

Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1 (MRP1) G1666A gen polimorfizmi ile idrar arsenik düzeyleri arasındaki ilişki

Dilek KAYA-AKYÜZLÜ, Zeliha KAYAALTI*, Fezile ÖZDEMİR, Engin TUTKUN, Tülin SÖYLEMEZOĞLU

ÖZET

Çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1 (Multidrug-Resistance associated Protein 1=MRP1), ATP bağlayan kaset (ATP-binding cassette, ABC) taşıyıcı protein ailesinin bir üyesidir. Birçok endojen ve ekzojen bileşiği hücre dışına taşıyarak organizmayı hücre düzeyde, ksenobiyotik birikiminden ve dolayısıyla toksisitesinden korumaktadır. MRP1, özellikle Faz II reaksiyonlarında üretilen glutatyon-, glukuronid- ve sülfat-konjugatlarını taşımaktadır.

MRP1, *ABCC1* geni tarafından kodlanmaktadır ve bu gendeki polimorfizmler genin fonksiyonunu etkileyerek bireyler arası farklılıklara neden olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, MRP1 G1666A gen polimorfizminin idrar arsenik düzeylerine etkisini 95 Türk metalürji işçisinde belirlemektir. İdrar arsenik konsantrasyonu Zeeman düzeltmeli Grafit Fırınılı Atomik Absorpsiyon Spektrometre (GFAAS) cihazı kullanılarak

ölçülmüştür. MRP1 G1666A tek nükleotit polimorfizmi ise Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Genotip frekansları %12,6 homozigot tipik (GG), %41,1 heterozigot (GA) ve %46,3 homozigot atipik (AA) genotip olarak belirlenmiştir. Ortalama idrar arsenik düzeyi $5,58 \pm 4,37$ $\mu\text{g/L}$ olarak hesaplanmıştır. MRP1 genotipleri ile idrar arsenik düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p=0,001$). İdrar arsenik düzeyi, GG genotipine sahip işçilerde ($10,70 \pm 7,61$ $\mu\text{g/L}$), GA ($4,84 \pm 2,54$ $\mu\text{g/L}$) ve AA ($4,83 \pm 3,72$ $\mu\text{g/L}$) genotipine sahip işçilere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma, MRP1 G1666A gen polimorfizminin idrar arsenik düzeyleri açısından bireysel farklılığa neden olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Arsenik; idrarda arsenik düzeyi; MRP1; tek nükleotit polimorfizmi

Dilek Kaya-Akyüzlü, Zeliha Kayaaltı, Fezile Özdemir, Tülin Söylemezoğlu
Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Engin Tutkun
Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Ankara, Türkiye

Sorumlu Yazar: Zeliha KAYAALTI
Adres: Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Yerleşkesi, 06590, Dikimevi, Ankara
Telefon: (312) 3192734
Faks: (312) 3192077
E-posta: kayaalti@ankara.edu.tr, zkayaalti@gmail.com

*Bu çalışma, 29-30 Kasım 2014 tarihlerinde Ankara'da düzenlenen "1st International Workshop and Congress of Forensic Toxicology" kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Arsenik yeryüzünde doğal olarak bulunan (1-3), çevredeki davranışı ve vücuttaki metabolizması hem metallerin hem de ametallerin fizikokimyasal özelliklerine benzeyen, toksik ve karsinojenik bir metalloid elementtir (2). Dört oksidasyon basamağında (-3, 0, +3, +5) oluşabilen arseniğin, +3 ve +5 değerlikli formları doğada en yaygın bulunan oksidasyon basamaklarıdır (3-5). İnsanların büyük bir kısmı, çok düşük düzeyde arseniğe kronik olarak su ile maruz kalmaktadırlar. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre suda bulunabilen arsenik için önerilen sınır değer 10 $\mu\text{g/litre}$ 'dir (1). Arseniğe, kirlenmiş yeraltı sularıyla yetişen ürünlerin tüketilmesi veya mesleki maruziyet gibi ikincil yollarla da maruz kalılabilmektedir (6). Arseniğe mesleki maruziyet ise, genellikle pestisitler, herbisitler ve diğer tarımsal ürünlerin üretimi sırasında gerçekleşmektedir. Maden eritme fabrikalarında ise arsenik buharı ve tozlarına mesleki olarak

maruz kalınabilmektedir (7). Çalışanların arseniğe maruz kaldıkları diğer endüstriler ya da faaliyetler ise, kömür yakıtlı santraller, basınçla işlenmiş ahşabın hazırlandığı fabrikalar, cam işçiliği ve elektronik endüstrisidir (8).

