



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

**DOKTORA
TEZİ**

**ELEKTRONİK SİGARA (E-SİGARA) KULLANAN
KİŞİLERDE OLASI GENOTOKSİK HASARIN VE
NİKOTİN MARUZİYETİNİN BELİRLENMESİ**

GÜLŞEN GÖNEY

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

OCAK 2016



**ELEKTRONİK SİGARA (E-SİGARA) KULLANAN KİŞİLERDE OLASI
GENOTOKSİK HASARIN VE NİKOTİN MARUZİYETİNİN
BELİRLENMESİ**

Gülşen GÖNEY

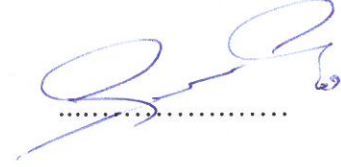
**DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2016

Gülşen GÖNEY tarafından hazırlanan “Elektronik Sigara (E-Sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

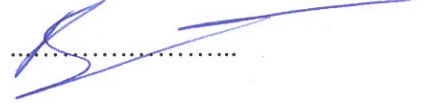
Danışman: Prof.Dr.İsmet ÇOK
Farmasötik Toksikoloji, Gazi Üniversitesi
Bu tezin. kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



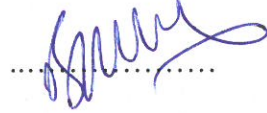
Başkan : Prof.Dr.Sema BURGAZ
Farmasötik Toksikoloji, Gazi Üniversitesi
Bu tezin. kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof.Dr.Benay CAN EKE
Farmasötik Toksikoloji, Ankara Üniversitesi
Bu tezin. kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof.Dr.Bensu KARAHALİL
Farmasötik Toksikoloji, Gazi Üniversitesi
Bu tezin. kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof.Dr.Nurşen BAŞARAN
Farmasötik Toksikoloji, Hacettepe Üniversitesi
Bu tezin. kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi:

28/01/2016

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

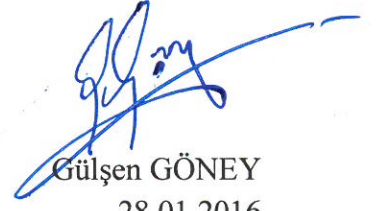
.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Gülşen GÖNEY
28.01.2016

ELEKTRONİK SİĞARA (E-SİĞARA) KULLANAN KİŞİLERDE OLASI GENOTOKSİK HASARIN VE NİKOTİN MARUZİYETİNİN BELİRLENMESİ

(Doktora Tezi)

Gülşen GÖNEY

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2016

ÖZET

Son yıllarda elektronik sigara (e-sigara) kullanımı giderek artmaktadır fakat e-sigaranın güvenliği ve etkinliğine yönelik bilimsel kanıt bulunmamaktadır. Bu çalışmada e-sigara kullanan, sigara içen ve sigara dumanına pasif olarak maruz kalan bireylerdeki muhtemel genotoksik hasarın ve nikotin maruziyetinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. E-sigara kullanıcıları (n=32), klasik sigara kullanıcıları (n=33), pasif maruz kalan (n=32) ve sağlıklı olan sigara içmeyen bireylerin (n=33) olası genotoksik hasarları yanak içi epitel hücrelerde ve periferik lenfositlerde, kromozomal hasar ve DNA hasarları açısından karşılaştırılmıştır. E-sigara kullanan, sigara içen ve pasif maruz kalan bireylerde nikotin maruziyeti miktarının belirlenmesi ve karşılaştırılması da bu çalışmanın bir diğer amacıdır. İdrar örneklerinde kotinin düzeyi e-sigara kullanıcılarında 1656 ± 1633 ng/g kreatinin, sigara içen kişilerde 1695 ± 1267 ng/g kreatinin ve pasif maruz kalanlarda 83 ± 98 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur. E-sigara kullanıcıları ve sigara içen kişilerin kotinin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Komet deneyi sonucunda kuyruk momenti değerleri; e-sigara kullanıcılarında, sigara içen kişilerde, pasif maruz kalanlarda ve kontrol grubunda sırasıyla $1,5 \pm 0,45$; $1,4 \pm 1,44$; $1,3 \pm 0,50$ ve $1,0 \pm 0,43$ (Ort $\pm$ SS) olarak bulunmuştur. E-sigara kullanıcılarının kuyruk momenti sonuçları kontrol grubundan ve sigara içen gruptan önemli derecede yüksektir ($p < 0,001$). Yanak epitel hücre mikroçekirdek sonuçlarına göre MÇ ve MÇ'li hücre sayısında e-sigara kullanıcıları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Kromozomal aberasyon sonuçları e-sigara kullanıcıları ve sigara içen kişiler arasında kromozom kırık ve kromatid gap sıklığı düzeyinde anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymaktadır ($p > 0,05$). Sonuçlarımız göstermektedir ki e-sigara kullanıcıları en az sigara içen bireyler kadar nikotin maruziyetine ve DNA hasarına sahiptir.

Bilim Kodu : 1021

Anahtar Kelimeler : E-sigara, Genotoksisite, DNA Hasarı, Kotinin

Sayfa Adedi : 166

Danışman : Prof. Dr. İsmet ÇOK

DETERMINATION of POSSIBLE GENOTOXIC DAMAGE and NICOTINE
EXPOSURE of ELECTRONIC CIGARETTE (E-CIGARETTE) USERS

(Ph. D. Thesis)

Gülşen GÖNEY

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2016

ABSTRACT

The use of electronic cigarettes (e-cigarettes) has increased dramatically over the past few years. Moreover, no sufficient scientific evidence is available confirming the safety and efficacy of e-cigarette's. In this study we aimed to investigate the possible genotoxic damage and nicotine exposure in individuals who smoke e-cigarette (n=32), classic cigarette (n=33), passive smokers (n=32) and healthy non-smoker individuals (n=33). Determination and comparison of the amount of nicotine exposure of e-cigarette users, cigarette smokers and passive smokers are among the aims of this study. The mean ($\pm$ SD) urinary cotinine levels were determined as 1656 ± 1633 ng/g creatinine for e-cigarette users, 1695 ± 1267 ng/g creatinine for cigarette smokers and 83 ± 98 ng/g creatinine for passive smokers. There were no statistically significant differences between e-cigarette users and cigarette smokers cotinine levels ($p > 0,05$). The tail moment (mean $\pm$ SD) in peripheral lymphocytes of e-cigarette users, cigarette smokers, passive smokers and controls were found to be $1,5 \pm 0,45$; $1,4 \pm 1,44$; $1,3 \pm 0,50$ and $1,0 \pm 0,43$ respectively. Tail moment scores of e-cigarette users are significantly higher than those of control subjects and cigarette smoker subjects ($p < 0,001$). Buccal MN results demonstrate that both MN and MNed cell frequencies have significant differences between control groups and e-cigarette users ($p < 0,05$). Chromosomal aberration results show that no significant difference has been found chromosome break and chromatid gap frequency between e-cigarette users and cigarette smokers ($p > 0,05$). These results indicate that e-cigarette users are exposed to nicotine as much as cigarette smokers and may speculate that e-cigarette might lead to the DNA damage as much as smoking cigarette.

Science Code : 1021

Key Words : E-cigarette, Genotoxicity, DNA Damage, Cotinine

Page Number : 166

Advisor : Prof. Dr. İsmet ÇOK

TEŞEKKÜR

Hocalarım Prof.Dr. İsmet ÇOK, Prof.Dr. Sema BURGAZ ve Prof.Dr. Bensu KARAHALİL'e

Çalışmalarına önerileriyle destek veren ve yönlendiren Prof.Dr. Benay Can EKE'ye ve Prof.Dr. Uğur TAMER'e,

Laboratuvarlarında çalışma imkanı veren, bilgi ve deneyimiyle yönlendiren Prof.Dr. Zekiye SULUDERE'ye ve Prof.Dr. Cengiz SANCAK'a,

Çalışmalarım süresince dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr. Yeşer GENÇ ve Çiğdem KULOĞLU'na,

Çalışmalarım boyunca desteklerini her daim hissettiren Ebru SEZGİN'e ve Sibel SEZGİN'e

Tanımdan büyük mutluluk duyduğum, çalışkanlığı, iş disiplini ve özverili çalışmasıyla her zaman yanımda olan, Hemşire Gül ÖZTÜRK'e,

Bilimin ilerlemesi ve karanlıkta kalmış konulara ışık tutulması amacıyla tez çalışmasına katılarak örnek veren tüm gönüllülere,

113S837 proje numarası ile tez çalışmasını destekleyen TÜBİTAK'a ve aileme;

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Elektronik Sigara.....	5
2.2. Türkiye’de ve Dünyada E-sigara Kullanımına Yönelik Yasal Düzenlemeler	9
2.3. E-sigara Kullanımının Potansiyel Sağlık Riskleri.....	10
2.4. Yerine Koyma Tedavi Yönteminde E-sigara	17
2.5. E-sigara Kısımları ve Çalışma Prensibi	18
2.5.1. Batarya.....	19
2.5.2. Atomizer	19
2.5.3. Kartuş	19
2.6. E-sigaranın Kimyasal İçeriği.....	20
2.6.1. Propilen glikol	23
2.6.2. Gliserol	24
2.6.3. Gıda aromaları	25
2.6.4. Nikotin.....	25
2.7. E-Sigara Kullanımıyla Açığa Çıkan Kimyasal Maddeler	29

	Sayfa
2.7.1. Tütüne özgü nitrozaminler (TSNA)	29
2.7.2. PAH'lar.....	33
2.7.3. Ağır metaller.....	33
2.7.4. Formaldehit, akrolein ve dietilen glikol	34
2.8. Nikotin Toksikokinetiği	34
2.8.1. Absorbsiyon.....	35
2.8.2. Dağılım ve atılım.....	35
2.8.3. Metabolizma	38
2.9. Nikotin Maruziyeti Biyogöstergeleri	41
2.9.1. Nikotin maruziyetinde biyogösterge olarak kotinin	41
2.10. Biyogöstergeler	42
2.10.1. Komet yöntemi	43
2.10.2. Mikroçekirdek yöntemi	45
2.10.3. Kromozomal aberasyon tekniği.....	49
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	53
3.1. Analitik Yöntemler.....	54
3.1.1. İdrar örneklerinde kotinin tayini.....	54
3.1.2. Analitik yöntemin validasyonu (Geçerlilik onayı)	55
3.1.3. Kreatinin analizi	57
3.2. Genotoksisite Yöntemleri.....	59
3.2.1. Periferel lenfositlerde komet yöntemi	59
3.2.2. Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomalileri sıklıklarının analizi	63
3.2.3. Periferel lenfositlerde kromozomal aberasyon sıklığının analizi	66
3.3. İstatistiksel Analizler.....	69
4. BULGULAR	71

Sayfa

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri	71
4.2. İdrar Örneklerinde Kotinin Miktar Tayini ve Yöntem Validasyonu	71
4.2.1. Analitik yöntem validasyonu.....	71
4.2.2. Kreatinin tayini sonuçları	74
4.2.3. İdrar örneklerinde kotinin miktar tayini sonuçları.....	75
4.3. Periferal Lenfositlerde Komet Yöntemi Sonuçları	79
4.4. Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek ve Diğer Çekirdek Anomalileri Sonuçları	84
4.5. Kromozomal Aberasyon Deneyi Sonuçları	88
4.6. Çalışma Gruplarına Uygulanan Anket Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	95
5. TARTIŞMA.....	99
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	127
KAYNAKLAR	131
EKLER.....	149
EK-1. Sağlık Bakanlığı Yazısı.....	150
EK-2. TBMM, Elektronik Sigaralara İlişkin Soru Önergesi	151
EK-3. Etik Kurul Yazısı.....	154
EK-4. Anket Formları	158
ÖZGEÇMİŞ.....	164

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Elektronik sigaranın avantajları ve dezavantajları.....	9
Çizelge 2.2. Elektronik sigara aerosolünde ve sigara dumanındaki zararlı bileşikler	11
Çizelge 2.3. E-sigara içeriğindeki maddelerin toksikolojik açıdan değerlendirilmesi ...	16
Çizelge 2.4. E-sigara etiketindeki ve içeriğindeki nikotin konsantrasyonları	20
Çizelge 2.5. E-sigara kartuşunda kimyasal maddelerin içeriği ve miktarı	22
Çizelge 2.6. Örnek bir e-sigara dumanında saptanan maddeler ve miktarları	23
Çizelge 2.7. PG Toksisitesi	23
Çizelge 2.8. Kotininin genel özellikleri	26
Çizelge 2.9. E-sigara kullanan kişilerin vücut sıvılarında nikotin/kotinin düzeyleri.....	28
Çizelge 2.10. TSNA düzeyleri karşılaştırması (ng/g)	31
Çizelge 2.11. Nikotin inhalelerin e-sigara ve sigarayla karşılaştırılması	35
Çizelge 2.12. İntravenöz uygulamadan sonra nikotin ve önemli metabolitlerinin farmakokinetik parametreleri	37
Çizelge 2.13. İdrardaki önemli nikotin metabolitleri	38
Çizelge 3.1. Kotinin analizi için sağlanmış GC-MS koşulları.....	55
Çizelge 4.1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri.....	71
Çizelge 4.2. Analiz edilen kotinin ve difenilamin alıkonma zamanları.....	71
Çizelge 4.3. Kotinine ait doğruluk ve geri kazanım çalışması sonuçları.....	72
Çizelge 4.4. Kotinin için gün içi kesinlik çalışması sonuçları	73
Çizelge 4.5. Kotinin için günler arası kesinlik çalışması sonuçları	73
Çizelge 4.6. Kotinin teşhis sınırı ve miktar tayini alt sınırı sonuçları.....	74
Çizelge 4.7. E-sigara kullanan, sigara içen ve pasif maruz kalan bireylerin kotinin düzeylerinin (ng/g kreatinin) karşılaştırılması.....	75
Çizelge 4.8. E-sigara kullanıcılarının e-likitte kullandıkları nikotin miktarı ve idrardaki kotinin miktarı	75

