

ARSENİK TOKSİSİTESİ VE BİYOLOJİK ÖRNEKLERDEN ANALİZİ

Bayram Yüksel¹, Arzu Eroğlu¹, Zeliha Kayaaltı², Tülin Söylemezoğlu²

¹ Ankara Kriminal Polis Laboratuvarı Müdürlüğü, Ankara, Türkiye
² Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Alındı: 18.08.2014 / Kabul: 03.11.2014

Sorumlu Yazar: Bayram Yüksel
Ankara Kriminal Polis Laboratuvarı Müdürlüğü, Ankara, Türkiye, e-posta: bayramyuksel83@gmail.com

ÖZET

İnsanlarda arsenik maruziyeti, genellikle doğal ya da jeolojik anorganik arsenik kaynaklarıyla kontamine olmuş suların tüketilmesiyle gerçekleşir. Toprakta ve birçok kayaç çeşidinde doğal olarak var olan anorganik arsenik, özellikle bakır, kurşun, kobalt, gümüş ve altın içeren cevherler ile minerallerde bulunur. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), son derece toksik bir element olan arseniği grup 1 karsinogen madde olarak sınıflandırmıştır. Bangladeş, Hindistan ve Nepal'i de içeren birçok Güney Asya ülkesinde, arsenik derişiminin yüksek olduğu yerlerde binlerce kuyu açılmış ve insanların kendi

su kaynaklarından zehirlenmesine neden olmuştur. Türkiye arsenik içeren jeolojik katmanların olduğu bölgelerden biridir. Özellikle Kütahya arsenik seviyesi fazla olan katmaların üzerinde olduğundan bazı arsenik zehirlenmesi vakalarına ev sahipliği yapmış bir şehirdir. Uzun yıllardır bilim adamları, insanda arsenik belirlemesi için biyogösterge olarak kan, idrar, saç ve tırnak örneklerini kullanmaktadırlar. Biyolojik örneklerde arsenik belirlemesi çeşitli yöntemlerle yapılabilir. Hidrür sistemli ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi (HGAAS ve GFAAS) ile eşleşmiş plazma – kütle spektrometresi (ICP/MS) yöntemleri son yıllarda önde gelen tekniklerdir. Bu

derlemenin amacı dünyada ve Türkiye'de çevresel ve mesleki olarak arsenik maruziyeti riskini anlatarak biyolojik örneklerden arsenik analizi yöntemlerini göstermektir.

Anahtar kelimeler: arsenik, kronik maruziyet, biyolojik örnekler, adli toksikoloji, AAS

ARSENIC TOXICITY AND ITS ANALYSIS IN BIOLOGICAL SAMPLES

Bayram Yüksel¹, Arzu Eroğlu¹, Zeliha Kayaaltı², Tülin Söylemezoğlu²

¹ Directory of Ankara Police Forensic Laboratory, Ankara, Türkiye
² Institute of Forensic Science, Ankara University, Ankara, Türkiye

Received: August 18, 2014 / Accepted: November 03, 2014

Correspondence to: Bayram Yüksel
Directory of Ankara Police Forensic Laboratory, Ankara, Türkiye, e-posta: bayramyuksel83@gmail.com

ABSTRACT

Arsenic exposure in humans is usually associated with the consumption of drinking water contaminated from natural and geological sources. Inorganic arsenic exists naturally in soil and in many kinds of rock, especially in minerals and ores which contain copper, lead, cobalt, silver and gold ores. Arsenic is extremely poisonous element which has been classified as a human carcinogenic substance, group 1 by International Agency for Research on Cancer (IARC). Thousands of wells were dugged in Bangladesh, India and several South Asian countries including Nepal where there exists high concentration of arsenic, and people have been poisoned by

their own water supplies. Turkey is one of the regions having geological layers with arsenic content. In particular, Kütahya is a city which hosts some arsenic poisoning cases since the city is located upon layers containing high arsenic concentration. For many years, scientists have used blood, urine, hair and nail samples as biomarkers to determine arsenic in human. Determination of arsenic in biological samples may be performed by various methods. In recent years, graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS), hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) are the examples of leading techniques. The objective of this review is to explain

the methods of arsenic analysis in biological samples by demonstrating the risk of both environmental and occupational arsenic exposure in the world and Turkey.

