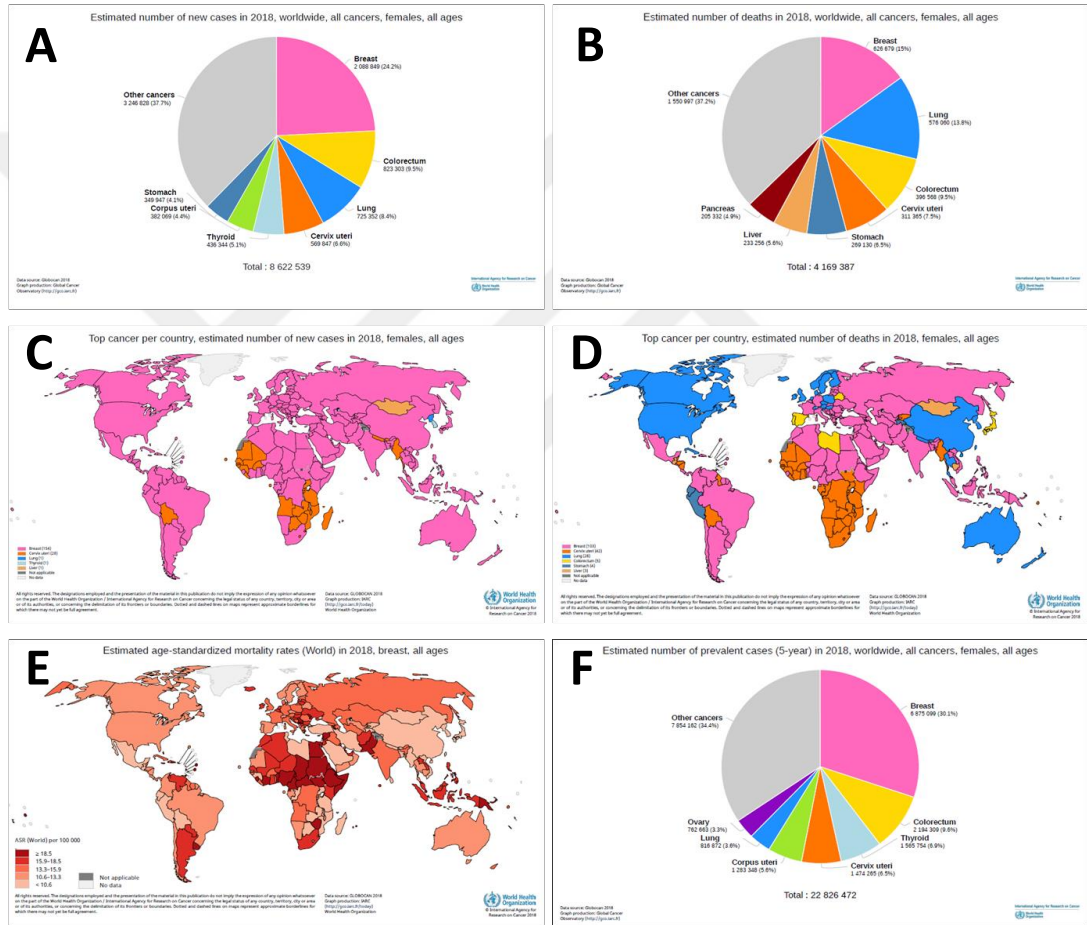
Dünyada kanser insidensinde meme kanserleri ikinci sırada yer alırken mortalitede beşinci sırada yer almaktadır (WHO, 2018). WHO'nun 2014 yılı sonuçlarına göre Türkiye'de kadınlarda kanser mortalite oranına baktığımızda meme kanseri % 15,7 ile birinci sırada yer almaktadır. Aynı şekilde kanser insidensinde meme kanseri % 15,2 oranı ile birinci sırada yer almaktadır (WHO, 2018).

T.C. Sağlık Bakanlığı'nın 2018 yılında yayınladığı Türkiye Kanser İstatistikleri 2015 verilerine göre meme kanserlerinin %94'ünü duktal ve lobüler karsinom oluşturmaktadır. Yine aynı verilere göre invazif duktal karsinom, meme kanserlerinin % 83'ünü oluşturmaktadır (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2018). Amerikan Kanser Derneği verilerine göre sık görülen meme kanseri türleri sırasıyla in situ duktal karsinom, invazif duktal karsinom ve invazif lobüler karsinomdur (The American Cancer Society, 2018).

Meme kanseri etiyolojisinde uluslararası insidens ve popülasyonda gözlenen farklılıklar, çevresel maruz kalımın önemli olabileceğini göstermektedir. Meme kanseri için reproduktif öykü ve hormonal faktörler, önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Wolff & Toniolo, 1995).

Endojen östrojen türevleri muhtemelen hücre çoğalmasını artırarak meme kanseri gelişimine neden olmaktadır. Bazı çalışmalar dolaşımdaki yüksek östrojen veya postmenopoz döneminde kullanılan östrojenin meme kanserine yakalanma olasılığını arttırabileceğini göstermektedir (Colditz, 1998). Organoklorlu bileşiklerin de östrojenik özellikleri nedeniyle meme kanseri riskini arttırdığı düşünülmektedir (McKinney & Wailer, 1994).

IARC'nin bir projesi olan GLOBOCAN 2018 verilerine göre tahmin edilen kanser insidens ve mortalite oranlarına ait veriler, Şekil 2.5.2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5.2.8 IARC'nin 2018 yılı küresel kanser ve meme kanseri insidens ve mortalite oranları. **A**, tüm kanserlerde her yaştan kadında tahmini yeni olgu sayısı; **B**, tüm kanserlerde her yaştan kadında tahmini ölüm sayısı; **C**, her yaştan kadında ülkelere göre en çok görülen kanserlerde tahmini yeni olgu sayısı; **D**, her yaştan kadında ülkelere göre en çok görülen kanserlerde tahmini ölüm sayısı; **E**, meme kanserinde yaşa göre standardize edilmiş tahmini ölüm oranları; **F**, her yaştan kadında tüm kanserlerde tahmin edilen olgu sayısının 5 yıllık prevalansı (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018) (WHO, 2018).

2.5.3. KOK Toksisitesine ait İnsan Verileri

Kanada'da gerçekleştirilen bir olgu-kontrol çalışmasında meme adipöz dokusunda ölçülen toplam 18 poliklorlu bifenil ve organoklorlu pestisite maruz kalmakla meme kanserine yakalanma riski açısından odds ratio (olasılık oranı;OR) değerleri, beş pestisit kalıntısı hariç tümü için 1'in üzerinde bulunmuştur (Aronson ve diğerleri, 2000). PCB-105 ve PCB-118'e ait OR değerleri, diğer PCB'lerin OR değerlerine göre 2 kat yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$). Kadınlarda menopoza öncesi ya da sonrasında meme kanseri riski farklıdır; menopoza öncesi olgu grubunda PCB-105 ve PCB-118'e ait OR değerleri daha yüksek iken, menopoza sonrası olgu grubunda ise PCB-170 ve PCB-180'e ait OR değerleri daha yüksek bulunmuştur (Aronson ve diğerleri, 2000).

Alaska'da yaşayan kadınlarda yapılan bir çalışmada serum örneklerinde 8 pestisit ve 3 indikatör PCB'nin olgu grubundaki konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre ilginç bir şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Pestisitlerden sadece γ -hekzaklorosikloheksan'a ait sonuçlarda olgular (8.3 ng/g yağ) kontrollerden (7.7 ng/g yağ) daha yüksek bulunmuştur, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. BDE-47'nin olgu grubundaki serum konsantrasyonu (38.84 ng/g yağ) ise kontrol grubundan (25.11 ng/g yağ) anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p = 0.04$). Çalışmanın sonuçları meme kanseri ile serum BDE-47 arasında (OR 1.79, $p = 0.06$) olası bir ilişkiye işaret etmektedir (Holmes ve diğerleri, 2014).

Norveçli kadınlarda yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, organoklorlu bileşiklerin serumdaki seviyeleri ile meme kanseri arasında bir ilişki gözlenmemiştir (Ward ve diğerleri, 2000). Birkaç bileşiğin OR değeri 1'den yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. 50 yaş üzeri kadınlarda kanser grubundaki DDE konsantrasyon seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. 10 yıl ya da daha önce meme kanseri tanısı konulan kadınlarda hem DDE, hem de toplam PCB'ler kanser grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Buna karşın yaş gruplarına ve tanı konma yılına göre analiz edilen kirleticilerin serum düzeyleri ile kanser arasındaki olası ilişki, istatistiksel olarak anlamlı değildir (Ward ve diğerleri, 2000).

Hurley ve ark.'nın 2011'de yayınlanan çalışmasında kontrol grubuna ait meme adipöz doku PBDE (PBDE-47, PBDE-99, PBDE-100, PBDE-153 ve PBDE-154)

konsantrasyonları, olgu grubundakinden biraz daha yüksek tespit edilmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı değildir (Hurley ve diğerleri, 2011). Meme adipöz dokuda PBDE-154'e ait OR >1 bulunmasına karşın çalışmadaki olgu sayısı düşüktür ve istatistiksel açıdan önemsizdir. Sonuçlar, meme adipöz doku PBDE konsantrasyonları ile meme kanseri arasında herhangi bir ilişki göstermemektedir (Hurley ve diğerleri, 2011).

New York-Long Island'ta kadınlarda yapılan bir olgu-kontrol çalışmasında, meme adipöz doku PCB konsantrasyonu ile tekrarlayan meme kanseri arasında bir ilişki olabileceği bildirilmiş (Muscat ve diğerleri, 2003), ancak benzer bir ilişki OCP türevleri için gözlenmemiştir. Tekrarlayan meme kanseri olgularında PCB-118 için RR % 95 güven aralığında 2.9 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda PCB-118 için bulunan p:0.06 değeri, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yine de önem sınırına çok yakın bir değerdir. Adipöz dokudaki PCB-138 için rölatif risk RR: 2.3, PCB-153 için 2.6, PCB-167 için 3.1, PCB-183 için 2.4, PCB-187 içinse 2.3 olarak tespit edilmiştir, ancak istatistiksel olarak hiçbiri anlamlı bulunmamıştır. OCP türevlerinden HCB için 3.0, DDE için 2.3, toplam pestisitler için ise 2.5 olarak tespit edilmiştir ve PCB'lerde olduğu gibi bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı değildir (Muscat ve diğerleri, 2003).

ABD'de 1977 ve 1987 yılları arasında yapılan bir kohort çalışmasında OCP ve PCB serum konsantrasyonları ile meme kanseri arasındaki ilişki, prospektif olarak değerlendirilmiştir (Dorgan ve diğerleri, 1999). Bu çalışmada kontrol bireylerinde sigara kullanımı hastalara göre önemli derecede ($p < 0.001$) yüksektir. Organoklorlu pestisitlerden sadece HCB konsantrasyonu meme kanseri ile pozitif olarak ilişkili bulunmuştur (RR: 2.4). Bu risk, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) olmakla birlikte gruptaki birey sayısı düşüktür. Bu prospektif çalışmanın sonuçları, kadınlarda OCP ve PCB'lere maruz kalmanın meme kanseri riskini artırdığı hipotezini desteklememektedir (Dorgan ve diğerleri, 1999).

Yine ABD'de New Haven'da gerçekleştirilen bir olgu-kontrol çalışmasında, olgu grubuna ait meme adipöz doku DDT ve DDE konsantrasyonları ile kontrol grubu konsantrasyonları arasında fark gözlenmemiştir (Zheng ve diğerleri, 1999).

İspanya'nın Granada kentinde yapılan kesitsel bir araştırmada, meme kanseri hastalarında serum ve meme adipöz doku örneklerine ait KOK konsantrasyonları

karşılaştırılmıştır (Artacho-Cordón ve diğerleri, 2015). Bu çalışmanın sonuçlarına baktığımızda meme kanseri hastalarında bazı KOK'lar için serum yükü, adipöz doku yükü ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada HCB ve *p,p'*-DDE için serum ve doku arasında anlamlı ve pozitif korelasyon saptanırken, PCB'lerde herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Hem serum, hem de adipöz doku örneklerinde yaş ile KOK konsantrasyonları arasında pozitif bir ilişki belirlenmiştir. Üniversite mezunu kadınlarda adipöz doku DDE konsantrasyonunun düşük olduğu, serum örneklerinde ise HCB konsantrasyonunun düşük olduğu tespit edilmiştir (Artacho-Cordón ve diğerleri, 2015).

Literatürdeki çalışmalara baktığımızda, KOK konsantrasyonlarının doğrudan insan dokularında ölçüldüğü çalışmaların oldukça sınırlı, doku KOK konsantrasyonu ile araştırılan hastalık arasındaki ilişki sonuçlarının ise çelişkili olduğu görülmektedir. İnsan dokularında yapılmış çalışma sayısının sınırlı olmasının nedeni, araştırma amaçlı olarak insan dokularına ulaşmanın çok zor, bir çok durumda imkansız olmasıdır. Bu tez çalışmasında bilimsel literatürdeki çelişkili sonuçları aydınlatılmak amacıyla meme kanserli hastalarda Şekil 2.1.1, Şekil 2.2.1 ve Şekil 2.3.1'de belirtilen toplam 39 KOK türevi düzeylerinin hastaların kan ve meme dokularında ölçülmesi planlanmıştır. Meme dokusuna ulaşmanın en kolay yolu, cerrahi operasyon endikasyonu olan hastalardan patolojik incelemeye gönderilmek üzere çıkarılan tümör dokularıdır. Bu nedenle Ege Üniversitesi Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği aracılığı ile ve gerekli etik kurul onayının ardından hastalardan 1 yıllık bir sürede kan ve tümörlü meme dokusu toplanmıştır. Yine Ege Üniversitesi Hastanesinde estetik amaçlı meme küçültme operasyonuna alınan hastalardan bir sağlıklı gönüllü (kontrol) grubu kurulmuş ve aynı biyolojik örnekler bu kontrol grubundan da toplanmıştır. Böylece meme kanserli hastalarda analiz edilen her bir parametrenin doğrudan yaş, cinsiyet gibi demografik özellikler açısından mümkün olduğunca eşleştirilmiş sağlıklı kontrol gönüllülerinden elde edilen parametrelerle karşılaştırılması ve herhangi olası bir farklılığın istatistiksel olarak test edilmesi mümkün olmuştur. Meme dokusunda KOK düzeylerinin belirlenmesiyle kanser ve KOK konsantrasyonları arasındaki olası ilişkiler analiz edilmiş, aynı kirleticilerin kan düzeyleri de ölçülerek doku düzeyleri ile korele olup olmadığı belirlenmiştir. Bu korelasyon (yaklaşım) daha önce ekolojik türler olan balık ve sokuşlarında uygulanmış ve bazı KOK türevleri için kan ve doku arasında önemli korelasyonlar

belirlenmiştir (Karaca ve diğeri, 2014) (Kocagöz ve diğeri, 2014) (Çağdaş ve diğeri, 2017). Bu tez çalışmasında bu kez benzer korelasyonların meme kanserli hastalarda varlığı araştırılmıştır. Olası güçlü bir korelasyon nispeten invazif olmayan bir biyolojik örnek olan kanda ölçülecek düzeylerle doku konsantrasyonlarının öngörülebilmesini sağlayacak, dolayısıyla bir biyogösterge rolü oynayabilecektir. Böylece meme kanseri tanısı konmamış kadınlarda riskin derecesi konusunda somut veriye dayalı yorum yapılabilecektir.

Kan ve doku örneklerinde KOK türevlerinin miktar tayininin yanı sıra kandan izole edilen genomik DNA aracılığı ile Gereç ve Yöntem bölümünde tanımlandığı şekilde KOK türevlerinin Faz I ve Faz II biyotransformasyonunda rol alması olası bazı enzimlerin ve DNA oksidatif hasarı onarım enzimlerinden birinin genetik varyasyon derecesi kontrol ve meme kanser gruplarında analiz edilmiştir.

Gereç ve Yöntem

3.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Araç ve gereçler	Firma adı ve modeli
Otomatik Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı	Büchi E-816 SOX
GC-ECD	Agilent 7890A
GC/MS	Agilent 5975C
Thermo Shaker	BOECO Germany, TS-100
Santrifüj	Thermo Scientific CL31R
Manyetik karıştırıcı	Velp Scientifica 100162 Wisestir MSH-20A
Vorteks	Nüve NM 110 Velp Scientifica 2x3
Derin dondurucu (-86°C)	New Brunswick U410 premium
Etüv	Heraeus
Terazi	Sartorius GP1200P
Homojenizatör	Heidolph SC-M
Çeker ocak	Shinsaeng Fumehood
Su arıtma cihazı	Millipore Direct Q
pH metre	Hanna-pH211
Otomatik mikropipet	Eppendorf Gilson
Pyreks tüp	

3.1.2. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal madde	Firma adı
Organochlorine pesticide mix 3	Dr. Ehrenstorfer YA06170100TH
PCB Mix	Dr. Ehrenstorfer
db-PCB	Dr. Ehrenstorfer
PBDE Mix	(BDE-MXD) Wellington
PCB-103	Dr. Ehrenstorfer (C20010300)
PCB-198	Dr. Ehrenstorfer (E20019800)
Acetone pestanal	Fluka 34480
Dichloromethane suprasolv	Merck 106054
<i>n</i> -Hexane pestanal	Fluka 34484
Methanol	Merck 1.06007.2500
Ethanol	Sigma/34870
Silica gel 60 (0,063-0,2 mm)	Merck 107734
Sulphuric acid	J.T.Baker 6057
Anhydrous sodium sulfate	Riedel de Haen 13464
Genejet Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit	Thermo/MBT-K0781/Prizma
RPMI 1640	Sigma R8758
Histopaque 1077	Sigma 10771-100mL
Biocoll	Separation solutionbiochrom AG L6113
Cam pamuğu	

3.2. Biyolojik Örnekleme

3.2.1. Hasta Seçimi

Bu tez çalışmasına dahil edilen hasta ve sağlıklı gönüllü grupları, sırasıyla memede tümör nedeniyle cerrahi operasyona alınan hastalar ve estetik amaçlı meme küçültme operasyonuna alınan bireylerden oluşturulmuştur. Her iki grupta araştırmaya dâhil olmanın ilk ölçütü, hasta ya da sağlıklı gönüllülerin kendi iradeleriyle çalışmaya katılmayı kabul etmeleridir;etik onay gereği operasyonu gerçekleştirecek olan hekim ya da asistanı tarafından her bir bireyden imzalı onam formu sağlanmıştır. İkinci olarak hastalar gebelik dönemi ya da doğum sonrası 6 aylık dönem içinde olmaları

durumunda araştırmaya dâhil edilmemişlerdir. Sonradan gruplarda araştırmaya dâhil olma ölçütlerini karşılamadığı fark edilenler olduğunda çalışmadan çıkarılmışlardır. Meme kanser grubuna ait hastalardan 1 tanesi hepatit taşıyıcısı olduğu için, 1 tanesi gebelik döneminde olduğu için, 6 tanesi ise patoloji laboratuvarında formaldehit özeltine alındığı için toplamda 8 hasta araştırmaya dâhil edilmemişlerdir.

3.2.2. Demografik Özellikler

Meme kontrol ve meme kanser grubuna ait demografik özellikler, tablo 3.2.2.1’de verilmiştir.

Tablo 3.2.2.1 Meme sağlıklı kontrol grubu ve meme kanser grubuna ait demografik özellikler. Bireyler 4 farklı yaş grubunda ayrı ayrı ve toplu olarak gruplandırılmış, ancak her bir alt grupta sayıların düşük olması nedeniyle analiz edilen parametreler açısından toplu değerlendirilmişlerdir.

Özellik	Meme Kontrol Grubu (n=22) n (%)	Meme Kanser Grubu (n=43) n (%)
Yaş (yıl)		
<40	9 (40.9)	5 (11.6)
40-49	3 (13.6)	12 (27.9)
50-59	8 (36.4)	7 (16.3)
≥60	2 (9.1)	19 (44.2)
Vücut-Kütle İndeksi (BMI; kg/m²)		
Zayıf (<18.5)	0 (0)	0 (0)
Normal kilolu (18.5-24.9)	4 (18.2)	12 (27.9)
Fazla kilolu (25-29.9)	7 (31.8)	19 (44.2)
Obez (≥30)	11 (50.0)	12 (27.9)
Menarş yaşı (yıl)		
≤12	8 (36.4)	14 (32.6)
>12	10 (45.5)	28 (65.1)
Diğer	4 ^{ab} (18.2)	1 ^a (2.3)
Menopoz durumu		
Premenopoz	14 (63.6)	15 (34.9)
Postmenopoz	7 (31.8)	27 (62.8)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Doğum sayısı		
≤2	12 (54.5)	31 (72.1)

3-4	4 (18.2)	7 (16.3)
≥5	0 (0.0)	1 (2.3)
Doğum yapmamış	5 (22.7)	3 (7.0)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
İlk doğum yaşı (yıl)		
<30	13 (59.1)	32 (74.4)
≥30	3 (13.6)	7 (16.3)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Düşük sayısı		
0	11 (50.0)	34 (79.1)
1-2	6 (27.3)	5 (11.6)
≥3	0 (0.0)	3 (7.0)
Diğer	5 ^{ac} (22.7)	1 ^a (2.3)
Toplam emzirme süresi (yıl)		
0	6 (27.3)	5 (11.6)
<1	5 (22.7)	11 (25.6)
1-2	4 (18.2)	19 (44.2)
3-4	6 (27.3)	5 (11.6)
≥5	0 (0.0)	2 (4.7)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Meslek		
Ev hanımı	8 (36.4)	17 (39.5)
Kamu sektörü	7 (31.8)	8 (18.6)
Özel sektör	3 (13.6)	14 (32.6)
Çiftçi	0 (0.0)	3 (7.0)
Öğrenci	3 (13.6)	0 (0.0)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Tarımda çalışmış olma		
Evet	0 (0.0)	18 (41.9)
Hayır	21 (95.5)	25 (58.1)
Diğer	1 ^a (4.5)	0 (0.0)
Kemoterapi ya da başka tedavi		
Evet	0 (0.0)	2 (4.7)
Hayır	22 (100)	41 (95.3)
Ailesinde kanser geçmişi		
Var	12 (54.5)	21 (48.8)
Yok	9 (40.9)	21 (48.8)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Eğitim düzeyi		
Eğitim almamış	0 (0.0)	6 (14.0)
İlkokul	3 (13.6)	12 (27.9)
Ortaokul-Lise	4 (18.2)	15 (34.9)

Önlisans-Lisans	11 (50.0)	10 (23.3)
Öğrenci	3 (13.6)	0 (0.0)
Diğer	1 ^a (4.5)	0 (0.0)
Son 10 yıl yaşadığı yer (operasyona kadar)		
Şehir	17 (77.3)	23 (53.5)
Kırsal	4 (18.2)	20 (46.5)
Diğer	1 ^a (4.5)	0 (0.0)
Östrojen reseptör (+,-)		
Pozitif	-	33 (76.7)
Negatif	-	9 (20.9)
Diğer	-	1 ^d (2.3)
Oral kontraseptif kullanımı		
Evet	2 (9.1)	4 (9.3)
Hayır	19 (86.4)	38 (88.4)
Diğer	1 ^a (4.5)	1 ^a (2.3)
Ameliyat öncesi kilo kaybı		
Var	-	5 (11.6)
Yok	-	38 (88.4)
Kanserin tekrarlama durumu (Rekürrent)		
Var	-	4 (9.3)
Yok	-	39 (90.7)
Tümör evresi		
1	-	4 (9.3)
2	-	31 (72.1)
3	-	6 (14.0)
Diğer	-	2 ^e (4.7)
Tümör tipi		
In situ	-	3 (7.0)
Duktal		3
Lobüler		-
İnvazif	-	24 (55.8)
Duktal		22
Lobüler		2
In situ-İnvazif	-	11 (25.6)
Diğer	-	5 ^f (11.6)
Kronik hastalık		
Var	13 (59.1)	25 (58.1)
Yok	9 (40.9)	18 (41.9)
Kullanılan ilaç		
Evet	16 (72.7)	28 (65.1)
Hayır	6 (27.3)	15 (34.9)
Sigara		

Evet		
1-5/gün	2 (9.1)	4 (9.3)
5-10/gün	3 (13.6)	6 (14.0)
15-20/gün	0 (0.0)	5 (11.6)
Nadiren	0 (0.0)	1 (2.3)
Ameliyattan \geq 2 yıl önce bırakanlar	0 (0.0)	4 (9.3)
Hayır	17 (77.3)	23 (53.5)
Alkol (kadeh/gün)		
Evet		
<1	1(4.5)	4 (9.3)
1	0 (0.0)	2 (4.7)
>1	0 (0.0)	0 (0.0)
Hayır	21 (95.5)	37 (86.6)

^a: 1 kişi ile iletişim kurulamadı.

^b : 3 kişi hatırlamıyor.

^c : 2 dış gebelik, 2 ölü doğum.

^d: 1 kişinin östrojen reseptör durumu belirlenmemiş.

^e: 2 kişinin tümör evresi belirlenmemiş.

^f: Adenoid kistik karsinoma, Lenfoma, Malign melanom, Malign sitoloji ve Tübüler karsinom

3.2.3. Örneklerin Toplanması ve Analize Hazırlanması

Çalışmada Ege Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalında cerrah hekimler tarafından çıkarılan sırasıyla meme kaynaklı tümör ya da sağlıklı meme dokuları, sorumlu patolojik hekim tarafından inceleme sonrası tarafımıza ulaştırılmak üzere tümörlü doku ve sağlam doku olarak ayrılmıştır. Aynı hastalardan ayrıca ameliyat öncesinde 10 cc heparinize kan örneği alınmıştır. Laboratuvara ulaşan biyolojik örneklerden doku ve kan örneklerinde *Genel Bilgiler* bölümünde Şekil 2.1.1, 2.2.1 ve 2.3.1'de kimyasal yapıları isimleriyle birlikte gösterilen, aşağıda Tablo 3.2.3.1'de isimleri yer alan toplamda 39 adet organoklorlu pestisit, poliklorlu bifenil, dioksin benzeri poliklorlu bifenil ve polibromlu difenil eter türevi kirleticilerin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır.

Tablo 3.2.3.1 Sağlıklı kontrol ve hasta grubu kan ve meme dokusu örneklerinde kalitatif ve kantitatif analiz gerçekleştirilen kalıcı organik kirletici grupları.

Analizi gerçekleştirilen KOK grubu	Her bir grupta yer alan KOK türevleri
OCP	<i>p,p'</i> -DDD, <i>p,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDT, metoksiklor, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, heptaklor, heptaklor endoepoksit, aldrin, dieldrin, endrin, endrin aldehit, α -endosülfan, β -endosülfan, endosülfan sülfat
PCB	PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153, PCB-180
Dioksin benzeri PCB	PCB-77, PCB-81, PCB-105, PCB-114, PCB-126, PCB-156, PCB-157, PCB-167, PCB-169 ve PCB-189
PBDE	PBDE-17, PBDE-47, PBDE-66, PBDE-100, PBDE-153

KOK türevlerinin biyolojik örneklerde kalitatif ve kantitatif analizlerinde gaz kromatografisi-elektron yakalayıcı deteksiyon (GC-ECD) teknikleri kullanılmıştır.

Kan örneklerinden ayrıca genomik DNA izole edilerek sağlıklı kontrol ve kanserli grupta KOK türevlerinin Faz I biyotransformasyonunda rol alması olası olan CYP1A1, Faz II konjugasyonunda yer alması olası glutatyon S-transferaz M1, T1 ve P1 genetik varyasyonları analiz edilmiştir. Ayrıca DNA oksidatif hasar onarım enzimlerinden birisi olan insan 8-okzoguanin glikozilaz 1'in de (hOGG1) yine genetik varyasyonu, PCR-RFLP tekniği ile analiz edilmiştir. Böylece söz konusu enzimlerdeki olası bir genetik polimorfizmin meme kanseri için risk faktörü olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Bu genetik varyasyon çalışmaları, işbirliği yapılan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Sinan Süzen yönetimindeki grup tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.3. Yöntem

3.3.1. Geçerlendirme (Validasyon) Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında ana olarak 2 genel başlık altında yöntemler uygulanmıştır, bunlar:

- 1) Biyolojik örneklerin KOK kantitatif analizi için hazırlanması ve kantitatif analizi,
- 2) Genetik varyasyon çalışmaları için kandan DNA'nın izole edilmesidir.

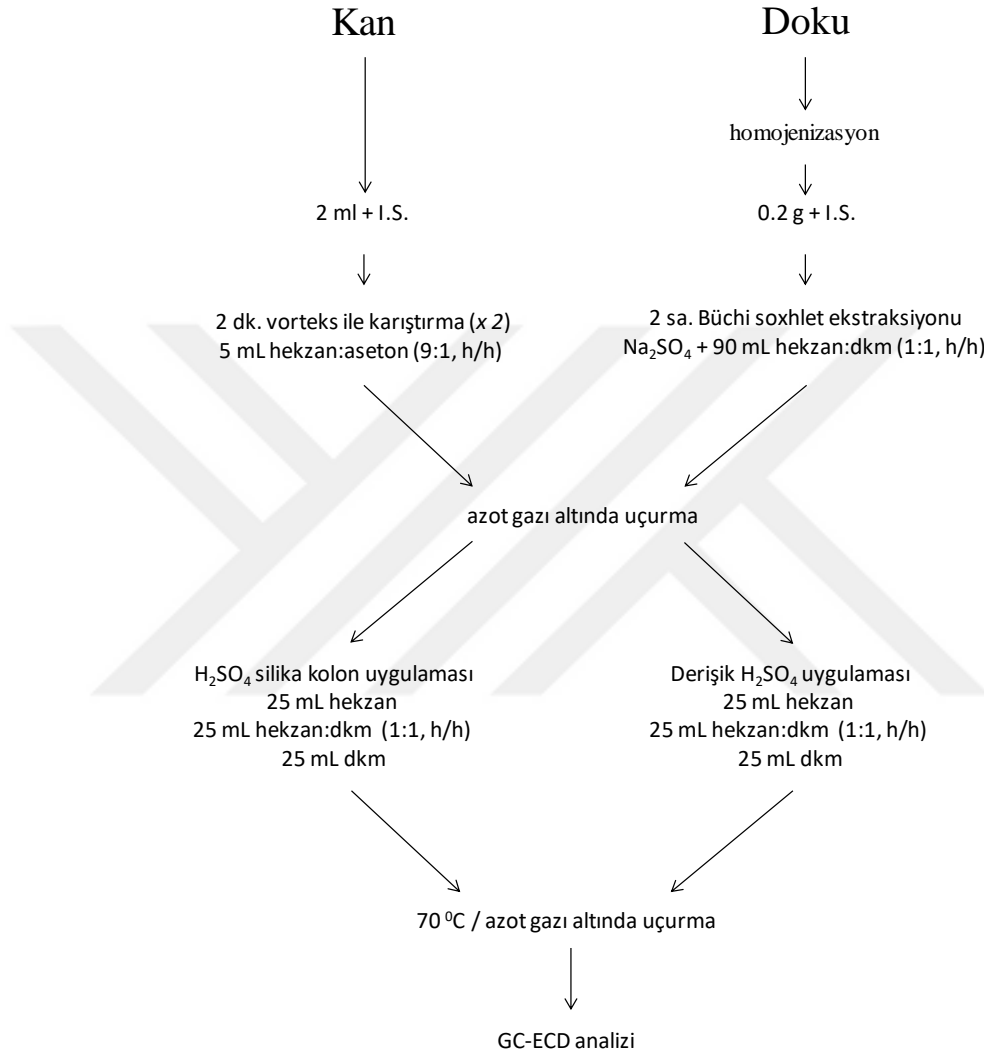
Biyolojik örneklerin hazırlanması basamakları doku homojenizasyonu, KOK türevlerinin ekstre edilmesi, kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılması, ekstraktın içerdiği yağın uzaklaştırılması, yoğunlaştırma ve analitik ölçümdür. Aşağıda hem kan, hem doku için biyolojik örneklerin hazırlığından başlayarak bu çalışmaların nasıl tasarlandığı ve gerçekleştirildiği açıklanmıştır.

3.3.1.1. Biyolojik Örneklerde KOK Ölçümü Geçerlendirmesi

Bu tez çalışmasının iki ana amacından ilki meme kanserli hasta dokularının KOK konsantrasyonu ile kanser arasında bir ilişki olup olmadığının ortaya konması ve ikincisi kan KOK düzeyleri ile doku KOK düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesidir. Dolayısıyla örneklerdeki KOK miktarlarının doğru, kesin ve tekrarlanabilir ölçülmesi esastır. Bu nedenle biyolojik örneklerin toplanmasından önce kan ve dokudan KOK'ların ekstraksiyonu, geri alım oranları, analizlerinin gereken hassasiyet, doğruluk, kesinlik ve tekrarlanabilirlikte yapılabilmesi için standart madde çözeltileri, doğrudan doku ekstraktları ve standart madde çözeltisi eklenmiş doku ekstraktları aracılığı ile analitik geçerlendirme çalışması yapılmıştır. Bu geçerlendirme çalışmalarında ekstraksiyon tekniği olarak kan örnekleri için vorteksle şiddetli karıştırma, doku örnekleri içinse otomatik soxhlet cihazı kullanılmış, ekstraktların yarı-saflaştırılması amaçlı silika kolon kromatografisi uygulanmıştır. Analitik teknik olarak ise GC/MS ve GC-ECD alternatifleri değerlendirilmiştir. Geçerlendirme çalışmaları iki farklı doku olan kan ve meme dokusu için ayrı ayrı yapılmış, analize hazır örnekler hem GC/MS, hem de GC-ECD kolonuna injekte edilerek her iki analitik tekniğin hassasiyeti birbiri ile karşılaştırılmıştır.

Kan ve doku örneklerine uygulanan geçerlendirme çalışması aşağıda şematik olarak gösterilmiştir:

Şematik örnek hazırlığı ve analiz çalışması;



3.3.1.1.1. GC/MS ve GC-ECD Teknikleri Hassasiyet Karşılaştırması

Tez çalışmasında analizini gerçekleştirdiğimiz KOK türevlerinin tümü değişik tip ve sayıda halojen içerdiklerinden dolayı GC-ECD tekniğinin yeterli hassasiyete sahip olduğu bilinmektedir (Karaca ve diğerleri, 2014) (Kocagöz ve diğerleri, 2014) (Çağdaş ve diğerleri, 2017).