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.9. E-sigara kullanan grup içerisinde e-likit nikotin miktarı ile kotinin ölçümleri arasındaki korelasyon katsayısı ve önemlilik düzeyi	76
Çizelge 4.10. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre olguların kotinin düzeyleri	76
Çizelge 4.11. Çalışma gruplarının kuyruk momenti, yoğunluğu ve uzunluğu düzeyleri	79
Çizelge 4.12. Tüm gruplar içerisinde kotinin düzeyi ile kuyruk momenti, yoğunluğu (%) ve uzunluğu (μm) ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	81
Çizelge 4.13. E-sigara kullanan ve sigara içen kişilerde e-likit nikotin miktarı ve günlük içilen sigara sayısına göre komet yöntemi sonuçları.....	82
Çizelge 4.14. E-sigara kullanan grup içerisinde e-likit nikotin miktarı ile kuyruk momenti, yoğunluk (%) ve uzunluk (μm) ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	82
Çizelge 4.15. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre grupların kuyruk momenti, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğu düzeyleri	82
Çizelge 4.16. E-sigara kullanan, Sigara içen, Pasif maruz kalan ve Kontrol grubundaki bireyleri yanak epitel hücrelerindeki MÇ, MÇ'li hücre sıklıkları düzeyleri (%)	84
Çizelge 4.17. Deney ve kontrol grubu bireylerin yanak epiteli hücrelerindeki diğer çekirdek anomalileri sıklıklarına ait (%) veriler. ..	85
Çizelge 4.18. E-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile MÇ, MÇ'li hücre sayısı ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	86
Çizelge 4.19. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre olguların MÇ, MÇ'li hücre sayısı	87
Çizelge 4.20. Tüm gruplar içerisinde kotinin ve kuyruk momenti düzeyleri ile MÇ, MÇ'li hücre sayısı ve BUD ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	87
Çizelge 4.21. Birinci ve ikinci mikroskop okumasındaki MÇ, MÇ'li hücre ölçümleri arasındaki sınıf içi güvenilirlik katsayıları	88
Çizelge 4.22. Diğer çekirdek anomalilerine ait birinci ve ikinci mikroskop okumasındaki sınıf içi güvenilirlik katsayıları	88
Çizelge 4.23. E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon sonuçları	89

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.24. E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon ve MI sonuçları	90
Çizelge 4.25. E-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile aberasyon ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	90
Çizelge 4.26. Sigara içen grup içerisinde günlük tüketilen sigara sayısına göre alt grupların aberasyon ölçümleri	91
Çizelge 4.27. Kontrol grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	92
Çizelge 4.28. Pasif maruziyet grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	93
Çizelge 4.29. Sigara içen grup içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	93
Çizelge 4.30. E-sigara grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri	94
Çizelge 4.31. Tüm olgular içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri.....	94

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. E-sigaranın kullanıcılar tarafından tercih edilme nedenleri.....	8
Şekil 2.2. Elektronik sigara kullanıcılarında 24 hafta boyunca rapor edilmiş advers etkilerde görülen değişiklikler	12
Şekil 2.3. Amerika Birleşik Devletlerinde 2010 ve 2014 yılları arasında e-sigara ve sigara nedeniyle zehir merkezini arama sayısı	15
Şekil 2.4. Tütüne özgü nitrozaminler ve prekürsörleri	30
Şekil 2.5. Tütüne özgü nitrozaminlerin tütünde oluşum şekli	30
Şekil 2.6. Tütüne özgü nitrozaminler ve DNA katım şekli.....	32
Şekil 2.7. Nikotin metabolizması.....	39
Şekil 2.8. Nikotin metabolizmasının kantitatif olarak dağılımı	40
Şekil 2.9. Nikotin metabolizmasında öncelikli yollar.....	40
Şekil 2.10. Ağız içi hücre tiplerinin orijinleri ve muhtemel oluşum mekanizması diyagramı	45
Şekil 2.11. Normal yanak mukoza kesitinin diyagramatik gösterimi	46
Şekil 2.12. Kromozomal abersasyonların sınıflandırılması, sayısal aberasyonlar	49
Şekil 2.13. Kromozomal abersasyonların sınıflandırılması, yapısal aberasyonlar.....	50
Şekil 4.1. İdrar örneklerinde kotinin tayinine ait kalibrasyon grafiği ve denklemi	72
Şekil 4.2. Kreatinin kalibrasyon eğrisi.....	74
Şekil 4.3.Gruplara ait kuyruk momenti sonuçları	80
Şekil 4.4. Gruplara ait kuyruk yoğunluğu sonuçları	80
Şekil 4.5. Gruplara ait kuyruk uzunluğu sonuçları	80
Şekil 4.6. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-sigarayı tercih etme nedenleri.....	96
Şekil 4.7. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-likitteki nikotin miktarları.....	96
Şekil 4.8. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-likitteki aroma tercihleri	96

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. E-sigara kullanıcısında pilin patlamasıyla oluşan yanık görüntüsü.....	13
Resim 2.2. E-sigara kısımları ve bu kısımların görevleri	18
Resim 2.3. Komet tekniği uygulaması özeti	44
Resim 2.4. Komet tekniğinde değerlendirmenin fotografik sunumu.....	44
Resim 2.5. Feulgen ile boyama yapılmış hücrelerin mikroskop altındaki görüntüleri...	48
Resim 2.6. Ağız içi epitelinin yapısı ve farklılaşması	48
Resim 2.7. Bazı kromozomal aberasyonlar	51
Resim 4.1. İdrar örneklerinde kreatinin spektrofotometre görüntüsü.....	75
Resim 4.2. E-sigara kullanan bireyde kotinine ait örnek kromatogram	77
Resim 4.3. İç standart Difenilamin'e ait kromatogram.....	78
Resim 4.4. Sağlıklı bireyler grubundan bir bireye ait komet çalışması görüntüsü	83
Resim 4.5. Sigaraya pasif maruz kalan bir bireyin komet çalışması görüntüsü	83
Resim 4.6. Sigara içen bireye ait komet çalışması görüntüsü.....	83
Resim 4.7. E-sigara içen bireye ait komet çalışması görüntüsü	83
Resim 4.8. E-sigara kullanan bireyde MÇ ve diğer çekirdek anomalileri görüntüsü	86
Resim 4.9. Çalışmada incelenen e-sigara kullanan bir bireye ait kromozomal aberrasyon görüntüsü	89
Resim 4.10. Araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-sigaraların resimleri.....	97
Resim 4.11. Araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-likitlerin resimleri.....	98

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

maks.	Maksimum
mg	Miligram
min.	Minimum
ml	Mililitre
ng	Nanogram
sa.	Saat

Kısaltmalar

Açıklama

BSS	Bağıl standart sapma
BUD	Nükleer tomurcuk
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ENDS	Elektronik nikotin taşıyıcı sistem
GC-MS	Gaz kromatografi-kütle spektrometresi
KA	Kromozomal aberasyon
LOD	Teşhis alt sınırı (Limit of Detection)
LOQ	Miktar tayini alt sınırı (Limit of Quantification)
MÇ	Mikroçekirdek
NOEL	Etkinin görülmediği doz
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbon
PG	Propilen glikol
TI	Kuyruk yoğunluğu (Tail Intensity)
TL	Kuyruk uzunluğu (Tail Length)
TLV	Eşik limit değeri (Threshold Limit Value)
TM	Kuyruk momenti (Tail Moment)
TSNA	Tütüne özgü nitrozaminler
VG	Bitkisel gliserin (Vegetable Glycerine)

1. GİRİŞ

Yeryüzünde her yıl 6 milyona yakın insan tütün kullanımına bağlı çeşitli hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmektedir (DSÖ, 2015). Bu hastalıkların başında kalp ve akciğer hastalıkları olmak üzere tütün kullanımına bağlı gelişen çeşitli kanser olguları da gelmektedir. Örneğin akciğer kanserinin bilimsel olarak kanıtlanmış en önemli iki nedeninden biri sigara kullanmaktır. Türü ne olursa olsun madde bağımlılığı, birey ve toplumların sağlıklı yaşamlarını tehdit eden en önemli risk faktörlerinden biridir. Tütün tipi bağımlılık dolayısıyla nikotin tipi bağımlılık ise dünyadaki tüm toplumlarda ilk sırada yer alan bağımlılık türü olarak dikkat çekmektedir. Yurdumuzda görülen bağımlılık çeşitleri arasında da ilk sırada tütün/nikotin tipi bağımlılık gelmektedir. Bu bağımlılığı önemli kılan faktörlerin başında bağımlılığa neden olan nikotin ve nikotinin farklı kullanım yollarına bağlı olarak tütünün yanması sonucu çok sayıda kimyasal maddenin de beraberinde vücuda alınmasıdır. Dünya üzerinde hiçbir alışkanlık veya maruziyet çeşidi yoktur ki bu kadar fazla sayıda kimyasala bir arada maruz kalınsın, üstelik bu maruziyet istemli olarak yaratılsın. Sigara kullanımı nikotin tipi bağımlılığın ana bileşenidir. Bu bağımlılık nedeniyle sigara veya tütün ürünlerinin kullanımından vazgeçmek oldukça zor ve uzun bir süreci kapsamaktadır. Son yıllarda dünya genelinde sigara kullananların sayısının rekor seviyeye ulaşmasına bağlı olarak, sigara karşıtı yasalar artmıştır. Örneğin; ülkemizde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından oluşturulan ve Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülen Ulusal Tütün Kontrol Programı Eylem Planı 2015-2018 (Resmi gazete, 2015) ile “Tütün Ürünlerine Olan Talebin Azaltılmasına Yönelik Önlemler” başlığı altında başta sigara kullanımı olmak üzere diğer tütün ürünlerinin kullanımının azaltılmasına çalışılmaktadır. Tüm dünyada tütün ürünlerinin kullanımının azaltılmasına yönelik bu çabalar başta sigara üreticileri tarafından piyasayı hareketlendirmek ve talebi yükseltmek için alternatif ürünlerin halka sunulmasına neden olmuştur. Sunulan bu ürünler arasında elektronik sigara (e-sigara) en popüler olanıdır.

E-sigara, sigara gibi görünen, kullanımı sigara benzeri duygu veren fakat sigaradan farklı olarak tütün içermeyen ve tütünü yakmayan bir üründür. E-sigaralar; nikotin ve çeşitli aromaların propilen glikol ve/veya bitkisel gliserol çözeltisinden oluşan sıvıda çözünmesinden ve bu sıvı karışımı buharlaştırmak için tasarlanmış pilden oluşan cihazlardır. E-sigara kullanımı sırasında belirgin bir buhar oluşur fakat bu sigara dumanı gibi değildir (Etter, 2010; Etter ve Bullen, 2011a). Günümüzde elektronik nikotin taşıyıcı

sistemler (ENDS) adı altında pazarlanmaya çalışılan e-sigaraların, sigara kullanımına olan talebi düşüreceği ve sigara içimine bir alternatif olacağı sloganları ile başta internet olmak üzere çok farklı yollarla tanıtım ve pazarlanması, e-sigaranın dünya çapında yaygınlaşmasında en önemli nedenlerdir (Ayers, Ribisl, Brownstein, 2011; Adkison ve diğerleri, 2013; Camenga ve diğerleri, 2014; Klein, 2014). Son verilere göre dünya üzerinde 466'dan fazla markayı bünyesinde barındıran ve e-sigara üretimi yapan 200'den fazla şirket bulunmaktadır (Southeast Asia Tobacco Control Alliance, 2014). Diğer yandan Amerika Birleşik Devletleri'nde Hastalıkları Kontrol ve Önleme merkezi (The Centers for Disease Control and Prevention) tarafından gerçekleştirilen "Ulusal Gençlik Tütün Araştırması" e-sigara ile ilgili raporlarına göre 2011 yılında % 4,5 olan e-sigara kullanım oranı 2014 yılında % 13,4'e yükselmiştir. Sonuçlar 2011 ve 2014 yılları arasında 2,2 milyondan fazla öğrencinin e-sigara kullanımına başladığını göstermektedir. 2011 ve 2014 yıllarında ortaokul ve lise öğrencilerinin e-sigara kullanım alışkanlığı sorgulanmış ve 2014 yılında her 100 ortaokul öğrencisinden 4'ünün (% 3,9) son bir ay içerisinde e-sigara kullandığı bildirilmiştir. Bu oran 2011 yılındaki verilerle karşılaştırıldığında % 0,6'lık bir artış görülmektedir. 2014 yılında her 100 lise öğrencisinden en az 13'ünün (% 13,4) son bir ay içinde e-sigara kullandığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar ise 2011 yılı sonuçlarıyla karşılaştırıldığında lise öğrencileri arasında e-sigara kullanımında % 1,5'lik bir artış görülmüştür (CDC, 2015).

E-sigara üretimi, satışı ve kullanımının yasal olarak düzenlenmesindeki ülkeler arası farklılıklar bu ürünlerin yaygın kullanımı üzerinde etkili olmaktadır. Örneğin Almanya'da e-sigaraların satışı ve pazarlanmasına yönelik yasal bir düzenleme bulunmazken (Gesley, 2015) Danimarka, İsviçre gibi Avrupa ülkelerinin bazılarında satışına izin verilmemektedir. DSÖ Tütün Ürünleri Yönetmeliği Çalışma Grubu e-sigaralar için ihtiyati bir yaklaşımı tavsiye etmektedir (DSÖ, 2015). Çoğu ulusal düzenleyici kurum da benzer yaklaşımı benimsemiştir.

E-sigara ürünlerine yönelik önemli konulardan biri de bu ürünlerin satışında "e-sigaraların tamamıyla zararlı bileşiklerden yoksun olduğu" konusunun işlenmesidir. Elektronik nikotin taşıyıcı sistemlerin savunucuları, kullanıcıların daha az kimyasal maddeye maruz kaldığını ve bu sistemlerin sigarayı bırakmaya yardımcı olduğunu, bu nedenle de ENDS'lerin sigaraya göre daha güvenli olduklarını savunmaktadırlar (Cahn ve Siegel, 2011). Bu durumda başta gençler olmak üzere e-sigaraya ilgi ve merakın artmasına neden

olmaktadır. Oysa son yıllarda başta ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) olmak üzere, yapılan çalışmalar (Lauterbach ve Laugesen, 2012; Flouris ve diğerleri, 2013; Goniewicz ve diğerleri, 2014; Dawkins ve Corcoran, 2014; Talih, Balhas, Salman, Karaoghlanian, Shihadeh, 2015) nitrozaminler gibi karsinojenler, dietilen glikol, asetaldehit gibi ucucu maddelerin yanısıra cıva gibi bazı metallerin ve insanlar için zararlı olabilecek tütüne özgü bileşiklerin (anabasin, miyosmin ve beta-nikotin) e-sigara dumanında varlığını göstermiştir.