Biyometilasyon, birçok memeli türünde inorganik arsenik metabolizmasının esas yolağıdır. Arsenik metilasyonu başlıca karaciğerde, çok az miktarda böbrekte ve akciğerlerde gerçekleşmektedir. Arsenik biyometilasyonu, farklı enzimlerin katalizlediği, AsV-içeren bileşiklerin indirgenmesi ve AsIII içeren bileşiklerin metilasyonu olmak üzere 2 aşamadan oluşmaktadır (9). İnsanlarda, arsenik bileşikleri karaciğerde metilasyonla metabolize edildikten sonra glutatyonla birleşmekte ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 1 (multidrug-resistance associated protein, MRP1) ile idrara taşınarak vücuttan atılmaktadır (10-12).

Çoklu ilaç direnci proteinleri (multidrug resistance proteins), ATP bağlayan kaset (ATP-binding cassette, ABC) taşıyıcı protein ailesinin üyesidir. İlk keşfedilen çoklu ilaç direnci proteini, 170 kDa büyüklüğündeki P-glikoproteindir. Bu keşfi, daha sonra 1990 yılında 95 kDa büyüklüğündeki meme kanseri direnç proteini (BCRP=Breast Cancer Resistance Protein) ve 1992'de MRP1 gibi diğer çoklu ilaç direnci proteinlerinin bulunması izlemiştir (13). MRP1, çoklu ilaç direncine sahip akciğer kanseri hücre hattında ilk klonlanan ve tanımlanan MRP proteindir (14). MRP1, neredeyse bütün insan dokularında sentezlenmektedir. Bununla birlikte, en fazla bulunduğu dokular testisler, akciğerler, dalak, böbrek, plasenta, tiroid ve adrenal bezlerdir (10). Eozinofil lökositler ve eritrositler gibi dolaşım sistemi hücrelerinde ya sentezlenmemekte ya da çok az sentezlenmektedir (15). MRP1'in karaciğerdeki miktarı da normalde azdır (10). MRP1, kutuplaşmış hücrelerde, genellikle bazolateral zarda bulunmaktadır (14,15). MRP1 ile taşınan organik anyonlar, Faz II reaksiyonları ile oluşan glutatyon-, glukuronit- ve sülfat-konjugatları ile doğal olarak oluşan konjugasyon metabolitleridir. Antimonial ve arsenikli oksianyonlar ise MRP1 ile taşınan inorganik anyonlardır (14).

MRP1, 16. kromozomda (16p13.1) bulunan ve yaklaşık 200 kb uzunluğundaki *ABCC1* geni tarafından kodlanmaktadır. *ABCC1* genindeki polimorfizmlerin büyük bir kısmının çok düşük frekansta (<5%) görülmesi, bu genin oldukça korunmuş olduğunu düşündürmektedir. *ABCC1* geninde en fazla bulunan polimorfizmler, tek nükleotit polimorfizmleri olmakla birlikte, tekrarlar, insersiyonlar ve delesyonlar da görülmektedir. Polimorfizmlerin büyük bir kısmı ifade edilmeyen bölgede (untranslated-UTR) ve intronlarda

görülme olup, kodlanan bölgede çok az polimorfizm bulunmaktadır. Şimdiye kadar, kodlanan bölgede sadece 14 adet sinonim olmayan (aminoasit sekansında değişiklik olan) polimorfizm tespit edilmiş ancak anlamsız (nonsensense kodonuna değişen) polimorfizm belirlenmemiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, MRP1 proteininin arsenik birikiminden hücreleri koruduğu sonucuna varılmıştır (10, 16). Literatürde, bu proteini kodlayan gendeki polimorfizmlerin, protein ifadesini değiştirdiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (17). Bununla birlikte, MRP1'i kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin idrar arsenik düzeylerine etkisini Türk populasyonunda araştıran bir çalışmaya literatür taramalarında rastlanmamıştır. Bu nedenle, yapılan çalışma arsenik toksikokinetiğinde önemli rolü olan MRP1 taşıma proteininin idrar arsenik düzeylerine etkisini araştıran ilk çalışma olma özelliğindedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