Buna karşın kütle detektörü içeren GC/MS'in üstünlüğü, maddeleri kalitatif olarak alıkonma zamanına göre belirlemenin ötesinde 2. bir boyut olarak kütle hakkında bilgi sağlamasıdır, dolayısıyla GC/MS'in yeterli hassasiyete ulaşabilmesi durumunda kalitatif analizde önemli bir üstünlüğü olacaktır. Tez çalışmasında bu nedenle ölçülen KOK türevlerine karşı GC/MS'in hassasiyeti belirlenmiş ve GC-ECD ile karşılaştırılmıştır. Her iki değer ilgili madde pikinin 0.5 dk öncesi ve 0.5 dk sonrası kromatogram kesitinin zemin sinyalleri (noise) yükseklik ortalaması alınarak bu değer 3 katı LOD, 10 katı ise LOQ olarak kabul edilmiştir.

Bu amaçla organik çözücü olarak hekzan içerisinde KOK türevlerinin 15 pg/µL çözeltileri hazırlanmış ve GC/MS kolonuna enjekte edilerek her bir KOK türevi için tespit sınır değerleri (LOD) ve ölçüm sınır değerleri (LOQ) belirlenmiştir. GC/MS cihazında analiz sırasında aşağıdaki Tablo 3.3.1.1.1'deki parametreler ve sıcaklık gradiyenti uygulanmıştır:

Tablo 3.3.1.1.1 GC/MS parametreleri ve sıcaklık gradiyenti tablosu.

Parametre	GC/MS
Enjektör sıcaklığı	200 °C
Enjeksiyon miktarı (µL)	1, splitless
Sıcaklık programı	
Başlangıç sıcaklığı	80 °C
a)	15 °C /dk artış hızı ile 180 °C'ye (5 dk. bekleme)
b)	15 °C /dk artış hızı ile 250 °C'ye (27 dk. bekleme)
c)	40 °C /dk artış hızı ile 280 °C'ye (30 dk. bekleme)
Kolon	30 m HP-5MS
Taşıyıcı gaz	Helyum
Gaz akış hızı (ml/dk)	7.22
MS Zone	
MS Source	230 °C (maksimum 250)
MS Quad	150 °C (maksimum 200)
Çözücü gecikmesi (dk)	3.00

Aynı örnekler GC-ECD kolonuna da enjekte edilmiştir. GC-ECD analizinde aşağıdaki parametreler uygulanmıştır. GC-1 analiz yönteminde kurulan sıcaklık gradiyentinde db-PCB türevleri ile OCP türevleri arasında interferasyon gözlemlendiği için ikinci bir yöntem kurulmuş ve Tablo 3.3.1.1.1.2’de verilmiştir.

Tablo 3.3.1.1.1.2 GC-ECD parametreleri ve sıcaklık gradiyenti tablosu

Parametre	GC-ECD
Enjektör sıcaklığı	270 °C
Enjeksiyon miktarı (µL)	1, splitless
Detektör sıcaklığı	300 °C
Sıcaklık programı	
Başlangıç sıcaklığı	90 °C
a)	90 °C (2 dk. bekleme)
b)	25 °C /dk artış hızı ile 180 °C’ye (2 dk. bekleme)
c)	1.5 °C /dk artış hızı ile 220 °C’ye (2 dk. bekleme)
d)	3 °C /dk artış hızı ile 275 °C’ye (15 dk. Bekleme)
Kolon	50 m HP-5MS
Taşıyıcı gaz	Azot
Gaz basıncı (psi)	60

3.3.1.1.2. Kan ve Doku Örneklerinden Geri Alım Çalışması

Asıl örneklere başlanmadan önce analiz yöntemini optimize etmek amacı ile kan ve doku örneklerinden geri alım çalışması yapılmıştır. Bu ve sonraki çalışmalarda analitik cihaz olarak GC-ECD kullanılmıştır. Bu amaç ile sağlıklı 6 kişiden kan örnekleri toplanmış ve yukarıda 3.3.1.1. başlığı altında bahsedildiği gibi 3 farklı tipte analiz örneği hazırlanmıştır. Bunlar:

- 1) Organik çözücü olarak hekzan içinde 15 pg/µL konsantrasyonda tüm analizi amaçlanan KOK türevlerinin çözeltisi, (doğrudan enjekte edilmiştir.)
- 2) Kan örnekleri,

- 3) Kan örnekleri + 15 pg/μL son konsantrasyonda tüm analizi amaçlanan KOK türevlerinin eklendiği, yani ajan eklenmiş örnek.

Bu 3 farklı örnek tipinden 2 ve 3 numaralı olanlar yukarıdaki örnek hazırlığı şemasında kan örneklerine uygulanan prosedüre göre çalışılmış ve kantitatif analize hazır hale getirilmiştir.

Benzer şekilde dokudan geri alım çalışması için balık dokusu kullanılarak yine aynı şekilde 3 farklı seri analiz örnekleri hazırlanmış ve şemada doku örneklerine uygulanan prosedüre göre çalışılarak kantitatif analize hazır hale getirilmiştir.

3.3.1.1.2.1. KOK Türevlerinin Kan ve Dokudan Ekstraksiyonu

Payreks tüp içerisindeki 2 mL tam kan örneğine I.S. olarak 75 pg/μL PCB-103 ve 50 pg/μL PCB-198 eklendikten sonra organik çözücü olarak 5'er mL hekzan:aseton (9:1, h/h) karışımı ile 2 dk süreyle 2 kez vortekslenmiştir. Ardından birleştirilen ekstraktlar hafif azot gazı akımı altında 2 mL'ye yoğunlaştırılmıştır.

Dokulardan KOK ekstraksiyonu, Büchi E-816 SOX ekstraksiyon cihazında yapılmıştır. Cihazdaki ekstraksiyon süresi 120 dk, yıkama süresi 10 dk ve kurutma süresi 10 dk olacak şekilde uygulanmıştır. Büchi ekstraksiyonunda 90 mL hekzan:diklorometan (1:1,v:v) kullanılmıştır.

3.3.1.1.2.2. Kan ve Doku Ekstraktlarının Silika Kolon Fraksiyonlandırması

Geçerlendirme çalışmasına KOK'ların silika kolondan fraksiyonlandırılması ile devam edilmiştir. Konsantrasyon 15 pg/μL olacak şekilde OCP, PCB, db-PCB ve PBDE karışımları hazırlanmıştır. Tüm örneklere internal standart olarak PCB-103 ve PCB-198 eklenmiştir. Silika fraksiyonlandırma işlemi için 23cm x 1.5cm boyutlarındaki cam kolonun en altına cam pamuğu, üzerine 5.5 g silika ve en üste susuz Na₂SO₄ konmuş, kolon önce 12 mL yüksek saflıkta hekzan (suprasolv) ile şartlanmıştır. Ardından 2 mL hacminde ekstrakt yüklenmiştir. Elüsyon için sırasıyla 25 mL hekzan, 25 mL hekzan:diklorometan (1:1; h:h) ve 25 mL diklorometan geçirilerek elüentler toplanmıştır.

Toplanan elüentler 70°C'de hafif azot gazı akımı altında uçurularak 200 μL'ye yoğunlaştırılmış ve GC viyallerine alınmışlardır.

3.3.1.1.2.3. Kan ve Doku Ekstraktlarından Yağın Uzaklaştırılması

Doku örneklerinin analize hazırlanması esnasında elde edilen ekstraktların yoğun miktarda yağ içerdiği görülmüştür. KOK analizlerinde örnekleri yağdan kurtarmak amacıyla en çok uygulanan yöntem, ekstraktın sülfürik asitli silikadan geçirilmesidir. Ancak bazı OCP türevleri sülfürik asit uygulanınca kısmen ya da tamamen parçalanabilmektedir. Bu amaç ile analizini planladığımız 17 adet OCP türevinden hangilerinin ne oranda parçalandığını belirlemek üzere hazırlanan OCP çözeltilerine asidik silika kolon kromatografisi uygulanmış, ayrıca doğrudan konsantre sülfürik asit (37 N) eklenerek de bir çalışma yapılmıştır. Asit uygulaması sırasında OCP türevlerinden aldrin, endrin, dieldrin ve metoksiklor asidik parçalanmaya uğramış ve kısmen ya da tamamen kaybedilmiştir. Yüksek oranda yağ içeren ekstraktların GC analizi sürdürülebilir olmadığı ve bu tür ölçümlerde analitik kalite sağlanamadığı için bu türevler gözden çıkarılmış, analizlere asit uygulaması sonrasında devam edilmiştir.

Asit uygulaması sonrasında doku ekstraktı 50 µL'ye, kan ekstraktı 200 µL'ye yoğunlaştırılarak GC viyaline alınmışlardır. Bu şekilde analitik ölçüme hazır hale getirilen kan ve doku örnekleri, GC-ECD kolonuna enjekte edilmiş ve KOK türevlerinin kalitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir. Kantitatif analiz için aynı zamanda bir seri kalibrasyon çözeltisi hazırlanmıştır; hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyon aralığı, validasyon çalışması sonucunda literatürden derlenen insan kan ve adipöz doku KOK konsantrasyonu bilgileri yardımıyla 0, 1, 5, 10, 15 ve 20 pg/µL olacak şekilde kör deneme dahil 6 konsantrasyon olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda geri-alım değerleri aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

$$\text{GERİ-ALIM (\%)} = \left[\frac{\left(\text{ajan eklenmiş dokudan} \right) - \left(\text{ajan eklenmemiş dokudan} \right)}{\left(\text{ekstre edilmeksizin doğrudan} \right)} \right] \times 100$$

ekstre edilmiş miktar ekstre edilmiş miktar

ölçülmüş miktar

Formülde gösterildiği şekilde kan ya da doku örneklerinde ölçülmüş olan KOK miktarları, dışardan standart miktarda KOK eklenmiş (ajan eklenmiş; *spiked*) eşit ağırlıkta doku örneklerinde ölçülen KOK miktarlarından çıkarılmış, geriye kalan miktar ise organik çözücü içerisinde doğrudan enjekte edilen eşit konsantrasyondaki KOK miktarlarına oranlanmıştır. Bu şekilde prosedür sırasında ölçülen türevlerin miktarlarında kayıp olup olmadığı ve kayıp varsa ne oranda olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen geri-alım değerleri organik çözücüye ekstraksiyon, silika kolonu fraksiyonlandırması, uçurma ve tekrar çözme ve ardından GC analizi gibi basamakların tümü için elde edilmiş toplam geri-alım değeridir, tez çalışmasında ara basamakların geri-alım değerlerine gerek olmadığı için tek tek çalışılmamıştır.

3.3.1.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu Geçerlendirme Çalışması

DNA izolasyon işlemi için bir seri geçerlendirme çalışması gerçekleştirilmiştir. Öncelikle farklı marka DNA saflaştırma kitleri kullanılarak aynı kişiden alınan kan örneklerinde DNA izolasyonu yapılmış, hem verim, hem de kalite karşılaştırılmıştır.

İkinci olarak tam kandan DNA izole etmek yerine önce lenfosit izole edilmiş, ardından bu lenfositlerden DNA izolasyonu yapılmıştır.

Üçüncü olarak izole edilen DNA'daki RNA bulaşğını en aza indirmek amacıyla izolasyon prosedürüne RNase eklenmiştir.

Dördüncü çalışma, kan örneğini saklama sıcaklığının izole edilen DNA kalitesine etkisini belirlemek için yapılmıştır. Bu çalışmanın nedeni hastalardan cerrahi operasyon öncesinde alınan kan örneklerinin her zaman anında laboratuvarımıza ulaştırılamaması ve bazen 10 saate kadar +4°C'de bekletilmesi, ya da DNA izolasyonunun taze yapılmak yerine +4°C, -20°C ya da -80°C'de belli süre depolandıktan sonra yapıldığında izole edilecek DNA miktarı ve/veya kalitesinde değişme olup olmayacağını belirlenmesidir. Bu amaçla aynı kişiden alınan kan örneği porsiyonlara ayrılarak hemen ardından +4°C, -20°C ve -80°C'de 5 gün süreyle bekletildikten sonra DNA izolasyonu yapılmış ve DNA verimiyle birlikte kalitesi, aynı örnekten taze izole edilen DNA ile karşılaştırılmıştır.

DNA izolasyon geçerdendirilmesinde beşinci ve son çalışmada DNA izolasyonu yapan farklı araştırmacılarından kaynaklanabilecek verim ve kalite varyasyonu belirlenmiştir.

İzole edilen DNA örnekleri nanodrop cihazında spektrofotometrik olarak analiz edilmiş, A260 (ng/μL DNA konsantrasyonu), A280 (protein miktarı), A260/A280 (RNA bulaşığı) ve A260/230 (tuz bulaşığı) nm dalga boylarından yararlanılarak hem verim, hem de kontaminasyon açısından kalitesi belirlenmiştir.

3.3.2. KOK Türevlerinin Analizi için Biyolojik Örnek Hazırlığı

3.3.2.1. Kan Örnekleri Hazırlığı

Kan örneklerinin analizinde 2 mL temiz tüplere alınmış, internal standart (I.S.) olarak 15 ng PCB-103 ve 10 ng PCB-198 eklenmiştir. Eritrositler ardışık olarak sonikatör ve vorteks yardımıyla patlatılmış, 1 mL metanol eklenerek proteinler çöktürülmüştür. Örnekler 2 kez 5'er mL hekzan:aseton (9:1, h/h) karışımı ile vorteks cihazı yardımıyla 2 dk. karıştırılarak ekstre edilmiştir. Birleştirilen ekstraktlar hafif azot gazı akımı altında 2 mL'ye yoğunlaştırılmıştır. Ardından 2.5 mL derişik H₂SO₄ eklenerek ekstraktın içerisindeki yağlar uzaklaştırılmıştır. Yağından kurtarılan ekstraktlar, distile su ile yıkanarak olası H₂SO₄ artığı uzaklaştırılmıştır. Turnusol kağıdı yardımıyla pH kontrolü yapıldıktan sonra susuz Na₂SO₄ ile suyundan kurtarılan ekstraktlar, 70 °C'ye ayarlı su banyosunda hafif azot gazı akımı altında 200 μL'ye yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılan ekstraktlar GC viyallerine alınarak GC-ECD'ye enjekte edilmiştir.

3.3.2.2. Meme Doku Örnekleri Hazırlığı

Laboratuvara ulaşan örneklerin KOK içeriklerinin kalitatif ve kantitatif analizi, yukarıda geri-alım çalışmasında da tanımlandığı şekilde daha önce liteartürde tanımlanan yöntemlerin uyarlanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Karaca ve diğerleri, 2014) (Kocagöz ve diğerleri, 2014). Ayrıntılı olarak prosedür şu şekilde uygulanmıştır:

Belirli miktar kanserli ve kansersiz meme dokuları homojenize edilmiş ve her birinden 0.2 g tartılmış, I.S. olarak hekzan içinde 7.5 ng PCB-103 ve 5 ng PCB-198 eklenip karıştırılmış ve bir saat süreyle oda ısısında bekletilmiştir. Ağırlıkça 1:5 oranında susuz Na₂SO₄ eklenen örneklerin üzerine 90 mL hekzan:diklorometan (1:1, h/h) karışımı eklenerek 2 saat süre ile Büchi E-816 SOX otomatik ekstraksiyon cihazı yardımıyla ekstre edilmişlerdir. Ekstraktlar hafif azot gazı akımı altında 3 mL'ye yoğunlaştırılmış, bunun 1.5 mL'si KOK analizinde, 0.5 ml'si gravimetrik yağ analizinde kullanılmış ve 1 mL'si saklanmıştır.

Yoğunlaştırılmış kısımdan KOK analizi için ayrılan 1.5 mL'ye 5 mL derişik H₂SO₄ eklenerek ekstraktın içerisindeki yağlar uzaklaştırılmıştır. Yağından kurtarılan ekstraktlar, distile su ile yıkanarak olası H₂SO₄ artığı uzaklaştırılmıştır. Turnusol kağıdı yardımıyla pH kontrolü yapıldıktan sonra susuz Na₂SO₄ ile suyu uzaklaştırılan ekstraktlar, 70°C su banyosunda azot gazı akımı altında 50 µL'ye yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılan ekstraktlar GC viyallerine alınarak GC-ECD'ye enjekte edilmiştir.

3.3.3. Gaz Kromatografi - Elektron Yakalayıcı Deteksiyon Çalışma Koşulları ve Uygulanması

Analizler sırasında db-PCB türevleri ile OCP türevleri arasında interferasyon gözleendiğinden daha önce geçerlendirme çalışmasında bahsedildiği üzere GC-1 ve GC-2 adıyla iki farklı analiz yöntemi kurulmuştur. Bu analiz yöntemlerine ait cihaz parametreleri Tablo 3.3.3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.3.3.1 GC-1 ve GC-2 analiz yöntemlerine ait cihaz parametreleri.

Parametre	GC-1	GC-2
Enjektör sıcaklığı	200 °C	270 °C
Enjeksiyon miktarı (µL)	1, splitless	1, splitless
Detektör sıcaklığı	300 °C	300 °C

Sıcaklık programı		
Başlangıç sıcaklığı	80 °C	90 °C
a)	15 °C /dk artış hızı ile 180 °C'ye (5 dk. bekleme)	90 °C (2 dk. bekleme)
b)	15 °C /dk artış hızı ile 250 °C'ye (27 dk. bekleme)	25 °C /dk artış hızı ile 180 °C'ye (2 dk. bekleme)
c)	40 °C /dk artış hızı ile 280 °C'ye (30 dk. bekleme)	1.5 °C /dk artış hızı ile 220 °C'ye (2 dk. bekleme)
d)	-	3 °C /dk artış hızı ile 275 °C'ye (15 dk. bekleme)
Kolon	50 m HP-5MS	50 m HP-5MS
Taşıyıcı gaz	Azot	Azot
Gaz basıncı (psi)	50	60

3.3.4. Genetik Varyasyon (Polimorfizm) Analizleri

Bu çalışmaların genomik DNA izolasyonu sonrası tüm aşamaları, Ankara Üniversitesi-Eczacılık Fakültesi, F. Toksikoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Sinan Süzen yönetimindeki araştırma grubu tarafından gerçekleştirilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarında genetik farklılıkların analizi 4 basamaktan oluşmaktadır; ilki genomik DNA izolasyonudur. Burada hastalardan alınan periferik kandaki lökositlerinden yüksek-tuz metodu kullanılarak genomik DNA elde edilmiştir (Chacon-Cortes, Haupt, Lea, & Griffiths, 2012). İzole edilen DNA'nın saflığı, kalitesi ve miktarı geçerlendirme çalışmalarında tanımlandığı üzere spektrofotometrik yöntemle 260 ve 280 nm'lerde yapılan ölçümlerle belirlenmiştir. İkinci basamak *Polimeraz Zincir Reaksiyonu* (PZR) analizidir. Bu aşamada öncelikle hedeflenen gene ait mevcut biyoinformatik kaynaklardan yararlanılarak gen dizilimi

ve polimorfik bölge belirlenerek bu gen dizilimini çoğaltmada kullanılan primerler dizayn edilmiş veya daha önceki çalışmalardan yararlanılmıştır. Hedef bölge için sadece saptanan dizilimin çoğaltılacağı PZR şartları, PZR bileşenlerinin konsantrasyonları, genomik DNA konsantrasyonu, PZR programındaki değişkenler üzerinde çalışılarak optimize edilmiştir. Hedeflenen gen bölgesinin doğru ve sonraki analiz için yeterli olacak şekilde çoğaltılıp çoğaltılmadığı agaroz jel elektroforez (AJE) veya poliakrilamid jel elektroforez (PJE) teknikleri kullanılarak belirlenmiştir. Üçüncü basamak *Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm* (RPUP) analizidir. Bu aşamada hedeflenen polimorfizmde bireyler arasında DNA dizilimindeki farklılığı belirlemek amacıyla restriksiyon enzimi (RE) kullanılmıştır. Yine hedef için uygun RE öncelikle biyoinformatik kaynaklardan belirlenmiştir. Daha sonra belirlenen enzimin optimum koşullarda çalışacağı reaksiyon şartları araştırılmıştır. Bu aşamalardan sonra hastalarda PZR tekniği ile çoğaltılan gen bölgesinin RE uygulaması gerçekleştirilmiştir. Son basamak hastaya ait genotipin aydınlatılmasıdır. Bu aşamada RPUP analizi sonrasında elde edilen ürünlerde AJE veya PJE tekniği kullanılarak genotip belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Hastaların hedeflenen polimorfizm için homozigot yabancıl tip, heterozigot veya homozigot mutant genotipleri, jel görüntüleme sisteminde belirlenmiştir.

3.3.4.1. KOK Biyotransformasyonu Enzimleri Genetik Varyasyon Analizi

3.3.4.1.1. Glutasyon S-transferaz mu 1 ve Glutasyon S-transferaz teta 1 Genlerinin Multipleks PZR Yöntemi ile Analizi

PZR amplifikasyonu için GSTM1F (5'- GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C -3, Sense) ve GSTM1R (5'- GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G -3', Antisense); GSTT1F (5'- TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC -3', Sense) GSTT1R (5'- TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA -3', Antisense) ve CYP1A1F (5'- GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT -3, Sense) ve CYP1A1R (5'- CAG CTG CAT TTG GAA GTG CTC -3, Antiense) primer dizilimlerinden yararlanılmıştır (Suzen vd., 2007). Reaksiyon için 10 µl genomik DNA, 100 mM Tris-HCl (pH 9.0 25o C), 500 mM KCl, 25 mM MgCl₂, 50 pmol GSTM1, 75 pmol GSTT1 ve 50 pmol CYP1A1 primerleri, 0.2 mM dNTP ve 2 U *Taq* polimeraz kullanılacaktır. Döngü koşulları aşağıdaki gibi planlanmıştır:

İlk denatürasyon:	95°C 2 dk / 1 döngü
Denatürasyon:	94 °C 2 dk
Yapışma:	59 °C 1 dk
Sentez:	72 °C 2 dk / 5 döngü
Denatürasyon:	94 °C 30 sn
Yapışma:	59 °C 45 sn
Sentez:	72 °C 1,5 dk / 30 döngü
Son sentez:	72 °C 10 dk / 1 döngü

Hiçbir ekstra bandın olmadığı ve sadece istenen PZR ürünlerinin (GSTM1: 480 baz çifti (bç), GSTT1: 215 bç ve CYP1A1: 312 bç) elde edilip edilmediği, % 2.0 agaroz jelde kontrol edilerek genotipleme analizi tamamlanmıştır.

3.3.4.1.2. Glutasyon S-transferaz pi 1 Genetik Varyasyon Analizi

GSTP1 I105V polimorfizmi analizi, Harries ve ark. (1997) tarafından geliştirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir (Harries, Stubbins, Forman, Howard, & Wolf, 1997). Bu amaçla 500 ng genomik DNA standart PZR protokolü ve 5'-ACCCCAGGGCTCTATGGGAA-3 ile 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Çoğaltma işlemi için primer yapışma sıcaklığı 55°C olarak uygulanmıştır. Daha sonra PZR ürünü *BsmA* I restriksiyon enzimi ile kesilerek genotipler belirlenmiştir.

3.3.4.1.3. Sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) Genetik Varyasyon Analizi

Bu gendeki T6235C polimorfizmi analizi için 5'-AGGTGTAGCCGCTGCACT-3' ve 5'-TAGGAGTCTCT-CATGCCT-3' primerleri kullanılarak 400 ng genomik DNA PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır (Hayashi, Watanabe, Nakachi, & Kawajiri, 1991) .

Primerlerin genomik DNA ile eşleşmesi 61°C'de gerçekleştirilmiştir. Çoğaltılan hedef bölge *Msp* I restriksiyon enzimi ile muamele edildikten sonra genotipler aydınlatılmıştır.

3.3.4.2. DNA Onarım Enzimleri Genetik Varyasyonu Analizi

İnsan 8-okzoguanin glikozilaz 1 (hOGG1) polimorfizm analizi için bu gendeki Ser326Cys polimorfizmi analizinde 5'-AGT GGA TTC TCA TTG CCT TCG -3' ile 5'-GGT GCT TGG GGA ATT TCT TT-3' primerleri kullanılarak 57°C'de çoğaltma işlemi yapılmıştır (Kim ve diğeri, 2003). Çoğaltılan hedef bölge Sat I restriksiyon enzimi ile muamele edilerek genotipleme yapılmıştır. Kesim profiline göre 251 bç'lik bantlar yabancıl tip, 153-98 bç'lik bantlar mutant birey ve 251-153-98 bç'lik profil ise heterozigot bireylere aittir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Tez çalışmasında elde edilen veriler IBM-SPSS 25.0 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Yaş, cinsiyet, tütün kullanımı vb. demografik özellikler yüzdelik (%) olarak bildirilmiştir. Meme kontrol ve meme kanser grubunda nümerik değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadıkları Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş, normal dağılıma uymadıklarının belirlenmesi üzerine her iki grubun kan ve doku KOK konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında ortalama yerine medyan değer kullanılmıştır. Medyanların eşit, ancak iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu durumlarda hangi grubun önemli oranda yüksek olduğunu yorumlayabilmek için sıra değerleri ortalamasına (mean rank) bakılarak yorum yapılmıştır. Sıra değerleri ortalaması hangi grupta daha yüksekse o grupta konsantrasyonların diğer gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu kabul edilmiştir. Medyan değerler arasındaki farkın önem testi olarak Mann-Whitney U testi uygulanmış, $p < 0.05$ değeri sınır olarak kabul edilmiştir. Kan ve doku KOK konsantrasyonlarının korelasyon analizleri için ise yine normal dağılıma uymamaları nedeniyle *Spearman* korelasyon testi uygulanmış ve $p < 0.05$ değeri sınır olarak kabul edilmiştir. Meme kanser grubu içinde enzim genetik polimorfizmlerinin meme kanseri için risk oluşturup oluşturmadığı, yani Odd's Ratio (olasılık oranı) analizi hesaplamalarında logistic regression uygulanmıştır.

Bulgular

4.1. Analitik Geçerlendirme Çalışması Bulguları

4.1.1. Kromatografik Teknik Belirlenmesi ve Yöntem Kurulması Bulguları

Bu çalışma kapsamında kan ve dokularda KOK türevlerinin miktar tayinini gerçekleştirmek amacıyla geliştirilen iki farklı GC-ECD yöntemi ile enjekte edilen miktar-sinyal yoğunluğu ilişkisi/doğrusallığı, öncelikle analitlerin organik çözücü içerisindeki bilinen konsantrasyondaki kalibrasyon çözeltileri ile araştırılmıştır. Bu amaçla 0, 1, 5, 10, 15 ve 20 pg/ μ L'lik 6 konsantrasyonda KOK standart çözeltisi doğrudan GC-ECD'ye enjekte edilmiştir. KOK türevlerine ait kalibrasyon doğruları, x ekseninde konsantrasyona karşı y ekseninde her birinin pik alanı internal standart pik alanına oranlanarak çizilmiştir. Herbir türeve ait doğru denklemleri ve regresyon katsayıları (R^2) ile birlikte Tablo 4.1.1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1.1. KOK türevlerinin GC-ECD'ye doğrudan enjeksiyonu ile elde edilen kalibrasyon doğrusu formülleri ($y=ax+b$) ve alıkonma zamanları ve regresyon katsayıları (R^2).

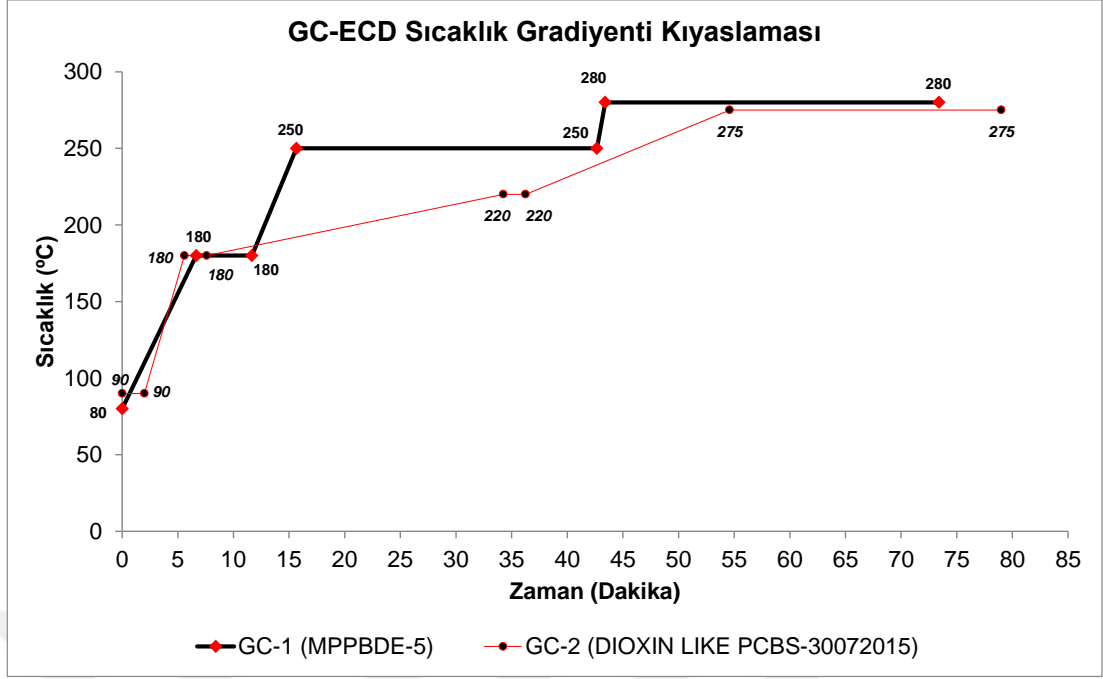
KOK Türevleri	Alıkonma zamanı (dk)	Doğru Formülü ($y=ax+b$)	Regresyon katsayısı (R^2)
α -HCH	16.06	$0.09x - 0.02$	0.963
β -HCH	16.71	$0.04x + 0.01$	0.969
γ -HCH	16.94	$0.07x - 0.01$	0.964
δ -HCH	17.54	$0.02x - 0.01$	0.958
Heptaklor	19.06	$0.06x + 0.01$	0.966
Heptaklor endoepoksit	21.82	$0.05x + 0.01$	0.967
Aldrin	20.25	$0.06x - 0.00$	0.964
Dieldrin	24.48	$0.03x + 0.01$	0.968
Endrin	25.72	$0.02x + 0.00$	0.965
Endrin aldehit	28.71	$0.01x + 0.00$	0.973
α -Endosülfan	23.24	$0.03x + 0.01$	0.968
β -Endosülfan	26.19	$0.02x + 0.03$	0.989
Endosülfan.SO ₄	28.88	$0.01x + 0.00$	0.975
4,4'-DDE	23.92	$0.03x + 0.00$	0.967
4,4'-DDD	27.29	$0.02x + 0.01$	0.976
4,4'-DDT	32.88	$0.00x + 0.00$	0.980

Metoksiklor	33.46	0.01x + 0.00	0.977
PCB-28	18.46	0.05x + 0.05	0.989
PCB-52	19.48	0.03x + 0.04	0.986
PCB-101	22.66	0.03x + 0.04	0.988
PCB 118	25.81	0.04x + 0.01	0.970
PCB-138	27.11	0.02x + 0.03	0.988
PCB-153	29.1	0.02x + 0.03	0.989
PCB-180	35.1	0.02x + 0.02	0.991
PBDE-17	25.11	0.01x + 0.01	0.971
PBDE-66	37.4	0.00x + 0.01	0.967
PBDE-100	45.79	0.01x + 0.00	0.976

Analizlerin geçerliliği için $R^2 \geq 0.75$ olmalıdır. Bu analizler sonucunda elde edilen R^2 değerlerinin analiz için kabul edilebilir düzeylerde olduğu görülmüştür.

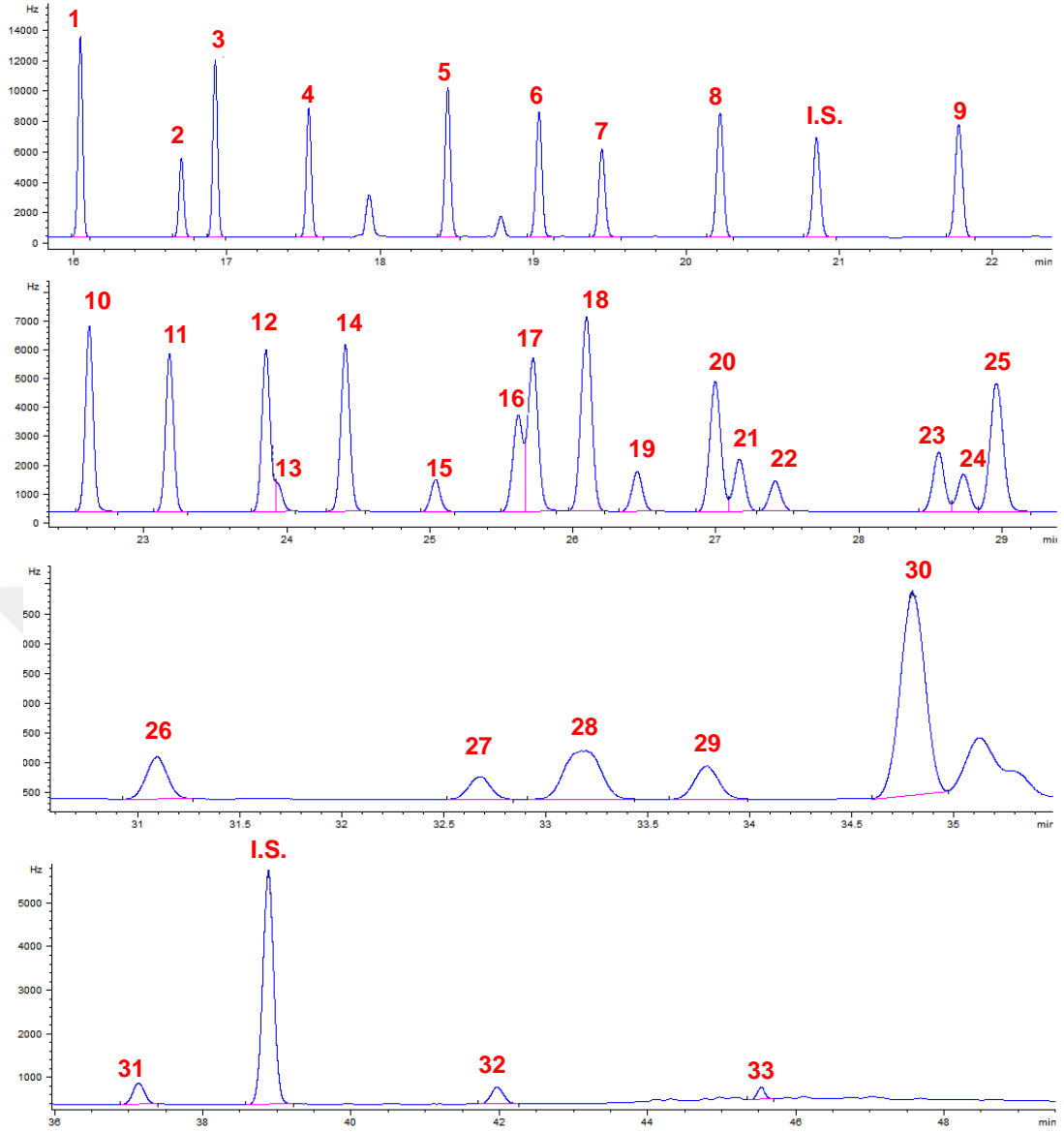
Daha önce yöntem kısmında bahsedildiği gibi OCP, PCB ve PBDE'lere ek olarak db-PCB'lerin analizi de hedeflenmiştir. Ancak bu maddelerin de karışıma eklenmesi sonucunda GC-1 analiz yönteminde diğer PCB'ler ile interferasyon gözlenmiş, kromatogram üzerinde koelüsyona neden olmuştur. Bu nedenle GC-1 analiz yönteminin sıcaklık gradiyenti değiştirilerek koelüe olan piklerin ayrımının sağlandığı bir GC-2 yöntemi kurulmuş ve ilk yöntemde miktar tayini yapılamayan maddeler bu 2. yöntemde analiz edilmişlerdir.