Ayrıca ürüne yönelik yapılan kampanyalarda sigara yerine koyma (replasman) tedavisi için en iyi alternatiflerden biri olduğunun savunulması, konuyu daha da çıkmaza sokmaktadır. DSÖ ve FDA gibi sağlık otoriteleri e-sigara kullanımını bir nikotin yerine koyma tedavisi olarak görmediklerini belirtip, gerekli bilimsel bilgilerin eksikliğinden dolayı bu kullanım yolunu “güvenli” bulmadıklarını bildirmektedirler. Ayrıca her iki sağlık otoritesi de konu ile ilgili bilimsel döküman azlığı nedeniyle üreticilerden ürünlerin terapötik etkisine yönelik iddialarda bulunmamalarını istemektedir (DSÖ, 2015; FDA, 2015). Çünkü bu tür kullanım, sigara içilmeyen ortamlarda kullanıcılara sigara içimine devam etmek için olanak sağlamakla böylece sigarayı bırakma önlenmekte ya da ertelenmektedir. Diğer bir değişle nikotin tipi bağımlılığın devamlılığı için uygun zemin hazırladığı düşünülmektedir. E-sigara kullanmanın en önemli sonuçlarından birisi de içerdiği meyve ve çikolata aromalarının gençler için çekici gelebilmesi ve e-sigaraya olan ilgiyi arttırabilmesidir. Bu durum daha önce sigara içmemiş gençlerde e-sigara kullanımı ile nikotin bağımlılığının başlamasına neden olabilmektedir (TGA, 2015).

E-sigaranın güvenilirliğine dair şimdiye kadar yayınlanmış herhangi bir veri bulunmamaktadır (DSÖ, 2015). DSÖ, e-sigaranın etki ve güvenliğini onaylayan bilimsel bir olgunun olmadığını bildirmektedir. Ürünün son derece yeni bir ürün olması, güvenliğine yönelik çalışmaların oldukça sınırlı oluşu veya hiç olmaması sonucunu doğurmaktadır.

Bu çalışma, DSÖ başta olmak üzere sağlık otoritelerince e-sigara kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek sağlık etkileri konusunda eksikliği duyulan bilimsel verilere katkı sağlamaya yönelik olarak planlanmıştır. Bu amaçla sunulan çalışmada e-sigara kullanan, sigara içen, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan ve sigara içmeyen sağlıklı

bireylerdeki olası genotoksik hasar ve nikotin maruziyeti karşılaştırmalı olarak incelenmesi hedeflenmiştir.

Planlanan bu çalışmada;

- a) E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve sağlıklı sigara içmeyen bireylerin idrar örneklerinde nikotin maruziyeti göstergesi olarak kotinin düzeyleri ölçümü,
- b) E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve sağlıklı sigara içmeyen bireylerde olası genotoksik hasarın tespiti, periferik lenfositlerde komet yöntemi ve kromozomal aberasyon yöntemi ile yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomalileri sıklıklarının ölçümü ayrıca çalışma gruplarından elde edilen sonuçların karşılaştırmaları, gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektronik Sigara

Günümüzde elektronik nikotin taşıyıcı sistemler (ENDS) diğer isimlendirmeleriyle, “kişisel vaporizer”, “vape pen”, “e-nargile” ya da “e-sigara” son yıllarda oldukça popüler hale gelmiştir. Bunun nedeni olarak e-sigara kullanımının sigara içimine olan talebi düşüreceği ve sigara içimine bir alternatif olacağı sloganlarının e-sigaranın pazarlanmasında kullanılması gösterilmektedir. Elektronik nikotin taşıyıcı sistemlerden olan e-sigaranın yaygınlaşması bu sebeplerden ötürüdür (Ayers ve diğerleri, 2011; Adkison ve diğerleri, 2013; Camenga ve diğerleri, 2014; Klein, 2014).

Elektronik sigara (e-sigara) ilk olarak 17 Nisan 1963 yılında Herbert A. Gilbert (1965) tarafından ABD’de patent ofisine “Tütüne sahip olmayan, dumansız sigara” ismiyle sunulmuş ve 17 Ağustos 1965’te Amerikan Patent Ofisi tarafından 3,200,819 numaralı belge ile tescil edilmiştir. 1963 yılında Gilbert tarafından sunulan düşünce Qiuming Liu tarafından geliştirilmiş (Liu, 2014), 2003 yılında Çinli eczacı Hon Lik tarafından ultrasonik teknolojiyle nikotin solüsyonunu buharlaştıran türü üretilip patenti alınarak e-sigara günümüzde kullanılan modern halini almıştır. İcat edildikten sonra çok sayıda ülkede üretilmeye ve pazarlanmaya başlanmıştır (CASAA, 2015).

Hızlı bir şekilde büyümeye başlayan e-sigara pazarında 2013 yılında 2 milyar dolarlık bir global pazar mevcutken bu oranın giderek artarak 2017 yılında 10 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Lopes, 2013; Mangalindan, 2014). DSÖ’ye göre ise 2013 yılında yalnızca Amerika Birleşik Devletleri’nde 3 milyar doların üzerinde e-sigara satışı gerçekleşmiştir. Bu sayının 15 yıl içinde 17 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir. CDC’ye göre 2012 yılında 1,78 milyon gencin e-sigarayı denediği ve bu gençlerin 160.000’inin daha önce hiç sigara kullanmadıkları bildirilmiştir (CDC, 2015; WHO, 2015).

Dünya üzerinde satılan e-sigaraların % 90’ı Çin tarafından üretilmektedir (Barboza, 2014), fakat bu duruma rağmen Çin hükümeti e-sigaraya yönelik yasal bir düzenlemeye sahip değildir (O'Neill, 2014).

E-sigaranın güvenilirliğine dair şimdiye kadar yayınlanmış bir veri yoktur. Yasal olarak satılması ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Avustralya, Singapur, Tayland, Uruguay, Brezilya, Kanada, Danimarka, İsviçre’de satışı yasak olmasına karşın, İngiltere, Amerika, Çin ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde satışına izin verilmektedir. Dünya geneline bakıldığında, Birleşik Krallık, Avrupa birliği üyesi ülkeler elektronik nikotin taşıyıcı ürünlerin pazarlanmasına izin vermiştir (DSÖ, 2008). Örneğin ABD’nin Oregon eyaletinde 18 yaşından küçüklere inhale edilebilen taşıyıcı sistemlerin satışı 27 Mayıs 2015’den itibaren yasaklanmıştır. Ayrıca 1 Ocak 2016 tarihinden itibaren kapalı alanlarda ve kamu alanlarında e-sigara kullanımı da yasaklanacaktır (Oregon Health Authority, 2013). Brezilya’da ise 2009 yılında e-sigara pazarlanması ve satışı yasaklanmıştır (DSÖ, 2012).

Birçok ülkede son yıllarda e-sigaranın başta internet yoluyla reklamlarının yapılmasına bağlı olarak, e-sigaraya ilgi ve merak artmıştır. Ürünü pazarlayanlar e-sigaranın tamamıyla zararlı bileşiklerden yoksun olduğuna dikkat çekmektedirler. Aynı zamanda ürünlerini klasik sigara içimine karşı alternatif gibi sunmakta ve ürünlerinin sigarayı bırakmaya yardım edebileceğini iddia etmektedirler. Ülkemizde; DSÖ tarafından oluşturulan ve sağlık bakanlığı tarafından başkanlığı yapılan Ulusal Tütün Kontrol Programı Eylem Planı (2015-2018) ile “Tütün Ürünlerine Olan Talebin Azaltılmasına Yönelik Önlemler” başlığı altında diğer tütün ürünlerine ek olarak e-sigaralarında internetten satış ve reklamları ile ilgili ihlalleri engellenmeye yönelik taramaların yapılması ve gerekli müeyyidelerin uygulanması konusu karara bağlanmıştır (T.C. Sağlık bakanlığı, 2015).

Elektronik nikotin taşıyıcı sistemlerin savunucuları, kullanıcıların daha az kimyasal maddeye maruz kaldığını ve bu sistemlerin sigarayı bırakmaya yardımcı olduğunu bu nedenle de ENDS’lerin sigaraya göre daha güvenli olduklarını savunmaktadırlar (Cahn ve Siegel, 2011). Son yıllarda dünya genelinde sigara kullananların sayısının rekor seviyeye ulaşmasına bağlı olarak, sigara karşıtı yasalar artmış, bu durum da sigara üreticileri tarafından piyasayı hareketlendirmek ve talebi yükseltmek için alternatif ürünlerin halka sunulmasına neden olmuştur. Sunulan bu ürünler arasında elektronik sigara (e-sigara) en popüler olanıdır. E-sigara, sigara gibi görünen, kullanımı sigara benzeri duygu veren fakat sigaradan farklı olarak tütünü yakmayan bir üründür. E-sigaralar, nikotin ve diğer aromaların (çikolata, kahve, nane veya meyveli tütün çeşitleri... gibi) propilen glikol ve/veya bitkisel gliserol çözeltisinden oluşan sıvıda çözünmesinden ve bu sıvı karışımı

buharlaştırmak için tasarlanmış pilden oluşan cihazlardır. İçimi sırasında belirgin bir buhar oluşur fakat bu sigara dumanı gibi değildir (Etter, 2010; Etter ve Bullen, 2011a).

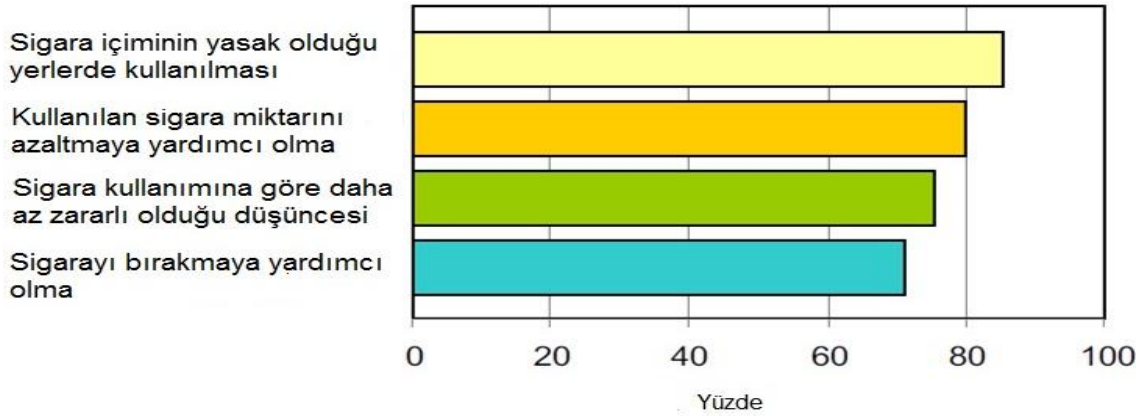
FDA tarafından yaptırılan analizler, e-sigaranın nitrozaminler gibi karsinojenler, dietilen glikol ve insanlar için zararlı olabilecek tütüne özgü bileşikler (anabasin, miyosmin ve beta-nikotrin) içerdiğini göstermiştir. FDA raporuna ek olarak, bazı araştırmacılar e-sigara dumanının asetaldehit gibi ucucu maddelerin yanısıra cıva gibi bazı metalleri de içerebileceğini bildirmişlerdir. DSÖ, e-sigaranın etki ve güvenliğini onaylayan bilimsel bir olgunun olmadığını bildirmektedir. Ayrıca e-sigaranın sigarayı bırakmadaki olası etkisini azımsamamakla birlikte üreticilerden terapötik etkisine yönelik iddialarda bulunmamalarını istemektedir. Bahsedildiği üzere çeşitli kimyasalları içeren e-sigara buharının solunması tüketiciler için tehlikeli olabilmektedir. Ayrıca nikotin taşıyıcı bir sistem içermesinden dolayı e-sigaranın potansiyel bağımlılık etkisi vardır. E-sigara, sigara içilmeyen ortamlarda kullanıcılara içime devam etme için olanak sağlamakta böylece sigarayı bırakma önlenmekte ya da ertelenmektedir. E-sigara kullanmanın en önemli sonuçlarından birisi de içerdiği meyve ve çikolata aromalarının gençler için çekici gelebilmesi ve e-sigaraya olan ilgiyi arttırabilmesidir. Bu durum daha önce sigara içmemiş gençlerde e-sigara kullanımı ile nikotin bağımlılığının başlamasına neden olabilmektedir (DSÖ, 2015; FDA, 2015; TGA, 2015).

E-sigaraların satışına yönelik önemli yasal düzenlemelerin yapılması gerekmektedir. İnternette e-sigaranın satışında ithal ürün kodlarının yetersizliği ve yanlış kod girilmesi ancak sistematik bir düzenleme ile engellenebilir. Bu konuda şimdiye kadar hiçbir düzenleme yapılmamıştır. Sadece İtalya’da e-sigaralar (nikotin içerenler dahil olmak üzere) İtalya Sağlık Enstitüsü tarafından onaylanmıştır. E-sigara satışına yönelik özel düzenlemelerin yokluğunda e-sigara üreticileri ve dağıtıcıları mümkün olan en iyi kalite standartlarına uymalıdır. E-sigara endüstrisine yönelik bir düzenleme beklenmektedir ve yapılacak düzenlemeler sonucunda e-sigaranın geleneksel tütün ürünleriyle karşılaştırıldığında daha güvenilir bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Capoonetto ve diğerleri, 2012).

Nikotin yerine koyma tedavisi, sigaraya olan isteği ve sigarayı bırakırken ortaya çıkan semptomların şiddetini azaltarak sigarayı bırakmaya yardımcı amaçlayan, sıklıkla kullanılan sigara bırakma yöntemlerinden biridir (Johansson, Olsson, Bende, Carlsson, Gunnarsson,

1991; Benowitz, 1993). Nikotin yerine koyma tedavisinde sigarayı bırakma semptomları üzerine etki eden ya da sigara içme arzusunı gidermeyi amaçlayan farklı türlerde (nikotin pastil, sakız, bant, burun spreyi... gibi) yollar mevcuttur. E-sigaranın da nikotin yerine koyma tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Çünkü nikotin yerine koyma tedavisinin etkinliği nikotin bağımlılığı gibi bir etkinin giderilmesinin yanında fizyolojik faktörlere olan (sigarayı taşıma, tutma, kullanma gibi davranışsal faktörler) isteğin de giderilmesini amaçlanmaktadır (Barrett, 2010; Dar, Rosen-Korakin, Shapira, Gottlieb, Frenk, 2010).