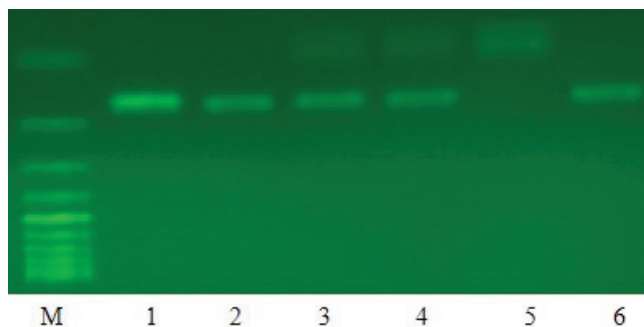
Çalışmaya, Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne sağlık kontrolüne gelen, Kütahya Eti-Gümüş Fabrikası'nda çalışan 95 metalürji işçisi dâhil edilmiştir. Çalışma hakkında bilgilendirilen bireylerden biyolojik örnekler alınmadan önce her bireyin, yaşı, maruziyet süresi ve sigara kullanıp kullanmadığı gibi bilgiler sorularak kaydedilmiştir. Arsenik konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla idrar örnekleri ve MRP1 G1666A polimorfizmini belirlemek için de kan örnekleri toplanmıştır. Sıvı kan örnekleri 4'er ml'lik EDTA içeren vakumlu tüplere (VACUTEST kima, Italy) alınmış ve analize kadar +4°C'de saklanmıştır. Her bir işçiden idrar kaplarına alınan yaklaşık 100 ml idrar örnekleri ise analize kadar -20°C'de saklanmıştır. Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 24.09.2012 tarih ve 15-512-12 sayılı izni ile yürütülmüştür.

Döner kapaklı polipropilen tüpler (15 ml'lik) içerisine aktarılan 1'er ml idrar örnekleri mikrodalga fırında yıkılama işlemi yapılmaksızın, 5 ml %65'lik nitrik asit (HNO₃) ile muamele edilmiş ve toplam hacim deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Analiz için hazırlanan idrar örneklerindeki toplam arsenik metali analizinde Grafit Fırınılı Atomik Absorpsiyon Spektrometre cihazı (Varian AA240Z Zeeman Atomik Absorpsiyon Spektrometre, Victoria, Avustralya) kullanılmıştır (Tablo 1). Arsenik analizi için dalga boyu 193,7 nm olarak ayarlanmıştır. Ortam gazı olarak Argon (Vaşak Gaz, Ankara, Türkiye) ve ışık kaynağı olarak da arsenik oyuk katot lambası (Varian Spectra AA Lamp, Victoria, Avustralya) kullanılmıştır.

Tablo 1. Arsenik analizi için uygulanan yöntem.

Element – matriks	As – İdrar	Akım	12,0 mA
Enstrüman	Zeeman	Background	BC on
Konsantrasyon birimi	µg/L	Standart 1	3,0 µg/L
Enstrüman modu	Absorbans Otomatik-Karıştırma	Standart 2	6,0 µg/L
Örnekleme Kalibrasyon modu	Konsantrasyon	Standart 3	9,0 µg/L
Ölçüm modu	Pik yüksekliği	Standart 4	12,0 µg/L
Standart tekrarı	3	Standart 5 Reslope standardı	Standart 2
Örnek tekrarı	3	Reslope alt limit	% 75
Ekspansiyon faktör	1,0	Reslope üst limit	% 125
Eğri çizimi	7 noktalı	Rekalibrasyon Kalibrasyon algoritması	50 örnekte bir
Konsantrasyon ondalık aralığı	2 basamak	Toplam enjeksiyon hacmi	Lineer
Dalga boyu	193,7 nm	Ana standart konsantrasyonu	25µl
Slit genişliği	0,5 nm		15 µg/L
Gain	% 59		