Her iki GC-ECD analiz yöntemi olan GC-1 ve GC-2 yöntemlerinin sıcaklık gradiyenti Şekil 4.1.1.1'de bu yöntemlerle analizi gerçekleştirilen KOK türevlerinin kromatogramları ise Şekil 4.1.1.2 ve Şekil 4.1.1.3'de gösterilmiştir.



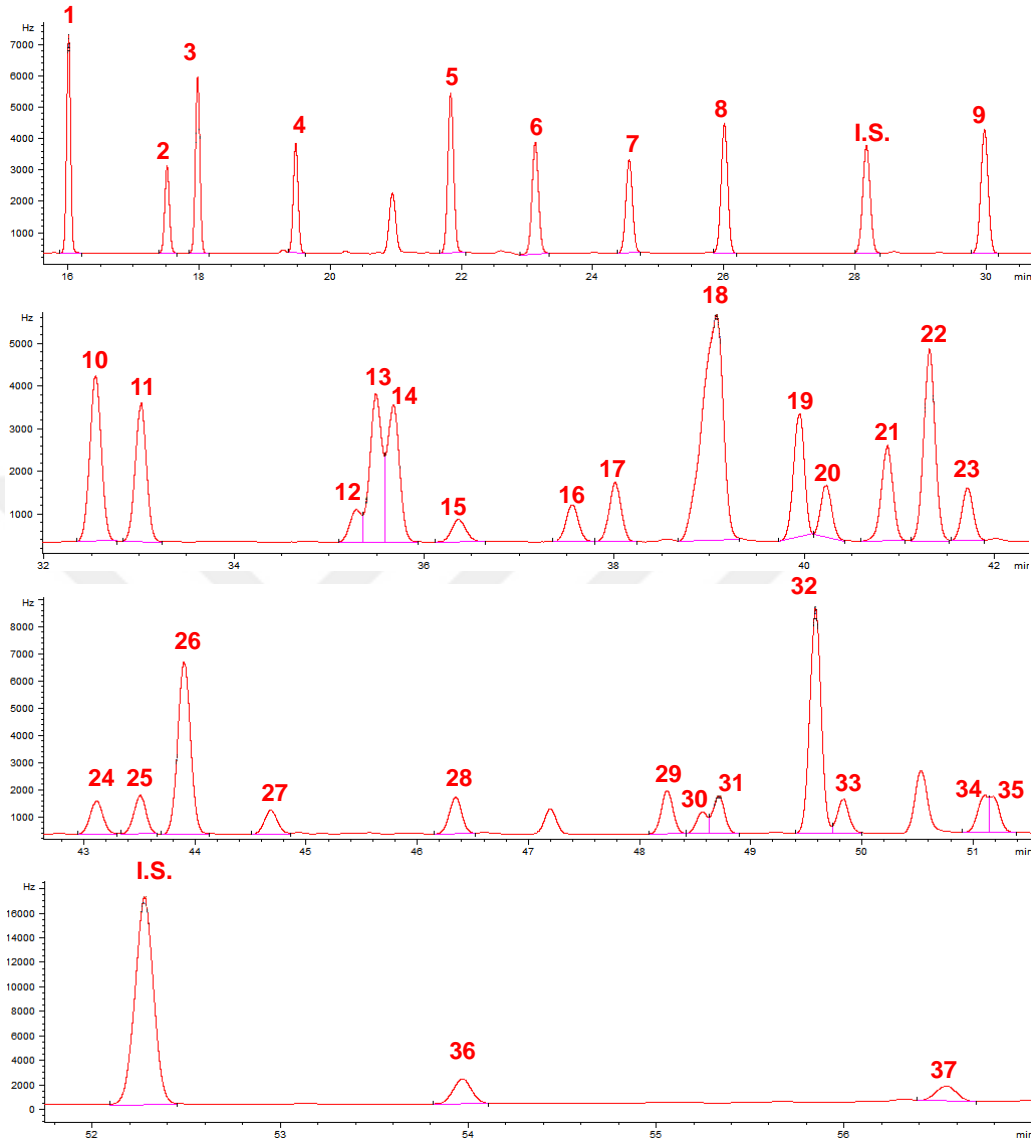
Şekil 4.1.1.1 İki farklı GC-ECD metodundaki (GC-1 ve GC-2) sıcaklık gradiyentine ait grafik.

Aşağıda GC-1 yöntemi ile analiz edilen KOK türevlerine ait GC-ECD kromatogramları gösterilmiştir.



Şekil 4.1.1.2 GC-1 yöntemi ile analiz edilen 15 pg/ μ L'lik OCP, PCB, PBDE ve db-PCB'lere ait temsili kromatogramlar. Toplam 50 dk olan kromatogram görsellik açısından 16-22, 22-30, 30-36, 36-50. dk'lar arası olmak üzere 4 parçada gösterilmiştir. Piklerin üzerindeki numaralar sırasıyla; 1: α -HCH, 2: β -HCH, 3: γ -HCH, 4: δ -HCH, 5: PCB-28, 6: heptaklor, 7: PCB-52, 8: aldrin, 9: heptaklor endoepoksit, 10: PCB-101 ve 11: α -endosülfan, 12: 4-4'-DDE, 13: PCB-81, 14: dieldrin ve PCB-77, 15: PBDE-17, 16: endrin ve PCB 123, 17: PCB 118, 18: β -endosülfan, 19: PCB 114, 20: PCB-138, 21: 4,4'-DDD, 22: PCB-105, 23: endrin aldehit, 24: endosülfan.SO₄, 25: PCB-153, 26: PCB-167, 27: 4,4'-DDT, 28: metoksiklor ve PCB-156, 29: PCB-157, 30: PCB-180, 31: PBDE-66 ve PCB-169, 32: PCB-189 ve 33: PBDE-100.

Buna göre KOK türevlerinden 13, 18, 19 ve 23 nolu maddeler rezolüsyonunun iyi olmasından dolayı GC-1 yöntemi ile analiz edilmişlerdir.



Şekil 4.1.1.3 GC-2 Metodu ile analiz edilen 15 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 'lik OCP, PCB, PBDE ve db-PCB'lere ait (int. std. içermektedir) kromatogramları göstermektedir. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar herbir KOK türevini simgelemektedir. 1: α -HCH, 2: β -HCH, 3: γ -HCH, 4: δ -HCH, 5: PCB 28, 6: Heptaklor, 7: PCB 52, 8: Aldrin, 9: Hept.endoepoks., 10: PCB-101, 11: α -Endosülfan, 12: PCB-81, 13: 4-4'-DDE, 14: Dieldrin 15: PCB-77, 16: PBDE-17, 17: Endrin, 18: PCB-118 ve PCB-123 ve β -Endosülfan, 19: 4,4'-DDD 20: PCB-114, 21: Endrin aldehit, 22: PCB-138, 23: PCB-105, 24: Endosülfan.SO₄, 25: 4,4'-DDT, 26: PCB-153, 27: PCB-26, 28: PCB-167, 29: PCB-156, 30: Metoksiklor, 31: PCB-157, 32: PCB-180, 33: PBDE-47, 34: PBDE-66, 35: PCB-169, 36: PCB-189 ve 37: PBDE-100'ü göstermektedir.

Geriye kalan diğer türevler ise rezolüsyonun daha iyi olmasından dolayı GC-2 yöntemi ile analiz edilmişlerdir.

4.1.1.1. GC/MS ve GC-ECD Teknikleri Hassasiyet Karşılaştırması Bulguları

“Gereç ve Yöntem” bölümünde belirtildiği gibi KOK türevlerinin daha kesin analizi amacıyla GC-ECD yanında GC-MS tekniği de denenmiştir. KOK türevlerinin, gerektiğinde kalitatif doğrulamasının yapılabilmesi için gaz kromatografisi-elektron impakt kütle spektrometresi (GC/MS)-Selected Ion Monitoring (SIM) analiz yönteminin geliştirilmesine ait bir validasyon çalışması yapılmıştır. Her bir KOK türevinin kütle bilgisi de edinileceğinden çok daha kesin sonuç verebilecek (GC/MS) cihazının yeterli hassasiyette olup olmadığı incelenmiştir.

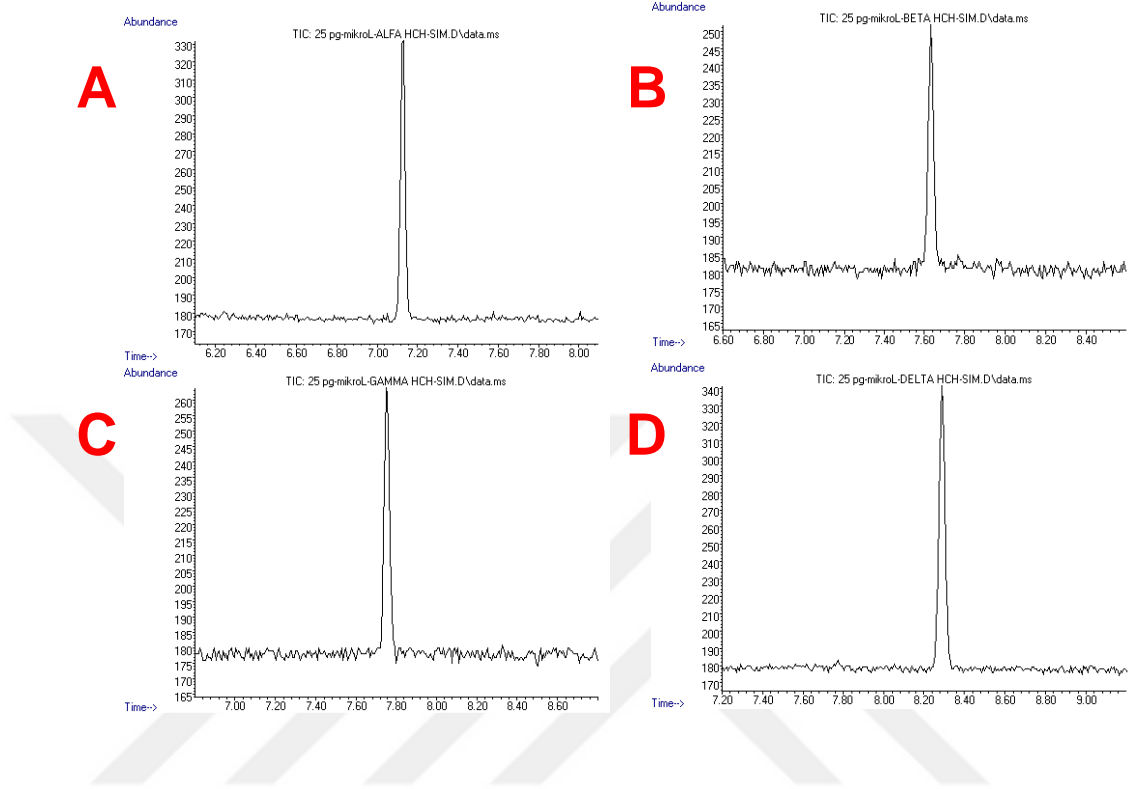
Tez çalışmasında yer alan KOK türevlerinin, gerektiğinde yapısal doğrulama yapılabilmesi amacıyla GC-MS analiz yöntemi geliştirilmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda çözücü içerisinde hazırlanan KOK türevlerinin GC-MS’te alıkonma zamanları belirlenmiştir. Analizi hedeflenen KOK türevlerine ait Selected Ion Monitoring (SIM) iyonları ve alıkonma zamanları Tablo 4.1.1.1.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1.1.1.1 GC/MS-SIM (Selected Ion Monitoring) modunda gerçekleştirilen KOK türevleri analizinde izlenen iyonlar ve alıkonma zamanları.

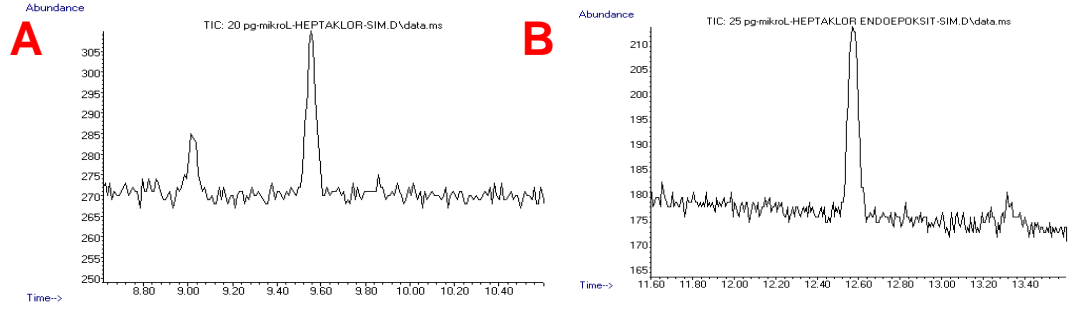
KOK türevleri	Alıkonma zamanı (dk)	Molekül ağırlığı	İzlenen iyonlar (SIM)
α-HCH	7.13	290.814	181, 183, 219, 109
β-HCH	7.63	290.814	181, 183, 219, 109
γ-HCH	7.76	290.814	181, 183, 219, 109
δ-BHC	8.29	290.814	181, 183, 219, 109
PCB-28	9.16	257.538	256, 258, 186
Heptaklor	9.56	373.300	100, 272, 274, 65, 102, 237
PCB-52	10.29	291.98	292, 290, 220
Aldrin	10.74	364.896	66, 263, 91, 101, 79,

			265
PCB-103 (I.S.)	12.02	326.422	289, 291
Heptaklor endoepoksit	12.60	389.299	183, 81, 253, 217
α-Endosülfan	13.50	406.904	207, 195, 241, 237
PCB-101	13.51	326.422	326, 328, 254, 255
Dieldrin	14.18	380.895	81, 82, 108, 263
44'-DDE	14.27	318.018	246, 318, 248, 176, 210
Endrin aldehit	14.28	380.895	67, 345, 250
PBDE-17	14.63	406.899	246, 248, 406, 408
Endrin	14.66	380.895	81, 82, 108, 263
β-Endosülfan	14.89	406.904	159, 170, 195, 206, 207, 237, 241, 265
PCB-118	14.99	326.422	326, 328, 254, 256
44'-DDD	15.17	320.034	235, 237, 165, 199, 212
PCB-138	15.43	360.864	360, 362, 290, 292
Endosülfan.SO₄	15.74	422.903	272, 274, 229, 239, 387
44'-DDT	15.86	354.476	235, 237, 165, 199, 212
PCB-153	15.93	360.864	360, 362, 290, 292
Metoksiklor	16.91	345.644	227, 228, 274
PCB-180	17.13	395.306	394, 396, 324, 326
PBDE-47	17.16	485.795	326, 484, 486, 488
PBDE-66	17.49	485.795	326, 484, 486, 488
PCB-198 (I.S.)	17.85	429.748	430, 428
PBDE-100	19.28	564.691	404, 406, 564, 566
PBDE-153	-	643.587	642, 644

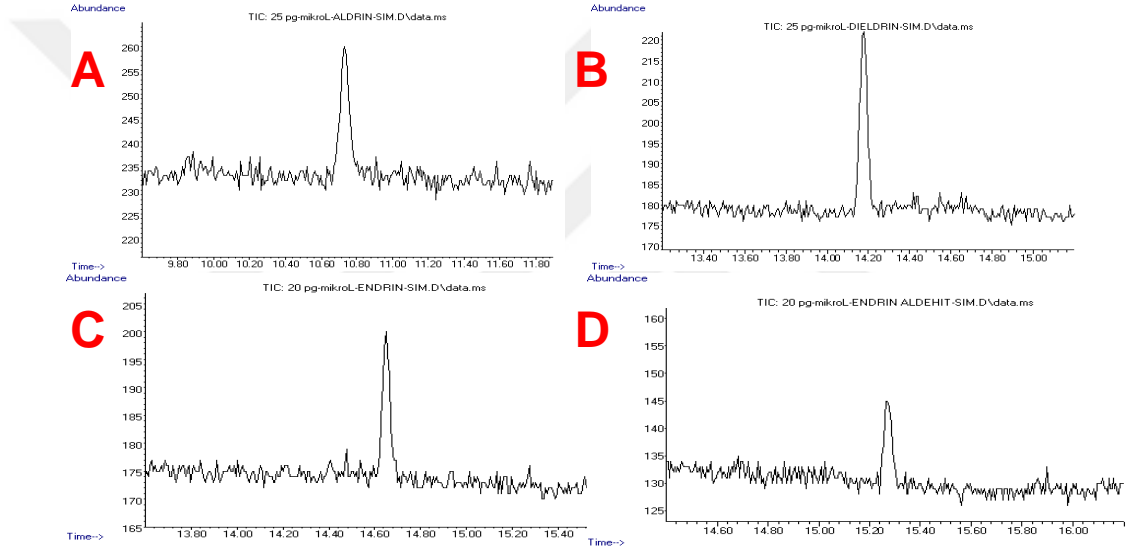
KOK türevlerine ait örnek SIM kromatogramları Şekil 4.1.1.1 ile Şekil 4.1.1.7 arasında gösterilmiştir.



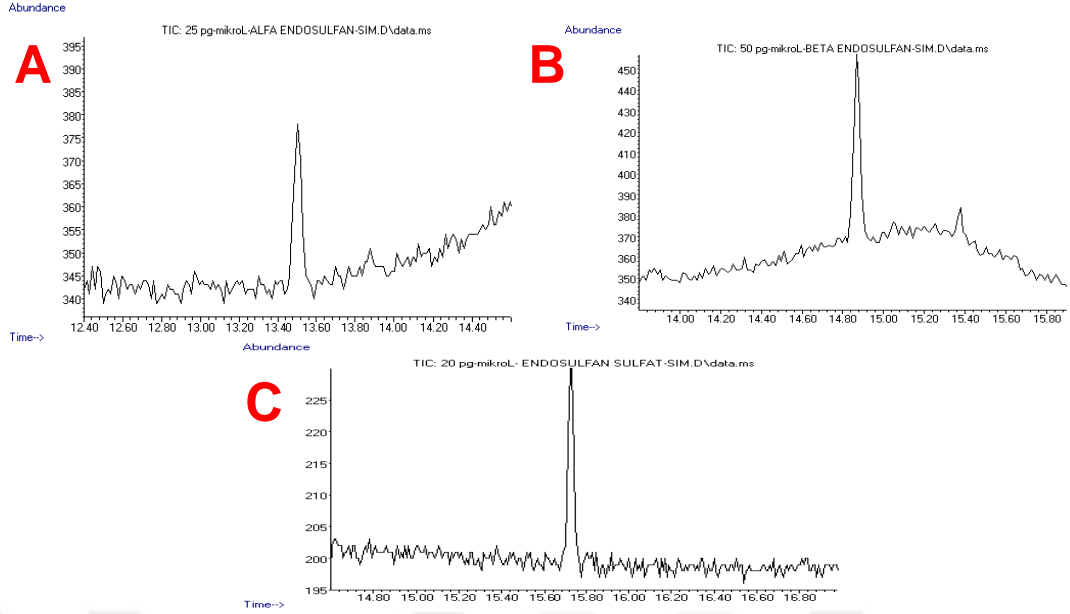
Şekil 4.1.1.1 HCH (heksaklorosikloheksan) izomerlerine ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: α -HCH (25 pg/ μ L) A.Z.= 7.132, B: β -HCH (25 pg/ μ L) A.Z.= 7.640, C: γ -HCH (25 pg/ μ L) A.Z.= 7.753, D: δ -HCH (25 pg/ μ L) A.Z.= 8.289.



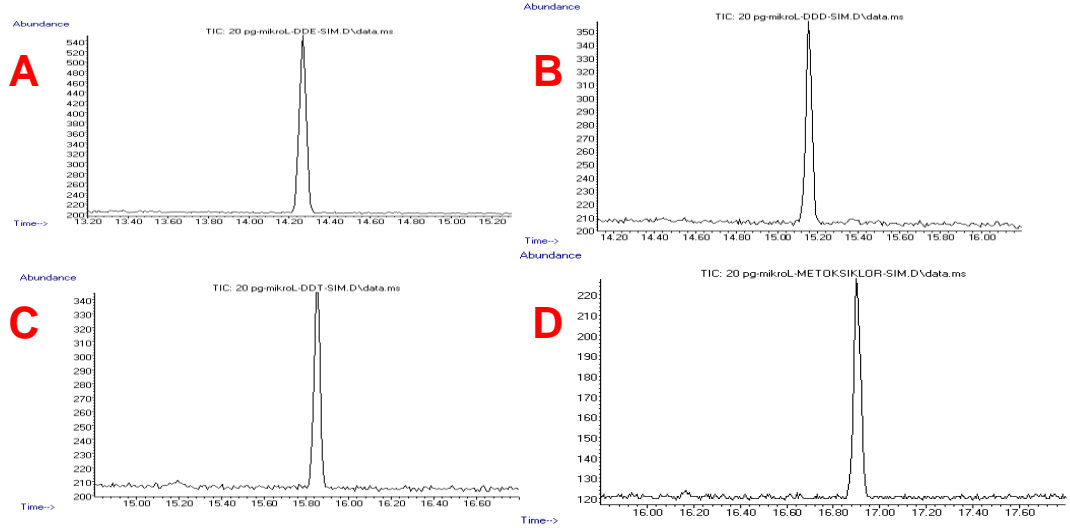
Şekil 4.1.1.1.2 Klordan grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Heptaklor (20 pg/μL); A.Z.= 9.57, B: Heptaklor endoepoksit (25 pg/μL) A.Z.= 12.586.



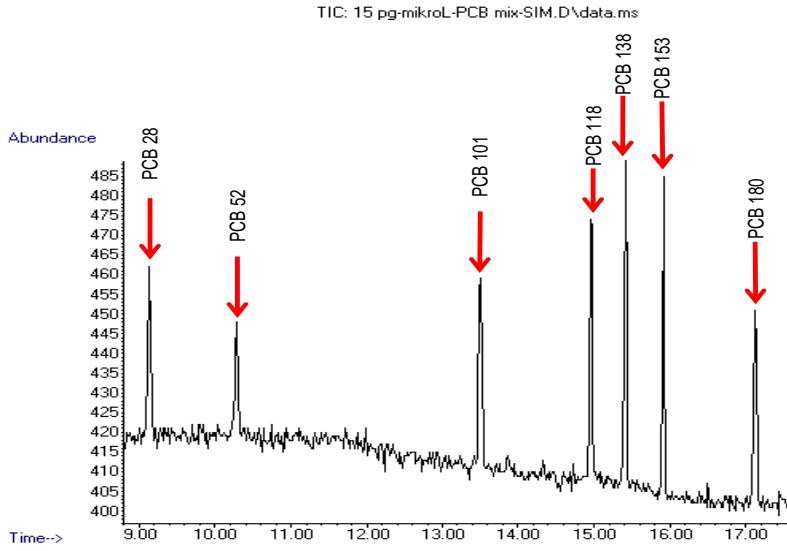
Şekil 4.1.1.1.3 Drin grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Aldrin (25 pg/μL) A.Z.= 10.719, B: Dieldrin (25 pg/μL) A.Z.= 14.165, C: Endrin (20 pg/μL) A.Z.= 14.667, D: Endrin aldehyt (20 pg/μL) A.Z.= 15.283.



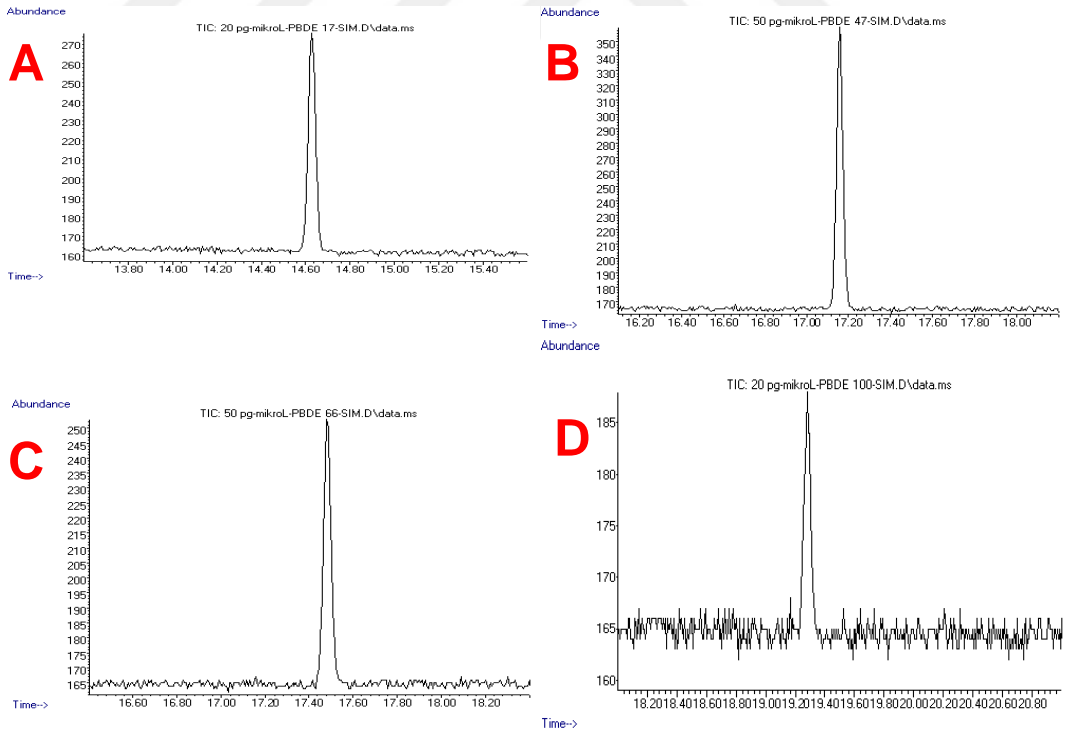
Şekil 4.1.1.1.4 Sulfan grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: Alfa-Endosulfan (25 pg/μL) A.Z.= 13.505, B: β-Endosulfan (50 pg/μL) A.Z.= 14.883, C: Endosulfan.SO₄ (20 pg/μL) A.Z.= 15.72



Şekil 4.1.1.1.5 DDT grubuna ve metoksiklora ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: 4,4'-DDE (20 pg/μL) A.Z.= 14.280, B: 4,4'-DDD (20 pg/μL) A.Z.= 15.157, C: 4-4'-DDT (20 pg/μL) A.Z.= 15.865, D: Metoksiklor (20 pg/μL) A.Z.= 16.906.



Şekil 4.1.1.1.6 PCB grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). 15 pg/µL PCB mix'e ait PCB-28 A.Z.= 9.14, PCB-52 A.Z.= 10.289, PCB-101 A.Z.= 13.512, PCB-118 A.Z.= 14.970, PCB-138 A.Z.= 15.43, PCB-153 A.Z.= 15.930, PCB-180 A.Z.= 17.130.



Şekil 4.1.1.1.7 PBDE grubuna ait örnek GC/MS-SIM kromatogramları ve alıkonma zamanları (A.Z.). A: PBDE-17 (20 pg/µL) A.Z.= 14.634, B: PBDE-47 (50 pg/µL) A.Z.= 17.157, C: PBDE-66 (50 pg/µL) A.Z.= 17.496, D: PBDE-100 (20 pg/µL) A.Z.= 19.284.

Tablo 4.1.1.1.2 GC-ECD ve GC-MS teknikleri ile elde edilen KOK türevlerine ait LOD ve LOQ değerleri. Her iki değer, ilgili madde pikinin 0.5 dk öncesi ve 0.5 dk sonrası kromatogram kesitinin zemin sinyali (noise signal) yükseklik ortalamalarının sırasıyla 3 ve 10 katı olacak şekilde hesaplanmıştır.

KOK türevi	GC-ECD		GC/MS-SIM	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
	(pg/ μ L)		(pg/ μ L)	
α -HCH	0.02	0.06	1.43	4.78
β -HCH	0.02	0.08	3.21	10.71
γ -HCH	0.01	0.03	1.69	5.62
δ -HCH	0.14	0.48	1.37	4.57
Heptaklor	0.03	0.12	4.09	13.64
Aldrin	0.01	0.05	5.17	17.24
Heptaklor endoepoksit	0.01	0.03	5.77	19.23
α -Endosülfan	0.02	0.06	3.85	12.82
4,4'-DDE	0.03	0.09	0.51	1.70
Dieldrin	0.02	0.05	5.00	16.67
Endrin	0.04	0.13	3.53	11.76
β -Endosülfan	0.03	0.09	7.20	24.00
4,4'-DDD	0.02	0.06	1.11	3.70
Endrin aldehit	0.11	0.37	4.62	15.38
Endosülfan.SO ₄	0.18	0.59	2.86	9.52
4,4'-DDT	0.12	0.39	1.17	3.90
Metoksiklor	0.02	0.06	0.41	1.37
PCB-28	0.02	0.07	3.07	10.23
PCB-52	0.04	0.13	4.50	15.00
PCB-101	0.02	0.07	2.81	9.38
PCB-118	0.06	0.19	2.18	7.26
PCB-138	0.05	0.18	1.61	5.36
PCB-153	0.03	0.09	1.65	5.49
PCB-180	0.01	0.05	2.70	9.00
PCB-81*	0.01	0.03	-	-
PCB-77*	0.07	0.24	-	-
PCB -114*	0.03	0.10	-	-
PCB-105*	0.02	0.08	-	-
PCB-126*	0.03	0.09	-	-
PCB-167*	0.01	0.04	-	-
PCB-156*	0.01	0.04	-	-
PCB-157*	0.01	0.03	-	-
PCB-169*	0.03	0.09	-	-

PCB 189*	0.01	0.04	-	-
PBDE-17	0.05	0.16	0.56	1.85
PBDE-47	0.02	0.07	1.90	6.35
PBDE-66	0.02	0.05	4.05	13.51
PBDE-100	0.01	0.04	5.00	16.67
PBDE-153**	0.02	0.06	-	-

. * Bu dioksin benzeri PCB türevleri analizlere sonradan dahil edildiği için GC/MS-SIM tekniği ile analizleri yapılmamıştır. ** PBDE-153, GC/MS-SIM tekniği ile saptanamamıştır.

Tabloda görüldüğü şekilde GC-ECD tekniği ile elde edilen LOD değerleri, GC-MS tekniğinde elde edilenlere kıyasla 10 – 100 kat daha yüksektir. KOK türevlerinin hekzan içindeki çözeltileri ile yapılan bu çalışma sonrasında GC-MS tekniği ile yeterli hassasiyete ulaşamadığı görülmüş, nitel analizde kütle boyutu da içermesi nedeniyle aslında daha üstün bir teknik olmasına karşın hassasiyet yetersizliği nedeniyle GC-MS'in kullanılmayacağı anlaşılınca GC-ECD tekniği ile devam edilmesine karar verilmiştir.