Günümüzde kullanıcıların e-sigarayı tercih nedenleri arasında sigara içilmesi yasak olan yerlerde kullanılabilmesi, içilen sigara miktarını azaltmaya yardımcı olma, sigara bırakmaya yardımcı olma, sigaraya göre daha az zararlı olduğu düşünceleri vardır. Elektronik nikotin taşıyıcı sistem kullanan kişilerin büyük bir kısmı e-sigarayı sigaraya göre daha az zararlı etkileri olduğunu düşünerek tercih etmektedir. Ayrıca kullanıcıların 4'te 3'ü e-sigara kullanarak içtikleri sigara miktarının azaldığını vurgulamaktadır (Adkison ve diğerleri, 2013). Şekil 2.1'de Adkison ve diğerlerine (2013) göre e-sigaranın kullanıcılar tarafından tercih edilme nedenleri verilmiştir. E-sigara kullanan kişilerin % 80'inden fazlasının e-sigarayı tercih etme nedeninin sigara içiminin yasak olduğu yerlerde kullanılması olarak gösterilmiştir. Münih'te yaşayan ve elektronik sigara kullanan 320 kişiyle gerçekleştirilen anket çalışmasında bireylere neden elektronik sigarayı kullanmayı tercih ettikleri sorulmuştur. Anket uygulanan kişiler e-sigarayı kullanma nedeni olarak; ya "sigarayı bırakmaya yardımcı olabileceği" ya da "sigara içme düşüncesini gidereceği" cümlelerini cevap olarak vermişlerdir (Rüther ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.1. E-sigaranın kullanıcılar tarafından tercih edilme nedenleri

E-sigara kullanımı üretici firmalar tarafından klasik sigaranın neden olduğu hastalık ve ölümleri azaltmak için muhtemel bir alternatif olarak görülmekte bu şekilde reklamları yapılmaktadır (Caponetto ve diğerleri, 2012). Yapılan anket çalışmalarında kullanıcıların e-sigarayı tercih etme nedenleri arasında sigarayla karşılaştırıldığında daha az toksik olduğu düşüncesi, sigaraya göre kötü nefes kokusuna neden olmaması gibi bazı avantajlar ve e-sigaranın sigarayla karşılaştırıldığında daha ağır olması, kullanımının eğitim gerektirmesi gibi bazı dezavantajlardan bahsedilmiştir. E-sigaranın, sigarayla karşılaştırıldığında sahip olduğu avantaj ve dezavantajlar Çizelge 2.1’de verilmiştir (Caponetto ve diğerleri, 2012).

Çizelge 2.1. Elektronik sigaranın avantajları ve dezavantajları

Avantajlar	Dezavantajlar
Sigara kullanımıyla karşılaştırıldığında; iyileştirilmiş solunum, daha az öksürük	Populasyonun küçük bir yüzdesi propilen glikole hassas olabilir.
Sigara dumanı kokusu ve kötü nefes kokusu yoktur	Bazı aromalar nedeniyle (örneğin piña colada) kalıcı bir kokuya neden olabilir.
Sigaraya göre daha az toksiktir.	Bazı formüllerde eser miktarda TSNA bulunmaktadır.
Teneffüs edilen duman boğazda sigara dumanına benzer bir his bırakır.	Boğazdaki sigara dumanı içimine benzer taklit his kullanılan e-sigara türüne ve sıvı bileşenine bağlıdır.
Kullanımındaki hareketler ve faaliyetler sigaraya benzer.	E-sigara, geleneksel sigaraya göre daha ağırdır ve kullanımı için eğitim gerekmektedir.
Sigarayı bırakmayı kolaylaştırır.	Bazı sigara kullanıcılarında sadece içilen sigara miktarını azaltmayı sağlamıştır.
Tütün içmenin yoksunluk ve özlem belirtilerini hafifletir.	Yoksunluk belirtileri; e-sigaranın niteliği ve sıvıdaki nikotin miktarı tarafından etkilenir.
Çevredeki kişilere hiçbir riski olmadan kullanılabilir.	Çevredeki insanlara potansiyel riski ile ilgili az sayıda çalışma bulunduğundan bazı ülkelerde kapalı mekanlarda kullanımı yasaklanmıştır.
Kül oluşturmaz. Kir ya da yanmış giysilere neden olmaz. Yangın ve yanıklara neden olmamaktadır.	E-sigarada tek kullanımlık kartuş ve pillerin bulunması çevre sağlığı için önem teşkil etmektedir.
Uzun vadede sigara içimiyle karşılaştırıldığında uygun fiyatlıdır.	Kullanım ve bakımındaki karışıklık yaygınlaşmasını engelleyebilir.

Caponetto ve diğerleri (2012)

2.2. Türkiye’de ve Dünyada E-sigara Kullanımına Yönelik Yasal Düzenlemeler

Yapılan çalışmalar yetişkinlere oranla gençlerin ve genç yetişkinlerin e-sigara kullanım oranının yüksek olduğunu göstermektedir (Yamin, Bitton, Bates, 2010; Ayers ve diğerleri, 2011; Regan, Promoff, Dube, Arrazola, 2013). Bu tür bir kullanım ticari firmalarca kamuoyunu sigara içmeye teşvik etmenin yollarından biri olup, nikotin tipi bağımlılığın önlenmesinde en önemli engellerden biridir. Elektronik Sigara Birliği’ne göre bu ürünün tüm dünyada satışı 2009’da tahminen 100 milyon dolara ulaşmıştır (DSÖ, 2008). DSÖ (2008) Tütün Ürünleri Düzenleme çalışma grubu Güney Afrika’da yaptığı beşinci

toplantısında tütün bırakma tedavisinde e-sigaranın kullanılamayacağını bildirmiştir. Ülkemizde ise İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Genel Müdürlüğü'nün 22.01.2008 tarih ve 4646 sayılı belge ile valiliklere bağlı İl Sağlık Müdürlükleri tarafından, bölgelerdeki ecza odaları başkanlıklarına, ecza depocular derneği başkanlığına resmi bir yazı gönderilmiş ve e-sigara ile ilgili yasal düzenlemelere uyum konusunda sağlık çalışanlarının hassasiyet göstermeleri istenmiştir (EK-1).

T.C Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı'na verilen 8669644-610 sayılı yazılı soru önergesine cevaben bakanlık nezdinde e-sigara ile ilgili olarak “Genişletilmiş Bilimsel Danışma Kurulu” oluşturulmuştur. Danışma kurulu 07.01.2008 tarihinde toplanmıştır. Bu toplantıda alınan kararlar doğrultusunda e-sigara ürünleri nikotin kartuşları “tıbbi ürün”, aktif maddeyi (nikotin) vücuda verme aracı olan cihazlar ise “tıbbi cihaz” olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle “tıbbi ürün” statüsündeki nikotin içeren kartuşlara ithal izni Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandıktan sonra kontrol belgesi düzenlenmesi halinde verilmektedir (EK-2).

2.3. E-sigara Kullanımının Potansiyel Sağlık Riskleri

Son yıllarda e-sigaranın güvenilirliğine ve etkinliğine yönelik çok sayıda çalışma yapılmaktadır (Caponnetto ve diğerleri, 2013a; Vardavas, Filippidis, Agaku, 2014). E-sigara, sigara kullanımıyla karşılaştırıldığında e-sigaranın daha güvenilir bir alternatif olduğu ileri sürülmektedir (Burstyn, 2014). E-sigara için TLV değeri tespit edilmeye, iş yerlerinde kullanımına bağlı olarak sağlık riskleri ile ilgili araştırmalar yapılmaya çalışılmıştır. Sigara ile karşılaştırıldığında e-sigara dumanındaki zararlı bileşiklerin e-sigarada 9 ile 450 kat daha az oranda bulunduğu (Çizelge 2.2) tespit edilmiştir (Goniewicz ve diğerleri, 2014). E-sigara dumanının havada kalması kısa süreli olduğundan pasif olarak maruz kalma riski büyük ölçüde azalmaktadır. Bu nedenle pasif olarak maruz kalmaya yönelik belirgin bir toksisite göstermediği iddia edilmektedir. Bazı kullanıcıların sigaranın halka açık yerlerde yasaklanması nedeniyle e-sigara kullanmayı tercih ettiği bildirilmiştir. E-sigaraya pasif olarak maruziyet ile sigaraya pasif olarak maruziyet karşılaştırılmaya çalışılmış ve bu amaçla kapalı ortamda havadaki konsantrasyonları test edilip araştırmaya alınmıştır. Sigara dumanına maruziyet ile karşılaştırıldığında e-sigara dumanının kapalı ortamdaki konsantrasyonunun insan sağlığına zararlı bir etkisi olmayacağı sonucuna varılmıştır (McAuley, Hopke, Zhao, Babaian, 2012).

Çizelge 2.2. Elektronik sigara aerosolünde ve sigara dumanındaki zararlı bileşikler

Madde	Sigara (µg, duman)	E-sigara (15 kez inhalasyonda /µg)	Ortalama E-sigarada
Formaldehit	1,6-52	0,20-5,61	9 kat daha az
Asetaldehit	52-140	0,11-1,36	450 kat daha az
Akrolein	2,4-62	0,07-4,19	15 kat daha az
Toluen	8,3-70	0,02-0,63	120 kat daha az
N'-nitrozonornikotin	0,005-0,19	0,00008-0,00043	380 kat daha az
N'-nitrozonornikotin ve 4(metilnitrozoamino)-1- (3-piridil)-1-bütanon	0,012-0,11	0,00011-0,00283	40 kat daha az

Goniewicz ve diğerleri, 2014

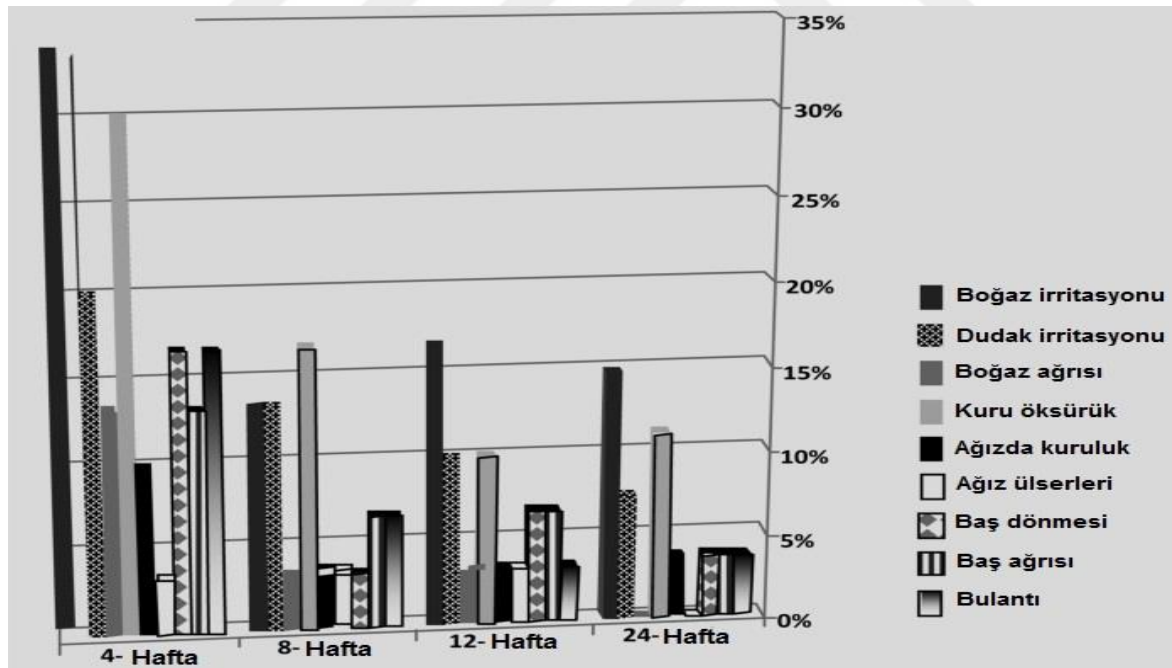
Bilindiği üzere sigara kullanımı içerdiği kanserojen bileşiklerin DNA katım ürünü, protein katım ürünü oluşturması nedeniyle birçok kanser çeşidinin (oral, nazal, özefagus, farinks, larinks, akciğer, pankreas, miyeloid organlar, mesane, rahim ağzı) ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır (Philips, 2002). E-sigara kullanıcılarının e-sigara içeriğindeki maddelere maruziyetlerine yönelik insan sağlığını tehdit edici düzeyde bir sağlık riski teşkil etmesiyle ilgili olarak potansiyel bir kanıt yoktur. Ayrıca işyerlerinde istemsiz olarak e-sigara maruziyeti sonucu çalışanlarda sağlık riski oluşturmayacak düzey de belirlenmemiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda tahmin edilen maruziyet sınırı <% 1 TLV (Threshold Limit Value) olarak bulunmuştur. E-sigara kullanımı sonucunda oluşabilecek kimyasallardan olan formaldehit ve akrolein için tahmin edilen maruziyet sınırı <% 5 TLV dir (Burstyn, 2014).

E-sigara kullanımının yaratabileceği sitotoksik ve mutajenik etkiler salmonella reverse mutasyon testi (AMES Test) ile (TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535, TA 1537 suşlarında) ve S9 metabolik aktivasyon testi ile çalışılmıştır. Bu amaçla e-sigara hakkında memeli fibroblastlarında in vitro olarak sitotoksikite testi yapılmış ve 21 farklı e-sigara sıvısı incelenmiştir. E-sigara (% 46,17 propilen glikol; % 44,92 gliserol; % 8,11 su; % 0,8 nikotin ve <% 0,5 aroma içeren) buharı sitotoksikitesi ve sigaranın oluşturabileceği sitotoksikite MTT testi yapılarak karşılaştırıldığında fibroblast canlılığının sigara ekstraktında daha düşük olduğu sonucuna ulaşılmıştır. E-sigara sıvısı sigarayla karşılaştırıldığında daha az sitotoksik olarak bulunmuştur (Romagna ve diğerleri, 2013).

E-sigara aerosolünün solunum sistemine neden olabileceği potansiyel iritan etkisi araştırılması gereken bir konudur. Bu amaçla Neilson ve diğerleri (2015) tarafından üç boyutlu insan solunum yolu dokusunda (3D The EpiAirway™) akut in vitro MTT sitotoksikite testi ile e-sigara aerosolünün olası sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Kültürü

yapılmış in vitro insan solunum yolu dokusu ticari satışı yapılan iki farklı e-sigara buharına ve sigara dumanına 6 saat maruz bırakılmıştır. 6 saat sonunda sigara dumanının hücre canlılığında doza bağlı olarak % 12'ye varan bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. E-sigara buharına maruz bırakılan hücreler, sigara dumanı ve e-sigara buharına maruz bırakılmamış kontrol grubundaki sonuçlarla karşılaştırıldığında hücre canlılığında bir düşüşe rastlanmamıştır. Referans sigara dumanıyla karşılaştırıldığında e-sigaranın daha düşük bir sitotoksik etkisi olabileceği sonucuna varılmıştır.