Key words: arsenic, chronic exposure, biological samples, forensic toxicology, AAS

GİRİŞ

Arsenik insan sağlığına zararı kanıtlanmış elementlerden bir tanesidir. Özellikle, dünyanın birçok yerinde içme sularındaki arseniğin kanser çeşitlerine neden olduğu bildirilmiştir (1,2). Bir sağlık sorunu olarak içme sularında arsenik kontaminasyonu dünya çapında ilgi çekmiştir (3,4). O'Shea ve arkadaşları 2007 yılındaki çalışmalarında, içme sularındaki arsenikle ilişkilendirilmiş kanser olgularının çoğunun yerel jeolojik oluşumlardan kaynaklığını savunmuştur (5). Yüksek arsenik konsantrasyonu içeren içme suyu kaynaklarının insan popülasyonunda kitlesel zehirlenmelere neden olduğu küresel çapta rapor edilmiştir (6). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından arseniğin içme sularında bulunmasına izin verilen maksimum düzeyleri 1963'ten bu yana 50µg/L iken, 1993 yılında bu değer geçici olarak 10µg/L'a indirilmiştir.

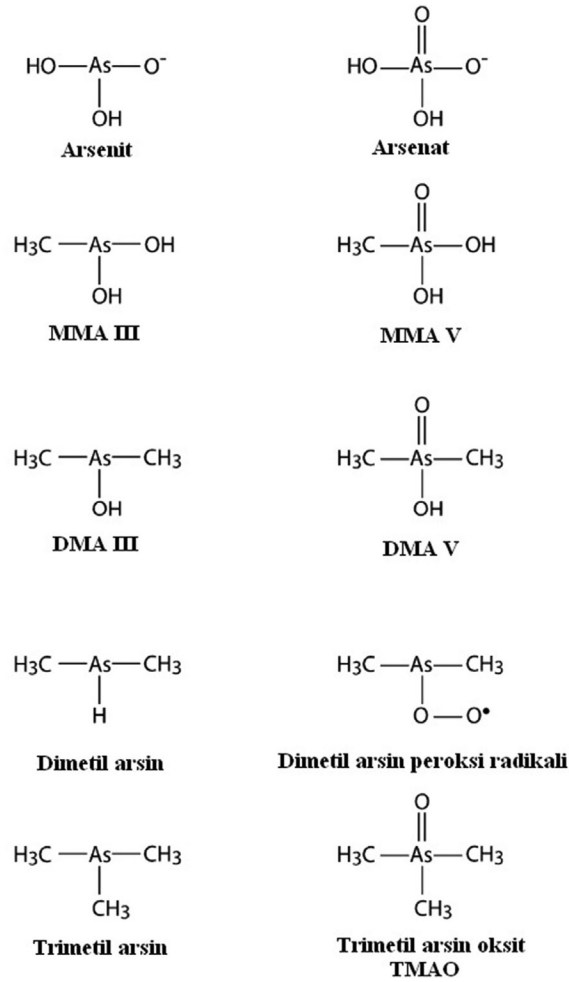
Türkiye'de ise 1997 yılına kadar 50µg/L olarak izin verilen azami değeri, 1997 yılı itibarıyla 10µg/L'a indirilmiştir (7). Karmaşık bir jeolojik yapıya sahip, tektonik olarak aktif bir alanda yer alan Türkiye, arsenik içeren katmanların yaygın olduğu yerlerden biridir (8). Kütahya, arsenik konsantrasyonu yüksek katmanları olan ve bazı arsenik zehirlenmesi olgularının görüldüğü bir şehirdir (9). Aksaray ilinde, 62 noktada yürütülen bir çalışmanın sonunda 22 noktada su arsenik konsantrasyonu 10

ila 50µg/L arasında belirlenirken, 6 noktada su arsenik konsantrasyonu 50µg/L'nin üzerinde bulunmuştur (10).