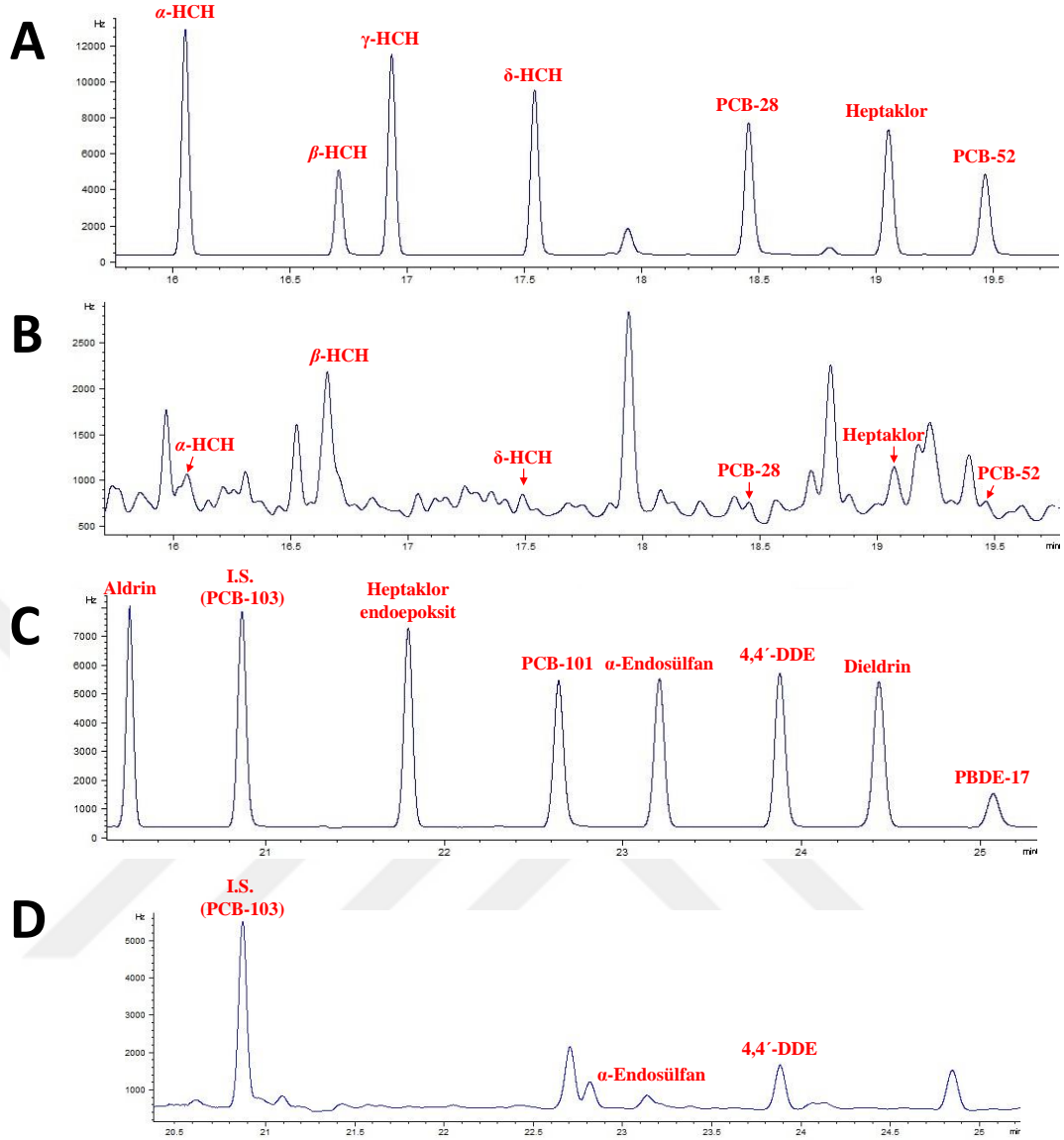
4.1.1.2. Kan ve Doku Örneklerinden Geri Alım Çalışması Bulguları

Geçerlendirme çalışmalarına KOK'ların silika kolondan geri alım çalışmaları ile devam edilmiştir. Bu çalışmada çözücü içerisinde final konsantrasyonu 15 pg/µL olacak şekilde OCP, PCB, PBDE ve db-PCB karışımları GC-ECD'ye enjekte edilmiş, aynı konsantrasyondaki KOK çözeltilerine silika fraksiyonlandırması uygulanarak KOK'ların geri çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada kimyasal madde grubuna göre elde edilen % verim değerleri Tablo 4.1.1.2.1'de verilmiştir.

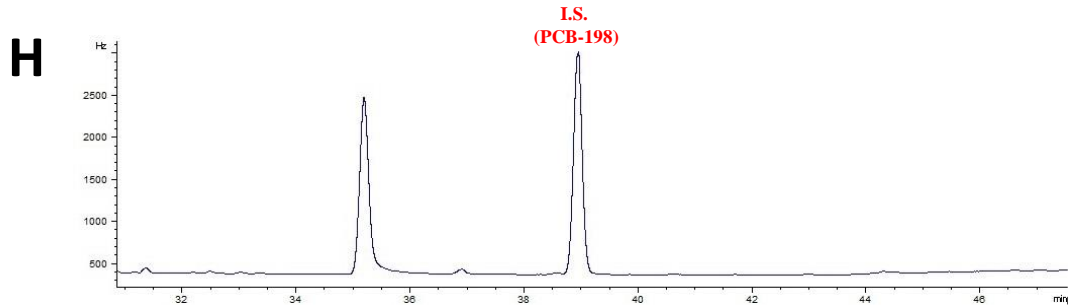
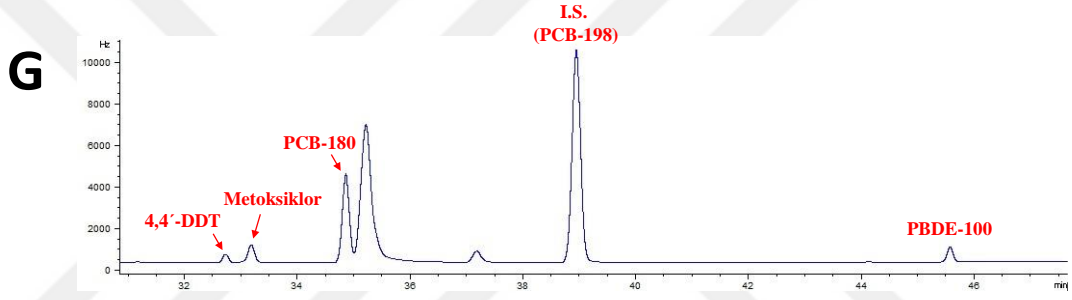
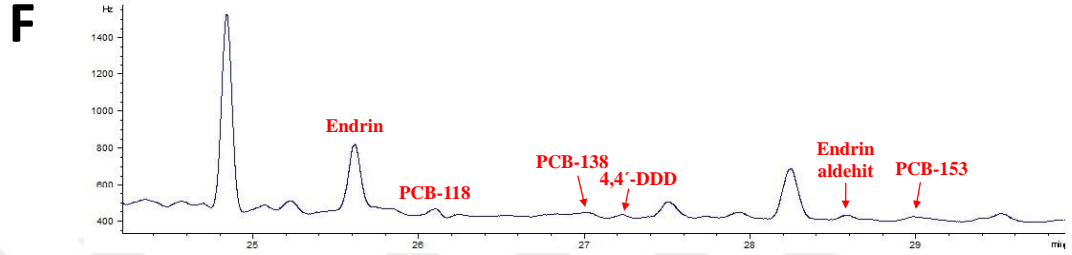
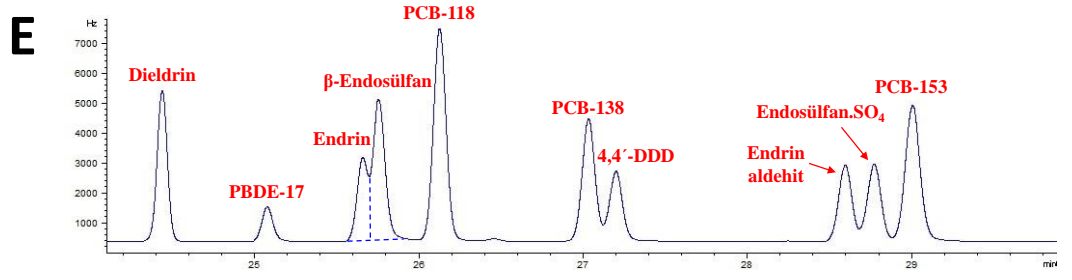
Tablo 4.1.1.2.1 Silika kolon fraksiyonlandırması sonucunda her bir KOK kimyasal grubu için elde edilen en düşük ve en yüksek %Verim değerleri. %Verim değerleri ilk sütunda elde edilen doğrudan verim, 2. ve 3. sütunlarda ise analizlerde kullanılan her iki I.S.'a göre oranlanmış olarak bildirilmiştir.

Madde Grubu	Pik Alanına Göre % Verim Aralığı	PCB 103'e göre % Verim Aralığı	PCB 198'e göre % Verim Aralığı
<i>HCH'ler</i>	78-94 (<i>γ-HCH - δ-HCH</i>)	102-122 (<i>γ-HCH - δ-HCH</i>)	86-103 (<i>γ-HCH - δ-HCH</i>)
<i>Klordanlar</i>	78-88 (<i>Heptaklor endoepoksit – Heptaklor</i>)	102-105 (<i>Heptaklor endoepoksit – Heptaklor</i>)	86-97 (<i>Heptaklor endoepoksit – Heptaklor</i>)
<i>Drinler</i>	82-153 (<i>Aldrin – Endrin</i>)	107-199 (<i>Aldrin – Endrin</i>)	90-168 (<i>Aldrin – Endrin</i>)
<i>Sülfanlar</i>	86-103 (<i>α-Endosülfan – Endosülfan. SO4</i>)	113-134 (<i>α-Endosülfan – Endosülfan. SO4</i>)	95-113 (<i>α-Endosülfan – Endosülfan. SO4</i>)
<i>DDT'ler</i>	83-108 (<i>4,4'-DDT – Metoksiklor</i>)	107-140 (<i>4,4'-DDT – Metoksiklor</i>)	91-119 (<i>4,4'-DDT – Metoksiklor</i>)
<i>PCB'ler</i>	77-92 (<i>PCB-52 – PCB-180</i>)	100-119 (<i>PCB-52 – PCB-180</i>)	84-101 (<i>PCB-52 – PCB-180</i>)
<i>PBDE'ler</i>	54-103 (<i>PBDE-100 – PBDE-66</i>)	70-134 (<i>PBDE-100 – PBDE-66</i>)	59-113 (<i>PBDE-100 – PBDE-66</i>)

Çalışma kapsamındaki hasta ve gönüllü örneklerinin analizine başlanmadan önce yöntemi optimize etmek amacı ile 6 sağlıklı gönüllüden alınan kan örneklerinde KOK analizi yapılmıştır. Buna göre elde edilen kromatogram örnekleri Şekil 4.1.1.2.1, Şekil 4.1.1.2.2'de ve sonuçlar ise Tablo 4.1.1.2.2'de *ng/mL kan* cinsinden gösterilmiştir.



Şekil 4.1.1.2.1 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve "B" kodlu gönüllü kan örneğinin analizine ait türevlerinin GC-1 yöntemine göre analiz edilen 16 – 25. dk. arası GC-ECD kromatogramları. **A**, 16-20. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **B**, 16-20. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram; **C**, 20-25. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **D**, 20-25. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram.



Şekil 4.1.1.2.2 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve "B" kodlu gönüllü kan örneğinin analizine ait türevlerinin GC-1 yöntemine göre analiz edilen 25 – 46. dk. arası GC-ECD kromatogramları. **E**, 25-30. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **F**, 25-30. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram; **G**, 32-46. dk. arası KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **H**, 32-46. dk. arası gönüllü kan örneğine ait kromatogram.

Tablo 4.1.1.2.2 Sağlıklı gönüllü bireylerden alınan kan örneklerinde *ng/mL Tam Kan* cinsinden KOK konsantrasyonlarının saptanması, ortalama değer ve standart sapmaları.

KOK Türü	Sağlıklı Gönüllü Grubu	
	KOK Saptanan Gönüllü Sayısı/Toplam Gönüllü Sayısı	Ortalama kons. ± Standart Sapma (ng/mL tam kan)
α -HCH	5/6	0.09 ± 0.07
β -HCH	3/6	0.05 ± 0.07
γ -HCH	6/6	0.05 ± 0.01
δ -HCH	0/6	0.00 ± 0.00
Heptaklor	6/6	0.30 ± 0.02
Hept.endoepoks.	6/6	0.04 ± 0.01
Aldrin	0/6	0.00 ± 0.00
Dieldrin	4/6	0.02 ± 0.01
Endrin	6/6	0.47 ± 0.02
Endrin aldehit	6/6	0.09 ± 0.01
α -Endosülfan	6/6	0.09 ± 0.02
β -Endosülfan	5/6	0.02 ± 0.01
Endosülfan.SO ₄	0/6	0.00 ± 0.00
4,4'-DDE	6/6	1.15 ± 1.35
4,4'-DDD	5/6	0.06 ± 0.07
4,4'-DDT	0/6	0.00 ± 0.00
Metoksiklor	0/6	0.00 ± 0.00
PCB-28	6/6	0.05 ± 0.01
PCB-52	6/6	0.08 ± 0.01
PCB-101	0/6	0.00 ± 0.00
PCB-118	6/6	0.03 ± 0.01
PCB-138	6/6	0.03 ± 0.01
PCB-153	6/6	0.02 ± 0.00
PCB-180	0/6	0.00 ± 0.00
PBDE-17	0/6	0.00 ± 0.00
PBDE-47	0/6	0.00 ± 0.00
PBDE-66	0/6	0.00 ± 0.00
PBDE-100	0/6	0.00 ± 0.00

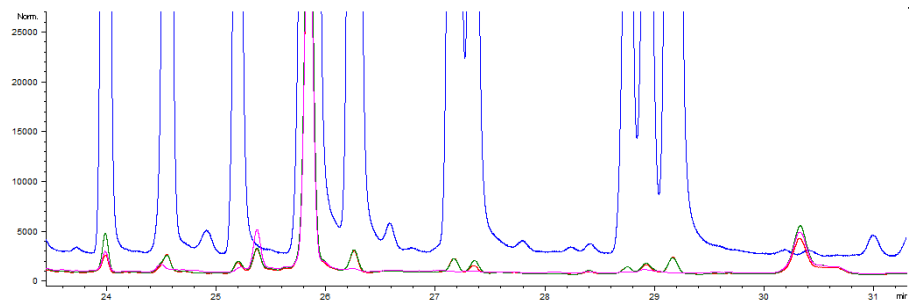
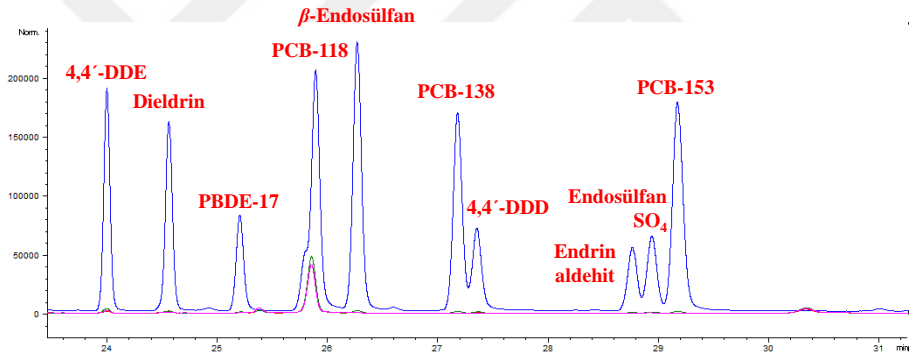
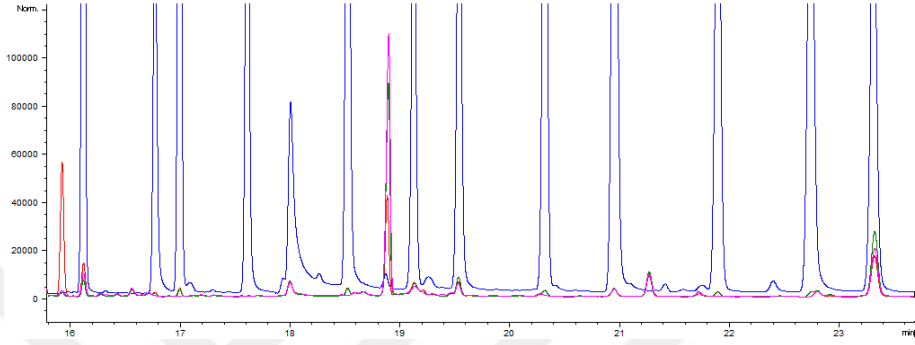
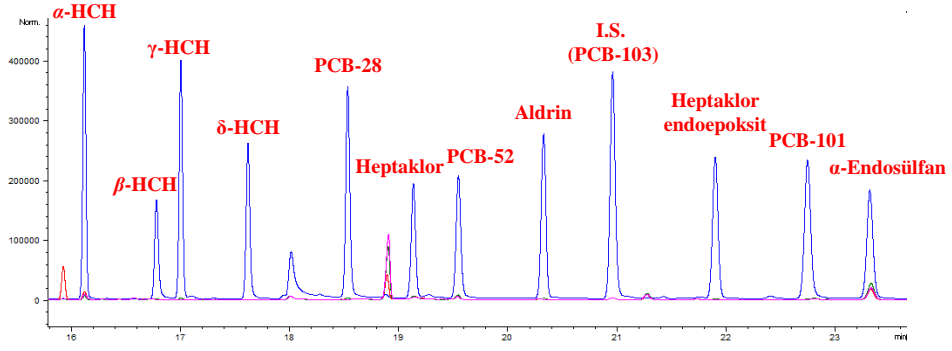
Sağlıklı gönüllü bireylerden alınan kan örneklerinde ölçülen KOK türleri için genel bir değerlendirme yapacak olursak analiz edilen 17 OCP türünde 5 tanesi (δ -HCH, aldrin, endosülfan sülfat, 4,4'-DDT ve metoksiklor) hiçbir örnekte saptanmamıştır. PCB türlerinde ise analiz edilen 7 türden sadece 2 tanesi (PCB-101 ve PCB-180) örneklerde saptanmamışken, analiz edilen PBDE'lerin tamamı hiçbir örnekte saptanmamıştır.

Geçerlendirme çalışmalarına Büchi E-816 SOX ekstraksiyon cihazı kullanılarak deneme amaçlı kas dokusunda KOK ölçümü ile devam edilmiştir. Buradaki amaç daha önce yayınlanmış olan ekstraksiyon yöntemi ile Büchi E-816 SOX ekstraksiyon cihazı ile yapılan ekstraksiyon yönteminin karşılaştırmasını yapmaktır (Karaca ve diğerleri, 2014) (Kocagöz ve diğerleri, 2014). Elde edilen verilere baktığımızda Büchi ekstraksiyon cihazı ile analizi yapılan KOK'ların daha önce elde ettiğimiz % verim düzeyleri ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

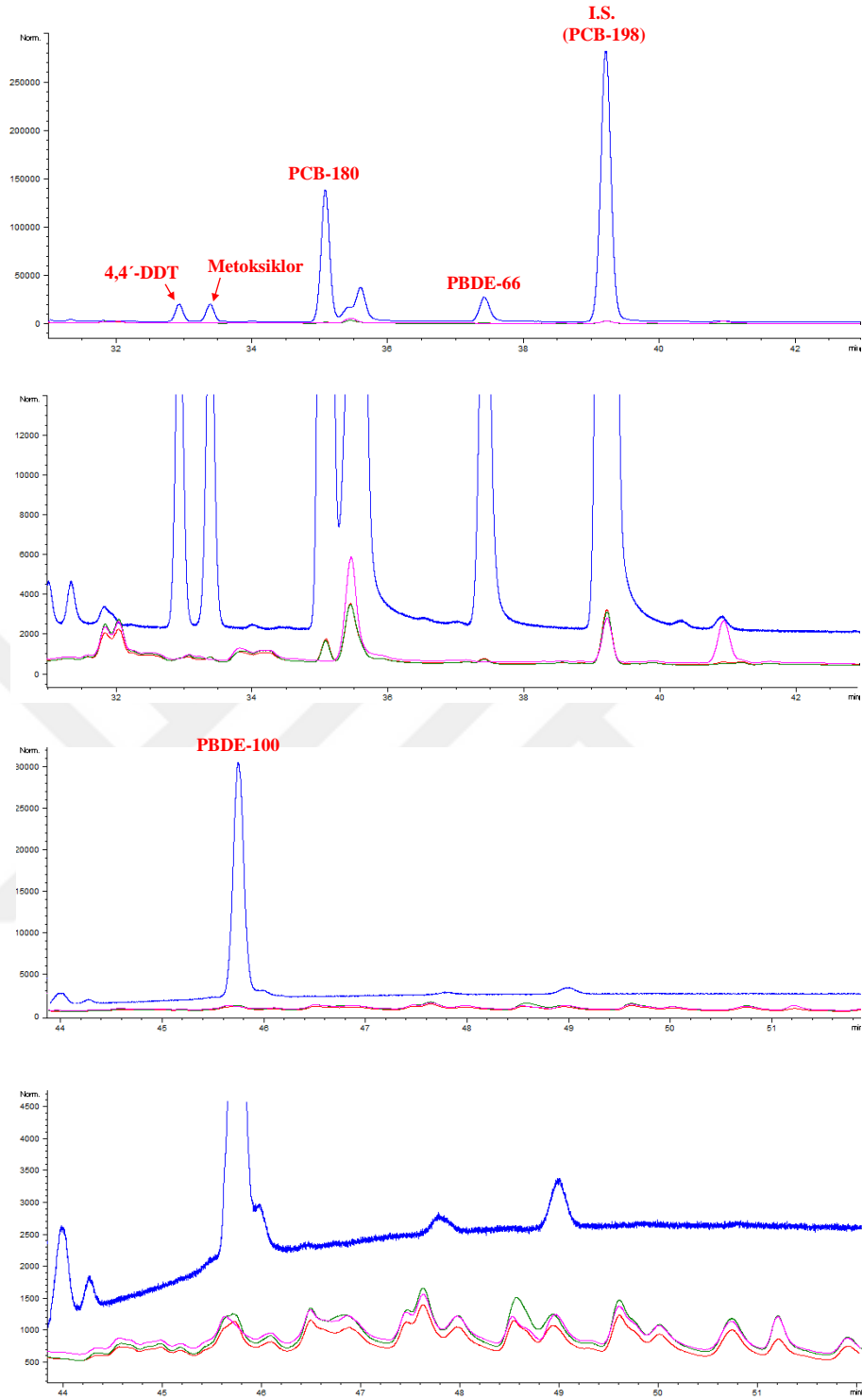
İki farklı ekstraksiyon yöntemine ait analiz prosedüründe yer alan başlıca farklılıklar Tablo 4.1.1.2.3'de yer almaktadır. Büchi ekstraksiyon cihazında analizi yapılan örneklere ait KOK kromatogramları Şekil 4.1.1.2.3, 4.1.1.2.4 ve 4.1.1.2.5'te verilmiştir.

Tablo 4.1.1.2.3 Analiz prosedüründe yer alan başlıca farklılıklar.

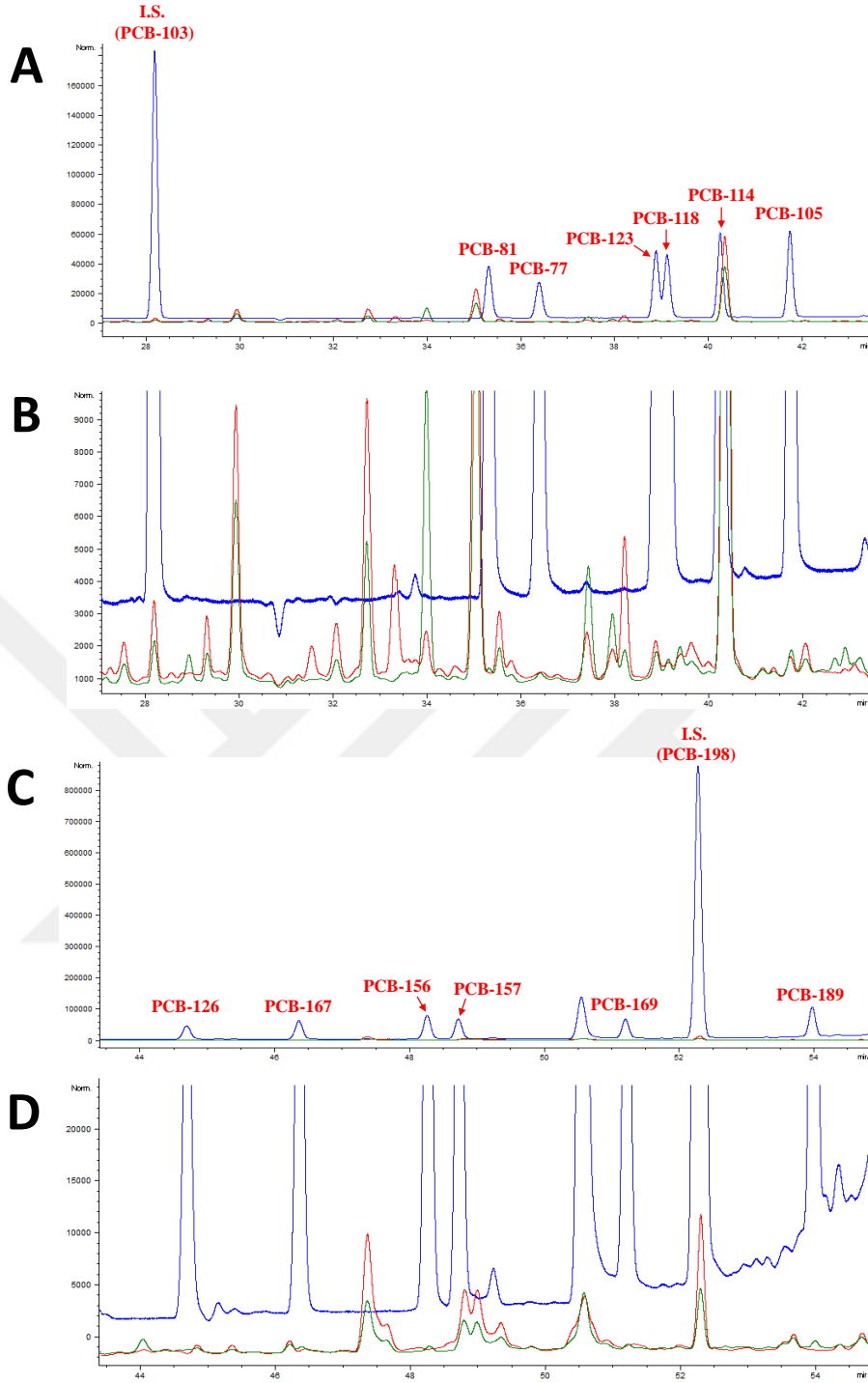
		Yayınlanmış prosedür (Kocagöz vd., 2014; Karaca vd., 2014)	Bu tezde uygulanan prosedür
1.	Ekstraksiyon	16 saat boyunca manyetik karıştırıcı, 100 mL hekzan:aseton (3:1, h:h) karışımı	Buchi ekstraksiyon cihazı, 100 mL hekzan: diklorometan (1:1, h:h) karışımı
2.	Silika fraksiyonlandırma aşaması	5 mL ekstrakt hacmi	2 mL ekstrakt hacmi
		%2 (a/a) d.su ile deaktive silika	%4 (a/a) d. su ile deaktive silika
		6 g silika	5.5 g silika
		13 mL hekzan (şartlama)	12 mL hekzan (şartlama)
		50 mL hekzan, 25 mL hekzan:diklorometan (1:1, h:h), 25 mL diklorometan	25 mL hekzan, 25 mL hekzan:diklorometan (1:1, h:h), 25 mL diklorometan



Şekil 4.1.1.2.3 KOK standart çözeltisi (15 pg/ μ L) ve kas dokusu örneğine ait GC-1 yöntemine göre analiz edilen 16 – 32. dk. arası GC-ECD kromatogramları. **Mavi**, doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Kırmızı**, örnek hazırlama işleminden geçirilmiş KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Yeşil**, standart KOK çözeltisi eklenmiş kas dokusuna ait kromatogram; **Pembe**, kas dokusuna ait kromatogram.



Şekil 4.1.1.2.4 KOK standart çözeltisi (15 pg/µL) ve kas dokusu örneğine ait GC-1 yöntemine göre analiz edilen 32– 52. dk. arası GC-ECD kromatogramları. **Mavi**, doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Kırmızı**, örnek hazırlama işleminden geçirilmiş KOK standart çözeltisine ait kromatogram; **Yeşil**, standart KOK çözeltisi eklenmiş kas dokusuna ait kromatogram; **Pembe**, kas dokusuna ait kromatogram.



Şekil 4.1.1.2.5 Dioksin benzeri PCB türevleri standart çözeltisi (15 pg/µL) ve kas dokusu örneğine ait GC-2 Yöntemine göre analiz edilen 28 – 55. dk. arası GC-ECD kromatogramları. Mavi, doğrudan enjekte edilen KOK standart çözeltisine ait kromatogram; Yeşil, standart KOK çözeltisi eklenmiş (final konsantrasyonu 15 pg/µL) kas dokusuna ait kromatogram; Kırmızı, kas dokusuna ait kromatogram. A, 28-43. dk. arası kromatogram; B, 28-43. dk. arası büyütülmüş kromatogram; C, 43-55. dk. arası kromatogram; D, 43-55. dk. arası büyütülmüş kromatogram.

4.1.1.2.1. Asit Uygulaması Sonrası Geri Alım Çalışması Bulguları

Doku örneklerinin ekstraksiyonu sonrasında ekstraktların yoğun miktarda yağ içerdiği görülmüştür. Bu yüksek yağ içeriği GC tekniği ile analizi bozacağı için örnekleri yağından kurtarmak amacıyla en çok uygulanan yöntem, ekstraktın sülfürik asitli silika içeren kolondan geçirilmesidir. Ancak bu işlem sırasında analiz edilen KOK grubundan asite nispeten dayanıksız olan OCP türevleri kısmen ya da tamamen parçalanabilmekte, dolayısıyla miktar tayininde potansiyel hataya neden olmaktadır. Analizini planladığımız 17 adet OCP türevinden hangilerinin ne oranda parçalandığını belirlemek üzere bir geri alım çalışması planlanmıştır. Bu çalışmada analiz edilecek her bir KOK türevinin 15 pg/ μ L konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltisi eşit hacimde fraksiyonlara ayrılmış, üçlü (triplike) olacak şekilde bir grup doğrudan GC-ECD'ye enjekte edilmiş, bir grup asitsiz silika içeren kolona, son grup da sülfürik asitli silika içeren kolona uygulandıktan sonra GC-ECD'ye enjekte edilmiştir. Sülfürik asitli silika uygulaması sonucunda KOK türevlerine ait % *verim* değerleri Tablo 4.1.1.2.1.1'te verilmiştir.

Tablo 4.1.1.2.1.1 Asitli silika kolon uygulamasının KOK türevlerine etkisi.

KOK Türevi	%Geri Alım (asitsiz silika kolon)	%Geri Alım (asitli silika kolon)
α -HCH	100 \pm 5	118 \pm 6
β -HCH	100 \pm 2	108 \pm 7
γ -HCH	100 \pm 3	108 \pm 6
δ -HCH	100 \pm 10	114 \pm 6
Heptaklor	100 \pm 4	60 \pm 3
Aldrin	100 \pm 6	0 \pm 0
Heptaklor endoepoksit	100 \pm 3	0 \pm 0
α -Endosülfan	100 \pm 3	69 \pm 6
4,4'-DDE	100 \pm 4	109 \pm 3
Dieldrin	100 \pm 2	0 \pm 0
Endrin	100 \pm 5	6 \pm 1
β -Endosülfan	100 \pm 9	60 \pm 4
4,4'-DDD	100 \pm 6	111 \pm 3
Endrin aldehit	100 \pm 10	0 \pm 0
Endosülf.SO ₄	100 \pm 9	121 \pm 6
4,4'-DDT	100 \pm 4	107 \pm 3
Metoksiklor	100 \pm 3	14 \pm 1
PCB-28	100 \pm 10	92 \pm 6
PCB-52	100 \pm 2	101 \pm 7

PCB-101	100±10	133±2
PCB-118	100±6	130±0
PCB-138	100±9	119±0
PCB-153	100±4	109±2
PCB-180	100±3	113±3
PCB-81	100±0	101±1
PCB-77	100±1	110±0
PCB-114	100±4	117±1
PCB-105	100±8	107±1
PCB-126	100±0	94±1
PCB-167	100±4	99±3
PCB-156	100±2	119±2
PCB-157	100±1	120±1
PCB-169	100±8	99±3
PCB-189	100±6	113±2
PBDE-17	100±3	120±4
PBDE-47	100±3	112±3
PBDE-66	100±3	129±2
PBDE-100	100±2	112±6

Ayrıca örneklerin asit içeren silika kolondan geçirilmesi yerine ekstrakt içine doğrudan sülfürik asit eklenerek de bir geri alım çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada analiz edilecek her bir KOK türevinin 15 pg/µL konsantrasyonda standart çözeltisi, 10 paralel olacak şekilde hazırlanmıştır. Bunlardan 5 tanesi doğrudan GC-ECD'ye enjekte edilmiştir. Diğer 5 tanesine sülfürik asit eklemesi yapılmış ve daha sonra ekstraktlar, distile su ile yıkanarak olası H₂SO₄ artığı uzaklaştırılmıştır. Turnusol kağıdı yardımıyla pH kontrolü yapıldıktan sonra susuz Na₂SO₄ ile suyu uzaklaştırılan ekstraktlar 70°C'de hafif azot gazı akımı altında 200 µL'ye yoğunlaştırılıp GC viyallerindeki insörtler içine alınmış ve GC-ECD'ye enjekte edilmiştir. Doğrudan sülfürik asit uygulamasının % *Geri Alım* üzerine etkisi Tablo 4.1.1.2.1.2'te verilmiştir.

Tablo 4.1.1.2.1.2 Doğrudan asit uygulamasının KOK türevleri geri alım oranlarına etkisi.

KOK Türevi	%Geri Alım (doğrudan)	%Geri Alım (asit uyg.)	KOK Türevi	%Geri Alım (doğrudan)	%Geri Alım (asit uyg.)
α -HCH	100±19	105±13	PCB-101	100±10	102±8
β -HCH	100±14	104±9	PCB-118	100±20	78±5
γ -HCH	100±17	102±10	PCB-138	100±14	101±8
δ -HCH	100±16	85±5	PCB-153	100±12	105±9
Heptaklor	100±21	71±12	PCB-180	100±9	102±9
Aldrin	100±16	107±11	PCB-81	100±14	102±8
Hept.endoep.	100±18	80±8	PCB-77	100±14	106±8
α -Endosülfan	100±15	112±11	PCB-114	100±15	102±9
4,4'-DDE	100±13	105±11	PCB-105	100±16	101±10
Dieldrin	100±17	0±0	PCB-126	100±13	101±8
Endrin	100±15	0±0	PCB-167	100±15	101±9
β -Endosülfan	100±16	53±5	PCB-156	100±15	101±9
4,4'-DDD	100±16	100±9	PCB-157	100±14	117±11
Endrin aldehit	100±10	0±0	PCB-169	100±16	104±14
Endosülf.SO ₄	100±29	17±2	PCB-189	100±15	103±9
4,4'-DDT	100±13	98±10	PBDE-17	100±13	103±10
Metoksiklor	100±15	0±0	PBDE-47	100±10	99±10
PCB-28	100±13	106±9	PBDE-66	100±12	100±8
PCB-52	100±15	99±8	PBDE-100	100±11	101±10

Gerçekleştirilen bir seri validasyon çalışmasından sonra ölçümü yapılabilen KOK türevlerinin isimleri Tablo 4.1.1.2.1.3'te verilmiştir.

Tablo 4.1.1.2.1.3 Analizlerde ölçümü yapılan KOK türevleri.