Polosa (2011) tarafından e-sigara kullanan 40 kişi üzerinde yapılan çalışmada e-sigaranın sağlık üzerine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Sigara bırakma kliniğine başvurmuş kişilere ücretsiz olarak e-sigara verilmiş ve araştırma sonuçlarına göre kullanıma başlanılan ilk haftadan itibaren 24 hafta boyunca şikayetler (boğaz irritasyonu, ağız irritasyonu, boğaz ağrısı, öksürük, dudakta kuruma, ağız içi yaralar, baş dönmesi, baş ağrısı, mide bulantısı) dinlenmiştir. Takip edilen 24. hafta sonunda tüm şikayetlerde azalma (Şekil 2.2) tespit edilmiştir (Polosa, 2011).



Şekil 2.2. Elektronik sigara kullanıcılarında 24 hafta boyunca rapor edilmiş advers etkilerde görülen değişiklikler

E-sigara kullanımına bağlı etkileri içeren bir olgu raporu, 30 yaşında bir erkek hastanın e-sigarayı cebinde taşıdığı sırada e-sigaranın kullanımı için gerekli olan pilin patlaması ile sağ bacağına ve dizinde yanık şikayetini ve hastanın özelliklerini içermektedir. Resim

2.1’de e-sigara yapısındaki pilin patlamasıyla kullanıcıda oluşan sağ ekstremitede yanık görüntüsü sunulmuştur (Joblow ve Sexton, 2015).



Resim 2.1. E-sigara kullanıcısında pilin patlamasıyla oluşan yanık görüntüsü

Cervellin, Luci, Bellini, Lippi (2013) ilk kez e-sigara likit içeriğine bağlı zehirlenmeyi rapor etmişlerdir. Zehirlenme vakası e-likitte bulunan nikotinin sindirim ve enjeksiyonuna bağlı olarak gerçekleşmiştir. 22 yaşında 47 kg ağırlığında kronik opioid bağımlılığına sahip bir kadın acil servise taşıkardı, vücutta kızarıklık, mide bulantısı ile başvurmuştur. Hasta, e-sigara likitinin (10 ml) metadonla (60 ml) karıştırılmasıyla oluşan çözeltiyi hazırlayarak şişelenmiş şekilde kullanmak üzere elinde bulundurmaktadır. E-sigara likitini metadon karışımıyla birlikte doldurarak kullanmaktayken acil servise gelmeden 2 saat önce bilinçli bir şekilde bu karışımı içmiş ve 2 ml’sini de enjekte etmiştir. Kullanılan e-sigara likiti içeriğinde 18 mg/ml nikotin bulunmaktadır. Yapılan araştırma ve hesaplamalar sonrasında hastanın 2-3 mg nikotini intravenöz olarak enjekte ettiği tespit edilmiştir. Tedavi için orogastrik lavaj ile aktif kömür uygulanan hasta psikiyatrik konsültasyon sonrası bağımlılık servisine yönlendirilmiştir. E-sigara likitinin içilmesi ya da vücuda enjekte edilmesi yeni akut zehirlenme vakalarını oluşturabilmektedir.

E-sigara kullanımının çocuklar üzerindeki güvenlik etkilerini inceleyen çalışmada 24 Haziran ve 6 Kasım 2014 tarihleri arasında (Washington University Pediatric and Adolescent Ambulatory Research Consortium) pediatri servisine gelen ebeveynlere e-sigara kullanımının sağlık ve güvenlikle ilgili etkilerine yönelik anketler uygulanmıştır. Küçük çocuğa sahip her 8 haneden birinde e-sigara kullanıldığı, bir çok ebeveynin nikotin zehirlenmesi de dahil olmak üzere e-sigaranın neden olabileceği potansiyel sağlık ve

güvenlik tehditlerine karşı bilgi sahibi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmaya katılan kişilerin % 48,3'ü e-sigara kullanımıyla diğer insanların pasif maruziyetinin daha az olduğunu, % 48,3'ü e-sigaranın sigarayı bırakmaya yardımcı olduğunu, % 37,9'u klasik sigaraya göre daha ucuz olduğunu, % 44,4'ü e-sigara kullanarak sigarayı bırakabileceğini umduğunu, % 34,5'i ise çocuklarının sağlığını olumsuz etkilemeyeceğini düşündüklerini bildirmişlerdir (Garbutt ve diğerleri, 2015). İngiltere'de 18 aylık, 30 aylık ve 2 yaşında çocukların e-sigara likitini içmeleri ve bulantı, letarji, ataksi nedeniyle hastaneye kaldırılmaları, 24 saat sonra taburcu edilmelerine dair farklı olgu raporları mevcuttur. Olgularda çocukların içtikleri e-likit miktarı hakkında bilgi verilmemiştir (Gupta, Gandhi, Manikonda, 2014; Gill, Sangha, Poonai, Lim, 2015).

E-sigaranın akut etkilerine yönelik yapılan çalışmalar e-sigaranın ilk içimden itibaren beş dakika içinde kalp atışında ve plazma nikotin seviyesinde önemi derecede bir yükselmeye neden olduğu yönündedir (Vansickel ve Eissenberg, 2013).

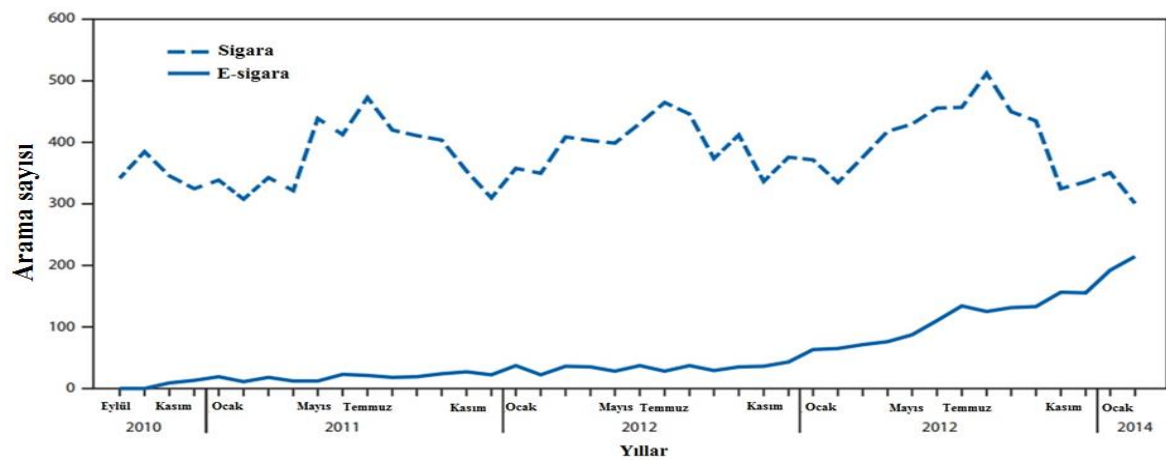
Ülkemizde Saltürk ve diğerleri (2015) tarafından Wistar albino ratlarda dört hafta boyunca günde bir saat e-sigara dumanına maruziyette larinkste inflamasyon, hiperplazi ve metaplazi durumu histopatolojik olarak araştırılmıştır. İncelenen parametrelere göre kontrol grubu ve maruziyet grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır. E-sigara kullanımına bağlı olarak kısa dönemde pulmoner etkilerinin anlaşılmasına yönelik olarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada, e-sigara kullanımının akciğerlerdeki etkisinin klasik sigara içimine bağlı olarak ortaya çıkan etkilerle aynı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Fakat uzun dönem etkilerine dair bilgi halen mevcut değildir (Vardavas ve diğerleri, 2012). Elektronik nikotin taşıyıcı sistemlerden olan e-sigaranın kısa dönem etkileri çalışılmış ve farmakokinetik analizler sonucunda içilmesinden itibaren ilk yirmi dakika içinde serum nikotin seviyesini 1,3 ng/ml olarak değiştirdiği tespit edilmiştir (Bullen ve diğerleri, 2010).

E-sigaranın sağlık açısından riskli olabileceğini ifade eden çalışmalar da bulunmaktadır (Kuehn, 2009). E-sigara kullanımının sigarayı bırakmayı teşvik edip etmediği sorusuna hala cevap aranmaktadır (Schripp, Markewitz, Uhde, Salthammer, 2013). Yapılan araştırmalar kullanıcıların % 82'sinin e-sigaranın sağlık açısından tamamen güvenli olmadığını düşündüklerini fakat sigarayla karşılaştırıldığında daha güvenli bulduklarını göstermektedir (Goniewicz, Lingas, Hajek, 2013c).

Plasebo etkisi e-sigarada (0 nikotin) çalışılmış ve e-sigaranın içiminden itibaren yirmi dakika içinde nikotin alma ve sigara içme isteğini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Bulgular dikkate alındığında sigarayı bırakmaya yardımcı bir araç olabileceği hatta zihnin çalışma performansını geliştirebileceği savunulmaktadır (Dawkins, Turner, Hasna, Soar, 2012). E-sigaradaki nikotin miktarının klasik sigaraya göre 1,5 kat fazla olduğunu gösteren çalışma (Caponetto ve diğerleri, 2012) başta olmak üzere bilimsel literatür e-sigaradaki toksikanların insan sağlığına neden olabileceği zararlı etkiler açısından değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

E-sigaranın gerek serbest satışı gerekse internet aracılığıyla satışının olması gençlerin e-sigara alımını arttırmıştır (Cho, Shin, Moon, 2011). CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tarafından yapılan analiz sonuçlarına göre 2009-2010 yılları arasında ABD’de yetişkinler arasında e-sigara kullanımı 4 kat artmıştır (Regan ve diğerleri, 2013). Örneğin ABD’nin Oregon eyaletinde 11. sınıf öğrencilerinde 2011 ve 2013 yılları arasında sigara kullanımı düşerken e-sigara kullanım oranı % 2’den % 5’e yükselmiştir. Oregon zehir merkezine 2011-2013 yılları arasında e-sigaradaki nikotine aşırı maruziyet ya da istenmeyen maruziyet nedeniyle 31 arama yapılmıştır (Oregon Health Authority, 2013).

CDC (2015) verilerine göre 2010 ve 2014 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri’nde zehir merkezine e-sigara nedeniyle 2405, sigara nedeniyle 16248 arama yapılmıştır. E-sigara maruziyeti nedeniyle zehir merkezine yapılan arama sayısı 2010 Eylül ayında sadece bir iken 2014 Şubat ayında bu sayı 215’e çıkmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Amerika Birleşik Devletlerinde 2010 ve 2014 yılları arasında e-sigara ve sigara nedeniyle zehir merkezini arama sayısı

Ulusal Gençlik Tütün Araştırması (National Youth Tobacco Survey) verilerine göre 2011-2012 yılları arasında ABD’de ortaokul ve lise öğrencileri arasında e-sigara kullanımı iki katına çıkmıştır (CDC, 2013). İngiltere’de yapılan kesitsel çalışmaya göre 2010 ve 2012 yılları arasında e-sigaraya olan farkındalık, e-sigaranın denenmesi ve e-sigara kullanan insanların oranı iki katın üzerinde bir artışla kendini göstermiştir (Dockrell, Morison, Bauld, McNeill, 2013).

Günümüzde e-sigarlarda kullanılan ve satışı yapılan 7000’e yakın aroma verici madde vardır. 2000’li yılların başında diasetil “Popcorn Lung” isimli hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Allen ve diğerleri (2015) tarafından yapılan çalışmada 51 adet piyasada satılan meyve, şeker, kokteyl aromalı e-sigara kartuşunda en yaygın olarak kullanılan aroma verici maddelerden olan Diasetil ve 2,3-Pentanedion ile Asetoinin miktarı belirlenmeye çalışılmıştır. Diasetil LOQ değeri 239 µg/e-sigara olarak bulunurken 2,3-pentanedion ve asetoin 64 ve 529 µg/e-sigara olarak bulunmuştur. Diasetilin çalışanlarda mesleki maruziyet nedeniyle bronşiyolitisi obliterans ve diğer bazı solunum sistemi hastalıklarına neden olabileceği bilinmektedir. Özellikle diasetil gibi e-sigara içinde bulunan aroma verici maddelere maruziyetle ilgili gerekli değerlendirme ve düzenlemelerin acilen yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. E-sigara kullanımı nedeniyle nikotin, propilen glikol ve gliserol gibi kimyasalların yanında yanma ürünü sonucu oluşan PAH’lara ya da metaller, nitrozaminler, gıda katkı maddeleri gibi kimyasallara maruziyet de gerçekleşebilmektedir. Çizelge 2.3’de IARC (2015) ye göre e-sigara içeriğindeki (kartuştaki sıvı ve buhar) maddelerin toksikolojik açıdan değerlendirilmesi verilmiştir.

Çizelge 2.3. E-sigara içeriğindeki maddelerin toksikolojik açıdan değerlendirilmesi

Grup 1	Grup 2B	Grup 3	Sınıflandırılmamış maddeler
N’Nitrozonornikotin (NNN) ^a	Akrilonitril ^a	N0-nitrozoanatabin, (NAT) ^a	Nikotin ^a
4-(N’Nitrozometilamino)-1-(3-piridil) 1bütanon(NNK) ^a	Propilen oksit ^a	N0-nitrozoanabasin, (NAB) ^a	Propilen glikol ^a
Benzen ^a	Asetaldehit ^d	Akrolein ^b	Dietilen glikol ^a
Etanol ^d	Stiren ^e	Ksilen ^e	Asetil pirazin ^c
Formaldehit ^e	Nikel ^f	Antrasen ^e	4-hidroksi-2,5-dimetil3 (2H) furanon ^c
Demir ^f	Kurşun ^f	Fenantren ^e	Aseton ^d
Alüminyum ^f		1-Metil fenantren ^e	Kresol ^e
Kadmiyum ^f		Piren ^e	Diasetil ^f
		Krom ^f	Kalay ^f
			Gümüş ^f

IARC, 2015. Grup 1, İnsanda kanserojen; Grup 2A, İnsanlar için muhtemel kanserojen; Grup 2B, İnsanlar için olası kanserojen; Grup 3, İnsanlarda karsinojenik olarak sınıflandırılmamış; a: Kartuş sıvısı, b:Buhar ve kartuş sıvısı, c:Kartuş sıvısı (Gıda katkısı), d:Kartuştaki buhar, e: E-sigara buharı, f:E-sigara buharı ve e-likit

E-sigaranın kısa dönem sağlık etkileriyle ilgili kısıtlı sayıda da olsa çalışmalar yapılmış olmasına karşın henüz DNA ve kromozom gibi genetik materyaller üzerine genotoksik hasarını içeren uzun dönem etkisi ile ilgili herhangi bir çalışılma literatüre yansımamıştır.