Doğada Arsenik Döngüsü ve Maruziyet Yolları

Çevresel taşınımı, dağıtımı ve arsenik mevcudiyetini etkileyen bazı önemli tepkimeler, toprak-su ve sediment-kayaç sistemlerinde yer alırlar. Oksijen varlığı arsenat-arsenit redoks tepkimesini kontrol etmektedir. Arsenit ve arsenatın adsorpsiyonu

ve çökmesi çözünür arseniği sabitler. Kayaçlardan ve sedimentlerden arseniğin yavaşça salınımı ya da kayaçlardan arsenopiritin (FeAsS) oksidatif çözünümü doğada arseniğin akışına katkı sağlar. Arsenitin monometil arsenite (MMA) ya da diğer organik arsenik bileşiklerini takip eden dimetil arsenite (DMA) metillenmesi arsenik döngüsünde önemli biyolojik reaksiyonları oluşturmaktadır (11). Bazı arsenik bileşiklerinin kimyasal yapıları



Şekil 1: Bazı arsenik bileşiklerinin kimyasal yapısı (30)

Tablo 1: İnsanda Normal Arsenik Değerleri (12)

Kan	İdrar	Tırnak	Saç
< 1µg/L	<100µg/L	≤ 1mg/kg	≤ 1mg/kg

Şekil 1'de özetlenmiştir.

Metal madenciliği ve üretimi, demir-çelik imalatı, ilaç ve kozmetik endüstrisi, arsenik pestisitlerinin ve herbisitlerinin sık kullanımı, kömür tüketimi, boyalar, arsenik içeren ahşap koruyucuları gibi birçok biyogenik süreç arsenik kirliliğinin kaynağı olarak düşünülebilir (12,13,14). Endüstriyel maruziyet özellikle Meksika, Çin ve Güneydoğu Asya gibi gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla görülmektedir. Bunun yanı sıra içme sularında da ciddi oranlarda arsenik içeriğine rastlanmaktadır. Özellikle Bangladeş'te içme suyunun yüksek miktarda arsenik

içermesi halkın başta cilt olmak üzere bazı kanser türlerine yakalandığı gözlenmiştir (15). En zengin organik arsenik kaynakları balıklar ve su yosunlarıdır (16). Doğada arsenik döngüsü Şekil 2'de özetlenmiştir.

Toplam arsenik maruziyeti gıdalardan, içme sularından, toprak ve tozların doğrudan sindirimden ve deriden emilimle meydana gelen maruziyetlerin toplamıdır (17). Arsenik toksiktir ve insanlar için letal dozu 125mg'dır (18).

Arsenik Toksisitesi

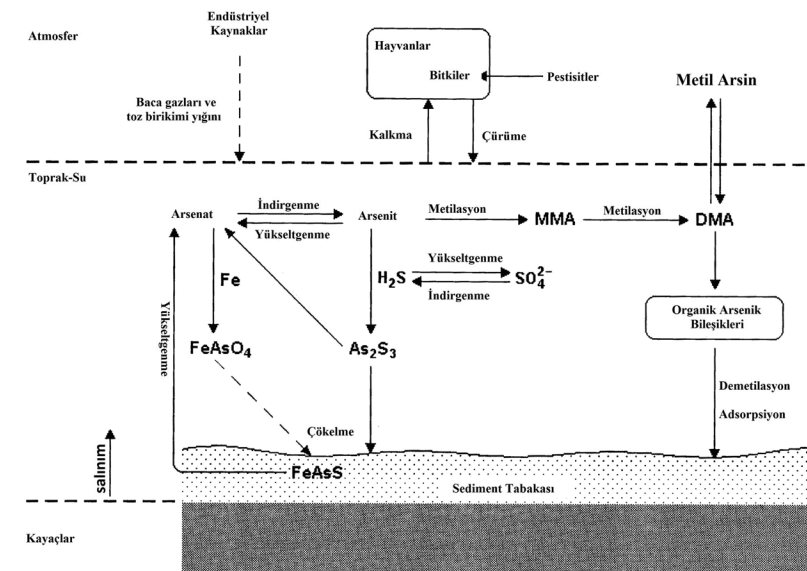
Arsenik toksisitesini iki yüzü aşkın enzimi inaktif hala getire-