KOK grupları	Analiz edilen KOK türevleri
OCP	<i>p,p'</i> -DDD, <i>p,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDT, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, heptaklor, endrin aldehit, α -endosülfan, β -endosülfan ve endosülfan.SO ₄
PCB	PCB-28, PCB-101, PCB-138, PCB-153, PCB-180
Dioksin benzeri PCB (dbPCB)	PCB-77, PCB-81, PCB-105, PCB-114, PCB-126, PCB-156, PCB-157, PCB-167, PCB-169 ve PCB-189
PBDE	PBDE-17, PBDE-47, PBDE-66, PBDE-100, PBDE-153

4.1.2. Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu Çalışması Bulguları

DNA'nın ve RNA'nın maksimum absorbands gösterdiği dalga boyu 260 nm'dir. Proteinlerin maksimum absorbands gösterdiği dalga boyu 280 nm'dir. 230 nm dalga boyunda ölçüm yapılmasının amacı organik bileşikler ve kaotropik tuzlardır (Chaotropic tuzlar; proteinleri denatüre ederken DNA ve RNA'yı denatüre etmemektedir).

A260/A280 oranı, DNA saflığını ifade etmektedir. A260/A230 oranı ise saf DNA'da bulunabilecek tuzun seviyesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. A260/A280 oranının ideal değeri 1.7-2.0 arasında olmasıdır. Bu değer 1.7'nin altında olması, elde edilen DNA olduğunu düşünülen çözeltide fazlaca safsızlık olduğunu göstermektedir. A260/A230 oranının ise 1.5'ten daha büyük değere sahip olması istenen bir durumdur.

İlk geçerlendirme çalışması iki farklı markaya ait kitler kullanarak aynı kişiden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu yoğun lenfosit elde edebileceğimiz başlangıç aşaması eklenerek ve eklenmeden olmak üzere iki farklı şekilde yapılmıştır. Bu geçerlendirme çalışmasındaki amacımız hem verim, hem de kalite karşılaştırılmasını gerçekleştirmektir. Bu çalışmaya ait sonuçlar Tablo 4.1.2.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1.2.1 Farklı marka kit ve farklı başlangıç aşamaları ile aynı kişiden alınan kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyonu (ng/ μ L), DNA miktarı (ng), A260, A280, 260/280 ve 260/230 sonuçları. Sonuçlar *ortalama değer \pm standart sapma* olarak bildirilmiştir.

	DNA Konsantrasyonu (ng/ μ L)	DNA Miktarları (ng)	A260	A280	A260/A280	A260/A230
Lenfositten izolasyon (Thermo)	10.1 \pm 4.06	2023 \pm 812	0.2 \pm 0.08	0.1 \pm 0.06	1.6 \pm 0.09	1.6 \pm 0.51
Kandan izolasyon (Thermo)	12.9 \pm 3.20	2573 \pm 640	0.3 \pm 0.06	0.2 \pm 0.05	1.4 \pm 0.04	0.7 \pm 0.09
Lenfositten izolasyon (Jena Bioscience)	8.8 \pm 2.18	442 \pm 109	0.2 \pm 0.04	0.1 \pm 0.03	2.1 \pm 0.28	0.5 \pm 0.32
Kandan izolasyon (Jena Bioscience)	12.3 \pm 2.94	613 \pm 147	0.2 \pm 0.06	0.1 \pm 0.02	2.1 \pm 0.15	1.0 \pm 0.26

Analiz edilen kan örneklerindeki DNA konsantrasyon sonuçları her iki kite göre ve başlangıç aşamalarına lenfosit izolasyonu eklenen prosedüre göre de birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır.

DNA miktarlarına göre ise, deneyin başlangıç aşamalarından (lenfosit izolasyonundan) bağımsız olarak Thermo marka kit ile elde edilen DNA miktarları ile Jena Bioscience marka kit ile elde edilen DNA miktarlarına göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Analiz edilen kan örneklerindeki 260 nm'deki absorbans sonuçları her iki kite göre ve başlangıç aşamalarına lenfosit izolasyonu eklenen yöntemine göre de birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmamıştır.

Lenfosit izolasyon aşaması ile başlanan ve DNA saflaştırmasının Jena Bioscience marka kit ile yapılan kan örneklerin 280 nm'deki absorbans sonuçları, Thermo marka kit ile yapılan doğrudan tam kandan DNA saflaştırma yapılan örneklerin 280 nm'deki absorbans sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Hem lenfosit izolasyonu yapılarak hem de doğrudan tam kandan DNA saflaştırması yapılan örneklerde Jena Bioscience marka kit ile analiz edilen kan örneklerinde saptanan A260/A280 oranları, Thermo marka kit ile analiz edilen örneklerde saptanan A260/A280 oranlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$).

A260/A230 oranları, doğrudan tam kandan yapılan Thermo marka kitin analiz prosedürü uygulanan örneklerde lenfosit izolasyonu yapılarak Jena Bioscience marka kitin analiz prosedürü uygulanan örneklerde saptanan sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Aynı zamanda doğrudan tam kandan yapılan Thermo marka kitin deney prosedürü uygulanan örneklerdeki A260/A230 oranları, lenfosit izolasyonu yapılarak Thermo marka kitin analiz prosedürü uygulanan örneklere göre de saptanan A260/A230 oranları istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$).

Yapılan çalışma sonucunda DNA miktar sonuçlarına göre Thermo marka kit ile yapılan DNA saflaştırması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla DNA elde edildiği görülmüştür. A260/A280 oranlarına baktığımızda Jena Bioscience marka kitte, Thermo marka kite göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla

saptanmıştır. Bu bize Jena Bioscience marka kit ile DNA saflaştırmasının daha iyi olduğunu göstermektedir.

Sonraki çalışma tam kan yerine önce lenfosit ardından bu lenfositlerden DNA izolasyonu çalışılmıştır. Ve izole edilen DNA'daki RNA bulaşığını en aza indirmek amacıyla izolasyon prosedürüne RNase eklenmiştir. Bu çalışmadaki amaç DNA saflaştırma kiti prosedürünün başlangıcına eklenen lenfosit izolasyonunu ve kitin deneysel aşamasına eklenen RNase A'nın etkisini saptamaktır. Elde edilen veriler Tablo 4.1.2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.2.2 Başlangıç aşamasına lenfosit izolasyon prosedürü eklenmesinin ve kit prosedürüne RNase enziminin eklenmesinin DNA saflaştırmasına etkisi. Kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon ($\text{ng}/\mu\text{L}$), 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorbans, A260/A280 ve A260/A230 oranlarına ait sonuçlar *ortalama değer \pm standart sapma* olarak verilmiştir.

	DNA Konsantrasyonu ($\text{ng}/\mu\text{L}$)	A260	A280	260/280	260/230
Lenfosit+Thermo	23.9 \pm 7.9	0.5 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	1.7 \pm 0.1	1.0 \pm 0.3
Lenfosit+Thermo (RNase A)	24.1 \pm 16.7	0.5 \pm 0.3	0.3 \pm 0.2	1.9 \pm 0.4	1.1 \pm 0.3
Thermo	8.7 \pm 0.2	0.2 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	1.9 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1
Thermo (RNase A)	6.5 \pm 1.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	2.3 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1

Analiz edilen kan örneklerindeki DNA konsantrasyon sonuçları, başlangıç aşamalarına lenfosit izolasyonu eklenen yöntemlere göre ve kitlerin normal deneysel prosedürlerine göre birbirlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Fakat ilk aşamada lenfosit izolasyonu yapılan örneklerden elde edilen DNA konsantrasyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür. Başlangıç aşamasında lenfosit izolasyonu yapılan örneklerden elde edilen 280 nm'deki absorbans sonuçları başlangıç aşamasına lenfosit izolasyonu eklenmeyen örneklere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmada tam kandan analiz edilen tüm örneklerdeki A260/A280 oranı 1.7'nin üzerinde çıkmıştır. Bu sonuç tüm örneklerden elde edilen DNA'nın ideal saflıkta olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışma sonucunda, tüm

örneklerde saptanan A260/A230 oranının 1.5'ten daha küçük olduğu görülmüştür. Bu sonuç ise tüm örneklerde yüksek oranda tuz bulunduğuna işaret etmektedir. Sonuç değerlendirmesine göre DNA saflaştırma analizinde ideal saflık düzeyine ulaşıldığı görülmüş ve RNase A kullanılmasına gerek olmadığına karar verilmiştir.

Bir sonraki geçerdendirme çalışması kan örneğini saklama sıcaklığının DNA kalitesine etkisini belirlemek için yapılmıştır. Bu amaç ile aynı kişiden alınan porsiyonlara ayrılarak +4°C, -20°C ve -80°C'de 5 gün süre ile saklanan kan örneklerinde DNA saflaştırma işlemleri yapılmıştır. DNA saflaştırma işlemi sonrası elde edilen veriler *Tablo 4.1.2.3.*'te verilmiştir.

Tablo 4.1.2.3 Farklı saklama sıcaklıklarının DNA saflaştırmasına etkisi. Kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon (ng/μL) ve A260/A280 oranlarına ait sonuçlar *ortalama değer ± standart sapma* olarak verilmiştir.

	DNA Konsantrasyonu (ng/μL)	A260/A280
+4°C	19.0±14.8	1.62±0.1
-20°C	32.3±52.1	1.23±0.4
-80°C	28.3±46.0	1.04±0.4

-80°C'de saklanan kan örneklerinden elde edilen DNA'ya ait ortalama A260/280 oranı, aynı gün alınan ve +4°C'de saklanan örneklerden elde edilen DNA'ya ait ortalama A260/280 oranına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır (t-test, p<0.05). Yapılan DNA izolasyon çalışmasında, DNA konsantrasyon sonuçlarında, örneklerin saklanma sıcaklıkları dikkate alındığında herhangi bir doğrusal ilişki saptanmamasına rağmen, azalan sıcaklık değerleriyle birlikte A260/A280 oranının da anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (t-test, p<0.05).

Bu sebeple DNA izolasyon deneyinde kullanılması planlanan kan örneklerin +4°C'de saklanan kan örnekleri olması gerektiği ve hasta gruplarından alınan kan örneklerinin aynı gün içerisinde DNA saflaştırması analizinin yapılmasına karar verilmiştir. A260/A280 +4°C'de saklanan kan örneklerinde 1.5-1.7 arasında iken, -20°C'de ve -80°C'de saklanan örneklerde sırasıyla, 0.7-1.5 ve 0.6-1.4 arasında değişmektedir.

Elde edilen bu sonuçlar, dondurulup saklanan kan örneklerinde ölçülen DNA safsızlık oranının artabileceğini düşündürmektedir.

Son çalışmada DNA izolasyonu yapan farklı araştırmacılardan kaynaklanabilecek verim ve kalite varyasyonu belirlenmiştir. Bu çalışma hem lenfosit izolasyonu gerçekleştirilerek hem de doğrudan tam kanda gerçekleştirilmiştir. Lenfosit izolasyonu ile başlanan örnekler '*Lenf. İzo*', kitin deney prosedürüne göre elde edilen lenfosit izolasyonu ise '*Bulutsu Katman*' olarak isimlendirilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.1.2.4.'da verilmiştir.

Tablo 4.1.2.4. Farklı araştırmacıların yaptığı ve farklı lenfosit izolasyonunun DNA saflaştırmasına etkisi. Aynı kişiden alınana kan örneğinden elde edilen DNA konsantrasyon (ng/ μ L), 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki absorbans, A260/A280 ve A260/A230 oranlarına ait sonuçlar *ortalama değer \pm standart sapma* olarak bildirilmiştir. R ve İ harfleri, analizi yapan kişileri kodlamaktadır.

	DNA Konsantrasyonu (ng/μL)	A260	A280	A260/A280	A260/A230
R (Lenfositten İzolasyon)	18.74 \pm 3.31	0.38 \pm 0.07	0.24 \pm 0.04	1.54 \pm 0.04	1.22 \pm 0.26
İ (Lenfositten İzolasyon)	10.11 \pm 3.05	0.20 \pm 0.06	0.12 \pm 0.04	1.74 \pm 0.06	1.14 \pm 0.14
R (Kandan izolasyon)	14.84 \pm 5.45	0.30 \pm 0.11	0.21 \pm 0.06	1.41 \pm 0.12	0.75 \pm 0.20
İ (Kandan izolasyon)	10.16 \pm 2.72	0.20 \pm 0.05	0.15 \pm 0.04	1.32 \pm 0.07	0.66 \pm 0.12

Lenfosit izolasyonu sonrasında yapılan DNA saflaştırma deneyinde, İ (Lenfositten izolasyon) kodlu örneklerden elde edilen DNA konsantrasyonu R (Lenfositten izolasyon) kodlu örneklerden elde edilen DNA konsantrasyonuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (T-Test, a; $p < 0.05$). Benzer şekilde ilişki İ (Kandan izolasyon) örnekleri ile R (Kandan izolasyon) örnekleri arasında olmasına rağmen, buradaki fark anlamlı bulunmamıştır. Lenfosit izolasyonu

sonrasında yapılan DNA saflaştırma deneyinde, İ (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen 280 nm'deki absorban değerleri R (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen 280 nm'deki absorban değerlerine göre istatistik olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (T-Test, a; $p < 0.05$). Benzer ilişki İ (Kandan izolasyonu) örnekleri ile R (Kandan izolasyonu) örnekleri arasında olmasına rağmen, buradaki fark anlamlı bulunmamıştır.

Lenfosit izolasyonu sonrasında yapılan DNA saflaştırma deneyinde, İ (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen A260/A280 absorban oranları R (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen A260/A280 absorban oranlarına göre istatistik olarak anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır (T-Test, a; $p < 0.05$). Bu sonuca ters olarak İ (Kandan izolasyonu) örneklerinde saptanan A260/A280 absorban oranları, R (Kandan izolasyonu) örneklerinde saptanan A260/A280 absorban oranlarına göre daha düşüktür, ancak fark anlamlı bulunmamıştır.

Lenfosit izolasyonu sonrasında yapılan DNA saflaştırma deneyinde, İ (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen 260 nm'deki absorban değerleri R (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen 280 nm'deki absorban değerlerine göre istatistik olarak anlamlı derecede daha düşük saptanmıştır ($p < 0.05$). Benzer fark İ (Kandan izolasyonu) örnekleri ile R (Kandan izolasyonu) örnekleri arasında olmasına rağmen, buradaki fark anlamlı değildir.

Lenfosit izolasyonu sonrasında yapılan DNA saflaştırma deneyinde, İ (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen A260/A230 absorban oranları R (Lenfositler izolasyonu) kodlu örneklerden elde edilen A260/A230 absorban oranlarına göre daha düşük saptanmıştır ancak, bu fark istatistik olarak anlamlı değildir. Bu sonuca benzer olarak İ (Kandan izolasyonu) örneklerinde saptanan A260/A230 absorban oranları, R (Kandan izolasyonu) örneklerinde saptanan A260/A230 absorban oranlarına göre daha düşük saptanmıştır, fakat bu sonuçta istatistik olarak anlamlı değildir.

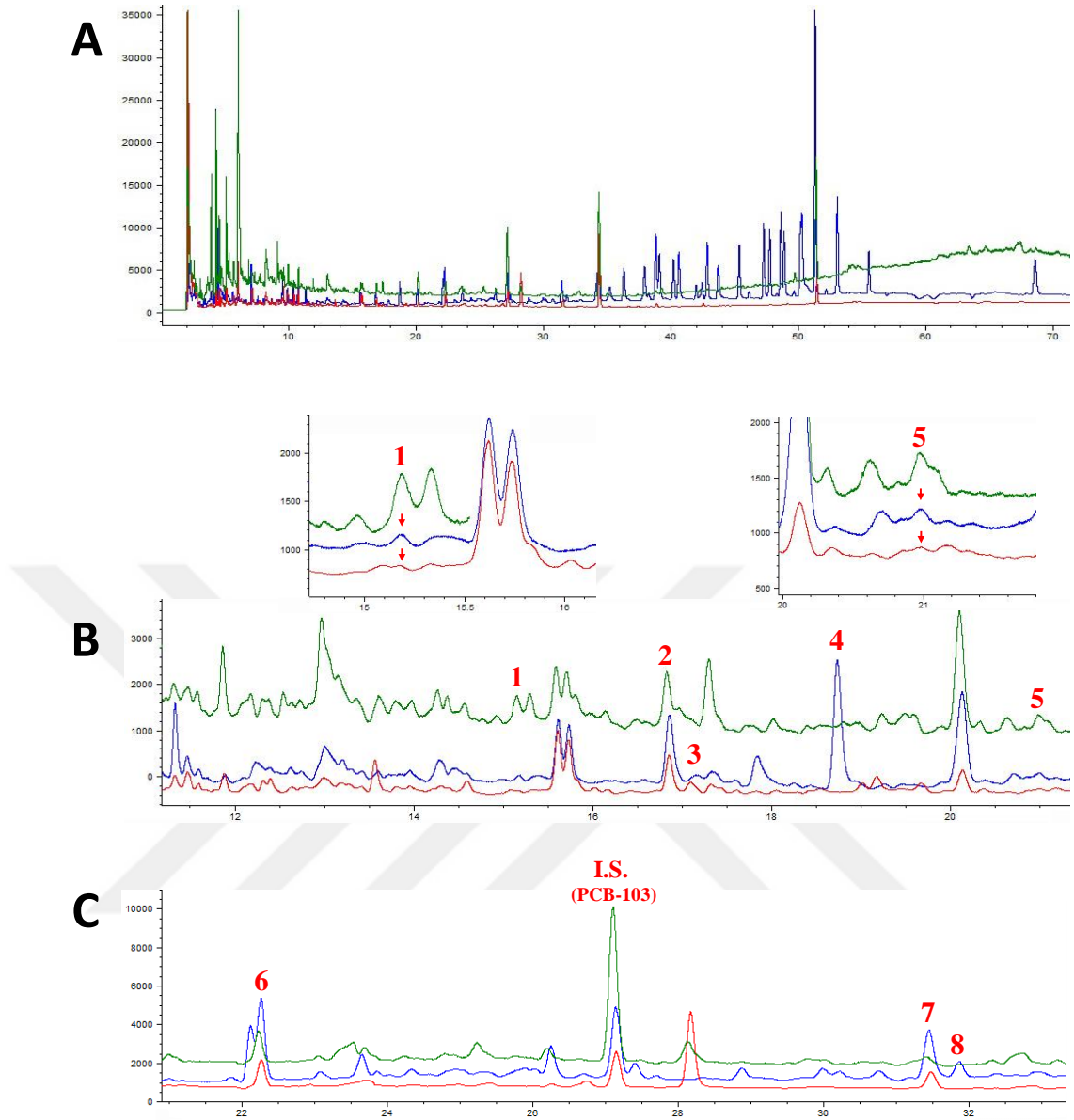
Sonuç olarak DNA konsantrasyonlarının değerlendirilmesi yapıldığında, lenfosit izolasyonu sonrası yapılan DNA saflaştırması doğrudan tam kandan yapılan DNA saflaştırmasına göre daha yüksek konsantrasyon saptanmasına rağmen örneklerdeki varyasyonun fazla olmasından dolayı istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır.

Fakat elde edilen DNA'nın saflığına göre yapılan değerlendirmede ise (A260/A280) aradaki fark, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

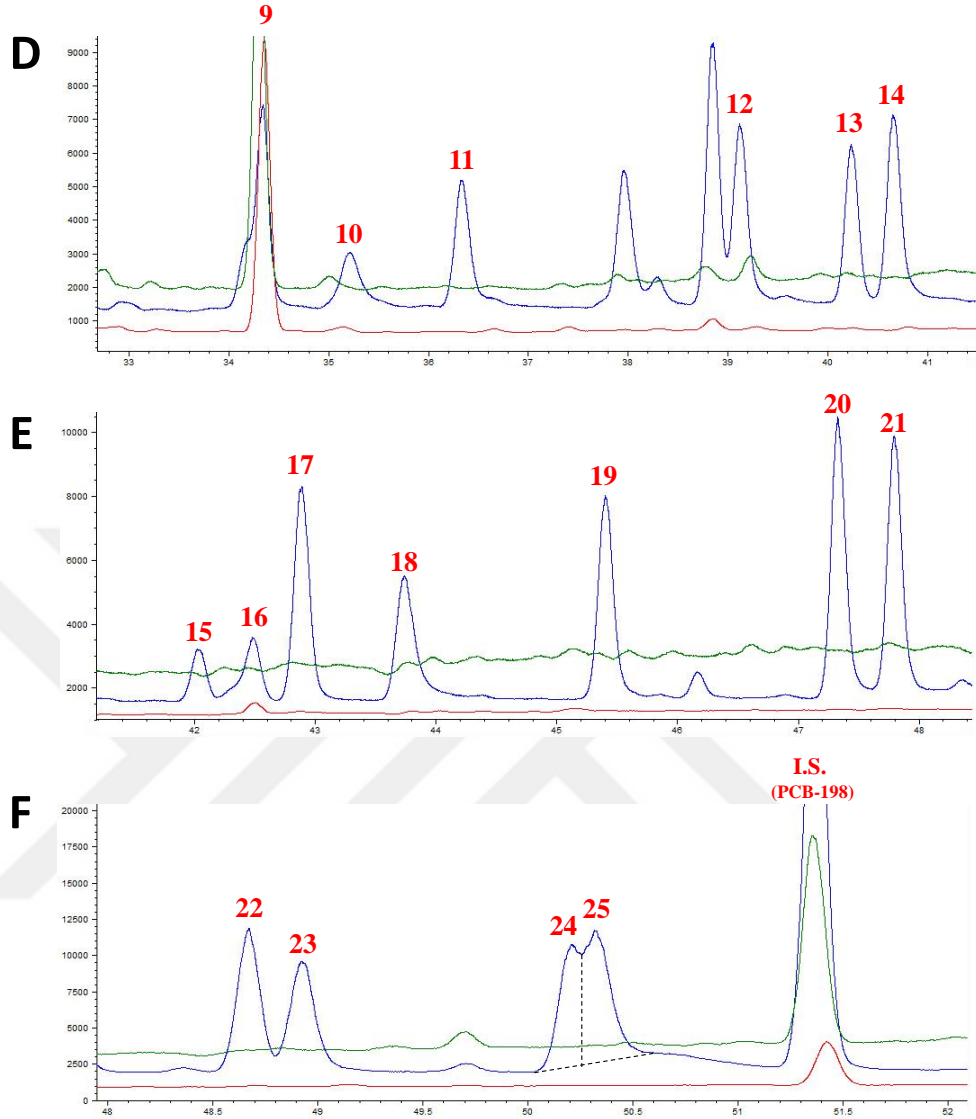
4.2. Hasta Kan ve Meme Dokularında KOK Düzeyleri

Meme kontrol ve meme kanser grubu kan ve doku örneklerinde KOK türevlerinin GC-ECD analizine ait kromatogram örnekleri Şekil 4.2.1, Şekil 4.2.2 ve Şekil 4.2.3'te verilmiştir.

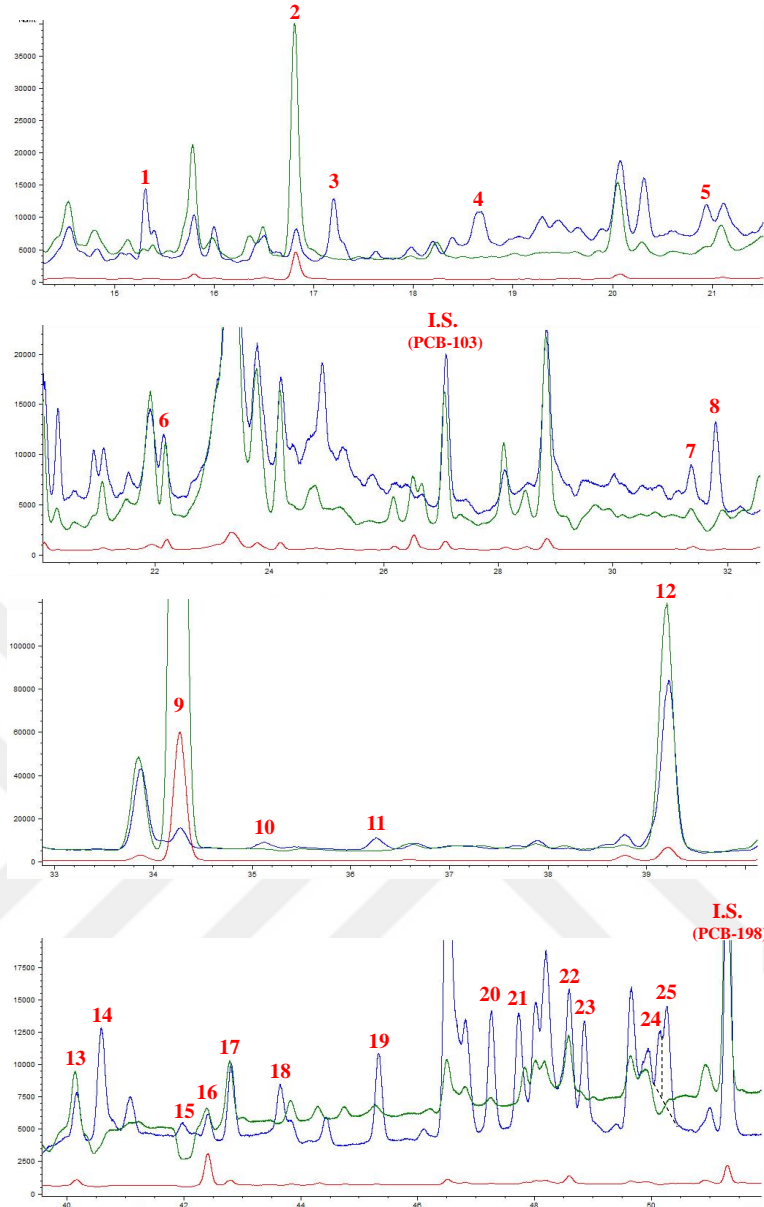




Şekil 4.2.1 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **kanlarında** KOK türevlerinin analizine ait **1 – 32. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. **A**, total kromatogram; **B**, 12-21. dk. arası kromatogram; **C**, 21-33. dk. arası kromatogram. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir. 1: α -HCH, 2: β -HCH, 3: γ -HCH, 4: δ -HCH, 5: PCB-28, 6: Heptaklor, 7: PCB-101, 8: α -Endosülfan, I.S.: internal standart.



Şekil 4.2.2 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **kanlarında** KOK türevlerinin analizine ait **33 – 52. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 pg/µL konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. **D**, 33-41. dk. arası kromatogram; **E**, 41-48. dk. arası kromatogram; **F**, 48-52. dk. arası kromatogram. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir; 9: 4-4'-DDE, 10: PCB-77, 11: PBDE-17, 12: 4,4'-DDD, 13: PCB-138, 14: PCB-105, 15: Endosulfan.SO₄, 16: 4,4'-DDT, 17: PCB-153, 18: PCB-26, 19: PCB-167, 20: PCB-156, 21: PCB-157, 22: PCB-180, 23: PBDE-47, 24: PBDE-66, 25: PCB-169, I.S.: internal standart.



Şekil 4.2.3 Meme tümörü çıkarılması (kanser grubu) ve meme küçültme ameliyatı (kontrol grubu) geçiren hastaların **dokularında** KOK türevlerinin analizine ait **1 – 52. dk. arası** GC-ECD kromatogramları. **Mavi** kromatogram organik çözücü (hekzan) içerisinde 15 pg/µL konsantrasyonda KOK standart referans çözeltisi, **yeşil** kromatogram meme kontrol grubu kan örneği, **kırmızı** kromatogram meme kanser grubu kan örneğini göstermektedir. Kromatogram üzerinde yer alan sayılar her bir KOK türevini simgelemektedir. 1: α -HCH, 2: β -HCH, 3: γ -HCH, 4: δ -HCH, 5: PCB-28, 6: Heptaklor, 7: PCB-101, 8: α -Endosülfan, 9: 4-4'-DDE, 10: PCB-77, 11: PBDE-17, 12: 4,4'-DDD, 13: PCB-138, 14: PCB-105, 15: Endosülfan.SO₄, 16: 4,4'-DDT, 17: PCB-153, 18: PCB-26, 19: PCB-167, 20: PCB-156, 21: PCB-157, 22: PCB-180, 23: PBDE-47, 24: PBDE-66, 25: PCB-169.

4.2.1. Meme Kontrol ve Kanser Gruplarında KOK Düzeyleri

4.2.1.1. Kan OCP Düzeyleri

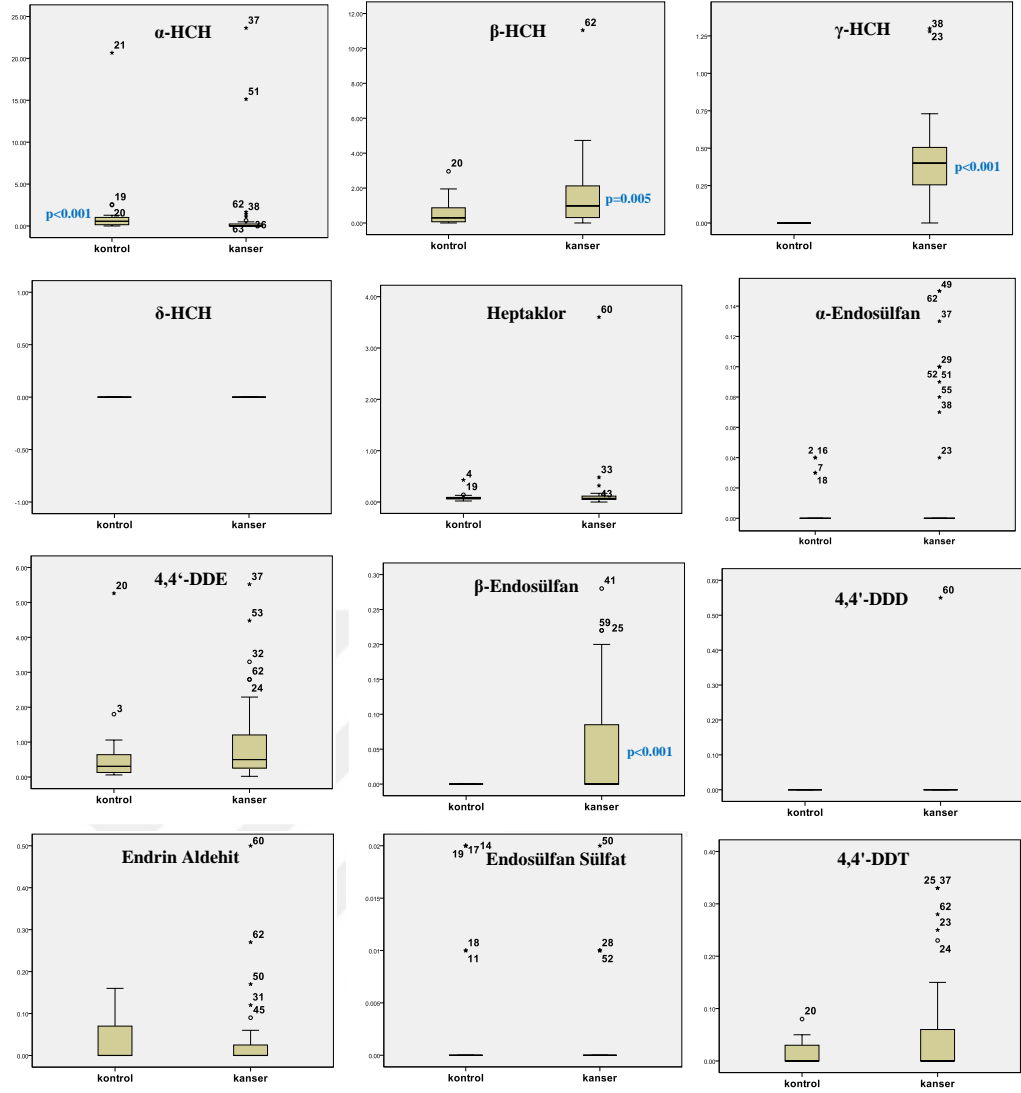
Meme kontrol ve meme kanser grubunun kan örneklerinde ölçülen OCP türevlerinin *ng/mL tam kan* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri Tablo 4.2.1.1.1 ve Şekil 4.2.1.1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.1.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **OCP türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/mL tam kan*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir Medyan değerinin altındaki n sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

OCP türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	KANSER (n=43) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	p
α -HCH	0.55 (0.00-2.66) (n=19)	0.00 (0.00-23.62) (n=16)	<0.001
β -HCH	0.29 (0.00-2.96) (n=20)	0.98 (0.00-11.04) (n=42)	0.005
γ -HCH	0.00 (0-0) (n=0)	0.40 (0.00-1.30) (n=40)	<0.001
δ -HCH	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
Heptaklor	0.08 (0.02-0.43) (n=22)	0.07 (0.00-3.60) (n=41)	0.733
α -Endosülfan	0.00 (0.00-0.04) (n=4)	0.00 (0.00-0.15) (n=10)	0.407
4,4'-DDE	0.30 (0.06-5.26) (n=22)	0.05 (0.02-5.52) (n=43)	0.092

β-Endosülfan	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0.00-0.28) (n=20)	<0.001
4,4'-DDD	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0.00-0.55) (n=1)	0.474
Endrin aldehyt	0.00 (0.00-0.16) (n=10)	0.00 (0.00-0.50) (n=19)	0.605
Endosülfan.SO₄	0.00 (0.00-0.02) (n=5)	0.00 (0.00-0.02) (n=4)	0.122
4,4'-DDT	0.00 (0.00-0.08) (n=7)	0.00 (0.00-0.33) (n=20)	0.127

Konsantrasyon (ng/mL tam kan)



Şekil 4.2.1.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen OCP türevlerine ait box-plot konsantrasyon (ng/mL tam kan) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen β -HCH ve γ -HCH konsantrasyonu, meme kontrol grubu kan örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.005$, $p<0.001$). Meme kontrol grubu kan örneklerinde ölçülen α -HCH konsantrasyonu, meme kanser grubu kan örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Her iki grubun kan örneklerinde de δ -HCH saptanamamıştır. Kan örneklerinde hem meme kontrol grubu, hem de meme kanser grubunda

heptaklor türevi ölçülmüş, ancak miktar açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen β -endosülfan konsantrasyonu, meme kontrol grubu kan örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). β -endosülfan kanser grubunda 43 hastanın 20'sinde ölçülebilirken kontrol grubunu oluşturan 22 hastanın hiçbirinde saptanmamıştır. Kan örneklerinde hem meme kontrol grubu, hem de meme kanser grubunda α -endosülfan, endosülfan sülfat ve endrin aldehit türevleri ölçülmüş, ancak miktar açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Kan örneklerinde hem meme kontrol grubu, hem de meme kanser grubunda 4,4'-DDT ve metaboliti 4,4'-DDE, ölçülmüş, ancak miktar açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. 4,4'-DDD ise kanser grubunda 43 hastanın sadece 1'inde ölçülebilmüş, buna karşın kontrol grubunu oluşturan 22 hastanın hiçbirinde saptanmamıştır.