2.4. Yerine Koyma Tedavi Yönteminde E-sigara

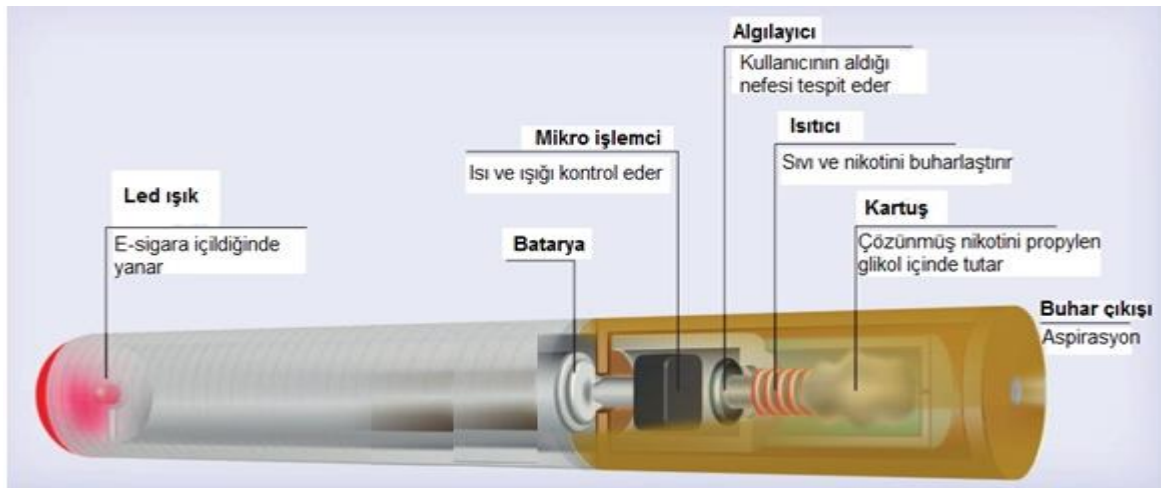
Dünyada 1,5 milyar, Türkiye’de ise yaklaşık 15 milyon kişi sigara içmektedir. Dünyada her yıl yaklaşık 6 milyon kişi tütün kullanımının yol açtığı sorunlar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemizde ise her yıl en az 100.000 kişi sigaraya bağlı hastalıklar nedeniyle ölmektedir. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Küresel Yetişkin Tütün Araştırması Türkiye 2012 verilerine göre 2008 ve 2012 yılları karşılaştırıldığında, Türkiye’de sigara kullanım oranının % 31,2’den % 27,1’e gerilediği görülmüştür (KYTA, 2012). Sigara hem ülkemiz de hem de dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur ve yüksek oranda nikotin içermesinden dolayı bağımlılık yapma potansiyeline de sahiptir. Bu nedenle sigara bırakma yöntemleri nikotin bağımlılığını gidermeye odaklanmıştır. Nikotin bantları, nikotin sakızları, nazal spreyler, inhalerler nikotin yerine koyma tedavisinde kullanılmaktadır. Bu duruma rağmen nikotin bağımlılığı tedavisine yardım amaçlı kullanılan ilaçlar ile bağımlılığın azaltılmasına yönelik başarı düşük kalmaktadır. Nikotin yerine koyma tedavisi sonucunda ortalama 6 ayda sigarayı bırakma oranı % 17,8’e (Fiore, 1994; Joseph, 1996; Lewis, Piasecki, Fiore, Anderson, Baker, 1998; Hays, 1999; Stead, Perera, Bullen, Mant, Lancaster, 2008) ya da % 11,9’a kadar düşüş göstermiştir (Siegel, Tanwar, Wood, 2011).

Çeşitli araştırmalar (Barrett, 2010; Dar, 2010) nikotin alımı olmaksızın fiziksel ve davranışsal uyarıların örneğin sadece sigaranın tutulması ile de sigara içimine olan isteğin giderileceğini savunmaktadır. Sigara içimine duyulan istek göz önüne alındığında e-sigaranın tanıtılması sigara bırakılmasında eşsiz bir fırsat gibi sunulabilmektedir. Hatta üretimi yapan firmalar tarafından e-sigaranın nikotin yerine koyma tedavisinde iyi bir alternatif olarak kullanılabileceği iddia da edilmektedir (Siegel ve diğerleri, 2011). E-sigara kullanımının sigara içme dürtüsünü bastırdığına yönelik çalışmalar mevcuttur (Bullen, ve diğerleri, 2010; Eissenberg, 2010; Cahn ve Siegel, 2011). 222 katılımcı üzerinde yapılan çalışmada e-sigara kullandıktan sonra katılımcıların 3’te 2’sinden fazlasının (% 68) sigara kullanımını azalttığı, yarısına yakınının ise (% 49,3) nikotin kullanımını düşürdüğü sonucu tespit edilmiştir. Ayrıca katılımcıların % 48,8’i ise e-sigara kullandıktan sonra sigarayı bırakabileceklerini vurgulamışlardır (Siegel ve diğerleri, 2011).

Bullen ve diğerleri (2013) tarafından elektronik sigara ve nikotin bandı kullanan 657 kişi üzerinde yapılan araştırma sonuçlarına göre; e-sigara kullananların % 7,3'ü ve nikotin bandı kullananların % 5,8'inin sigarayı bıraktığı ortaya konulmuştur. Bullen ve diğerleri tarafından e-sigara kullananların nikotin bandı kullananlara göre sigarayı bırakmada daha başarılı oldukları savunulmaktadır. Fakat araştırmacılar hangi yöntemin daha iyi olduğunun belirlenebilmesi için yeterli sayıda kişide test yapılmadığını belirtmektedirler.

2.5. E-sigara Kısımları ve Çalışma Prensibi

E-sigara, klasik sigaradan farklı olarak nikotini, tütünü yakmayacak ve inhalasyonla alınmasını sağlayacak biçimde tasarlanmıştır. Elektronik sigara üç kısımdan oluşmaktadır; i) Enerjiyi sağlayan pil, ii) pilden aldığı enerjiyle likidi ısıtıp buharlaştırmaya yarayan atomizer ve iii) atomizere likit sağlayan kartuş. İşlenmiş ya da tütün yapraklarından elde edilen saf nikotin ile su, gliserol yada propilen glükol ile karıştırılarak e-sigara dumanını oluşturan kartuş içeriği oluşturulur. Resim 2.2'de bir e-sigaranın kısımları ve bu kısımlara ait görevler gösterilmiştir (Polosa ve diğerleri, 2011; Caponetto ve diğerleri, 2012). Klasik sigaraların aksine e-sigara nikotin solüsyonunu buhar haline getirmek için ısı kullanır. Solunum yoluyla alınan ve nikotin içeren duman kan dolaşımına absorbe olur (Bullen ve diğerleri, 2010; Vansickel, Cobb, Weaver, Eissenberg, 2010; Cahn ve Siegel, 2011; Flouris ve diğerleri, 2012; Goniewicz, Kuma, Gawron, Knysak, Kosmider, 2013a).



Resim 2.2. E-sigara kısımları ve bu kısımların görevleri

2.5.1. Batarya

Batarya e-sigaranın gövde kısmında bulur. Lityum-iyon şarj edilebilir pilden oluşmaktadır (Polosa, 2011). Bataryadaki enerji yardımıyla e-sigara kartuşundaki çözelti ısıtılmaya çalışılmaktadır. Bu esnada sıcaklık 350°C’u geçebilmektedir (Schripp ve diğerleri, 2013; Talih ve diğerleri, 2015).

2.5.2. Atomizer

Atomizer, e-sigara sıvısının ısıtılmasını sağlamaktadır (McAuley ve diğerleri, 2012). E-sigara kullanıcısının aldığı her nefesle birlikte sensör yani algılayıcı bataryayı aktive eder ve propilen glikol ile nikotini buharlaştırmak için atomizer ısıtılır (Trtchounian ve Talbot, 2011).

2.5.3. Kartuş

Nikotin için en yaygın olarak kullanılan çözücüler gliserol ve propilen glikoldür. Kartuşta çözeltinin atomizer tarafından ısıtılmasıyla sigara dumanını taklit eden bir aerosol oluşmaktadır. Çözeltinin diğer bileşenlerini su, etanol ve çeşitli katkı maddeleri oluşturmaktadır. Kartuş içindeki bu maddelerin miktarları e-sigara markaları arasında değişiklik göstermektedir. Kartuşlar çeşitli aroma verici maddeler de içermektedir. Tütün, mentol, çilek, elma, çikolata, vanilya bu aromalardan bazılarıdır. İçerdikleri nikotin miktarlarına göre çok yüksek, yüksek, orta, düşük ve sıfır (nikotin içermeyen) şeklinde etiketlenmişlerdir. E-sigaradaki nikotin içeriği üreticiler tarafından belirlenir ve genellikle markalar arasında hatta markaların modelleri arasında da değişiklik göstermektedir (Goniewicz ve diğerleri, 2013a). Çizelge 2.4’de farklı e-sigara kartuşu etiketlerindeki nikotin miktarı ve analizler sonucu tespit edilen nikotin miktarına ait bilgiler gösterilmektedir (Goniewicz ve diğerleri, 2013a). E-sigara kartuşunda nikotin miktarı 0-36 mg arasında değişebilmektedir. Kullanıcılar 0 mg içeren kartuşları alarak yüksek nikotin içeriğine sahip e-likitlerle karıştırarak elde ettikleri ara dilüsyonları da e-sigara kartuşlarında kullanmaktadırlar. Kartuşlarda olduğu gibi e-sigarada kullanılan yedek çözeltilerde de etiketteki nikotin miktarı ile içerikteki nikotin miktarı yapılan araştırmalarda karşılaştırılmıştır. Yedek çözeltilerin etiketindeki nikotin miktarı en düşük ve en yüksek değerler olarak 0-24 mg arasında değişen e-sigaralar üzerinde yapılan analiz sonucunda

çözeltide tespit edilen nikotin miktarı $0\pm0,0$ ve $25\pm1,1$ değerleri arasında değişmektedir. Etiketle aynı konsantrasyonlarda nikotin içeren e-sigarlardaki nikotin içeriği karşılaştırıldığında Çizelge 2.4’de gösterildiği gibi farklılıklar görülmektedir. Yedek çözelti etiketinde yazılan nikotin miktarı ve e-sigara içeriğinde tespit edilen nikotin miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Goniewicz ve diğerleri, 2013a).

Çizelge 2.4. E-sigara etiketindeki ve içeriğindeki nikotin konsantrasyonları

Ürün kodu	Ülke	Ürün satışı	ENK (mg)	TNK (mg)	<i>p</i>
01	Polonya	İnternet	18	$18\pm0,8$	,6159
02	Polonya	Büfe	16	$14\pm1,2$	,0362
03	Polonya	İnternet	18	$13\pm1,0$	,0008
04	Polonya	İnternet	16	$5\pm0,3$	,0000
05	Polonya	Büfe	0	$0\pm0,0$	,0000
06	Polonya	İnternet	18	$11\pm1,5$	,0012
07	Polonya	İnternet	18	$19\pm0,5$	,1047
08	Polonya	İnternet	18	$2\pm0,2$	,0000
09	Polonya	İnternet	16	$12\pm0,7$	,0013
10	Polonya	İnternet	18	$5\pm0,3$	,0000
11	Polonya	Büfe	4	$4\pm0,0$	,0000
12	Polonya	İnternet	11	$5\pm0,3$	,0000
13	Polonya	Büfe	4	$5\pm0,2$	,0010
14	Polonya	Büfe	0	$0,3\pm0,0$	,0000
15	Polonya	İnternet	16	$9\pm0,8$	,0002
16	Birleşik Krallık	İnternet	8	$8\pm0,9$	,6192
17	Birleşik Krallık	İnternet	12	$12\pm0,1$	,0000
18	Birleşik Krallık	İnternet	18	$19\pm0,5$	,0605
19	ABD	İnternet	18	$16\pm0,3$	,0009
20	Birleşik Krallık	İnternet	16	$15\pm0,2$	,0020

Goniewicz ve diğerleri, 2013a. ENK: Etiketledeki nikotin konsantrasyonu, TNK: Tanımlanmış nikotin konsantrasyonu

2.6. E-sigaranın Kimyasal İçeriği

E-sigara, son yıllarda yaygın olarak kullanılan bir ürün olmasından dolayı kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek toksisite verilerini değerlendirmek için çok sayıda araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu nedenden DSÖ, FDA gibi sağlık otoriteleri e-sigara kullanımını bir nikotin yerine koyma tedavisi olarak görmediklerini belirtip, gerekli bilimsel bilgilerin eksikliğinden dolayı bu kullanım yolunu “güvenli” bulmadıklarını bildirmektedirler (DSÖ, 2015; FDA, 2015). Ayrıca her iki sağlık otoritesi de konu ile ilgili bilimsel doküman azlığını nedeniyle üreticilerden ürünlerin terapötik etkisine yönelik iddialarda bulunmamalarını istemektedir (DSÖ, 2008).

Sigara ve e-sigara dumanının içerdiği toksik bileşikleri karşılaştıran çalışmalar olmasına karşın (Goniewicz ve diğerleri, 2013b; Flouris ve diğerleri, 2013), e-sigara ve insan sağlığına etkileri üzerine çalışmaların sayısı konunun yeni olması itibarıyla oldukça sınırlıdır (Goniewicz ve Zielinska, 2012). FDA araştırma sonuçları e-sigaranın klasik sigarayla aynı toksik ve karsinojenik (PAH'lar, dietilen glikol, nitrozaminler... gibi) bileşikleri içerebileceğini göstermiştir (FDA, 2015).