Sıvı kan örneklerindeki nükleer DNA'yı açığa çıkarabilmek amacıyla fenol-kloroform-izoamil alkol izolasyon yöntemi kullanılmıştır. İzole edilen genomik DNA örneklerinde, MRP1 G1666A polimorfizmini içeren gen bölgesi PCR yöntemi ile Thermal Cycle (TECHNE TC 512, UK) cihazı kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR sonucunda oluşan 160 bp'lik PCR ürünü *MspI* restriksiyon enzimi ile kesilmiş ve kesim ürünleri Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. 160 bp'lik amplifikasyon ürününün *MspI* enzimi ile kesim sonucunda oluşan oligonükleotid uzunlukları. (M=100 bp Ladder; 1: Kesilmemiş PCR ürünü (160 bp); 2 ve 6: AA genotip: 160 bp; 3 ve 4: GA genotip: 160 bp, 90 bp ve 70 bp; 5: GG genotip: 90 bp ve 70 bp).

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS V16 kullanılarak yapılmıştır. Genlerin genotip ve alel frekansları çıkarılmış ve Hardy-Weinberg eşitliği hesaplanmıştır ($p^2+2pq+q^2=1$). Ölçümle elde edilen değişkenler bakımından bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında "Student T" testi, bağımsız ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise "Oneway Anova" varyans analizi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak nitel değişkenlerde oran, nicel değişkenlerde ise ortalama±standart sapma ve minimum ile maksimum değerler verilmiştir. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

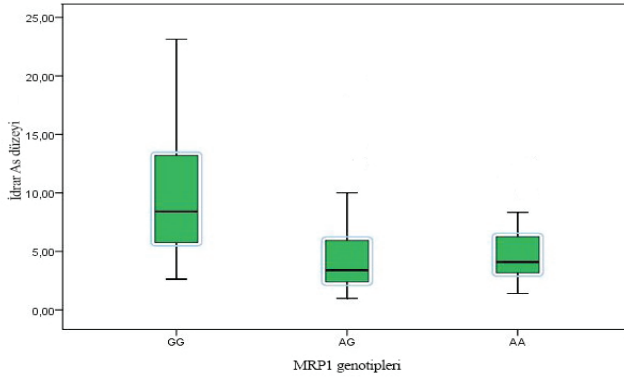
Çalışmada kullanılan 95 kan ve idrar örneğinin tamamı erkek işçilerden toplanmıştır. Çalıştıkları işyeri nedeniyle arseniğe mesleki olarak maruz kalan bu 95 erkek işçiye ait yaş, maruziyet süresi ve idrar arsenik düzeyleri ile ilgili ortalama, standart sapma, maksimum ve minimum değerleri Tablo 2'de sunulmuştur. İşçilerin yaşı, arseniğe maruziyet süresi ve sigara kullanımı ile idrar arsenik düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 2. İşçilerin yaş, maruziyet süresi ve idrar arsenik düzeylerine ait tanımlayıcı istatistikler.

Tanımlayıcı istatistikler	Yaş (yıl)	Maruziyet süresi (yıl)	İdrar As düzeyi (µg/L)
Ortalama± Standart Sapma	33,36±7,77	3,41±1,99	5,58±4,37
Minimum	18	0,5	0,99
Maksimum	52	10	27,54

Arseniğe maruz kalan bireylerde (n:95), MRP1 G1666A polimorfizminin genotip frekansları %12,6 homozigot tipik (GG), %41,1 heterozigot (GA) ve %46,3 homozigot atipik (AA) genotip olarak belirlenmiştir. MRP1 G1666A polimorfizmi ile oluşan alel frekansları ise (n:190); G aleli için %66,8 (n:127), A aleli içinse %33,2 (n:63) olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda çalıştığımız popülasyonun, MRP1 G1666A gen polimorfizminin genotip ve alel frekanslarının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bulunmuştur.

İdrar arsenik düzeyleri, MRP1 G1666A genotiplerine göre değerlendirildiğinde, GG genotipine sahip işçilerde ($10,70 \pm 7,61 \mu\text{g/L}$) idrar arsenik düzeyinin GA ($4,84 \pm 2,54 \mu\text{g/L}$) ve AA ($4,83 \pm 3,72 \mu\text{g/L}$) genotipine sahip işçilere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). MRP1 G1666A genotipleri ile idrar arsenik düzeyleri arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,001$).