rek gösterir. Özellikle hücresel enerji yolları, DNA kopyalanması ve DNA onarımı ile ilgili enzimlerin aktivitesini durdurur. Arsenik ATP gibi yüksek enerjili bileşiklerde fosfatın yerine geçer. Serbest arsenik redoks çemberi boyunca reaktif oksijen üretir ve lipid peroksidasyon ve DNA hasarına sebep olan metabolik süreçleri etkinleştirir (19).

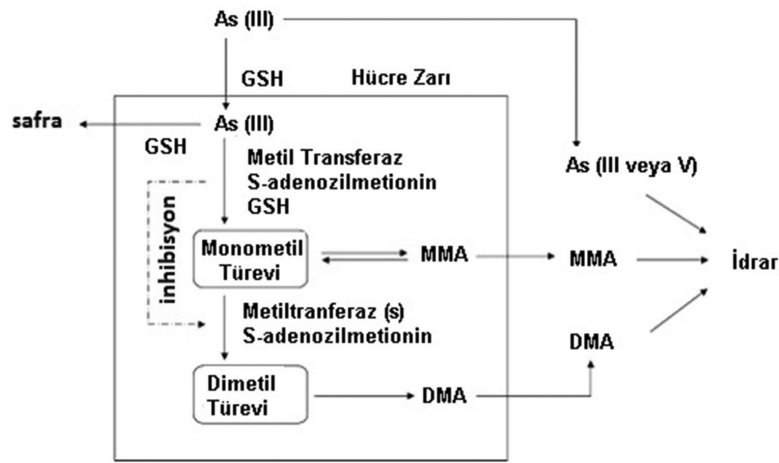
Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), son derece toksik bir element olan arseniği grup 1 karsinogen madde olarak sınıflandırmıştır (20). İnsanlarda arsenik maruziyeti genellikle doğal ya da jeolojik anorganik arsenik kaynaklarıyla kontamine olmuş suların tüketilmesiyle gerçekleşir. İnsanlarda kronik arsenik maruziyeti kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik bozukluklar, diyabet ve birçok kanser formuyla ilişkilendirilmektedir (21,22,23).

Arsenik Metabolizması

İnsan vücudunun anorganik arseniği idrarla daha kolay atılabilen organik bileşiklere dönüştürme yeteneği vardır. Anorganik arsenik metabolizması, hayvanlarda ve insanlarda ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Metabolizmada iki temel süreç vardır, birinci süreçte yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları As(III)'ü ve As(V)'i birbirine dönüştürür, ikinci süreçte arseniti MMA ve DMA'ya dönüştüren metilasyon reaksiyonları oluşmaktadır. Bu reaksiyon zinciri sırasıyla; anorganik arsenatın arsenite indirgenmesi



Şekil 2: Doğada arsenik döngüsünün şematik gösterimi (30)



Şekil 3: İnsanda arsenik metabolizmasının şematik gösterimi [24]

(gerekirse), metilasyonla arsenitin MMA(V)'e dönüşmesi, MMA(V)'in MMA(III)'e indirgenmesi ve metilasyonla DMA(V)'e dönüşmesiyle sonuçlanır [12]. Alınan dozun yaklaşık %50 si idrarla üç ila beş gün içerisinde atılabilir. Dimetil arsenik asit, MMA ile kıyaslandığında %60-%70 daha baskın bir üre metabolitidir. Aynı zamanda arseniğin küçük bir miktarı da değişime uğramadan atılır [24]. İnsanda arsenik metabolizmasını Şekil 3'de özetlenmiştir.