4.2.1.2. Kan PCB Düzeyleri

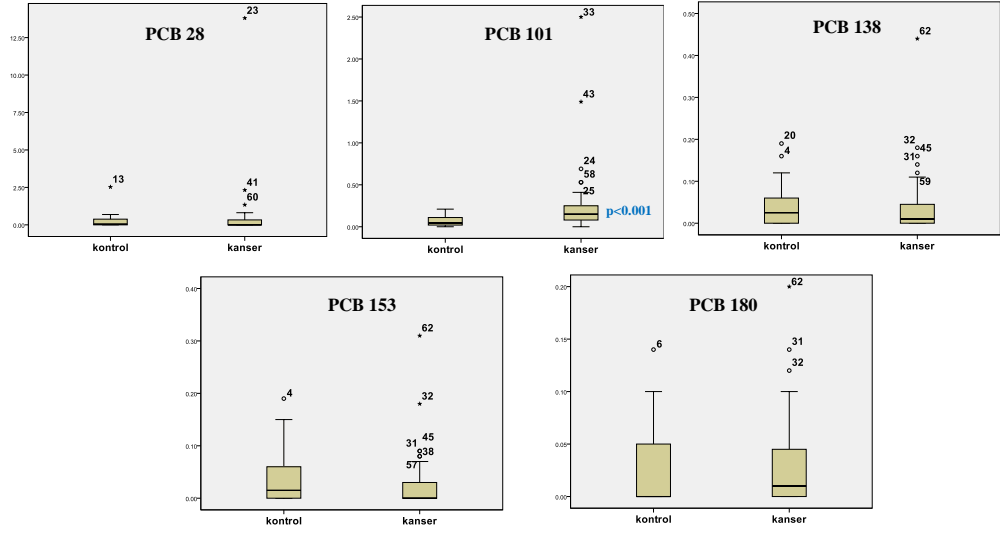
Meme kontrol ve meme kanser grubunun kan örneklerinde ölçülen PCB türevlerinin *ng/mL Tam Kan* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri Tablo 4.2.1.2.1, Şekil 4.2.1.2.1 ve Şekil 4.2.1.2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.2.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PCB türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/mL tam kan*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki *n* sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

PCB türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	KANSER (n=43) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	p
PCB-28	0.04 (0.00-2.53) (n=11)	0.00 (0.00-13.80) (n=13)	0.259

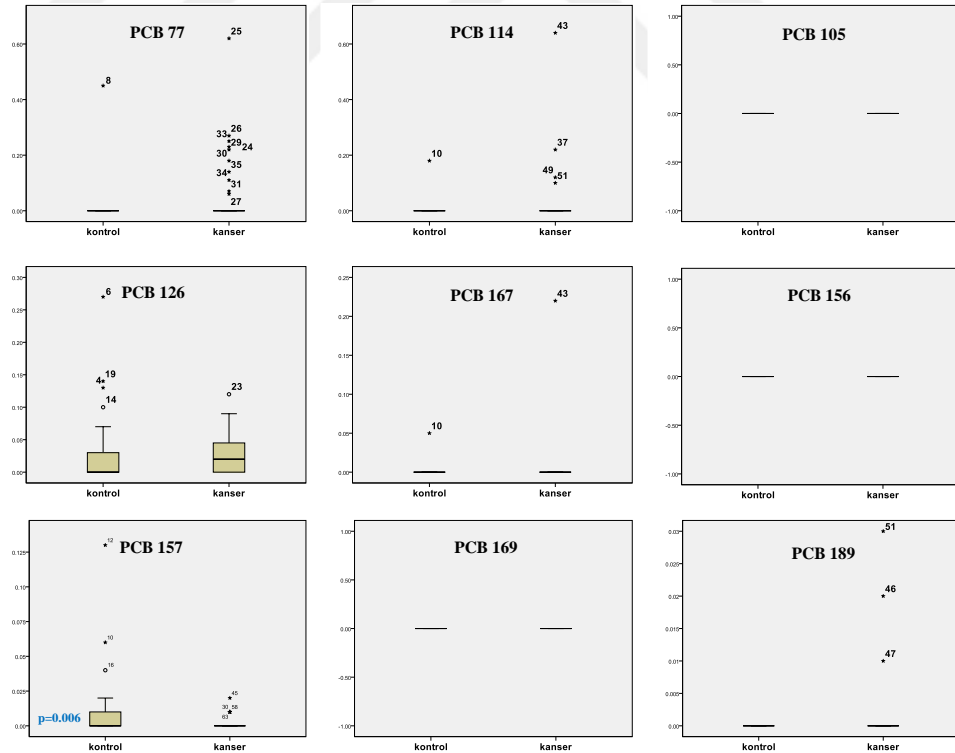
PCB-101	0.04 (0.00-0.21) (n=21)	0.15 (0.00-2.5) (n=41)	<0.001
PCB-138	0.02 (0.00-0.19) (n=15)	0.01 (0.00-0.44) 0.02 (n=25)	0.403
PCB-153	0.01 (0.00-0.19) (n=12)	0.00 (0.00-0.31) (n=18)	0.239
PCB-180	0.00 (0.00-0.14) (n=8)	0.01 (0.00-0.20) (n=24)	0.364
PCB-77	0.00 (0.00-0.45) (n=1)	0.00 (0.00-0.62) (n=10)	0.073
PCB-114	0.00 (0.00-0.18) (n=1)	0.00 (0.00-0.64) (n=4)	0.500
PCB-105	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
PCB-126	0.00 (0.00-0.27) (n=7)	0.02 (0.00-0.12) (n=29)	0.085
PCB-167	0.00 (0.00-0.05) (n=1)	0.00 (0.00-0.22) (n=1)	0.643
PCB-156	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
PCB-157	0.00 (0.00-0.13) (n=9)	0.00 (0.00-0.02) (n=5)	0.006
PCB-169	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
PCB-189	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0.00-0.03) (n=3)	0.208

Konsantrasyon (ng/mL tam kan)



Şekil 4.2.1.2.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PCB** türevlerine ait box-plot konsantrasyon (ng/mL tam kan) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Konsantrasyon (ng/mL tam kan)



Şekil 4.2.1.2.2 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen dioksin benzeri **PCB** türevlerine ait box-plot konsantrasyon (ng/mL tam kan)

grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Meme kanser grubu kan örneklerinde ölçülen PCB-101 konsantrasyonu, meme kontrol grubu kan örneklerine göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0.001$). Kan örneklerinde hem meme kontrol grubu, hem de meme kanser grubunda PCB-28, PCB-138, PCB-153 ve PCB-180 türevlerine ait konsantrasyonlar saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Meme kontrol ve meme kanser grubunda dioksin benzeri PCB'lerden PCB-105, -156 ve -169, 22 kişiden oluşan kontrol grubu ve 43 kişiden oluşan kanser grubunda hiç bir bireyde saptanmamıştır. Memekontrol grubu kan örneklerinde ölçülen PCB-157 konsantrasyonu, meme kanser grubu kan örneklerine göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edilmiştir ($p=0.006$). Kan örneklerinde hem meme kontrol grubu, hem de meme kanser grubunda PCB-77, -114, -126 ve -167 türevlerine ait konsantrasyonlar saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. PCB-189 konsantrasyonu kanser grubunda yer alan 43 bireyin 3'ünde ölçülebilirken meme kontrol grubunu oluşturan 22 kişinin hiç birinde saptanmamıştır.

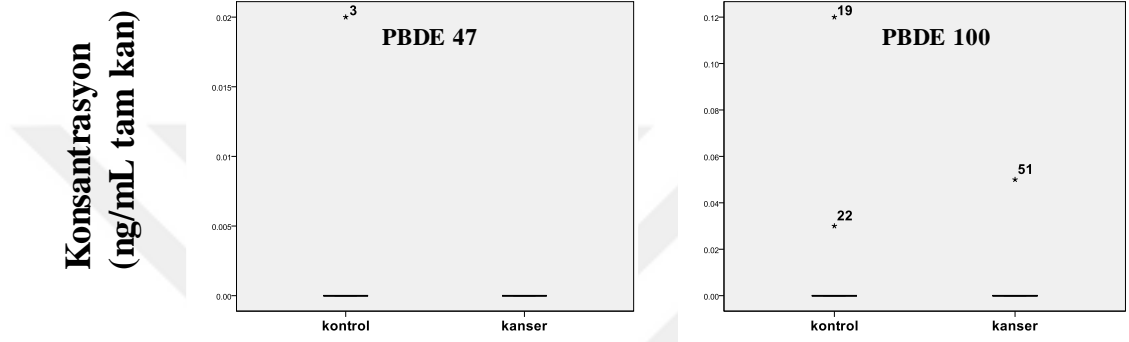
4.2.1.3. Kan PBDE Düzeyleri

Meme kontrol ve meme kanser grubunun kan örneklerinde ölçülen PBDE türevlerinin *ng/mL Tam Kan* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri Tablo 4.2.1.3.1 ve Şekil 4.2.1.3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PBDE türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/mL tam kan*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki n sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

PBDE türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks)	KANSER (n=43) Medyan (min-	p
----------------	-------------------------------------	-------------------------------	---

	(ölçülen birey sayısı)	maks) (ölçülen birey sayısı)	
PBDE-47	0.00 (0.00-0.02) (n=1)	0.00 (0-0) (n=0)	0.162
PBDE-100	0.00 (0.00-0.12) (n=2)	0.00 (0.00-0.05) (n=1)	0.222



Şekil 4.2.1.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **kan** örneklerinde ölçülen **PBDE türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/mL tam kan*) grafikleri.

Meme kontrol ve kanser gruplarında PBDE türevlerinden sadece PBDE-47 ve PBDE-100 saptanmıştır. Her ikisi de OCP ve PCB'lere kıyasla çok düşük düzeyde ölçülen PBDE türevlerinden -47, kontrol grubunda 22 kişiden 1 kişide belirlenirken kanser grubundaki 43 kişiden hiçbirinde bulunamamıştır. PBDE-100 ise kontrol grubunda sadece 2, kanser grubunda ise 1 kişide ölçülebilmıştır.

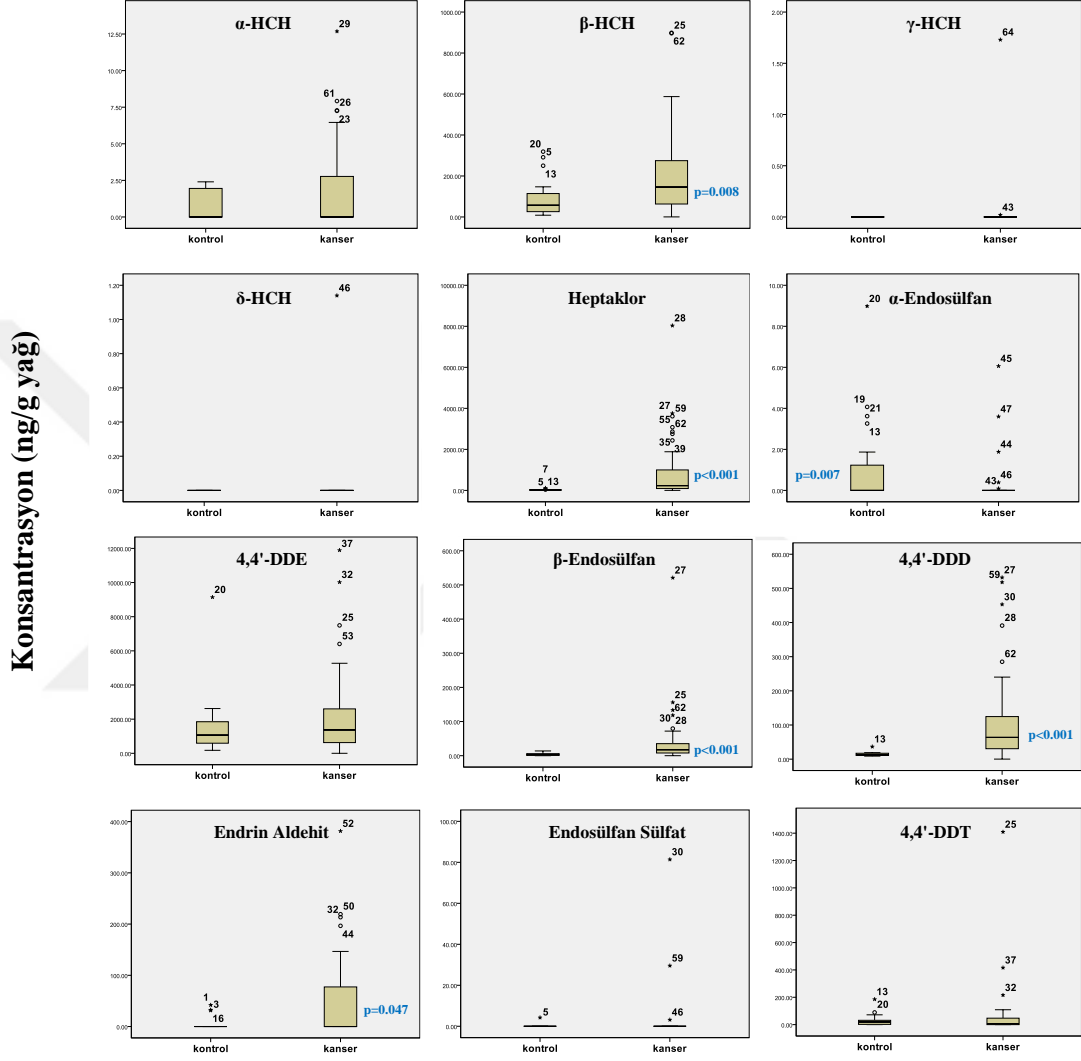
4.2.1.4. Doku OCP Düzeyleri

Meme kontrol ve meme kanser grubunun doku örneklerinde ölçülen OCP türevlerinin *ng/g yağ* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri ise Tablo 4.2.1.4.1 ve Şekil 4.2.1.4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.4.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen **OCP türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/g yağ*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki *n* sayıları, türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

OCP türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	KANSER (n=43) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	p
α-HCH	0.00 (0.00-2.40) (n=8)	0.00 (0.00-12.68) (n=13)	0.701
β-HCH	57.47 (8.58-318.79) (n=22)	146.00 (0.31-898.72) (n=43)	0.008
γ-HCH	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0.00-1.73) (n=2)	0.308
δ-HCH	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0.00-1.14) (n=1)	0.474
Heptaklor	20.71 (12.99-116.63) (n=22)	230.65 (1.62-8035.72) (n=43)	<0.001
α-Endosülfan	0.00 (0.00-8.98) (n=9)	0.00 (0.00-6.06) (n=5)	0.007
4,4'-DDE	1067.09 (174.98-9143.01) (n=22)	1368.97 (0.83-11893.68) (n=43)	0.207
β-Endosülfan	3.28 (0.00-13.89) (n=18)	17.29 (0.02-521.06) (n=43)	<0.001
4,4'-DDD	12.22 (8.94-36.67) (n=22)	63.75 (0.16-531.83) (n=43)	<0.001
Endrin aldehit	0.00 (0.00-41.96) (n=3)	0.00 (0.00-381.54) (n=14)	0.047
Endosülfan.SO₄	0.00 (0.00-4.24)	0.00 (0.00-81.40)	0.690

	(n=1)	(n=3)	
4,4'-DDT	19.50 (0.00-185.35)	6.0800 (0.00-1409.12)	0.481
	(n=17)	(n=24)	



Şekil 4.2.1.4.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen OCP türevlerine ait box-plot konsantrasyon (ng/g yağ) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen β -HCH konsantrasyonu, aynı grubun kan örneklerine benzer şekilde meme kontrol grubu doku örneklerine göre anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.008$). Yanı sıra her iki grubun tüm bireylerinin dokularında saptanan heptaklor da kanser grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Meme kanser grubu ve meme kontrol grubunda α -HCH konsantrasyonu saptanmış ancak miktar açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. γ -HCH ve δ -HCH kanser grubunda yer alan 43 bireyin sırasıyla 2'sinde ve 1'inde ölçülebilirken meme kontrol grubunu oluşturan 22 kişinin hiç birinde saptanmamıştır.

Meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen β -endosülfan ve endrin aldehit konsantrasyonları, meme kontrol grubu doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.047$). Meme kontrol grubu doku örneklerinde ölçülen α -endosülfan konsantrasyonu, meme kanser grubu doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir ($p=0.007$). Kanser grubu doku örneklerinde endosülfan sülfat türevi saptanmış ancak istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulunmamıştır.

DDT grubu KOK türevlerinin doku düzeyi sonuçlarına göre meme kanser grubunda 4,4'-DDD konsantrasyonu, meme kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Meme kanser grubu ve meme kontrol grubunda 4,4'-DDT ve 4,4'-DDE saptanmış ancak miktar açısından istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

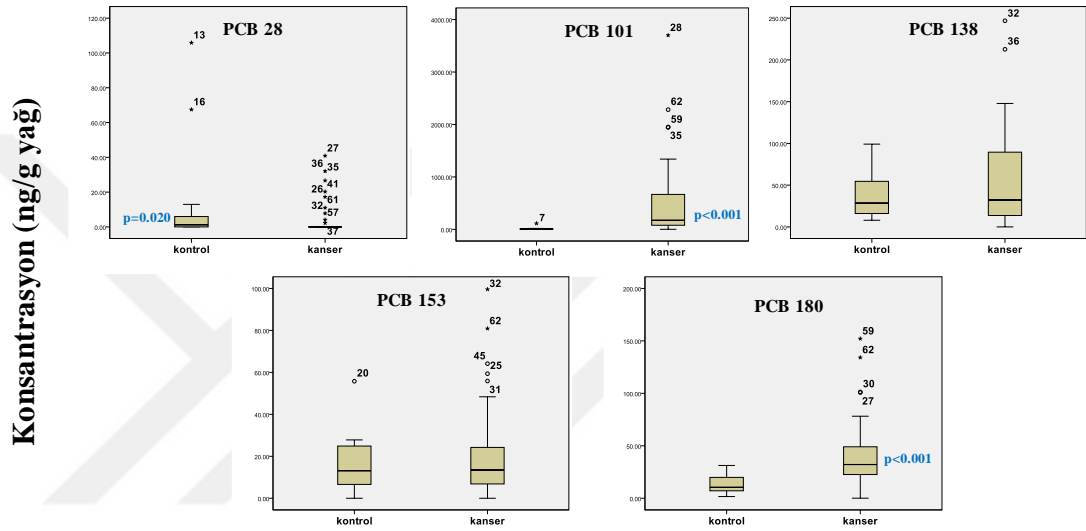
4.2.1.5. Doku PCB Düzeyleri

Meme kontrol ve meme kanser grubunun doku örneklerinde ölçülen PCB türevlerinin *ng/g yağ* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri ise Tablo 4.2.1.5.1, Şekil 4.2.1.5.1 ve Şekil 4.2.1.5.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.5.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen **PCB türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/g yağ*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki n sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

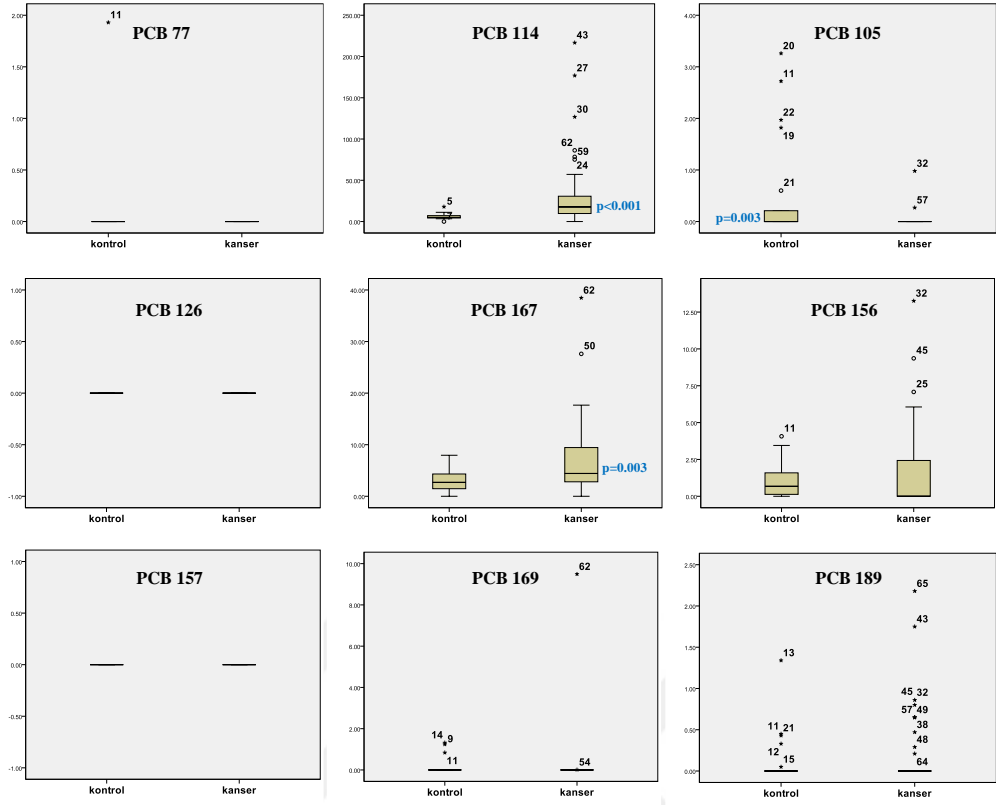
PCB türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	KANSER (n=43) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	p
PCB-28	1.21 (0.00-105.87) (n=12)	0.00 (0.00-40.90) (n=9)	0.020
PCB-101	7.75 (0.00-114.40) (n=18)	173.32 (1.55-3700.27) (n=43)	<0.001
PCB-138	28.50 (7.97-99.14) (n=22)	32.28 (0.00-246.86) (n=38)	0.551
PCB-153	13.11 (0.00-55.77) (n=21)	13.44 (0.00-99.60) (n=41)	0.628
PCB-180	10.41 (1.63-31.27) (n=22)	32.16 (0.07-152.14) (n=43)	<0.001
PCB-77	0.00 (0.00-1.93) (n=1)	0.00 (0-0) (n=0)	0.162
PCB-114	4.96 (0.00-17.97) (n=21)	17.75 (0.00-216.76) (n=39)	<0.001
PCB-105	0.00 (0.00-3.26) (n=7)	0.00 (0.00-0.98) (n=2)	0.003
PCB-126	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
PCB-167	2.69 (0.00-7.95) (n=20)	4.42 (0.00-38.47) (n=40)	0.003
PCB-156	0.67 (0.00-4.07) (n=18)	0.00 (0.00-13.26) (n=17)	0.093

PCB-157	0.00 (0-0) (n=0)	0.00 (0-0) (n=0)	-
PCB-169	0.00 (0.00-1.32) (n=3)	0.00 (0.00-9.49) (n=2)	0.202
PCB-189	0.00 (0.00-1.34) (n=4)	0.00 (0.00-2.18) (n=10)	0.800



Şekil 4.2.1.5.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen PCB türevlerine ait box-plot konsantrasyon (ng/g yağ) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Konsantrasyon (ng/g yağ)



Şekil 4.2.1.5.2 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen **dioksin benzeri PCB türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/g yağ*) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Meme kanser grubu doku örneklerinde ölçülen PCB-101 ve PCB-180 konsantrasyonları, meme kontrol grubu doku örneklerine göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Ancak ilginç bir şekilde PCB-28 tersine kanser grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p = 0.020$). Gruplar arasında PCB-138 ve PCB-153 türevlerine ait konsantrasyonlar ise istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Meme kontrol ve kanser gruplarında ölçülen dioksin benzeri PCB türevleri sonuçlarına göre PCB-126 ve PCB-157 her iki grupta hiç bir bireyde saptanmamıştır. PCB-114 ve PCB-167'nin kanser grubu doku konsantrasyonları, kontrol grubu doku konsantrasyonlarına göre sırasıyla $p < 0.001$ ve $p = 0.003$ düzeyinde anlamlı derecede yüksek bulunurken ilginç bir şekilde PCB-105 tersine kanser grubunda anlamlı

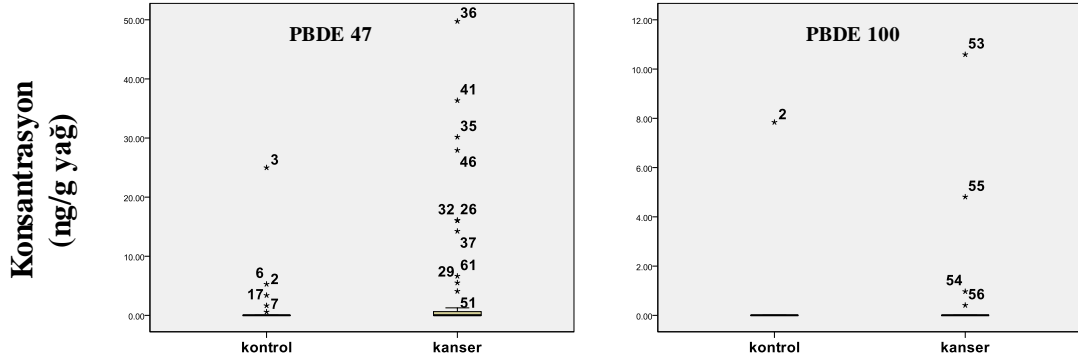
derecede düşük bulunmuştur ($p=0.003$). PCB-77, 22 kişiden oluşan kontrol grubunda sadece bir kişide ölçülürken 43 kişiden oluşan kanser grubunda hiç bir bireyde saptanmamıştır. Gruplar arasında PCB-156, PCB-169 ve PCB-189 türevlerine ait konsantrasyonlar ise istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

4.2.1.6. Doku PBDE Düzeyleri

Meme kontrol ve meme kanser grubunun doku örneklerinde ölçülen PBDE türevlerinin *ng/g yağ* cinsinden konsantrasyonlarının medyan değerleri ise Tablo 4.2.1.6.1 ve Şekil 4.2.1.6.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2.1.6.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen **PBDE türevlerine** ait konsantrasyonlar (*ng/g yağ*). Sonuçlar medyan (min. - maks.) olarak verilmiştir. Kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olan p değerleri mavi renkle gösterilmiştir. Medyan değerinin altındaki *n* sayıları türevin saptandığı birey sayısını ifade etmektedir.

PBDE türevleri	KONTROL (n=22) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	KANSER (n=43) Medyan (min-maks) (ölçülen birey sayısı)	p
PBDE-47	0.00 (0.00-24.99) (n=5)	0.00 (0.00-49.75) (n=11)	0.582
PBDE-100	0.00 (0.00-7.84) (n=1)	0.00 (0.00-10.59) (n=4)	0.519



Şekil 4.2.1.6.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu **doku** örneklerinde ölçülen **PBDE türevlerine** ait box-plot konsantrasyon (*ng/g yağ*) grafikleri. İstatistiksel açıdan önemli olan p değerleri, mavi renkle ilgili grubun kutusu yanında gösterilmiştir.

Her iki PBDE türevi kan örneklerine kıyasla nispeten daha fazla dokuda saptanmıştır; kanser grubunda PBDE-47 konsantrasyonunda bir yükselme eğilimi olmasına karşın kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Özetlenecek olursa meme kanser grubunun kan örneklerinde toplam 32 KOK türevinden 3 OCP türevi (Tablo 4.2.1.1.1) ve 1 PCB türevinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu (Tablo 4.2.1.2.1) gözlenirken PBDE türevleri açısından gruplar arasında fark gözlenmemiştir. İlginç bir şekilde 1 OCP türevi (Tablo 4.2.1.1.1) ve 1 PCB türevi, kanser grubu kan örneklerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.2.1.2.1). Doku düzeyleri açısından kanser grubunda yine 5 OCP türevi (Tablo 4.2.1.4.1) ve 4 PCB türevi (Tablo 4.2.1.5.1), kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İlginç bir şekilde 1 OCP türevi (Tablo 4.2.1.4.1) ve 2 PCB türevi, kanser grubu dokularında kontrol grubu dokularına kıyasla anlamlı derecede düşüktür (Tablo 4.2.1.5.1).

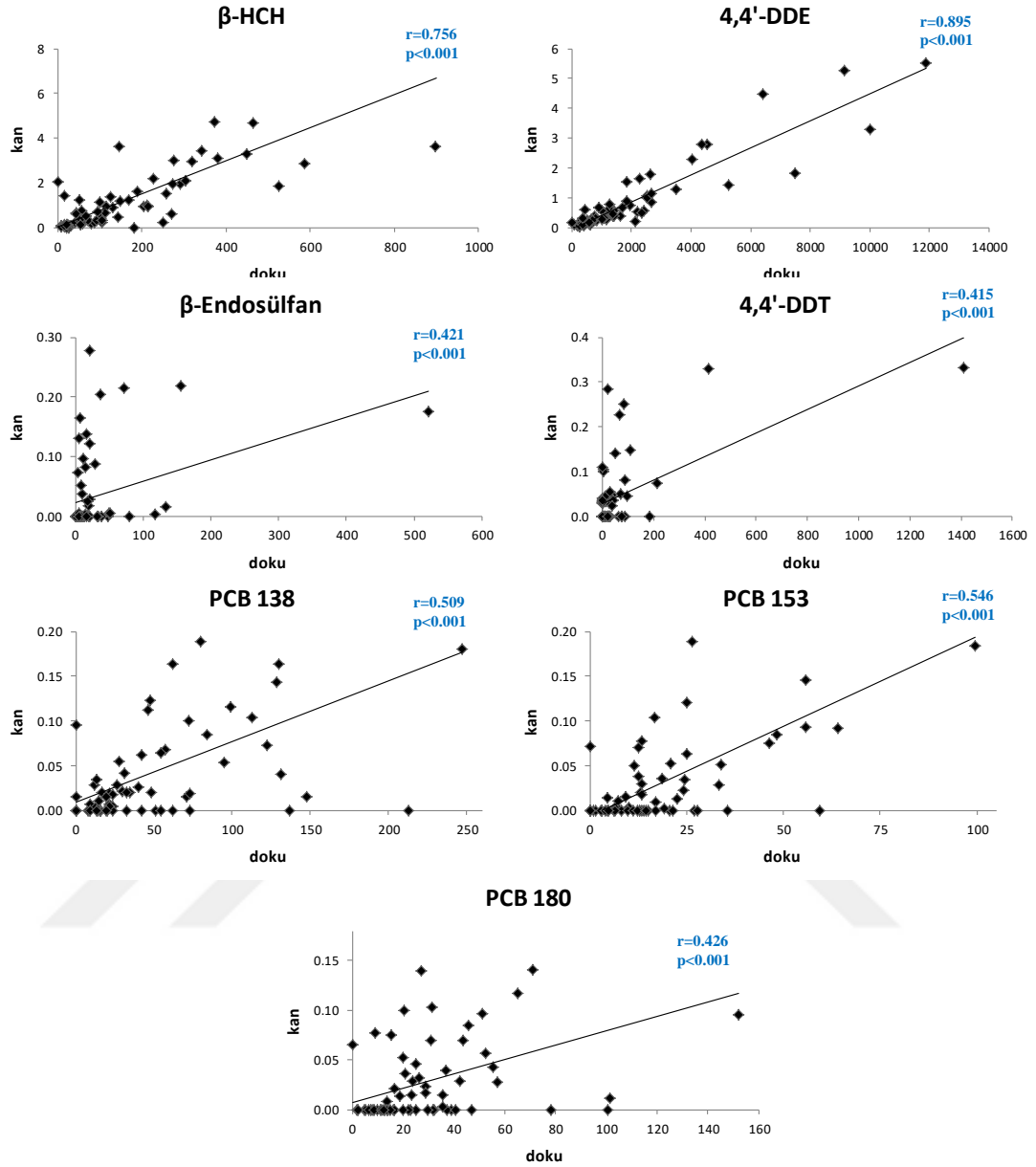
4.3. Kan ve Meme Dokusu KOK Konsantrasyonları Çapraz Korelasyon Bulguları

Tez çalışmasında diğer önemli bir amacımız organ konsantrasyonları ile birlikte kan konsantrasyonlarındaki seviyeler belirlenerek kanın internal KOK düzeylerini tahmin etmede biyogösterge olarak kullanılabilirliği olarak belirlenmiştir. Meme kontrol grubu ve meme kanser grubu gönüllülerinden alınan kan, sağlıklı doku ve kanserli dokularındaki KOK konsantrasyonlarının dokular arası çapraz korelasyonlarına ait değerler Tablo 4.3.1 ve Şekil 4.3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan ve meme dokusu KOK konsantrasyonları arası korelasyon analizi. İlk kolonda kontrol ve kanser gruplarında kan ve doku değerleri, istatistik gücü artırmak amacıyla ayrı ayrı teker grup olarak analiz edilmiştir. İkinci ve üçüncü kolonlarda ise her iki grubun kan ve doku düzeyleri kendi içerisinde korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Veriler normal dağılım göstermediğinden dolayı parametrik olmayan Spearman korelasyon testi ile analiz edilmişlerdir.