Şekil 2. MRP1 G1666A gen polimorfizmi ile idrar arsenik düzeyi arasındaki ilişki

TARTIŞMA

Son yıllarda ülkemizde çevre kirlenmesi yönünden metallerin, özellikle arseniğin potansiyel bir tehlike oluşturduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. Arsenik, sülfidril gruplarına bağlanarak saç, deri ve tırnakların keratin matriksinde depolandığından, kronik arsenik maruziyetinin başlıca belirtileri avuç içi ve ayak tabanında pigmentasyon ve hiperkeratozdur. Bu belirtilere ek olarak görülebilecek diğer yan etkiler, periferik nöropati, akciğer hastalığı, kardiyovasküler problemler, konjunktivit, diyabet, halsizlik, anemi, diyare ve hepatomegalidir. Kronik arsenik maruziyetinin deri kanserinin yanı sıra akciğer, mesane, böbrek ve karaciğer gibi iç organ kanserlerine de neden olduğu ile ilgili yayın sayısı her geçen gün artmaktadır. Bununla birlikte, aynı oranda arseniğe maruz kalan bireylerin sadece %15-20'sinde deri lezyonları oluşmakta ve kanser oluşumu açısından bireyler arasında farklılık bulunmaktadır. Bu bireysel farklılığa neden olan çeşitli faktörlerden biri, bazı bireylerde arsenik metabolizmasında görev alan enzim ve proteinleri kodlayan genlerdeki polimorfizmler nedeniyle arseniğin vücuttan yeterince atılmamasıdır (6). İnsanlarda, arsenik bileşikleri büyük oranda karaciğerde metilasyonla metabolize edildikten sonra başlıca idrarla ve daha az oranda safra ile atılmaktadır (9, 10, 18). Karaciğerde metillenen ve glutatyona birleşen arsenik, MRP1 ile sistemik dolaşıma ve

sonra idrara taşınmakta ve böylece vücuttan atılmaktadır (10, 11).

MRP1 taşıyıcı proteininin dokuları arsenik maruziyetinden glutatyona bağımlı bir mekanizma ile koruduğuna dair bulgular literatürde bulunmaktadır (10, 16). Leslie ve ark. AsIII'ün AsIII(GS)₃ olarak taşındığını göstermiştir. Dolayısıyla AsV, AsIII'e indirgendikten sonra MRP1 ile hücre dışına taşınmaktadır (10). Vernhet ve ark., aşırı MRP1 üreten hücre hatlarıyla yaptıkları çalışmada, bu hücrelerin antikanser bir madde olan arsenik trioksida dirençli olduğunu göstermişlerdir (11). Bununla birlikte, MRP1 (+/+) ve MRP1 (-/-) farelerin karşılaştırdığı çalışmada, yüksek doz akut maruziyet sonrasında iki grup fare arasında hayatta kalma ve dokularda arsenik birikimi açısından bir fark olmadığı tespit edilmiştir (19). Leslie ve ark. (2000) MRP1 ve arseniğin araştırıldığı bu çalışmada farklı sonuçlar elde edilmesinin nedeninin, uygulanan arsenik dozlarının farklı olmasından kaynaklandığını ileri sürmektedir. Leslie ve ark.'na göre, yüksek doz maruziyet MRP1'in doymasına ve diğer koruyucu yolların devreye girmesine neden olmuş olabilir. Dolayısıyla, düşük dozda ve kronik arsenik maruziyetinde MRP1, dokuların arseniğin karsinojenik etkilerinden korunması için oldukça önemli bir proteindir (20). Ayrıca, AsIII, MMAV ve DMAV gibi farklı arsenik türlerine maruz bırakılan sıçan karaciğeri, insan epidermoid karsinoma ve akut promiyelositik hücre hatları gibi birçok dokuda MRP1 protein ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (10).

MRP1 taşıyıcı proteinini kodlayan *ABCC1* geni polimorfik bir gen olup, Asya'lılarda ve beyaz ırkta şimdiye kadar yapılan çalışmada çok sayıda SNP tanımlanmıştır. Tanımlanan tek nükleotid polimorfizmlerinin büyük bir kısmı, kodlanmayan bölgede ve intronlarda yer alırken, çok az bir kısmı kodlanan bölgede bulunmaktadır (15). Bizim çalışmamızda ise bir promotör bölge polimorfizmi olan MRP1 G1666A polimorfizminin idrar arsenik düzeylerine etkisi araştırılmış ve etkisi olduğu görülmüştür. Tablo 3'te görüldüğü gibi MRP1 G1666A polimorfizmi ile idrar arsenik düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p=0,001$).