Kapsamlı bir metabolizmaya uğrayan arsenoşekerler haricinde, organik arseniklerin oldukça az metabolize oldukları görülmektedir. İnsanda normal arsenik değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

ARSENİĞİN BİYOLOJİK ÖRNEKLERDEN ANALİZİ

Arsenik Analizinin Tarihi

Arseniğin popüler bir zehir ola-

rak bilinmesi 8. yüzyılda 721-815 yılları arasında yaşayan Arap Kimyager Ebû Mûsa Câbir bin Hayyân'ın (batıda Geber olarak tanınan) elementel arseniği kokusuz ve tatsız arsenik oksit tozuna (As₂O₃) dönüştürmenin bir yolunu bulmasına dayanır. Oksit formundaki arseniğin kişilerin yiyecek veya içeceklerine şüphe uyandırmadan katılması mümkün olmuştu. Ayrıca, 19. yüzyıla kadar, insan vücudunda arseniğin tespiti için geliştirilmiş hiçbir yöntem yoktu. Bu yüzden, zehir neredeyse tüm sınıfları kapsayacak şekilde sıradan suçlulardan, krallar, kraliçeler ve papa için bile oldukça popüler bir hale gelmişti.

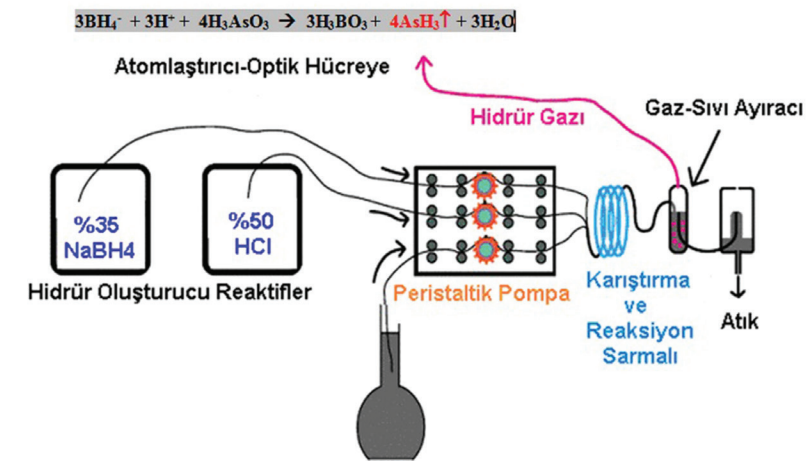
Birçok adli bilimci ve kimyager bu soruna çözüm aradılar. Ancak, arseniği insan vücudunda belirlemenin yolunu ilk olarak bulmayı başaran İngiliz Kimyager James Marsh (1794-1846) oldu. Marsh testi, bir anda evrensel bir başarı sağla-

mıştır. Ancak zamanla test yöntemi iyileştirilmiş ve deneyde çok saf maddeler kullanılmıştır. Nihayetinde, eski kimyagerler tarafından geliştirilen en çok saygı duyulan testlerden biri haline gelmiştir. Bu yöntem günümüzde kullanılabilecek kadar etkilidir [25].

Biyolojik Örneklerden Arsenik Analizi

Biyolojik örneklerde arsenik belirlenmesi çeşitli yöntemlerle yapılabilir. Hidrür sistemli ve grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi (HGAAS ve GFAAS) ile eşleşmiş plazma – kütle spektrometresi (ICP/MS) yöntemleri son yıllarda önde gelen tekniklerdir. Son yıllarda, çoklu element analizi yeteneğinden dolayı ICP-MS uygulamaları daha popüler hale gelmiştir. Ancak ICP-MS saç ve diğer biyolojik örneklerde arsenik analizi için en ucuz çözüm değildir [26]. Bu yüzden hidrür sistemli atomik absorpsiyon spektroskopisi (HGAAS) ile grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi (GFAAS) yöntemleri de birer analiz metodu seçeneği haline gelmiştir.

Saç örneklerinde arsenik belirlenmesi için geliştirilen bir uygulamada HGAAS yöntemi kullanılmıştır. Önceden üzerinde hidroklorik asit ve hidrojen peroksit eklenen örneklerdeki toplam arsenik metali analizi için elektrotermal ısıtmalı hidrür sistemi yöntemli atomik absorpsiyon spektroskopisi kullanılmıştır. Yöntemde taşıyıcı gaz olarak argon kullanılmıştır [26].