KOK Türü	Kontrol+ Kanser grubu (n:65)		Kontrol grubu (n:22)		Kanser grubu (n:43)	
	r	p	r	p	r	p
α -HCH	0.071	0.572	-0.010	0.963	0.115	0.464
β -HCH	0.756	<0.001	0.858	<0.001	0.740	<0.001
γ -HCH	0.095	0.450	-	-	-0.024	0.876
δ -HCH	-	-	-	-	-	-
Heptaklor	-0.083	0.511	-0.0210	0.348	-0.146	0.352
α -Endosülfan	-0.269	0.030	-0.373	0.087	-0.197	0.205
4,4'-DDE	0.895	<0.001	0.895	<0.001	0.906	<0.001
β -Endosülfan	0.421	<0.001	-	-	0.202	0.194
4,4'-DDD	0.100	0.428	-	-	0.050	0.751
Endrin aldehit	0.119	0.346	0.013	0.953	0.175	0.261

Endosulfan.SO₄	-0.102	0.417	-0.117	0.603	-0.088	0.577
4,4'-DDT	0.415	0.001	0.257	0.249	0.519	<0.001
PCB-28	0.205	0.101	-0.010	0.963	0.328	0.032
PCB-101	0.247	0.047	0.004	0.985	-0.185	0.235
PCB-138	0.509	<0.001	0.791	<0.001	0.438	0.003
PCB-153	0.546	<0.001	0.577	0.005	0.544	<0.001
PCB-180	0.426	<0.001	0.690	<0.001	0.415	0.006
PCB-77	-0.056	0.657	-0.048	0.833	-	-
PCB-114	0.162	0.197	0.292	0.187	0.094	0.547
PCB-105	-	-	-	-	-	-
PCB-126	-	-	-	-	-	-
PCB-167	0.030	0.813	0.086	0.703	0.037	0.812
PCB-156	-	-	-	-	-	-
PCB-157	-	-	-	-	-	-
PCB-169	-	-	-	-	-	-
PCB-189	-0.119	0.345	-	-	-0.149	0.340
PBDE-47	0.247	0.048	0.492	0.020	-	-
PBDE-100	-0.063	0.616	-0.069	0.761	-0.049	0.753



Şekil 4.3.1 Meme kontrol ve meme kanser grubu kan ve doku KOK konsantrasyonları arası korelasyon analizine ait istatistiksel açıdan önemli bulunan türevlerin grafikleri.

Sonuçlara baktığımızda organoklorlu pestisitlerden β -HCH ve 4,4'-DDE türevleri için hem meme sağlıklı grupta hem meme kanserli grupta hemde toplam grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir (p<0.001). 4,4'-DDT türevi için hem meme kanserli grupta hemde toplam sayıdaki kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir

(sırasıyla $p < 0.001$ ve $p = 0.001$). Meme toplam grupta organoklorlu pestisitlerden α -Endosülfan ($p = 0.03$) ve β -Endosülfan ($p < 0.001$) türevleri için kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir. Poliklorlu bifenil grubunda yer alan PCB 138 hem toplam grupta hem meme sağlıklı grupta hemde meme kanserli grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p = 0.003$). Poliklorlu bifenil grubunda yer alan PCB 153 hem toplam grupta hem meme sağlıklı grupta hemde meme kanserli grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.005$ ve $p < 0.001$). PCB 180 türevi için hem toplam grupta hem meme sağlıklı grupta hemde meme kanserli grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$ ve $p = 0.006$). Poliklorlu bifenil grubunda yer alan PCB 28 türevi için meme kanserli grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir ($p = 0.032$). PCB 101 türevi için toplam grupta kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir ($p = 0.047$). PBDE 47 türevi için hem toplam grupta hem de kontrol grubunda kan ve doku konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $p = 0.048$, $p = 0.020$).

Kan ve doku konsantrasyonları arasında 32 KOK türevinden toplam grup sonuçlarına göre baktığımızda 9 tanesinde anlamlı pozitif korelasyon gözlenirken 1 tanesinde negatif korelasyon gözlenmiştir. Pozitif korelasyon gözlenen KOK türevlerinden 4 tanesi organoklorlu pestisitler grubunda yer alırken 4 tanesi poliklorlu bifenil grubunda ve 1 tanesi de polibromlu difenil eter grubunda yer almaktadır. Negatif korelasyon gözlenen 1 türev organoklorlu pestisitler grubunda yer almaktadır.

4.4. KOK Biyotransformasyonu ve DNA Onarım Enzimleri Genetik Varyasyon

Çalışması Bulguları

Meme kontrol ve meme kanser hasta grubundan elde edilen DNA örneklerinde KOK'ların biyotransformasyonunda yer alması olası glutatyon S-transferaz izozimleri (GSTP1, GSTM1 ve GSTT1) ve sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) enzimleri kodlayan genler ile DNA onarım enzimi olan insan okzoguaninglikozilaz 1'i

(hOGG1) kodlayan genlerde gruplardaki genetik varyasyon oranları PCR tekniğiyle araştırılmıştır. Kontrol ve meme kanser grubunda bu enzimlere ait genetik varyasyon dağılımları Tablo 4.4.1, Tablo 4.4.3, Tablo 4.4.5, Tablo 4.4.7, Tablo 4.4.9,'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4.1. Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutasyon S-transferaz P1 (GSTP1) enziminin yabanıl tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları.

	GSTP1		
	WT	H	M
Kontrol	% 55.8 (n=24)	% 39.5 (n=17)	% 4.7 (n=2)
Meme Kanser	% 31.3 (n=10)	% 65.6 (n=21)	% 3.1 (n=1)

Bu tez çalışmasında yer alan gönüllülerden elde edilen polimorfizm verilerine göre meme kanseri gelişme riskine ait GSTP1 için ODD's Ratio değerleri ve istatistik verileri Tablo 4.4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.4.2 Meme kanseri grubunda GSTP1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımını ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant (M) bireyler bir arada “varyant gen” olarak değerlendirilmiş ve yabanıl tipe (WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır.

	Varyant Gen (H+M)			
	OR (%95 CI)	P	*OR (%95 CI)	P
GSTP1	2.779 (1.064-7.256)	0.037	1.077 (0.285- 4.063)	0.913
yaş	1.120 (1.062-1.181)	<0.001	1.172 (1.090-1.260)	<0.001
sigara	2.912 (1.081-7.846)	0.035	15.765 (3.086-80.527)	0.001

**Odds ratio (olasılıklar oranı) yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerdir.*

Tam olasılıklar oranına baktığımızda, GSTP1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabanıl tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 2.7 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (p=0.037). Yaşa bağlı olarak meme kanseri gelişme riskinin

kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin 2.9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.035$).

Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlere baktığımızda GSTP1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabancı tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 1.07 kat daha fazla olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaşa bağlı olarak ve sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin sırasıyla 1.12 kat ve 15.7 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.001$).

Tablo 4.4.3 Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutatyon S-transferaz M1 (GSTM1) enzimi açısından pozitif ve negatif (null) olan bireylerin yüzde dağılımları.

	GSTM1	
	+	-
Kontrol	% 59.1 (n=26)	% 40.9 (n=18)
Meme Kanser	% 57.9 (n=22)	% 42.1 (n=16)

Bu çalışmada yer alan gönüllülerden elde edilen polimorfizm verilerine göre meme kanseri gelişme riskinde null olanlarda bir farklılık olup olmadığının oranlarına bakılmıştır. GSTM1 ODD's Ratio değerleri ve istatistik verileri Tablo 4.4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4.4 Meme kanser grubunda GSTM1 null bireylerde yaş ve sigara kullanımı ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri.

Kontrol-Meme kanser	Null polimorfizm			
	OR (%95 CI)	P	*OR (%95 CI)	p
GSTM1	1.051 (0.435-2.535)	0.913	1.409 (0.423-4.692)	0.576
yaş	1.125 (1.068-1.185)	<0.001	1.151 (1.084-1.222)	<0.001
sigara	2.752 (1.062-7.130)	0.037	7.649 (2.007-29.155)	0.003

* Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerdir.

Tam olasılıklar oranına baktığımızda, GSTM1 enzimi kodlayan genin olmaması, bu gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 1.05 kat daha fazla olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaşa bağlı olarak meme kanseri gelişme riskinin 1.12 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). Sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin 2.7 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p = 0.037$).

Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlere baktığımızda GSTM1 enzimi kodlayan genin olmaması, bu gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 1.4 kat daha fazla olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaşa bağlı olarak ve sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin sırasıyla 1.15 kat ve 7.6 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.003$).

Tablo 4.4.5 Meme kontrol ve meme kanser grubunda glutatyon S-transferaz T1 (GSTT1) enzimi açısından pozitif ve negatif (null) olan bireylerin yüzde dağılımları.

	GSTT1	
	+	-
Kontrol	% 84.1 (n=37)	% 15.9 (n=7)
Meme Kanser	% 67.4 (n=29)	% 32.6 (n=14)

Polimorfizm verilerine göre meme kanseri gelişme riskinde hem olasıklar oranında hem de düzeltilmiş değerlerde verilmiştir. GSTT1 için ODD's Ratio değerleri ve istatistiki verileri Tablo 4.4.6'de verilmiştir.

Tablo 4.4.6 Meme kanser grubunda GSTT1 null bireylerde yaş ve sigara kullanımı ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri.

Kontrol-Meme kanser	null			
	OR (%95 CI)	P	*OR (%95 CI)	p
GSTT1	2.552 (0.912-7.143)	0.074	4.013 (1.010-15.952)	0.048
yaş	1.120 (1.067-1.176)	<0.001	1.150 (1.084-1.220)	<0.001
sigara	2.967 (1.172-7.458)	0.022	8.296 (2.196- 31.344)	0.002

**Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerdir.*

Tam olasılıklar oranına baktığımızda, GSTT1 enzimi kodlayan genin olmaması, bu gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 2.5 kat daha fazla olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaşa bağlı olarak meme kanseri gelişme riskinin 1.12 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin 2.9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.022$).

Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlere baktığımızda GSTT1 enzimi kodlayan genin olmaması, bu gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 4 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.048$). Yaşa bağlı olarak ve sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin sırasıyla 1.15 kat ve 8.2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p<0.001$ ve $p=0.002$).

Tablo 4.4.7 Meme kontrol ve meme kanser grubunda DNA oksidatif hasar onarım enzimlerinden human oxoguanineglycosylase 1 (hOGG1) enziminin yabanıl tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları.

	OGG1		
	WT	H	M
Kontrol	% 59.1 (n=26)	% 40.9 (n=18)	-
Meme Kanser	% 78.1 (n=32)	% 19.5 (n=8)	% 2.4 (n=1)

Meme kanseri gelişme riskinde sigara kullanımı ve yaş önemli rol oynadığı için düzeltme faktörü olarak kullanılmıştır. OGG1 için ODD's Ratio değerleri ve istatistiki verileri Tablo 4.4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.4.8 Meme kanseri grubunda OGG1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımı ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant (M) bireyler bir arada “varyant gen” olarak değerlendirilmiş ve yabanıl tipe (WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır.

Kontrol-Meme kanser	Varyant (h+m)			
	OR (%95 CI)	p	*OR (%95 CI)	p
OGG1	0.41 (0.16-1.05)	0.064	0.56 (0.16-2.0)	0.375
yaş	1.12 (1.07- 1.17)	<0.001	1.13 (1.07-1.199)	<0.001
sigara	2.94 (1.15-7.48)	0.024	7.74 (2.07-28.90)	0.002

**Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş OR değeri.*

Tam olasılıklar oranına baktığımızda, OGG1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabanıl tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinde anlamlı artış saptanmamıştır. Yaşa bağlı olarak meme kanseri gelişme riskinin 1.11 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (p<0.001). Sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin 2.9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (p=0.024).

Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlere baktığımızda OGG1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabanıl tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinde anlamlı artış saptanmamıştır. Yaşa bağlı olarak ve sigara

kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin sırasıyla 1.13 kat ve 7.7 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.002$).

Tablo 4.4.9 Meme kontrol ve meme kanser grubunda faz I oksidatif biyotransformasyon enzimlerinden cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) enziminin yabanıl tip (wild type; WT), heterozigot (H) ve mutant (M) yüzde dağılımları

	CYP1A1		
	WT	H	M
Kontrol	% 88.6 (n=39)	% 11.4 (n=5)	-
Meme Kanser	% 67.6 (n=25)	% 29.7 (n=11)	% 2.7 (n=1)

Polimorfizm verilerine göre enzimi kodlayan genin varyant olması ve sigara kullanımı ile meme kanseri gelişme riskini ne kadar değişebileceğini tahmin edebiliriz. CYP1A1 için Odd's Ratio değerleri ve istatistiksel verileri Tablo 4.4.10 'de verilmiştir.

Tablo 4.4.10 Meme kanser grubunda CYP1A1 polimorfik bireylerde yaş ve sigara kullanımı ayrı ayrı ve birlikte risk faktörü olarak kabul edildiğinde hesaplanan Olasılık Oranı (OR) değerleri. Analizde heterozigot (H) ve mutant (M) bireyler bir arada "varyant gen" olarak değerlendirilmiş ve yabanıl tipe (WT) göre sapma olarak dikkate alınmıştır.

Kontrol-Meme kanser	Varyant (H+M)			
	OR (%95 CI)	p	*OR (%95 CI)	p
CYP1A1	3.74 (1.18-11.92)	0.025	6.07 (1.23-29.95)	0.027
yaş	1.11 (1.06-1.17)	<0.001	1.14 (1.08-1.21)	<0.001
sigara	3.22 (1.24-8.37)	0.016	6.62 (1.76-24.87)	0.005

*Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlerdir.

Ham olasılıklar oranına baktığımızda, CYP1A1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabancı tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 3.74 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.025$). Yaşa bağlı olarak meme kanseri gelişme riskinin 1.11 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin 3.2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.016$).

Yaş ve sigara kullanımına göre düzeltilmiş değerlere baktığımızda CYP1A1 enzimi kodlayan genin varyant olması yabancı tip gene sahip olanlara göre meme kanseri gelişme riskinin 6 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p=0.027$). Yaşa bağlı olarak ve sigara kullananlarda meme kanseri gelişme riskinin sırasıyla 1.14 kat ve 6.6 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p<0.001$ ve $p=0.005$).



Tartışma

Bu tez çalışmasında meme kanseri tanısı konarak tümör eksizyonu yapılan hastaların (kanser grubu) kanserli dokularında kalıcı organik kirletici (KOK) türevi 32 maddenin konsantrasyonu belirlenerek meme küçültme ameliyatlarından sağlanan sağlıklı meme dokusu (kontrol grubu) konsantrasyonları ile karşılaştırılmış ve çevresel yoldan maruz kalınan bu kirleticilerle kanser ilişkisi analiz edilmiş, kanser grubu konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır. Aynı kirleticiler kanser ve kontrol grubu bireylerden eşzamanlı sağlanan kan örneklerinde de ölçülmüş ve her bir kirletici için kan konsantrasyonları ile doku konsantrasyonları arasında bir ilişki olup olmadığı analiz edilmiştir. Son olarak kanser ve kontrol bireylerinin lenfositlerinden izole edilen DNA örnekleri kullanılarak söz konusu kirleticilerin organizmada biyotransformasyonunu katalize etmesi beklenen bazı faz I ve faz II enzimlerinden cytochrome P4501A1 (CYP1A1), glutathione S-transferase P1 (GSTP1), glutathione S-transferase M1 (GSTM1) ve glutathione S-transferase T1 (GSTT1)'in yanısıra oksidatif DNA hasarı onarımında görevli bir enzim olan human oxoguanineglycosylase 1 (hOGG1)'in genetik varyasyonu her iki grupta analiz edilmiş, böylece beyaz ırkta bazıları oransal, bazıları null (ya hep, ya hiç) genetik polimorfizm özelliğine sahip olan bu enzimlerdeki olası genetik varyasyonların meme kanseri oluşumu ve/veya gelişimi açısından bir risk faktörü olup olmadığı analiz edilmiştir. Kontrol ve kanser gruplarının demografik özellikleri ve diğer bazı değişkenler kaydedilerek bunlardan sigara içme ve yaş, olasılık oranı hesaplarında düzeltme faktörü olarak kullanılmıştır.

Endüstrileşmeye paralel olarak çevresel kirlenmedeki artış hem toplumsal düzeyde, hem de bilimsel ortamlarda birçok hastalıkla birlikte kanser türleri ile de yakından ilişkilendirilmektedir. Bir kısım çevresel kirletici için bugüne kadar yapılan bilimsel araştırmalarla gösterilmiş olan bu ilişki, çevresel kirleticilerin nitelik ve nicelik bakımından sürekli çeşitlenmesi ve artışı nedeniyle diğer kimyasal madde grupları için de bir soru işareti ve endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Bu tez çalışmasında kanserli ve sağlıklı bireylerin kan ve meme dokularında konsantrasyonları ölçülmüş olan çevresel kirleticiler, *United Nations Environmental Programme* (UNEP) tarafından *yüksek öncelikli çevresel kirletici* (high priority

environmental pollutant) grubunda yer alan organoklorlu pestisitler (OCP), poliklorlubifeniller (PCB) ve polibromlu difenil eterlerdir (PBDE). Tez çalışmasına başlandıktan 3 yıl sonra toplamda 32 adet olan analizi yapılan bu kirleticilerden PCB grubunun tamamı IARC tarafından *Grup I insan karsinojeni* olarak tanımlanmış, OCP grubundan DDT ve metabolitleri olan DDD ve DDE, bunun yanı sıra tüm PBDE türevleri ise *Grup II karsinojen* olarak tanımlanmıştır. Dünya Sağlık örgütü (WHO) organı olan IARC'nin değerlendirmeleri, söz konusu kimyasal madde için o güne değin yapılmış bilimsel çalışmalardan belli kalite ölçütlerine uyanların “weight of evidence” yaklaşımı esas alınarak değerlendirilmesi ve var olan verilerin ikna ediciliğine bağlı olarak madde konusunda bir karara varılması şeklinde yapılır. PCB-HCH türevlerinin dahil edildiği *Grup I insan karsinojeni* tanımının ölçütü, insanlarda söz konusu maddeye maruz kalmakla belirli bir kanser türünün oluşumu/gelişimi arasında yeterli düzeyde veri bulunmasıdır. *Grup II karsinojen* sınıfının ölçütü ise literatürde maddenin insanda karsinojenik olduğuna ilişkin sınırlı kanıt olmasıdır (Agents Classified by the IARC Monographs Volumes 1–121, 2018) (Agents Classified by the IARC Monographs, 2018) (Agents Classified by the IARC Monographs, 2018) (IARC, 2019) (IARC, 2019).

Ancak bu değerlendirmelerdeki ana sorun, literatürde yer alan ve çevresel kirleticilere maruz kalma ile kanser arasında olası bir ilişkiye yönelik yapılan çalışmaların çok büyük bir çoğunluğunda maruz-kalım bilgisinin analitik ölçüme değil, çalışmaya katılan bireylerin sözlü beyanlarına dayanmasıdır. Araştırılan çevresel kirleticilere maruz kalınma olasılığı olan mesleklerde ne kadar süre çalışıldığı, kirlilik olasılığı olan ya da bilinen coğrafi bölgelerde ne kadar süre yaşandığı gibi bilgilerden kestirimle bulunan tahmini bir değer kabul edilmekte ve istatistik analizlerde bu değerler kullanılmaktadır. Bunun sebebi, insani ve etik nedenlerden dolayı insanlarda deney hayvanlarında olduğu gibi etkisi bilinmeyen bir maddenin verilip sonuçlarının incelendiği deneysel çalışmaların yapılamaması ve/veya insanlarda iç organlardan çalışma amaçlı biyopsi örneği alınamamasıdır.

Literatürde yayınlanmış çalışmalardaki bu zayıflığı aşmak ve KOK türevlerine maruz kalımı somut ve güvenilir bir biçimde belirlemek amacıyla bu tez çalışmasında benimsediğimiz yaklaşım, halihazırda kanser nedeniyle tümör dokusu çıkarılacak olan hastalardan patolojik inceleme sonrası tıbbi atık olacak dokuların kullanılması ve her bir bireyin doku düzeyinin doğrudan analitik olarak ölçülmesidir. Tez

konusunun meme kanseri olması, bu dokuda estetik amaçlı meme küçültme ameliyatları da yapıldığı için aynı zamanda sağlıklı (tümörleşmemiş) meme dokusuna da ulaşmamızı, dolayısıyla kontrol amaçlı doku düzeylerini de belirlememizi sağlamıştır.

Kan kalıcı organik kirletici düzeyleri ve kanserle ilişkisi

Tez çalışmasında elde edilen kan KOK düzeylerine baktığımızda kanser grubunda kontrol grubuna kıyasla OCP türevlerinden α -HCH düzeyinde anlamlı derecede düşük değer gözlenirken β -HCH, γ -HCH ve β -endosülfan düzeylerinde anlamlı yüksek değerler gözlenmiştir. Dioksin benzeri (db) olanlar dahil toplam 14 PCB türevinden sadece PCB-101 ve db-PCB-157 düzeylerinde anlamlı yüksek değerler belirlenmiştir; PCB-101 kanser grubunda, db-PCB-157 ise kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. PBDE düzeylerinde ise anlamlı bir farklılık yoktur. Kan diğer dokulara göre çok daha akışkan ve dinamik bir dokudur, ayrıca kimyasal maddelere maruz-kalım sonrası hedef dokulara ulaşmadan önce geçtikleri ilk ortamdır. Kimyasal maddelerin hedef dokuya ulaşmalarının ardından bu dokularda biyotransformasyonları ve uzaklaştırılmaları, tekrar kana geçme oranları ve süreleri, kısacası kinetik olaylar, her bir maddenin fizikokimyasal özelliklerine, maddenin hedef doku ile etkileşme şekline bağlı olacak şekilde oldukça karmaşık süreçlerdir. Tez çalışmasında analizi gerçekleştirilen KOK türevleri hem yağda çözünürlüğü yüksektir, hem de yapısal açıdan enzimatik ya da kimyasal parçalanmaya çok dayanıklı bileşiklerdir. Bu iki nedenden dolayı KOK türevleri biriktikleri adipöz dokularda ve diğer dokuların yağ fazlarında çok uzun süre kalmakta, dokulardaki yarılanma ömürleri çok uzun olabilmektedir; yani doku düzeylerinin kana göre daha stabil olması beklenir. Ani kilo kayıplarında kanda KOK türevlerinin miktarında da ani artışlar olduğu bilinmektedir (Ohmiya & Nakai, 1977). Kan, hedef dokulardan farklı olarak kimyasal maddeler açısından iki yönlü giriş çıkışı olan bir dokudur; bir yandan hedef doku ile bağlantıda iken bir taraftan da organizmanın ana çıkış yerleri olan böbrekler (glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon) ve karaciğer (safra atılım) ile ilişki halindedir. Bu nedenlerden dolayı kontrol grubunda OCP türevlerinden α -HCH düzeyinin kanser grubuna göre anlamlı derecede yüksek olması, ameliyat öncesi ani kilo değişimi başta olmak üzere çoklu faktörler nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. İlginç bir şekilde diğer HCH türevleri olan β -HCH ve γ -HCH kan düzeyleri benzer bir özellik göstermemektedir; bu farkın bu üç izomer arasındaki

fizikokimyasal farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kontrol ve kanser gruplarının PBDE türevleri kan düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. PBDE türevleri beklendiği şekilde kanda ve ilerleyen sayfalarda tartışılacak olan dokuda OCP ve PCB türevlerine göre çok daha düşük düzeylerde bulunmaktadır; bu madde grubu nispeten daha sonraki yıllarda üretilmiş ve kullanılmaya başlamıştır, ayrıca endüstriyel olarak kullanılan miktarlar, dolayısıyla fiziksel çevreye yayılan miktarlar çok daha düşüktür.

Doku kalıcı organik kirlenici düzeyleri ve kanserle ilişkisi

OCP türevlerinin kanser grubu meme dokusu düzeylerine baktığımızda β -HCH, heptaklor, β -endosülfan, 4,4'-DDD ve endrin aldehitin kontrol grubuna kıyasla önemli derecede yüksek olduğu görülmektedir, buna karşın α -endosülfan kanser grubunda daha düşük bulunmuştur. PCB türevlerinden PCB-101, PCB-180, db-PCB-114 ve db-PCB-167'nin kanser grubu meme dokusundaki düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksektir. Buna karşın PCB-28 ve db-PCB-105 düzeyleri kanser grubu dokularında daha düşük bulunmuştur. PCB türevlerinin tamamı IARC tarafından insan karsinogeni olarak tanımlandığı için bu 4 türevin kanserli dokularda oldukça yüksek bulunması önemlidir ve bu maddelerin bir şekilde tümör oluşumu ve/veya gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Diğer taraftan oran olarak az da olsa 2 PCB türevinin kanserli dokularda daha düşük bulunması bunların biyotransformasyon oranlarında ve/veya dokudan kana taşınması süreci olan faz III biyotransformasyonda farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir. Bu açıdan literatürde bir çalışmaya rastlanmamıştır; bu tür verilerin sonraki deneysel çalışmalarla üretilmesi, KOK türevlerinin doku düzeylerinin daha doğru yorumlanmasını sağlayacaktır.

Literatürde çalışmamıza benzer şekilde meme dokusunda bazı KOK türevlerinin ölçüldüğü üç çalışma vardır; bu çalışmalarda bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu bir şekilde 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, PCB-138 ve PCB-153'ün kontrol ve kanser doku konsantrasyonları arasında bir fark gözlenmemiştir (Zheng ve diğerleri, 1999) (Muscat ve diğerleri, 2003). Tez çalışmamızda PBDE türevlerinin kan ve doku düzeyleri, OCP ve PCB türevlerinin düzeylerine göre çok düşük düzeydedir, ayrıca analiz edilen toplam 5 PBDE türevinden sadece 2 tanesi belirlenebilmiştir. Hurley ve ark.'nın bildirdiğine benzer şekilde çalışmamızda PBDE doku düzeyleri ile meme kanseri arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir (Hurley ve diğerleri, 2011).

Kan ve doku kalıcı organik kirletici düzeyleri arası ilişki

Tez çalışmasının ikinci ana amacı, kan ve dokuda ölçülen KOK türevleri arasında herhangi bir ilişki varlığının araştırılmasıdır. Bu amaçla iki farklı biyolojik örnek konsantrasyonları arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle konsantrasyonlar *ortalama değer ± standart sapma* yerine *medyan değer (min.-maks. değerleri)* şeklinde ifade edilmiş, aynı nedenden dolayı korelasyon analizinde parametrik olmayan bir test olan Spearman korelasyon testi uygulanmıştır. Kontrol (n=22) ve kanser grubu (n=43) birey sayıları nispeten düşük olduğu için korelasyon analizinde 2 farklı yol izlenmiş her iki grubun kan ve doku konsantrasyonları kendi içinde analiz edilmiş, ayrıca olası bir korelasyon ilişkisi kanserden bağımsız olabileceği için kontrol ve kanser grupları birleştirilerek *n* sayısı artırılmış ve bu şekilde de analiz edilmiştir. Böylece uygulanan testin istatistik gücü artırılmış ve dolayısıyla güvenilirliği ve hassasiyeti de artırılmıştır. Bu ikinci yaklaşımda kontrol ve kanser gruplarının ayrı ayrı kendi içinde değerlendirildiği duruma göre fazladan üç KOK türevindeki korelasyon da belirlenebilmiştir. Kontrol grubunda 6, kanser grubunda 7 ve gruplar birlikte analiz edildiğinde 10 KOK türevinin kan ve doku konsantrasyonları arasında güçlüden orta dereceye kadar değişen korelasyonlar belirlenmiştir. Bu testi uygulamamızın amacı, insanlarda tanı amaçlı dokulardan rutin biyopsi almak mümkün olmadığından dolayı aynı parametre için kanın kullanılıp kullanılamayacağını belirlemesidir. Kan ve doku KOK konsantrasyonları arasında bir korelasyon bulunması durumunda insanlarda dokuya kıyasla nispeten invazif olmayan bir örnekleme tipi olan kan alınarak söz konusu KOK türevlerinin doku düzeylerini tahminen belirlemek mümkün olacak, dolayısıyla bireyin sağlık durumu ile ilgili yorum yapılabilecektir. Bu yaklaşım araştırma grubumuzun yakın geçmişte yaptığı ve yayınladığı bir başka çalışma sonuçları temel alınarak uygulanmıştır; söz konusu çalışmada aynı KOK türevlerinin konsantrasyonları yabancı sokuşlarının kan ve farklı dokularında ölçülmüş ve korelasyon analizleri yapılmış çeşitli KOK türevleri için anlamlı korelasyonlar belirlenmiştir (Kocagöz ve diğerleri, 2014). Sokuşları kan ve dokuları arasında korelasyon belirlenen KOK türevleri, bu tez çalışmasında insan kan ve meme dokusunda korelasyon belirlenen KOK türevleri ile karşılaştırıldığında ilginç bir şekilde benzer maddelerin her iki türde de dokular arasında korele olduğu gözlenmiştir. Literatürde benzer ancak sınırlı tek bir çalışma bulunmaktadır. Bizim

çalışmamızda 4,4'-DDE türevi için bu çalışma ile uyumlu sonuçlar elde edilirken, PCB-138, PCB-153 ve PCB-180 türevleri için zıt sonuçlar elde edilmiştir (Artacho-Cordón ve diğerleri, 2015).

Birey sayısının artırılmasıyla farklı araştırma gruplarınca da yapılabilecek ileri çalışmalarla söz konusu KOK türevlerinin kan ve doku konsantrasyonları arasındaki korelasyonların doğrulanması durumunda bu türevlerin kan konsantrasyonlarının bir biyogösterge olarak kullanılması söz konusu olabilir, dolayısıyla bu sağlık taramaları ve koruyucu sağlık hizmetleri açısından önemli olabilir.

Gruplarda enzimlerin genetik varyasyonu ve kanserle ilişkisi

Tez çalışmasında araştırdığımız bir başka konu, KOK türevlerinin organizmada biyotransformasyonundan sorumlu olan faz I oksidasyon enzimi cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) ve faz II konjugasyon enzimlerinden glutatyon S-transferaz P1 (GSTP1), glutatyon S-transferaz M1 (GSTM1) ve glutatyon S-transferaz T1 (GSTT1)'in beyaz ırkta (Caucasian) genel olarak gözlenen genetik varyasyon oranlarının kanserli bireylerde farklı olup olmadığını araştırılması, bir başka deyişle meme kanseri oluşumu/gelişimi açısından bu enzimlerdeki genetik varyasyonun bir risk faktörü olup olmadığını belirlenmesidir. KOK türevlerinin biyotransformasyonunu katalize etmesi olası olan bu enzimlerin yanı sıra bu kirleticilerin doğrudan ya da metabolitleri aracılığıyla dolaylı olarak neden olabileceklere DNA oksidatif hasarını onaran enzimlerden birisi olan human oxoguanineglycosylase 1 (hOGG1) enziminin genetik varyasyon oranları da yine meme kanser grubunda araştırılmış ve aynı şekilde bu enzimdeki olası bir polimorfizm oran farklılığının meme kanserine yatkınlığa neden olup olmadığı belirlenmiştir. Gruplarda genetik varyasyonu araştırılan enzimlerden GSTM1 ve GSTT1, diğer enzimlerden farklı olarak ya tam olarak eksprese edilen, ya da hiç eksprese edilmeyen, yani “null” genetik polimorfizm gösteren enzimlerdir. Bu nedenle bu enzimlerin genetik varyasyon yüzdeleri, “var” ya da “yok” şeklinde bildirilmiştir. Aksine diğer enzimlerin toplum genelinde gözlenen yabancıl tipi (WT) ve daha düşük oranlarda olacak şekilde heterozigot (H) ya da mutant (M) varyeteleri vardır. Bu nedenle bu enzimlerin genetik polimorfizmleri bu oranları temsil edecek şekilde WT, H ve M olarak bildirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar GSTP1 enzimi genetik polimorfizmi açısından heterozigot bireylerin kanser grubunda kontrol

grubuna kıyasla 2 kat daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu oran farkı, aynı zamanda meme kanserine yatkınlıkta %95 güvenlik aralığında (95% CI) Olasılık Oranının da (OR) anlamlı derecede yüksek çıkmasına (OR: 2.79) neden olmuştur. Kanser grubunda yaş ve sigara kullanımının tek başına risk faktörü olup olmadığı analiz edildiğinde sırasıyla 1.120 ve 2.92 OR değerleri elde edilmiştir ve her ikisi de anlamlıdır. Enzim polimorfizmi ile birlikte yaş ve sigara kullanımına göre düzeltme yapıldığında istatistik olasılık sırasıyla 1.172 ve sigara kombinasyonunda çok güçlenerek 15.76'ya ulaşmıştır. Her 3 faktörün birlikte değerlendirildiği durumda ise OR değeri 1.08'e düşerek istatistik önemini kaybetmiştir.

GSTM1 enziminde durum farklıdır; null polimorfizm oranları kontrol ve kanser grubunda farklı değildir ve meme kanserinde risk faktörü değildir ($p=0.913$). Buna karşın bu grupta da yaş ve sigara, risk faktörü olarak belirlenmiştir.

Diğer null polimorfizm gösteren GSTT1 izozimi tek başına meme kanseri için önemli bir risk faktörüdür (OR=2.55). Aynı şekilde yaş ve sigara bu grupta da tek başlarına ve gerek enzimle ikili, gerek 3 faktör birarada olduğunda önemli derecede risk faktörü olmaya devam etmektedirler.

Buna karşın DNA oksidatif hasarı onarım enzimi olan hOGG1 polimorfizmi meme kanseri için risk faktörü oluşturmamaktadır. Bu sonuç, KOK türevlerine bağlı olası bir kanserde oksidatif DNA hasarının rolü olmadığını düşündürmektedir.

Genetik varyasyonu araştırılan enzimler arasında meme kanseri için en güçlü risk, CYP1A1 için belirlenmiştir. KOK türevlerini aktive ettiği bilinen bu faz I enzimi tek başına 3.74'lük bir OR değerine sahiptir ($p=0.025$). Sigara içimi ve yaşa göre düzeltme yapıldığında OR=6.07'ye yükselmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, meme dokusunda biriken bazı çevresel kirleticilerin meme kanser oluşması ve/veya gelişmesi sürecinde rol oynayabileceklerini göstermektedir. Ayrıca bu maddelerin vücutta biyotransformasyonlarını katalize eden bazı enzimlerin genetik polimorfizmlerinin meme kanserinde önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca yaş ve sigara kullanımı da meme kanserinde risk faktörü olarak ortaya çıkmaktadır.