Amerika Birleşik Devletlerinde 12 farklı e-sigara örneği alınarak yapılan çalışmada ve yayın aşamasında olan bir çalışmaya göre kullanımına bağlı olarak e-sigara dumanında karbonik bileşikler, asetaldehit başta olmak üzere uçucu organik bileşikler, tütüne özgü nitrozaminler tespit edilmiştir. E-sigaradan alınan her 15 nefes bir sigaraya karşılık gelmektedir ve ortalama 0,20-5,6 µg formaldehit, 0,11-1,136 µg asetaldehit, 0,07-4,19 µg akrolein ve 0,02-0,63 µg toluen alınmaktadır. Bunun yanı sıra p-m-ksilen ve insan için en karsinojenik bileşikler arasında yer alan nitrozamin bileşiklerinden N-nitrozonornikotin (NNN) ve 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanone (NNK)'da e-sigara buharında saptanmıştır (Goniewicz ve diğerleri, 2013b). Formaldehit, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından insan sağlığı için en önemli karsinojenik etkili kimyasal bileşiklerden biri olarak belirlenmişken, asetaldehit aynı kurum tarafından insanda kansere neden olan muhtemel bileşiklerden biri olarak saptanmıştır (IARC, 2015). Akrolein ise geniz boşluğu ve akciğerlerde irritasyona neden olup, kalp ile ilgili hastalıkların oluşmasına zemin hazırlamaktadır. E-sigara dumanının vücuda çekilmesi dumanda saptanan bu bileşiklerin de vücuda alınmasına neden olduğundan ağız içi ve boğazda yüksek düzeyde irritasyonların gerçekleşebilmesi söz konusudur. Özellikle akrolein, formaldehit ve asetaldehit e-sigaraların kartuş kısmında yer alan sıvı olan gliserolün ısıtılması sonucu piroliz olmasına bağlı olarak açığa çıkmaktadır (Goniewicz ve diğerleri, 2013b). Ayrıca saptanan bu kimyasal maddeler e-sigara dumanının nikotinden daha başka bileşikler taşımadığına dair söylemleri de ortadan kaldırmaktadır. Bilindiği gibi tütüne özgü nitrozaminler kansere neden olabilmekte (IARC, 2015), ayrıca N-nitrozo bileşiklerinden NNK, tek zincir kırıklarının oluşmasına neden olarak DNA'da 8-oksodeoksiguanozin miktarını arttırabilmektedir (Hecht, 1999).

E-sigarada nikotin miktarı araştırıldığında 150 ve 180 nefes içimden itibaren kartuştaki nikotinin % 50'sine yakınının buharlaştığı tespit edilmiştir (Goniewicz ve diğerleri, 2013a). Genellikle bu ürünlerin içeriğindeki nikotin miktarı markaya bağlı olarak 0-20

mg/ml aralığında değişmektedir (Trehly ve diğerleri, 2011). 16 farklı e-sigara kartuşundaki nikotin seviyesi ölçülmüş ve nikotin oranının 4-24 mg arasında değiştiği kartuştaki nikotin oranının % 85'e kadar çıkabildiği tespit edilmiştir. Bulgular kartuştaki nikotin seviyesinin 300. nefeste yüksek miktarda nikotin içeren kartuşlarda nikotin değerini 0,5 ve 15,4 mg olarak tespit ederken düşük ve orta derecede nikotin içeren kartuşlarda bu oranın 0,5 ile 3,1 mg arasında olduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır. Sonuçlar farklı kartuşlarda nikotinin buharlaşma oranının farklı olduğunu ve buna bağlı olarak da maruziyet miktarının da farklı olabileceğini göstermektedir (Goniewicz ve diğerleri, 2013a). Tek bir nefeste nikotin seviyesi 1,7 ve 51,3 µg olarak bulunmuştur. FDA tarafından yapılan 3 farklı kartuşta tekrarlanan test sonuçları 100 ml'lik her bir içimde kartuştan alınan nikotin miktarının 26,8 ile 43,2 µg arasında değiştiğini tespit etmiştir (Westenberger, 2009). Yapılan bir diğer çalışmada FDA sonuçlarının aksine her 150. nefeste kartuştan alınan nikotin oranı 5,0-5,3 mg olarak bulunmuştur (Goniewicz ve diğerleri, 2013a). Diğer taraftan e-sigara kullanıcılarının bu ürünü tercih etme nedenleri arasında kapalı ortamlarda diğer bir deyişle tütün ve tütün ürünlerinin içiminin yasak olduğu ortamlarda e-sigarayı içebilmeleridir. Bu kullanım metoduyla sigara ve benzer tütün ürünlerinden yanma sonucu açığa çıkan duman ve duman içindeki kimyasal maddelerin olmadığı, dolayısıyla içilen ortama ve ortamda bulunan kişilere zarar vermediklerini düşünmektedirler. E-sigara içiminden kaynaklanan kimyasal maddelerin analizlerine yönelik yapılan çalışmalar yukarıda da konu edinildiği gibi yeni olmakla beraber dumanda bu kullanımdan kaynaklanan kimyasallar tespit edilmiştir. Öte yandan yapılan bir çalışmayla e-sigaraya pasif olarak maruz kalınıp kalınmayacağı araştırılmıştır. Almanya'da Schripp ve diğerleri tarafından (2013) yapılan bir çalışmada e-sigara kullanımına bağlı olarak kapalı ortama salınan emisyonunda 1,2 propandiol, nikotin, koku verici maddeler gibi ucucu organik kimyasallar kapalı ortamda tespit edilmiştir (Schripp ve diğerleri, 2013). Çizelge 2.5'de bir e-sigara kartuşundaki kimyasal maddelerin içeriği, miktarları ve Çizelge 2.6'da ise bir e-sigara dumanında saptanan maddeler ve miktarları verilmiştir (Laugesen, 2008).

Çizelge 2.5. E-sigara kartuşunda kimyasal maddelerin içeriği ve miktarı

Kartuştaki kimyasal içerik (mg)	Kartuşlardaki nikotin içeriği			
	16 mg	11mg	6 mg	0mg
Su	40	40	40	40
Alkol	50	50	50	50
Propilen glikol	888	893	898	904
Nikotin	16	11	6	0
Aroma	6	6	6	6
Toplam (mg)	1000	1000	1000	1000

Laugesen, 2008.

Çizelge 2.6. Örnek bir e-sigara dumanında saptanan maddeler ve miktarları

Bileşik	Ortalama ppm)
Asetaldehit	0,34
Aseton	0,16
Etanol	100
Formaldehit	0,25
Kresol	0,16
Ksilen	0,18
Propilen glikol	32
Stiren	0,29

Laugesen, 2008 *Bu çalışma için tespit sınırı 0,01 ppm ve kantifikasyon sınırı 0,025 ppm dir.

2.6.1. Propilen glikol

Propilen glikol çoğunlukla sis ve duman oluşturmak için kullanılmaktadır. Bu nedenle dermal ya da inhalasyonla maruziyet söz konusudur (ACC, 2001). E-sigara sıvısı ana bileşeni genellikle suyun içinde çözünmüş propilen glikolden oluşur. Kullanıcı e-sigaradan nefes aldığı anda mekanik sensör tarafından bu işlem tespit edilir ve mikroçiple kontrol edilen ısıtıcı tetiklenir (Bertholon, Becquemin, Annesi-Maesano, Dautzenberg, 2013). Propilen glikol, propan-1,2-diol/1,2-dihidroksi propan/metil glikol olarak da adlandırılan alkol türevidir. Gıdalarda katkı maddesi olarak ve kozmetik ürünlerde (E1520) nemlendirici ve emülgatör olarak kullanılmaktadır. Bu özelliğinden dolayı benzer şekilde tütünün kurummasını önlemek amacıyla da kullanılmaktadır. Benzodiazepinler ve fenitoin gibi birçok farmasötik içinde (suda çözünmeyenler için) çözücü olarak bulunmaktadır. Propilen glikolün içine çeşitli konsantrasyonlarda gliserin eklenerek de kullanılmaktadır. Bunun nedeni ise hava ile temas durumunda e-sigaradaki aerosolün ömrünü uzatmaktır. PG ince bağırsakta emilir ve glikoliz ile pirüvik asit ya da laktik asit gibi bileşenlere dönüşür. Ya da etanol yolağı ile asetik asit ve toksik bir madde olan propionik aldehit oluşturur. Metabolize olmayan PG idrarla doğrudan veya hepatik glukuronidasyon sonucunda dışarı atılır. PG'nin yarılanma ömrü kanda 2 sa. vücutta ise 4 sa. dir. Literatüre göre PG akut ve kronik maruziyette düşük toksisite göstermektedir. Yapılan toksisite testleri sonucunda akciğer, karaciğer ve böbrek gibi dokularda herhangi bir toksik etki gözlemlenmemiştir. PG'nin inhalasyonla toksisitesi araştırıldığında NOEL değeri küçük memelilerde yaklaşık olarak 20 mg/kg olarak bulunmuştur. Çizelge 2.7'de PG toksisitesine ait veriler gösterilmektedir (Werley ve diğerleri, 2011).

Çizelge 2.7. PG Toksisitesi

Deney Hayvanı Cinsi	Maruziyet	NOEL	Toksisite testi	Gün
Rat	Inhalasyon	20 mg/kg/gün	Akut	28 gün
Köpek	Inhalasyon	6,05 mg/kg/gün	Akut	28 gün

Werley ve diğerleri, 2011

Sindirim veya solunum yoluyla uzun dönem toksisitesi ratlarda görülmemiştir ve karsinojenik ya da genotoksik etkisine dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır (UNEP, 2001; Szajewski, 2009; Montharu ve diğerleri, 2010; Werley ve diğerleri, 2011; McAuley ve diğerleri, 2012). Propilen glikol göz üzerine iritan etki göstermektedir. Propilen glikol için TWA (maximum eight-hour-Time Weighted Average) değeri duman ve aerosol için toplamda 50 ppm (155 mg/m^3 , dönüştürücü faktörü $1 \text{ ppm} = 0,00311 \text{ mg/l}$), sadece aerosol için 10 mg/m^3 dür (ACC, 2001). PG, di alkol olduğu için teorik olarak zehirlenmeye neden olabilir. PG'nin yüksek sıcaklıkta oksidasyonu toksik propionaldehit, laktik, pirüvik ve asetik asit oluşturabilir. Avrupa kimyasal madde pazarlanmasına yönelik güvenlik verilerine (REACH) göre PG'nin inhalasyon ile toksisitesi bulunmayıp sadece deri üzerine hafif tahriş edici etkisi bulunmaktadır. ABD ya da Fransa'da uzmanlar tarafından belirlenmiş bir konsantrasyon limiti yoktur. Fakat İngiltere'de buharda bulunan toplam limit değeri 474 mg/m^3 olarak belirlemiştir (Bertholon ve diğerleri, 2013). PG'nin uzun dönem maruziyetteki toksik etkisi duman makinesi kullanılan yerlerde bulunan insanlar üzerinde araştırmaya çalışılmıştır. FDA'ye göre duman makinesininin oluşturduğu sis (PG ihtiva eden) güvenli olarak sınıflandırılmıştır. Fakat e-sigaradaki PG'nin inhalasyonla alındığında uzun dönem maruziyetteki toksik etkisi üzerine mevcut çalışma henüz bulunmamaktadır (Bertholon ve diğerleri, 2013).

2.6.2. Gliserol

Gliserol bazı e-sigara markalarında aerosolün ömrünü uzatmak için PG yerine ya da PG ile birlikte karışım olarak kullanılmaktadır. Yüksek sıcaklıkta buharlaşmasıyla toksik akrolein oluşturmaktadır. Bu durumun aksine gıda ve kimya sanayinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve toksik değildir. Absorbe edilen gliserol karaciğerde metabolize edilir, karbondioksit ve suya ya da glikoz ve glikojene dönüşür (Bertholon ve diğerleri, 2013). Propilen glikol ve gliserolün 8 saatlik maruziyet sonucunda TLV değeri 10 mg/m^3 dür (OSHA, 2013). E-sigaradan inhale edilen aerosolün hacmi havanın toplam hacmine göre düşüktür ve hesaplamalarda alınan her nefesin eşit miktarda aerosol içerdiği varsayılmaktadır (Burstyn, 2014). İçinde propilen glikol de bulunan sahne dumanı için inhale edilebilir aerosol konsantrasyonu oranı $0,70 \text{ mg/m}^3$ dür (Teschke ve diğerleri, 2005). Propilen glikol ve mesleki maruziyet üzerine yapılan çalışmada kabul edilebilir maruziyet limiti 50 mg/m^3 (8 saatten fazla maruziyet durumunda) olarak bulunmuştur. Bu oranlar hesaplanırken tüketicinin düşük nikotin oranlı mı yoksa nikotin içermeyen mi e-sigara

likiti kullandığı belirtilmelidir. Nikotin miktarına göre daha büyük hacimlerde sıvı tüketimi ihtimali artacağından propilen glikol ve gliserin maruziyetinin üst sınırı e-sigara kullanıcıları için önem teşkil etmektedir (Burstyn, 2014).

2.6.3. Gıda aromaları

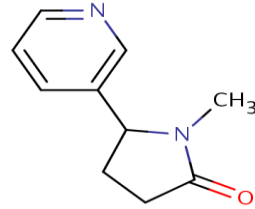
E-sigara sıvı karışımı içinde PG ya da PG ve gliserol karışımı beyaz, kokusuz bir buhar üretir. Bu nedenle doğal ya da yapay maddeler bu karışıma aroma vermek için eklenmektedir. E-sigaralar; mentol, vanilya, meyve, karamel, kahve... vb. gibi aroma verici bileşikler içermektedir. Bu aroma verici katkı maddelerinin doğallığı diğer bitkisel aroma verici maddeler gibi açık olarak belirtilmemektedir. Fakat büyük olasılıkla gıda katkı maddeleri grubuna ait olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte e-sigara içeriğinde kullanılanların çoğu insanların tüketimi için uygundur. Gıda aromalarının inhalasyonla maruziyeti üzerine kısa ve uzun dönem etkileri ile ilgili hiçbir veri mevcut değildir. Bununla birlikte bazı yapay tatlandırıcıların sitotoksik olduğu belirtilmiştir (Bahl ve diğerleri, 2012). Genel olarak üreticiler tarafından e-sigaradaki sıvının kimyasal bileşeni verilmemektedir. E-sigara paketinde ise kimyasal içeriğe ait veriler tam olarak bulunmamaktadır. Örneğin e-sigara sıvısına ait kimyasal bileşim % 75,5 gliserol, % 24,5 katkı maddesi, % 8 yapay aroma şeklinde verilmektedir (Bertholon ve diğerleri, 2013).