Şekil 4: Hidrür sistemde arsenik analizinin şematik gösterimi [30]

Arsenik bileşikler asidik ortam içinde uygun redüktant kullanılarak serbest arsenik metale indirgenmiştir. Asidik ortamın sağlanması için 5M HCl kullanılmıştır. Redüktant olarak %0,6 NaBH₄ ve %0,5 NaOH içeren çözelti kullanılmıştır. Şekil 4'te HGAAS uygulaması ile arsenik analizi özetlenmiştir.

Arsin gazı (AsH₃) ve hidrojen inert argon gazı ile elektrotermal atomlaştırıcıya taşınır. Burada, oksijen ve hidrojen radikalleri arsenle tepkimeye girer. Sonuç olarak elementel arsenik buharı elde edilir ve arsenik oyuk katot lambasıyla belirlenip absorbans değeri ölçülür [26].

SONUÇ

Arsenik maruziyetini değerlendirmede, arsenik toksite mekanizmasını ve risk değerlendirmesini izah etmek için güvenilir biyogöstergelere ihti-

yaç duyulur [27]. Uzun yıllardır, bilim adamları insanda arsenik belirlenmesi için biyogösterge olarak kan, idrar, saç ve tırnak örneklerini kullanmaktadırlar. Kan, idrar ve saç; arseniği tanımlamak ya da düzeyinin belirlenmesi için en sık kullanılan üç biyogöstergedir. Arsenik maruziyeti sona erdikten sonra; kanda 10 saat, idrarda 96 saat kalabildiği için kronik arsenik toksitesinin biyokimyasal göstergesi çok azdır [28].