Çalışmanın insan dokularında yapılmış olması, yüksek sayılarda dokuya ulaşılması önündeki en önemli engel olmuştur; yeterli sayıda ameliyat olmaması, hastaların ya da kontrol grubunu oluşturan bireylerin tamamının çalışmaya katılmayı kabul etmemesi gibi nedenler, elde ettiğimiz örnek sayılarının nispeten düşük kalmasına neden olmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar yine de istatistiksel açıdan güvenilirdir. Buna karşın çalışma sonuçlarının gösterdiği bazı ayrıntıların ileri çalışmalarla netleştirilmesi konuya önemli bir katkı sunacaktır. Özellikle bazı KOK türevlerinin kan ve doku konsantrasyonlarının korelasyonu, daha yüksek sayıda bireyde araştırılmalı ve sonuçlarımızla uyumlu olması durumunda biyogösterge amaçlı olarak özellikle risk grubunu oluşturan ileri yaşta, sigara içen ve ilgili enzim genlerinde polimorfizme sahip kadınlarda uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

- McKinney, J., & Wailer, C. (1994). Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural. *Environmental Health Perspectives*, 102(3), s. 290-297.
- T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı. (2018, Mayıs 9). *Stockholm Sözleşmesi*. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü kimyasallar yönetimi dairesi başkanlığı:
<http://www.csb.gov.tr/projeler/kimyasallar/index.php?Sayfa=sayfa&Tur=webmenu&Id=14715> adresinden alındı
- Agents classified by the IARC Monographs. (2015, Aralık 15).
<https://monographs.iarc.fr>: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications> adresinden alındı
- Agents Classified by the IARC Monographs. (2018, Mayıs 19).
<http://monographs.iarc.fr>: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/> adresinden alındı
- Agents Classified by the IARC Monographs. (2018, Mayıs 19).
<http://monographs.iarc.fr>:
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>.
adresinden alındı
- Agents Classified by the IARC Monographs Volumes 1–117*. (2018, Mayıs 19).
http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/List_of_Classifications.pdf
adresinden alındı
- Agents Classified by the IARC Monographs Volumes 1–121*. (2018, Mayıs 19).
http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/List_of_Classifications.pdf
adresinden alındı
- Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1–125*. (2019, Aralık 15).
<https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications> adresinden alındı
- Aronson, K., Miller, A., Woolcott, C., Sterns, E., McCready, D., Lickley, L., & Weber, J. (2000). Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiology*, 9, 55-63.
- Arrebola, J., Cuellar, M., Claire, E., Quevedo, M., Antelo, S., Mutch, E., & Mercado, L. (2012). Concentrations of organochlorine pesticides and

- polychlorinated biphenyls in human serum and adipose tissue from Bolivia. *Environmental Research*, 40–47.
- Artacho-Cordón, F., Fernández-Rodríguez, M., Garde, C., Salamanca, E., Iribarne-Durán, L., Torné, P., & Arrebola, J. (2015). Serum and adipose tissue as matrices for assessment of exposure to persistent organic pollutants in breast cancer patients. *Environmental Research*, 142, 633–643.
- Baccarelli, A., Wright, R., Bollati, V., Tarantini, L., Litonjua, A., Suh, H., & Schwartz, J. (2009). Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *Am J Respir Crit Care Med*, 572–578.
- Bhatia, S., & Venkatasubramanian, T. (1972). Mechanism of dieldrin-induced fat accumulation in rat liver. *J Agric Food Chem*, 993–996.
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Invasive Lobular Carcinoma (ILC)*. <https://www.breastcancer.org/symptoms/types/ilc> adresinden alındı
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Non-Invasive or Invasive Breast Cancer*. <https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/invasive> adresinden alındı
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Invasive Ductal Carcinoma (IDC)*. <https://www.breastcancer.org/symptoms/types/idc> adresinden alındı
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Metastatic Breast Cancer*. https://www.breastcancer.org/symptoms/types/recur_metast adresinden alındı
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Phyllodes Tumors of the Breast*. <https://www.breastcancer.org/symptoms/types/phyllodes> adresinden alındı
- Breastcancer.org. (2018, Aralık 23). *Types of Breast Cancer*. <https://www.breastcancer.org/symptoms/types> adresinden alındı
- Buser, H. v. (1995). Isomer-selective and enantiomeraselective determination of DDT and related compounds using chiral high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and chiral high-performance liquid chromatography. *Anal chem*, 2691–2698.
- Chacon-Cortes, D., Haupt, L., Lea, R., & Griffiths, L. (2012). Comparison of genomic DNA extraction techniques from whole blood samples: a time, cost and quality evaluation study. *Mol Biol Rep.*, 39, 5961-5966.
- Colditz, G. (1998). Relationship between estrogen levels, use of hormone replacement therapy, and breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(11), 814-823.

- Collotta, M., Bertazzi, P., & Bollati, V. (2013). Epigenetics and pesticides. *Toxicology*, 35–41.
- Çağdaş, B., Kocagöz, R., Onat, I., Perçin, F., Özaydın, O., & Orhan, H. (2017). Periodic monitoring of persistent organic pollutants and molecular damage in *Cyprinus carpio* from Büyük Menderes River. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 4241–4251.
- De Coster, S. v. (2012). Endocrine-Disrupting Chemicals: Associated Disorders and Mechanisms of Action. *Journal of Environmental and Public Health*, 696–713.
- Dorgan, J., Brock, J., Rothman, N., Needham, L., Miller, R., Stephenson, H., & Taylor, P. (1999). Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes and Control*, 10, 1-11.
- EPA. (2018, Mayıs 9). *An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers*. <https://ofmpub.epa.gov>:
https://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=496489
adresinden alındı
- EPA. (2018, Mayıs 6). *PCB Information Leaflet*. <https://www.epa.ie>:
<https://www.epa.ie/pubs/forms/surveys/PCB%20Information%20Leaflet.pdf>
adresinden alındı
- EPA. (2018, Mayıs 9). <https://cfpub.epa.gov>. An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers (Pbde) (Final):
https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?direentryid=210404
adresinden alındı
- EPA. (2018, Mayıs 9). <https://cfpub.epa.gov>. An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers (Pbde) (Final):
https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?direentryid=210404
adresinden alındı
- Fromme, H. K. (2009). Human exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDE), as evidenced by data from a duplicate diet study, indoor air, house dust, and biomonitoring in Germany *Environ*. 1125–113.
- Hakk, H. H. (2010). Metabolism of 2,2', 4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in chickens. *J Agric Food Chem*, 8757–8762.

- Hale, R. L. (2001). Polybrominated diphenyl ether flame retardants in Virginia freshwater fishes (USA). *Environ Sci Technol*, 4585–4591.
- Harrad. (2010). Persistent Organic Pollutants.
- Harries, L., Stubbins, M., Forman, D., Howard, G., & Wolf, C. (1997). Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis*, 18(4), 641-644.
- Hayashi, S., Watanabe, J., Nakachi, K., & Kawajiri, K. (1991). Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *Journal of Biochemistry*, 11, 407-411.
- Holmes, A., Koller, K., Kieszak, S., Sjodin, A., Calafat, A., Sacco, F., & Rubin, C. (2014). Case-control study of breast cancer and exposure to synthetic environmental chemicals among. *International Journal of Circumpolar Health*, 73.
- Howell, C. B. (2001). Genomic imprinting disrupted by a maternal effect mutation in the Dnmt1 gene. *Cell*, 829–838.
- Hurley, S., Reynolds, P., Goldberg, D., Nelson, D., Jeffrey, S., & Petreas, M. (2011). Adipose levels of polybrominated diphenyl ethers and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 129, 505-511.
- IARC. (2019, Kasım 26). *Agents Classified by the IARC Monographs*. <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc> adresinden alındı
- IARC. (2019, Kasım 26). *IARC Monographs Questions and Answers*. <https://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/Monographs-Q&A.pdf> adresinden alındı
- Jandacek, R., Anderson, N., Liu, M., Zheng, S., Yang, Q., & Tso, P. (2005). Effects of yo-yo diet, caloric restriction, and olestra on tissue distribution of hexachlorobenzene. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, G292–G299.
- Jinhui, L., Yuan, C., & Wenjing, X. (2015). Polybrominated diphenyl ethers in articles: a review of its applications and legislation. *Environ Sci Pollut Res*, 4312–4321.

- Kajiwara, N. v. (2013). Emission behavior of exabromocyclododecanes and polybrominated diphenyl ethers from flame-retardant-treated textiles. *Environ Sci- Process Impacts*, 1957–1963.
- Kanthisamy, A., Jin, H., Anantharam, V., Sondarva, G., Rangasamy, V., Rana, A., & Kanthisamy, A. (2012). Emerging neurotoxic mechanisms in environmental factors-induced neurodegeneration. *Neurotoxicology*, 833–837.
- Karaca, M., Varisli, L., Korkmaz, K., Ozaydin, O., Percin, F., & Orhan, H. (2014). Organochlorine pesticides and antioxidant enzymes are inversely correlated with liver enzyme gene expression in *Cyprinus*. *Toxicology Letters*, 230, 198–207.
- Kemmlin, S., Hahn, O., & Jann, O. (2003). Emissions of organophosphate and brominated flame retardants from selected consumer products and building materials. *Atmos. Environ*, 5485-5491.
- Kim, J., Park, Y., Kim, K., Kim, J., Song, B., Lee, M., & Chang, S. (2003). hOGG1 Ser326Cys polymorphism modifies the significance of the environmental risk factor for colon cancer. *World J Gastroenterol*, 9(5), 956-960.
- Kim, K. K. (2010). Association of low-dose exposure to persistent organic pollutants with global DNA hypomethylation in healthy Koreans. *Environmental Health Perspectives*, 370–374.
- Kocagöz, R., Onmuş, O., Onat, I., Çağdaş, B., Sıkı, M., & Orhan, H. (2014). Environmental and biological monitoring of persistent organic pollutants in waterbirds by non-invasive versus invasive sampling. *Toxicology Letters*, 230, 208–217.
- Kossoff, G. F. (1973). Average velocity of ultrasound in the human female breast. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 730-1736.
- Kwok, J. (2010). Role of epigenetics in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Epigenomics*, 671–682 .
- Lemaire, G. T. (2004). Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 235–246.
- López-Carrillo, L., Torres-Sánchez, L., López-Cervantes, M., Blair, A., Cebrián, M., & M., U. (1999). The adipose tissue to serum dichlorodiphenyldichloroethane (dde) ratio: some methodological considerations. *Environ.Res. Section A*, 142–145.

- Ly, D., Forman, D., Ferlay, J., Brinton, L., & Cook, M. (2013). An international comparison of male and female breast cancer. *International Journal of Cancer*, 132, s.1918–1926.
- Maloney, B. S. (2012). Applying epigenetics to Alzheimer's disease via the latent early-life associated regulation (LEARn) model. *Current Alzheimer Research*, 589-599.
- Manikkam, M., Guerrero-Bosagna, C., Tracey, R., Haque, M., & Skinner, M. (2012). Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. *Environmental Epigenetics & Inheritance of Disease*.
- Marsit, C. E. (2006). MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res*, 10843-10848.
- McClure, E., North, C., Kaminski, N., & Goodman, J. (2011). Changes in DNA methylation and gene expression during 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced suppression of the lipopolysaccharide-stimulated IgM response in splenocytes. *Toxicol Sci*, 339–348.
- McLachlan, J. S. (2006). M. Endocrine disrupters and female reproductive health. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 63–75.
- Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri) İn Situ ve İnvaziv Kanser*. (2018, Aralık 30). http://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-kanseri/tipleri-cesitleri/adresinden_alindi
- Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri), Meme Anatomisi*. (2019, Ocak 17). <https://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-kanseri/> adresinden alındı
- Merrill, M. . (2013). Toxicological Function of Adipose Tissue: Focus on Persistent Organic Pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 162-169.
- Muscat, J., Britton, J., Djordjevic, M., Citron, M., Kemeny, M., Busch-Devereaux, E., & Stellman, S. (2003). Adipose concentrations of organochlorine compounds and breast cancer recurrence in long island, . *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 12, 1474-1478.
- Mussalo-Rauhamaa, H. (1991). Partitioning and levels of neutral organochlorine compounds in human serum, blood cells, and adipose and liver tissue. *The Science of the Total Environment*, 159-175.

- National Breast Cancer Foundation ,INC. (2018, Ekim 2). *Breast anatomy*.
<https://www.nationalbreastcancer.org/breast-anatomy>, [breast360.org](https://www.breast360.org).
adresinden alındı
- National Cancer Institute. (2019, Ocak 28). *Visualsonline Lobular Carcinoma In Situ*. <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=9311> adresinden alındı
- National Cancer Institute visualsonline. (2019, Ocak 28). *Ductal Carcinoma In Situ*.
<https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=9313> adresinden alındı
- Ohmiya, Y., & Nakai, K. (1977). Effect of starvation on excretion, distribution and metabolism of DDT in mice. *Tohoku J Exp Med*, 143–153.
- Oncology Nurses. (2019, Aralık 15). *Breast cancer statistics*. <https://oncologynursece.com/page-animation/breast-cancer-statistics/breast-cancer.html> adresinden alındı
- Oros, D. H. (2005). Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in water, surface sediments, and bivalves from the San Francisco Estuary. *Environ Sci Technol*, 33–41.
- Özmen, V., Cantürk, Z., Çelik, V., Güler, N., Kapkaç, M., Koyuncu, A., . . . Utkan, Z. (2012). *Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu (MHDF)-Meme Hastalıkları Kitabı*.
http://www.tmhdf.org.tr/Uploads/Editor/files/Meme_Hastaliklari_Kitabi_Baski2.pdf adresinden alındı
- Park, J., Voss, R., McNeel, S., WU, N., Guo, T., Wang, Y., & Petreas, M. (2015). High exposure of california firefighters to polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science & Technology*, 2948–2958.
- Pauwels, A., Covaci, A., Weyler, J., Delbeke, L., Dhont, M., P., D., & Schepens, P. (1996-1998). Comparison of persistent organic pollutant residues in serum and adiposetissue in a female population in belgium. *Arch. Environ Contam. Toxicol*, 265–270.
- Rivett, K. C. (1978). Effects of feeding lindane to dogs for periods of up to 2 years. *Toxicology*, 273–289.
- Roos, V., Rönn, M., Salihovic, S., Lind, L., Bavel, B., Kullberg, J., & Lind, P. (2013). Circulating levels of persistent organic pollutants in relation to

- visceral and subcutaneous adipose tissue by abdominal MRI. *Obesity*, 413-418.
- Rusiecki, J., Baccarelli, A., Bollati, V., Tarantini, L., Moore, L., & Bonfeld-Jorgensen, E. (2008). Global DNA Hypomethylation Is Associated with High Serum-Persistent Organic Pollutants in Greenlandic Inuit. *Environmental Health Perspectives*, 1547–1552.
- Rusiecki, J., Matthews, A., Sturgeon, S., Sinha, R., Pellizzari, E., Zheng, T., & Baris, D. (2005). A correlation study of organochlorine levels in serum, breast adipose tissue, and gluteal adipose tissue among breast cancer cases in india. *Cancer Epidemiol*, 1113–1124.
- Schmidt, H. v.-(-d. (1881). *Ann. Chem. Liebigs*, 320-437.
- Sellstrom, U. D. (2005). Effect of sewage-sludge application on concentrations of highbrominated diphenyl ethers in soils and earthworms. *Environ Sci Technol*, . 9064–9070.
- Shutoh, Y. T. (2009). Low dose effects of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) on gene transcription and DNA methylation in the hypothalamus of young male rats: implication of hormesis-like effects. *The Journal Of Toxicological Sciences*, 469–482).
- Sjodin, A. C. (2001). Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environ Sci Technol*, 448–454.
- Sjodin, A. P. (2003). A review on human exposure to brominated flame retardants—particularly polybrominated diphenyl ethers. *Environ Int*, 829–839.
- Song, C., Kanthasamy, A., Anantharam, V., Sun, F., & ve Kanthasamy, A. (2010). Environmental neurotoxic pesticide increases histone acetylation to promote apoptosis in dopaminergic neuronal cells: relevanceo epigenetic mechanisms of neurodegeneration. *Molecular pharmacology*, 621–632.
- Song, C., Kanthasamy, A., Jin, H. V., & Kanthasamy, A. (2011). Paraquat induces epigenetic changes by promoting histone acetylation in cellculture models of dopaminergic degeneration. *Neurotoxicology*, 586–595.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. (2017, Mart 13). <https://en.wikipedia.org>:
https://en.wikipedia.org/wiki/Stockholm_Convention_on_Persistent_Organic_Pollutants adresinden alındı

- Stouder, C. v.-G. (2011). Specific transgenerational imprinting effects of the endocrine disruptor methoxychlor on male gametes. *Reproduction*, 207–216.
- T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Çevre Yönetimi Genel Müdürlüğü kimyasallar yönetimi dairesi başkanlığı. (2018, Mayıs 9). *Kalıcı Organik Kirleticiler*. What are POPs?: <http://www.csb.gov.tr/projeler/kimyasallar/index.php?Sayfa=sayfa&Tur=webmenu&Id=14713>. adresinden alındı
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2018, Mayıs 27). *Yasaklanan Bitki Koruma Ürünleri Aktif Madde Listesi*. <https://www.tarimorman.gov.tr:https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/934/Yasaklanan-Bitki-Koruma-Urunleri-Aktif-Madde-Listesi> adresinden alındı
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. (2018, Mayıs 27). *Yasaklanan Bitki Koruma Ürünleri Aktif Madde Listesi*. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı: <https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/934/Yasaklanan-Bitki-Koruma-Urunleri-Aktif-Madde-Listesi> adresinden alındı
- The 12 initial POPs under the Stockholm Convention*. (2018, Mayıs 9). Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. adresinden alındı
- The 12 initial POPs under the Stockholm Convention*. (2018, Mayıs 9). <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx> adresinden alındı
- The American Cancer Society. (2018, Ekim 2). *Invasive Breast Cancer (IDC/ILC)*. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer/invasive-breast-cancer.html> adresinden alındı
- The American Cancer Society. (2018, Ekim 2). *Non-Cancerous Breast Conditions, Lobular Carcinoma* . <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/non-cancerous-breast-conditions/lobular-carcinoma-in-situ.html> adresinden alındı
- The American Cancer Society. (2018, Ekim 2). *Types of Breast Cancer*. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer.html> adresinden alındı
- The American Cancer Society. (2018, Ekim 2). *Types of Breast Cancer, Ductal Carcinoma In Situ (DCIS)*. <https://www.cancer.org/cancer/breast->

cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer/dcis.html adresinden alındı

The American Cancer Society. (2018, Ekim 2). *Understanding A Breast Cancer Diagnosis. Types of Breast Cancer*. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer.html> adresinden alındı

The American Society of Breast Surgeons Foundation. (2018, Ekim 2). <https://breast360.org/topics/2017/01/01/breast-anatomy/> adresinden alındı

The new POPs under the Stockholm Convention . (2017). <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx>.

The new POPs under the Stockholm Convention. (2017, Mart 13). <http://chm.pops.int>:
<http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx> adresinden alındı

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2018, Ekim 4). *Türkiye Kanser İstatistikleri* .
https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf adresinden alındı

Waliszewski, S. C. (2004). Copartition ratios of persistent organochlorine pesticides between human adipose tissue and blood serum lipids. *Environ. Contam. Toxicol*, 732–738.

Ward, E., Schulte, P., Grajewski, B., Andersen, A., Patterson, D., Turner, W., & Needham, L. (2000). Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of norwegian women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 9, 1357–1367.

Whitcomb, B. S.-t. (2005). Relative concentrations of organochlorines in adipose tissue and serum among reproductive age women. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 203–213.

WHO. (2018, Eylül 30). *Breast cancer*.
<http://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/> adresinden alındı

- WHO. (2018, Ekim 4). *Cancer Country Profiles, 2014, TURKEY*.
http://www.who.int/cancer/country-profiles/tur_en.pdf?ua=1 adresinden alındı
- WHO. (2018, Aralık 23). *International agency for research on cancer*.
http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_adresinden adresinden alındı
- WHO. (2018, Aralık 23). *International agency for research on cancer*.
<http://gco.iarc.fr/today/home> adresinden alındı
- WHO. (2018, Eylül 30). *News, Fact, sheets, Detail, ve Cancer*.
<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> adresinden alındı
- Wolff, M. S. (1995). Environmental organochlorine exposure as a potential etiologic factor in breast cancer. *Environmental Health Perspectives*, *103*((Supplement7)), 141-145.
- Wolff, M., & Toniolo, B. (1995). Environmental organochlorine exposure as a potential etiologic factor. *Environmental Health Perspectives*, s. 141-145.
- Wolff, M., Zeleniuch-Jacquotte, A., Dubin, N., & Toniolo, P. (2000). Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol*, 271–27.
- Zheng, T., Holford, T., Mayne, S., Ward, B., Carter, D., Owens, P., & Tesson, J. (1999). DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *American Journal of Epidemiology*, *150*(5), 453–458.

Ekler

Ek 1: Etik Kurul Onay Belgesi



EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	İnsan Biyolojik Örneklerinde Kalıcı Organik Kirlenici Düzeyleri, Moleküler Hasar Ürünleri ve Hastalıklarla İlişkisinin İncelenmesi.			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hilmi ORHAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Farmasötik Toksikoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-				
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>	
	Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>	Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>	İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz				
	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	27.10.2016		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	27.10.2016		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA Poliçe Süresi / Poliçe Nu	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	İmza Tarihi:		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>			
	28.10.2016 tarihli Etik Kurul Bilgilendirme Formu ile başvurusu yapılan bildirim.				
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 16-11/13	Tarih: 08.11.2016			
	Kurulumuzdan 17.03.2014 tarih ve 14-3/14 numaralı karar ile onayı alınan ve yukarıda adı verilen çalışmaya ilişkin Araştırma Protokolü Değişikliği (27.10.2016), Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Değişikliğinin uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				

ASLI GİBİDİR
Sumru FESİCİOĞLU
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 1/2
---	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 16- 11/13				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Sümrü FİSİCİOĞLU
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Ek 2: Olgu Rapor Formu

Protokol Adı/Kodu: İnsan Biyolojik Örneklerinde Kalıcı Organik Kirlenici Düzeyleri,
Moleküler Hasar Ürünleri ve Hastalıklarla İlişkisinin İncelenmesi

1

OLGU RAPOR FORMU hasta

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

Olgu No :
Protokol no :
Yaş :
Cinsiyet/Gebelik :
Operasyon tipi :
Operasyon tarihi :
Tümör/hastalık tipi :
Alınan örnekler : Mide Böbrek Meme Omentum Kan İdrar
2x10 mL 100 mL
Analiz edilecekler : k.c./böbrek/mide/meme/omentum/kan ⇒ kalıcı organik kirlenicilerin miktar tayini
kan ⇒ CYP1A1, GSTA1, GSTT1, GSTM1, hOGG1, MUTYH genetik polimorfizmi
idrар ⇒ 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), ditirozin
Cerrahi endikasyon dışında kronik hastalık(lar) :
Kullanılan ilaç(lar)/dozlam :
Sigara : kullanmıyor 1-5/gün 5-10/gün 1 paket/gün 2 paket/gün Diğer (açıklama)
Alkol : kullanmıyor 1 kadeh/gün 2 kadeh/gün Diğer (açıklama)
Vücut-Kütle İndeksi (BMI):
NOTLAR :

İMZA

Yetkili araştırma temsilcisi

Ek 3: Gönüllü Onam Formu

Araştırmanın Adı: İnsan Biyolojik Örneklerinde Kalıcı Organik Kirletici Düzeyleri, Moleküler Hasar Ürünleri ve Hastalıklarla İlişkinin İncelenmesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

İç organlarınızda biriken ve kalıcı organik kirletici olarak adlandırılan kimyasal maddelerin hastalığınızla ilişkisinin araştırılmasıdır. Ayrıca bu kimyasal maddelere karşı vücudumuzun savunmasını oluşturan başlıca enzimlerin genetik açıdan farklılık gösterip göstermediği araştırılacaktır. Bu kimyasal maddeler ve maruz kaldığımız diğer faktörler nedeniyle vücudumuzun yapıtaşı olan protein moleküllerimizde ve bu proteinleri kodlayan, dolayısıyla genetik şifremizi taşıyan DNA molekülünün savunmasında rol alan 2 enzimin de genetik olarak farklılık gösterip göstermediği araştırılacaktır. Son olarak protein ve DNA molekülünün ne kadarının hasara uğramış olduğu ölçülecektir.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Hastalar için

Bu çalışmaya dâhil edilebilmeniz için 18-65 yaş aralığında olmanız ve karaciğer, böbrek ya da mide tümör cerrahisi/rezeksiyonu ya da benzer bir nedenle hekiminiz tarafından hakkınızda ameliyat kararı alınmış olması, bayan iseniz gebe olmamanız ya da doğum sonrası 6 aylık dönem içinde olmamanız gerekir.

Sağlıklı kontrol bireyleri için

Sağlıklı kontrol amacıyla çalışmaya katılabilmemiz için 18-65 yaş aralığında olmanız, bayan iseniz gebe olmamanız ya da doğum sonrası 6 aylık dönem içinde olmamanız gerekir. Ayrıca herhangi bir kronik hastalığınızın (diyabet, romatoid artrit, Akdeniz ateşi, gut vb.) olmaması gerekir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Bu çalışmada size araştırma amaçlı hiçbir uygulama yapılmayacak, çalışmaya dâhil olmadığınızda bile yapılacak olan ameliyatınız ve gerekli tedaviniz gerçekleştirilecektir. Normal durumda hastalığınızın kesin teşhisi için çıkarılan doku parçası patolojik incelemeye sonra imha edilir. Araştırmamıza katılmayı kabul etmeniz durumunda bu parça atılmak yerine bu araştırma için kullanılacak ve hastalığınızın nedenlerine ilişkin bazı bilimsel incelemelerde kullanılacaktır. Bunun yanında ameliyat öncesinde ameliyatla ilgili kan alınırken bu araştırma için bir kez 2 x 10 mL fazladan kan ve 100 mL idrar örneğiniz alınacak ve yine bilimsel amaçlarla bu çalışmada kullanılacaktır. Araştırmaya dâhil olmanız durumunda yukarıda açıklanan biyolojik örneklerinizde yapılacak olan analizler şu şekildedir:

- Doku örneği (hastalığınıza göre karaciğer, böbrek, meme ya da mide dokusu; çıkarılan parça)
- Omentum/adipöz doku (karın boşluğundan ya da memede kitleyle birlikte çıkarılacak yağ dokusu; 1 cm³)
- Kan örneği

Bu 3 örnekte kalıcı organik kirletici olarak adlandırılan tarım ilacı ve endüstriyel maddelerin miktarı ölçülecektir.

- Kan örneği
Kanınızda ayrıca bu kirleticilerin vücuttan uzaklaştırılmasında görevli enzimler olan CYP1A1, GSTA1, GSTT1 ve GSTM1'in ve DNA molekülünü koruyan enzimler olan hOGG1 ve MUTYH'nin ne kadar bulunduğu ve çalıştığı (genetik polimorfizmi) belirlenecektir.

- İdrar örneği
İdrarınızda ise vücudunuzda bu kirleticiler ve diğer faktörler nedeniyle zarar gören protein ve DNA moleküllerinin miktarı ölçülecektir.

Sağlıklı kontrol amacıyla çalışmaya katılıyorsanız bir kez olmak üzere 10 mL heparinize kan ve 100 mL idrar örneği vermeniz gerekmektedir. Bu örneklerde yukarıda belirtilen parametreler ölçülecek ya da analiz edilecektir.

Tarih/ Versiyon: 27/10/2016

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	1/3

Araştırmanın Adı: İnsan Biyolojik Örneklerinde Kalıcı Organik Kirletici Düzeyleri, Moleküler Hasar Ürünleri ve Hastalıklarla İlişkinin İncelenmesi

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 150 hasta ve 100 sağlıklı gönüllü'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmaya hasta grubunda katılıyorsanız öngörülen süre sadece ameliyatınız nedeniyle hastanede geçireceğiniz süredir, fazladan bir zaman gerekmemektedir. Sağlıklı gönüllü olarak katılıyorsanız Ege Üniversitesi Hastanesi Kampus Polikliniği'nde sağlık personeli tarafından sadece bir kez 10 mL kan ve 100 mL idrar vermek için zamanınızı ayırmanız gerekecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar, hastalığınızın nedenlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilecek olmasıdır. Böylece bundan sonra aynı nedenlerle başka insanların hastalanmasının engellenmesi sağlanabilir.

Sağlıklı gönüllüler açısından ise, önceki sayfada açıklandığı şekilde kan ve idrar örneklerinizde analiz edilecek olan genlerinizin polimorfizm gösterip göstermediğini ve ayrıca vücut total DNA ve proteininin hasara uğramış miktarlarını öğrenmeniz mümkün olacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Size bu araştırmada herhangi bir fazladan uygulama yapılmayacaktır. Dolayısıyla araştırmaya katılmanız ya da katılmamanız durumunda riskler aynıdır. Araştırmaya katılmanız da ameliyatınız öncesinde kan ve idrar örnekleriniz alınacak, ameliyatınız gerçekleştirilecek ve teşhis için doku örnekleri çıkarılacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Araştırma ile ilgili kullanımının sakıncalı olduğu herhangi bir ilaç ya da besin yoktur. Araştırmamız dışında, hastalığınız ve tedavinizle ilgili olarak hekiminizin bazı kısıtlamaları/uyarıları olabilir, ancak bunlar çalışmamızdan bağımsızdır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Sonradan yaşınızın 18-65 yaş aralığı dışında olduğu anlaşılırsa, ya da bayan hastaların gebelik döneminde ya da gebelik sonrası 6 aylık süre içerisinde olduğu anlaşılırsa ancak bu durumda sizden alınacak örnekler kullanılmayacağı için çalışmadan çıkarılmanız söz konusudur. Bunun nedeni, elde edilecek sonuçların yaştan ve gebelik ya da süt verme döneminden etkilenebilecek olmasıdır.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Araştırma kapsamında herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

İletişime geçmeniz gereken durumlarda 3905075 (oda), 0532 4274282 (cep) ve 3905050 (sekreterlik) numaralarından Doç. Dr. Levent Yeniay'ı arayabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Araştırma için fazladan bir uygulama/tetkik yapılmayacağından herhangi bir gider de söz konusu değildir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışmayı destekleyen kurum TÜBİTAK olacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Tarih/ Versiyon: 27/10/2016

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	2/3

Araştırmanın Adı: İnsan Biyolojik Örneklerinde Kalıcı Organik Kirletici Düzeyleri, Moleküler Hasar Ürünleri ve Hastalıklarla İlişkinin İncelenmesi

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmamızın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 3 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TEL. & FAKS		
TARİH		


GEREKİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		


Tarih/ Versiyon: 27/10/2016

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	3/3

Ek 4: Destekleyen Kurum Kabul Yazısı

Proje Destek Başvurusu Değerlendirme Sonucu

 hilmi orhan
Kimden: "Ege Üniversitesi BAPSIS" <bapsis@mail.ege.edu.tr> Kime: "hilmi orhan" <hilmi.orhan@ege.edu.tr> Gönderilenler: 18 Şubat Pazartesi 2019 ... 18 Şubat 2019 14

 Kimden: Ege Üniversitesi BAPSIS
Kime: hilmi orhan 18 Şubat 2019 13

Sayın Araştırmacı,

Başvurunuzu gerçekleştirdiğiniz aşağıda bilgileri özetlenen proje öneriniz Ege Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından değerlendirilmiş ve projenizin desteklenmesine karar verilmiştir.

Projenize sağlanacak desteğin geçerlilik kazanması için, en geç 1 ay içerisinde aşağıdaki işlemleri yapmanız gerekmektedir. Aksi takdirde, proje başvurunuz sistem tarafından otomatik olarak iptal edilecektir.

Tebrik eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.

Saygılarımla,

Prof.Dr. Hüseyin ONAY
Koordinatör

Proje ID:20596
Proje Başlığı:Meme Kanserinde Çevresel Kirlenmelerin Rolü Doku Düzeyleri Maruziyet Genetik Yatkınlık ve Moleküler Hasar Biyogöstergelerinin Analizi
Proje Türü:Genel Araştırma Projesi
Proje Grubu:Tıp Sağlık

PROJESİ KABUL EDİLEN ARAŞTIRMACILARIN İZLEYECEĞİ ADIMLAR

Aşağıdaki Belgeler BAP Birimi Proje Bölümüne teslim edilmelidir:

a) **Sözleşme Dosyası:** Proje Süreçleri Yönetim Sistemi (APSIS) üzerinden indirilecek ve proje yürütücüsü tarafından ilgili alanları doldurulacaktır (projenin onaylanmasından sonra en geç bir ay içerisinde). Tez projeleri için sözleşmede yer alan kısım lisansüstü eğitimin yürütüldüğü ilgili enstitü müdürlüğü veya fakülte dekanlığı tarafından da onaylanmış olmalıdır.

b) **Etik Kurul İzin Belgesi:** Gerekli olan projeler için belgenin aslının veya başvuruda aslı ibraz edilmek üzere kopyasının teslim edilmesi zorunludur.

Teşekkür

Doktora tez çalışmalarımda verdiği emek ve katkılarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Hilmi Orhan'a çok teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında gen varyasyonu analizlerini gerçekleştiren ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Sinan Süzen'e ve Arş. Gör. Merve Demirbüğen'e teşekkür ederim. Çalışmalarımın tüm aşamalarında beraber olduğumuz yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Rasih Kocagöz'e ve hastaların demografik bilgilerini toparlamamda çok yardımcı olan Dr. Elif İnce Ergüç'e çok teşekkür ediyorum. Analiz ettiğimiz insan biyolojik örneklerini sağlayan Prof. Dr. Yiğit Özer Tiftikçioğlu ve Doç. Dr. Levent Yeniay'a ve meme dokularının patolojik incelemesini yapan, ayrıca dokuların bize ulaştırılmasını sağlayan Prof. Dr. Osman Zekioğlu ve Arş. Gör. Dr. Gürdeniz Serin'e teşekkür ediyorum. Çalışmamda analiz sonuçlarımın istatistiksel değerlendirmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Mehmet Nurullah Orman'a teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan eşim ve oğluma sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 20596 nolu proje ile desteklenmiştir.

İzmir, 19.12.2019

İlgen ONAT

Özgeçmiş

2003 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 2006 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı Edirne Gıda Kontrol ve Laboratuvar Müdürlüğü'nde göreve başladım. 2007 yılında tayin ile Tarım ve Orman Bakanlığı İzmir Gıda Kontrol ve Laboratuvar Müdürlüğü'ne atandım. Halen aynı yerde görev yapmaktayım. Eylül 2010'da Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda başladığım doktora çalışmalarımı Aralık 2019 yılında tamamladım.

ilgen_onat@hotmail.com.