Tablo 3. Arseniğe maruz kalan bireylerde MRP1 G1666A polimorfizmi ile idrar arsenik düzeylerinin istatistiksel değerleri.

As Düzeyleri	MRP1 genotip	n	Ortalama ma±S.S.	Minimum-Değerler	Maksimum-Değerler	P
İdrar (µg/L)	GG	12	10,70±7,61	2,63	27,54	0,001
	GA	39	4,84±2,54	1,40	18,89	
	AA	44	4,83±3,72	0,99	11,61	

Bulgularımıza göre, arseniğin vücuttan uzaklaştırılması açısından MRP1 homozigot bireyler (GG) daha avantajlı gibi görünmektedir. G1666A polimorfizmi, MRP1'i kodlayan *ABCC1* geninin promotor bölgesinde yer almaktadır ve yapılan çalışmalarda promotor bölgede yer alan tek nükleotid polimorfizmlerinin, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını bozarak gen ifadesini etkileyebileceği gösterilmiştir. MRP1 G1666A polimorfizmi ile hepatoselüler karsinom arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada da G alelinin nükleer proteinlere bağlanma ilgisinin A aleline göre daha fazla olduğu görülmüş ve bu nedenle pompalama aktivitesinin G aleline sahip bireylerde daha fazla olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada A aleline sahip bireylerin 4 yıl daha fazla yaşayarak daha iyi bir prognoza sahip oldukları belirlenmiştir (17).

Böyle bir etkinin belirlenmiş olması ilerleyen yıllarda arsenik

maruziyetine bağlı hastalıklara ve kanser oluşumuna duyarlı bireylerin tespit edilmesine ve bu bireylerin arseniğe maruz kalabilecekleri bir işyerinde çalıştıklarında kişisel koruyucu malzeme kullanmak ve düzenli sağlık kontrollerini yaptırmak gibi önlemlerle hastalığa yakalanma risklerinin azaltılmasına katkı sağlayacaktır. Böylece, alınan önlemlerle arseniğe bağlı hastalıklara ve kansere yakalanan işçi sayısının azalmasıyla işçi sağlığı korunmuş olacaktır. Ayrıca, araştırmamızda çalışılan gen polimorfizminin arsenik atılımı üzerine etkisini, Türk populasyonunda araştıran bir çalışmaya literatür taramalarında rastlanmamıştır. Arsenik maruziyetinin dikkat çekmeye başladığı ülkemizde arsenik toksikokinetiğinde rol oynayan bu proteinin idrar arsenik düzeylerine etkisinin araştırılması, arsenik toksikokinetiğinde rol oynayan diğer mekanizmaların da aydınlatılmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Association between multidrug-resistance associated protein 1 (MRP1) G1666A gene polymorphism and urinary arsenic levels

ABSTRACT

Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1) is a human ATP-Binding Cassette (ABC) transporter protein. It mediates the cellular efflux of various endo- and exobiotics and, thus, protects tissues from toxic insults. MRP1 transports particularly glutathione-, glucuronide- and sulphate-conjugates that are produced by transferases of Phase II enzymes. MRP1 is encoded by *ABCC1* gene and polymorphisms can affect the function of this gene and cause inter-individual differences. The aim of this study was to determine the effect of MRP1 G1666A gene polymorphism on urinary arsenic levels in 95 Turkish smelter workers. Urinary arsenic concentrations were measured by Graphite Furnace

Atomic Absorption Spectroscopy (GFAAS) with Zeeman correction and MRP1 G1666A single nucleotide polymorphism was investigated by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method. The genotype frequencies were found as 12.6% homozygote typical (GG), 41.1% heterozygote (GA) and 46.3% homozygote atypical (AA). The mean level of arsenic in the urine samples was 5.58 ± 4.37 $\mu\text{g/L}$. Highly statistically significant association was detected between G1666A polymorphism in the *ABCC1* gene ($p=0.001$). Individuals with the GG genotype had higher urinary arsenic level (10.70 ± 7.61 $\mu\text{g/L}$) than those with GA (4.84 ± 2.54 $\mu\text{g/L}$) and AA (4.83 ± 3.72 $\mu\text{g/L}$) genotypes. This study suggested that MRP1 G1666A polymorphism is associated with inter-individual variations in urine arsenic levels.