Saçın uzama hızı ayda yaklaşık 1 santimetre olduğundan, arseniğin saç üzerindeki kesimsel dağılımı zehirlenme zamanının tahmininde kullanılabildiği gibi akut ve kronik zehirlenmeleri ayırt etmek için de kullanılmaktadır [29]. Arsenik, sülfidril gruplarına olan ilgisi sebebiyle saç gibi keratine zengin dokularda biriktiğinden saç-arsenik düzeyleri geçmiş maruziyetin bir göstergesi olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Cantor KP. Drinking water and cancer. *Cancer Causes Control* 1997;8(3):292-308.
2. Tapio S, Grosche B. Arsenic in the aetiology of cancer. *Mutat Res* 2006;612(3):215-46
3. Chowdhury UK, Biswas BK, Roychowdhury T, Samanta G, Mandal BK, Basu GC, et al. Groundwater arsenic-contamination in Bangladesh and West Bengal India. *Environ Health Perspect* 2000;108(5):393-7.
4. Mandal KM, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. *Talanta* 2002;58(1):201-35.
5. O'shea B, Jankowski J, Sammut J. The sources of naturally occurring arsenic in coastal sand aquifer of eastern Australia. *Sci Tot Env* 2007;379(2-3):151-66.
6. Ravenscroft P, Brammer H, Richards K. *Arsenic Pollution: A Global Synthesis*. UK: Wiley Blackwell, Chichester, 2009;588.
7. Burgaz S, Atabey E, Temel A, Demircigil GC. Türkiye'de yeraltı sularındaki doğal kaynaklı (jeojenik) inorganik arsenik kirliliği. *Tıbbi Jeoloji Alt Kurul Raporu*, 2009.
8. Colak M, Gemici U, Tarcan G. The effects of colemanite deposits on the arsenic concentration of soil and groundwater in Igdekoy-Emet, Kütahya, Turkey. *Water, Air, and Soil Pollution* 2003;149:127-43.
9. Col M, Col C, Soran A, Sayli BS, Ozturk S. Arsenic-related Bowen's disease, Palmar keratosis and skin cancer. *Env Health Perspectives* 1999;107(8):687-9.
10. Altas L, Isik M, Kavurmacı M. Determination of arsenic levels in the water resources of Aksaray Province, Turkey. *J Environ Manage* 2011;92(9):2182-92.
11. Roy P, Saha A. Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Current Science* 2002;82(1):38-45.
12. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). *Toxicological profile for arsenic* Atlanta. GA: US Public Health Service, 2007.
13. Nriagu JO, Pacyna JM. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace elements. *Nature* 1998;333(6169):134-9.
14. Abernathy CO, Liu Y, Longfellow D, Aposhian HV, Beck B, Fowler B, et al. Arsenic: health effects, mechanisms of actions and research issues. *Environ Health Prespect* 1999;107(7):593-7.
15. Hei TK. Research reports: Arsenic and cancer. *J Coll Phys Surg Col Uni* 1999;19(2):1-3.
16. Han B, Jeng WL, Chen RY, Fang GT, Hung TC, Tseng RJ. Estimation of target hazard quotients and potential health risks for metals by consumption of seafood in Taiwan. *Arch Environ Contam Toxicol* 1998;35(4):711-20.
17. Thornton I. Arsenic in the global environment: looking towards the millennium. In: Chappell WR, Abernathy CO, Calderon RL, editors. *Arsenic exposure and health effects*. 1st ed. Oxford, UK; Elsevier, 1999.
18. Bates MN, Smith AH, Hopenhayn-Rich C. Arsenic toxicity. *Am J Epidemiol* 1994;135(5):462-76.
19. Cobo JM, Castineira M. Oxidative stress, mitochondrial respiration, and glycemic control: clues from chronic supplementation with Cr3+ or As3+ to male Wistar rats. *Nutrition* 1997;13(11-12):965-70.
20. IARC (International Agency for Research on Cancer). *Some drinking-water disinfectants and contaminants, including arsenic*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2004;84:1-477.
21. Centeno JA, Mullick FG, Martinez L, Page NP, Gibb H, Longfellow D, et al. Pathology related to chronic arsenic exposure. *Environ Health Perspect* 2002;110(Suppl 5):883-6.
22. WHO (World Health Organization). *Diagnosis and treatment of chronic arsenic poisoning*. In *United Nations synthesis report in drinking water*. Geneva, Switzerland: WHO Press 2000;4:1-45.
23. Bailey K, Xia Y, Ward WO, Knapp G, Mo J, Mumford JL, Owen RD, Thai SF. Global gene expression profiling of hyperkeratotic skin lesions from inner Mongolians chronically exposed to arsenic. *Toxicol Pathol* 2009;37(7):849-59.
24. Lauwerys RR, Hoet P. *Industrial Chemical Exposure Guidelines for Biological Monitoring*. 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993:21-8.
25. Newton E, *Forensic Chemistry*. New York, USA: Facts on File Inc An Imprint of Infobase Publishing, 2007.
26. Yuksel B, Mergen G, Soylemezoglu T. Assessment of arsenic levels in human hair by hydride generation atomic absorption spectrometry: a toxicological application. *At Spectrosc* 2010;31(1):1-5.
27. Schmitt MT, Schreinemachers D, Wu K, Ning Z, Zhao B, Le XC, Mumford JL. Human nails as a biomarker of arsenic exposure from well water in Inner Mongolia: comparing atomic fluorescence spectrometry and neutron activation analysis. *Biomarkers* 2005;10(2-3):95-104.
28. Buchet JP, Lauwerys R, Roels H. Urinary excretion of inorganic arsenic and its metabolites after repeated ingestion of sodium metaarsenite by volunteers. *Int Arch Occup Environ Health* 1981;48(2):111-8.
29. Koons RD, Peters CA. Axial distribution of arsenic in individual human hairs by solid sampling graphite furnace AAS. *J Anal Toxicol* 1994;18(1):36-40.
30. Yuksel, B. *Determination of Arsenic Levels in Biological Samples of Occupationally Exposed Workers*. Ph.D Thesis, Ankara University, Institute of Health Sciences, Ankara, Turkey, 2013.