Keywords: Arsenic; urinary arsenic level; MRP1; single nucleotide polymorphism

KAYNAKLAR

1. WHO (2008). Guidelines for drinking-water quality, 3rd edition incorporating 1st and 2nd addenda. Vol. 1. Recommendations. Geneva, World Health Organization, pp. 306–308b (http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDW12rev1and2.pdf). [Accessed 21 December 2015].
2. Watanabe T, Hirano S. Metabolism of arsenic and its toxicological relevance. *Arch Toxicol* 2013;87: 969-79.
3. Faita F, Cori L, Bianchi F, Andreassi MG. Arsenic-induced genotoxicity and genetic susceptibility to arsenic-related pathologies. *Int J Environ Res Public Health* 2013;10: 1527-46.
4. Rossman TG. Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. *Mutat Res* 2003;533: 37-65.
5. Bhattacharjee H, Sheng J, Ajees AA, Mukhopadhyay R, Rosen BP. Adventitious arsenate reductase activity of the catalytic domain of the human Cdc25B and Cdc25C phosphatases. *Biochem* 2010;49: 802-9.
6. Bhattacharjee P, Chatterjee D, Singh KK, Giri AK. Systems biology approaches to evaluate arsenic toxicity and carcinogenicity: An overview. *Int J Hyg Environ Health* 2013;216: 574-86.
7. Tokar EJ, Boyd WA, Freedman JH, Waalkes MP. Toxic Effects of Metals. In : Casarett and Doull's Toxicology/The Basic Science of Poisons. Editors: C.D. Klaassen, McGraw Hill Education, USA. 2013, pp.986-990.
8. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic and Arsenic Compounds, Vol. 100c. Lyon, France. 2011.

9. Drobná Z, Walton FS, Paul DS, Xing W, Thomas DJ, Stýblo M. Metabolism of arsenic in human liver: the role of membrane transporters. *Arch Toxicol* 2010;84: 3-16.
10. Leslie EM. Arsenic–glutathione conjugate transport by the human multidrug resistance proteins (MRPs/ABCCs). *J Inorg Biochem* 2012;108: 141-9.
11. Vernhet L, Allain N, Bardiau C, Anger JP, Fardel O. Differential sensitivities of MRP1-overexpressing lung tumor cells to cytotoxic metals. *Toxicol* 2000;142: 127-34.
12. Kala SV, Neely MW, Kala G, Prater CI, Atwood DW, Rice JS, Lieberman MW. The MRP2/cMOAT transporter and arsenic-glutathione complex formation are required for biliary excretion of arsenic. *J Biol Chem* 2000;275: 33404–8.
13. Kunjachan S, Rychlik B, Storm G, Kiessling F, Lammers T. Multidrug resistance: Physiological principles and nanomedical solutions. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65: 1852-65.
14. Cole SP, Deeley RG. Transport of glutathione and glutathione conjugates by MRP1. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27: 438-46.
15. Yin J, Zhang J. Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) polymorphism: from discovery to clinical application. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2011;36: 927-38.
16. Leslie EM, Deeley RG, Cole SP. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;204: 216-37.
17. Zhao J, Yu BY, Wang DY, Yang JE. Promoter polymorphism of MRP1 associated with reduced survival in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010;16: 6104-10.
18. Hayakawa T, Kobayashi Y, Cui X, Hirano S. A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19. *Arch Toxicol* 2005;79: 183-91.
19. Lorico A, Bertola A, Baum C, Fodstad O, Rappa G. Role of the multidrug resistance protein 1 in protection from heavy metal oxyanions: investigations in vitro and in MRP1-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291: 617–22.
20. Leslie EM, Haimeur A, Waalkes MP. Arsenic transport by the human multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1). Evidence that a tri-glutathione conjugate is required. *J Biol Chem* 2004;279: 32700-8.