2.6.4. Nikotin

Nikotin LD 50 (oral) değeri ratlar için 50 mg/kg, fare için 3 mg/kg, yetişkin insanlar için ise 0,5-1,0 mg/kg dır. Düşük LD 50 seviyesi nedeniyle nikotin oldukça toksik bir bileşiktir. Sigaralara yaklaşık 8-20 mg nikotin içerir ve her sigarada yaklaşık 1 mg nikotin absorbe edilir (Pérez-Stable, 1998; Schonwald, 2001). Bilimsel literatürde, 2-5 mg gibi oldukça düşük dozlarda nikotin maruziyeti nedeniyle görülen zehirlenme vakaları bulunmaktadır (CDCP, 2003; Schneider, 2010). Nikotin zehirlenmesine bağlı olarak karın ağrısı, terleme, halsizlik, konfüzyon, nöbetler, solunum sisteminde kas felci nedeniyle ölüm gerçekleşebilmektedir. Düşük doz akut nikotin zehirlenmesinde taşikardi, hipertansiyon görülürken yüksek dozlarda bradikardi ve hipotansiyon ortaya çıkmaktadır (Schonwald, 2001).

E-sigara likit içeriğinde nikotin konsantrasyon oranı 6-36 mg/ml aralığında değişmektedir. Kartuşdaki sıvı, içeriğindeki nikotin miktarına göre düşük, orta ve yüksek şeklinde etiketlenmektedir. E-sigarada kullanılan her kartuş yaklaşık olarak 300 nefeslik içim için kullanılmaktadır. Aynı markaya ait düşük, orta ve yüksek miktarda nikotin içeren e-sigaralarda yapılan inceleme sonucu orta seviyede nikotin içeren e-sigara likitinden alınan her nefeste 10,6 µg nikotin/100 ml alınmaktayken, yüksek nikotin içeren e-sigarada ise her 100 ml'lik likitin ısıtılmasıyla alınan nefeste 26,8 ile 43,2 µg nikotin/100 ml alınmaktadır. Başka bir markaya ait sıfır nikotin içeren elma aromalı e-sigarada ise 100 ml'lik likitin ısıtılmasıyla 0,35 µg/100 ml nikotin alındığı ölçülmüştür (Schroeder ve Hoffman, 2014). Nikotinin ana metabolitlerinden biri olan kotininin genel özellikleri Çizelge 2.8'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.8. Kotininin genel özellikleri

Kimyasal adı: (5S)-1-Metil-5-(3-piridinil)-2 pirrolidinon	
Formülü: C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	
CAS:486-56-6	
Molekül ağırlığı: 176.094955 Da	
Kimyasal özellikleri: Erime noktası 40-42 °C, Kaynama noktası 250 °C	
Çözünürlük: DMSO ve HCl	

Otuzbir e-sigara kullanıcısının vücut sıvısında nikotin düzeyi belirlenmek istenmiş ve bu amaçla tükürük sıvısından örnek alınıp kotinin düzeyi tespit edilmeye çalışılmıştır. Ortalama olarak günde 200 nefes 18 mg/ml nikotin içeren kartuşa sahip e-sigara kullanan kullanıcıların tükürük kotinin düzeyi 322 ng/ml olarak bulunmuştur. Günde 150 nefes e-sigara içen kullanıcıda bu seviye 141 ng/ml olarak bulunmuştur. Haftada sadece 2 kere e-sigara kullanan kişilerde ise kotinin seviyesi 13 ng/ml olarak tespit edilmiştir (Etter ve Bullen, 2011b).

Her ne kadar bu bulgular kotinin düzeyinin önemli derecede yüksek olduğunu gösterse de (Etter, 2011); e-sigara kullanımı üzerine yapılan ve kan nikotin düzeyini önemli ölçüde yükseltmediğini (2 ng/ml) gösteren (Vansickel ve diğerleri, 2010; Vansickel ve Eissenberg, 2013), (0,74 ng/ml-13,91 ng/ml) (Dawkins ve Corcoran, 2014) ya da e-sigara kullanımıyla inhale edilen nikotin miktarının sigara kullanımına göre daha düşük olduğunu ortaya koyan (Bullen ve diğerleri, 2010) yayınlar da mevcuttur.

E-sigara kullananlar ortalama olarak 120-175 nefes/gün e-sigara dumanı tüketmektedirler (Etter, 2010; Etter ve Bullen 2011b). Diğer yandan e-sigara kullanıcılarının ve e-sigara dumanına maruz kalan bireylerin serum kotinin düzeylerinin, sigara içen bireylerle çok benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Flouris ve diğerleri, 2013). Yapılan bu çalışmada e-sigara ve klasik sigara kullanımına bağlı olarak sırasıyla serum kotinin düzeyleri $60,6 \pm 34,3$ ve $61,3 \pm 36,6$ ng/ml olarak bulunmuştur. Aynı şekilde e-sigara dumanına pasif olarak maruz kalanlarda serum kotinin düzeyi $2,4 \pm 0,9$ ng/ml olarak tespit edilirken bu değer sigaraya pasif olarak maruz kalanlarda $2,9 \pm 0,6$ ng/ml olarak saptanmıştır (Flouris ve diğerleri, 2013).

E-sigara ile ilgili yapılan çalışmalar tükürük ve plazma gibi vücut sıvılarında kotinin ve nikotin düzeyini belirlemeye yöneliktir. Bu konuda bugüne kadar yapılan çalışmaların bir özeti Çizelge 2.9'da verilmiştir.

Çizelge 2.9. E-sigara kullanan kişilerin vücut sıvılarında nikotin/kotinin düzeyleri

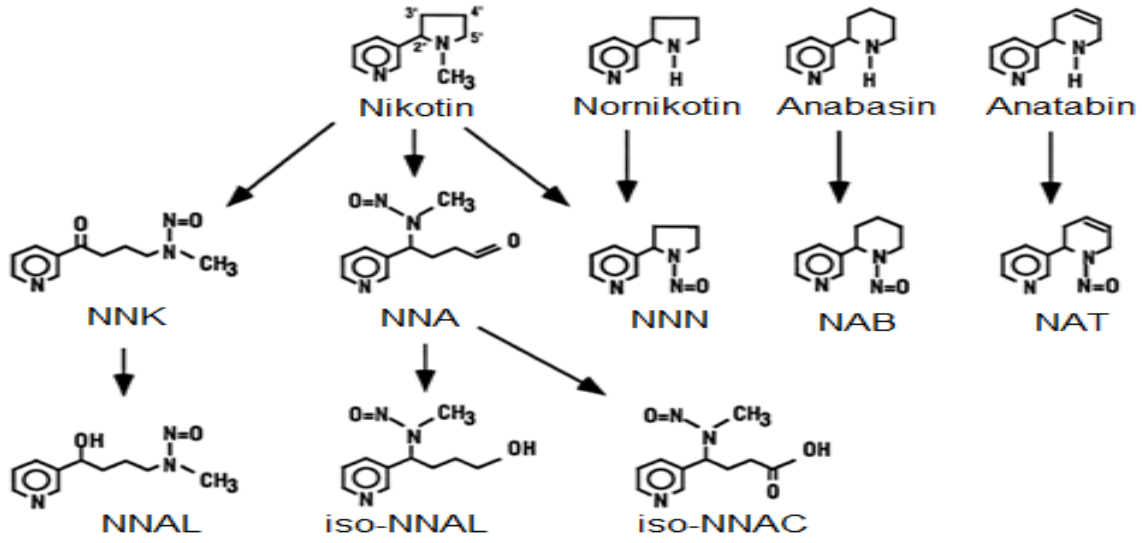
Etiketeki nikotin miktarı	Örnek büyüklüğü (n)	E-sigara kullanım süresi	Farklı vücut sıvılarında nikotin/kotinin düzeyleri	Kaynak
16 mg/ml	8	5 dakika	Plazma nikotin: 1,3 ng/ml (19,6. dakikada)	Bullen ve diğerleri, (2010)
16 mg/ml	16	10 nefes, 2 nöbet, 30 saniye nefesler arasında dinlenme (1 saat nöbet aralığı, kullanım yok)	Plazma nikotin: 2,5 ng/ml-3,5 ng/ml (İlk nefesten 5 dk sonra)	Eisenberg (2010)
16 mg-18mg	32	10 nefes, 2 farklı zaman, 30 saniye nefesler arasında dinlenme (1 saat nöbet aralığı, kullanım yok)	Plazma nikotin:Önemli bir değişiklik yok	Vansickel ve diğerleri, (2010)
18 mg/ml	30	<i>ad libitum</i>	Tükürük kotinin: 322 ng/ml	Etter ve Bullen (2011b)
18 mg/ml	20	10 nefes, 6 nöbet, 20 saniye nefesler arasında dinlenme (30 dakika nöbet aralığı, kullanım yok)	Plazma nikotin : 2,2-7,4 ng/ml (Kullanımdan 5 dk sonra)	Vansickel ve diğerleri, (2012)
7,2 mg (12 hafta)	-	12 hafta	Tükürük kotinin: 6 hafta, 42,5 ng/ml; 12 hafta, 91 ng/ml	Caponnetto ve diğerleri, (2013a)
7,2 mg (6 hafta) 5,4 mg (6 hafta)	-	12 hafta	Tükürük kotinin: 6 hafta 67,8 ng/ml; 12 hafta 69,8 ng/ml	
11 mg/ml	15	Kullanımdan 1 saat sonra	Serum kotinin: 60,6±34,3 ng/ml 2,4±0,9ng/ml (e-sigaraya pasif maruziyet)	Flouris ve diğerleri, (2013)
9-24 mg/ml	8	10 nefes, (30 saniye nefesler arasında dinlenme) 1 saat, <i>ad libitum</i>	Plazma nikotin: 2-10,3 ng/ml (İlk nefesten 5 dk sonra) Plazma nikotin: 16,3 ng/ml	Vansickel ve Eissenberg (2013)
18 mg/ml	14	5 dakika içinde, 10 nefes 1 saat <i>ad libitum</i>	Plazma nikotin: 0,74-6,77 ng/ml (İlk nefesten 10 dk sonra) Plazma nikotin:13,91 ng/ml (4,35 ng/ml-25,6 ng/ml)	
16 mg/ml	71	<i>ad libitum</i>	Tükürük kotinin: 353 ng/ml	Etter (2014)

2.7. E-Sigara Kullanımıyla Açığa Çıkan Kimyasal Maddeler

2.7.1. Tütüne özgü nitrozaminler (TSNA)

Tütüne özgü nitrozaminler sadece tütün ürünlerinde bulunan bir grup karsinojendir. TSNA'lar tütün alkaloidleri ve nikotinin nitrozasyonu ile oluşmaktadır. Şekil 2.4'de TSNA'lar ve onların alkaloid öncüleri gösterilmektedir (Hoffmann ve Hecht, 1985, 1988; Hoffmann, Brunnemann, Prokopczyk, Djordjevic, 1994). TSNA'lar taze yeşil tütün yapraklarında bulunmamaktadır. Şekil 2.5'de de gösterildiği gibi tütün yapraklarında bulunan nitrat, nitrite indirgenir ve tütün alkaloidleri olan TSNA'ları oluşturur (Spiegelhalder ve Bartsch, 1996). TSNA'lara günlük olarak maruziyetin sigara içenlerde 20 mg, enfiye kullananlarda 68 mg kadar olduğu tahmin edilmektedir. Sigara kullanmayan insanların idrarında çevresel tütün dumanına maruziyet nedeniyle NNK (4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon) ve metabolitleri tespit edilmiştir (Hecht ve diğerleri, 1993; Parsons, Carmella, Akerkar, Bonilla, Hecht, 1998).

Tütüne özgü nitrozaminler sigara kullanımıyla ilgili olarak özefagus, pankreas, ağız boşluğu kanserine yakalanılmasında önemli rol oynamaktadır (Hecht ve Hoffmann, 1989). NNK (4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon), NNAL (4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanol) ve NNN (N'-nitrozonornikotine) kanserin indüklenmesinin önemli bir parçası olarak gösterilmektedir. Oral kanserin indüklenmesinde NNN ve NNK önemli bir yere sahiptir (Hoffmann ve Hecht, 1985, 1988; Preston-Martin ve Correa, 1988; Magee, 1996). Tütüne özgü nitrozaminlerin DNA katım ürünü haline dönüşmesi metabolik aktivasyonlarına bağlıdır. Şekil 2.6'da NNK, NNAL ve NNN için DNA katım ürünü formasyonu özetlenmiştir (Preusman ve Stewart, 1984; Hecht, 1998). Bilinen yedi tane (NNN, NNK, NNAL, NAT, NAB, izo-NNAL ve izo-NNAC) tütüne özgü nitrozamin vardır fakat deney hayvanlarında karsinojenitesi tespit edilmiş en önemli olanları NNK, NNAL ve NNN dir. NNK ve onun metaboliti NNAL O6-meG ve diğer metillenmiş bazların artışına neden olur. Tütüne özgü nitrozaminler metabolik aktivasyon sonucu DNA'da alkilasyon meydana getirirler. Bununla birlikte NNN, O6-G'de ve diğer pozisyonlarda DNA katım ürünü olan piridiloksobütil oluşmasına yol açabilir (Hecht, 1999).



Şekil 2.4. Tütüne özgü nitrozaminler ve prekürsörleri

Tütün ürünlerinde 4-methyl-nitrosamino-4-3-piridil bütanal (NNA) hariç tüm nitrozaminlere rastlanmıştır. Tütünün işleme süresince özellikle havada kurutma ve yıllandırma süresince nitrat kısmen nitrite indirgenir. Şekil 2.5’de tütünün işleme sürecinde nitrozaminlerin oluşumu özetlenmiştir (Spiegelhalder ve Bartsch, 1996). Nitrit; sekonder ve tersiyer aminlerde güçlü bir N-nitrozo maddedir. Bu nedenle tütün işleme safhasında N-nitrozaminler oluşur (Hoffmann ve diğerleri, 1994).



Şekil 2.5. Tütüne özgü nitrozaminlerin tütünde oluşum şekli

(NNN: N-nitrozonornikotin; NNK : 4-(N-metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon)

2009 yılında FDA tarafından 18 e-sigara kartuşu üzerinde yapılan araştırmaya göre incelenen örneklerin yarısında karsinojen olduğu bilinen tütüne özgü nitrozaminlere rastlanmıştır (FDA, 2015). Elektronik sigaralar, içerdikleri tütüne özgü nitrozaminler bakımından nikotin bandı ve nikotin sakızı gibi nikotin yerine koyma tedavisinde kullanılan yardımcı ürünler ile karşılaştırıldığında içerdiği NNN miktarının e-sigarada daha yüksek olduğu, NNK miktarının ise nikotin bandında e-sigaradan daha yüksek olarak bulunduğu görülmektedir. NNN, NNK, NAT, NAB gibi tütüne özgü nitrozaminlerin sigara ile karşılaştırıldığında e-sigarada oldukça düşük miktarlarda bulunduğu Çizelge 2.10'da görülmektedir (Stepanov, Jensen, Hatsukami, Hecht, 2006; Laugesen, 2008).

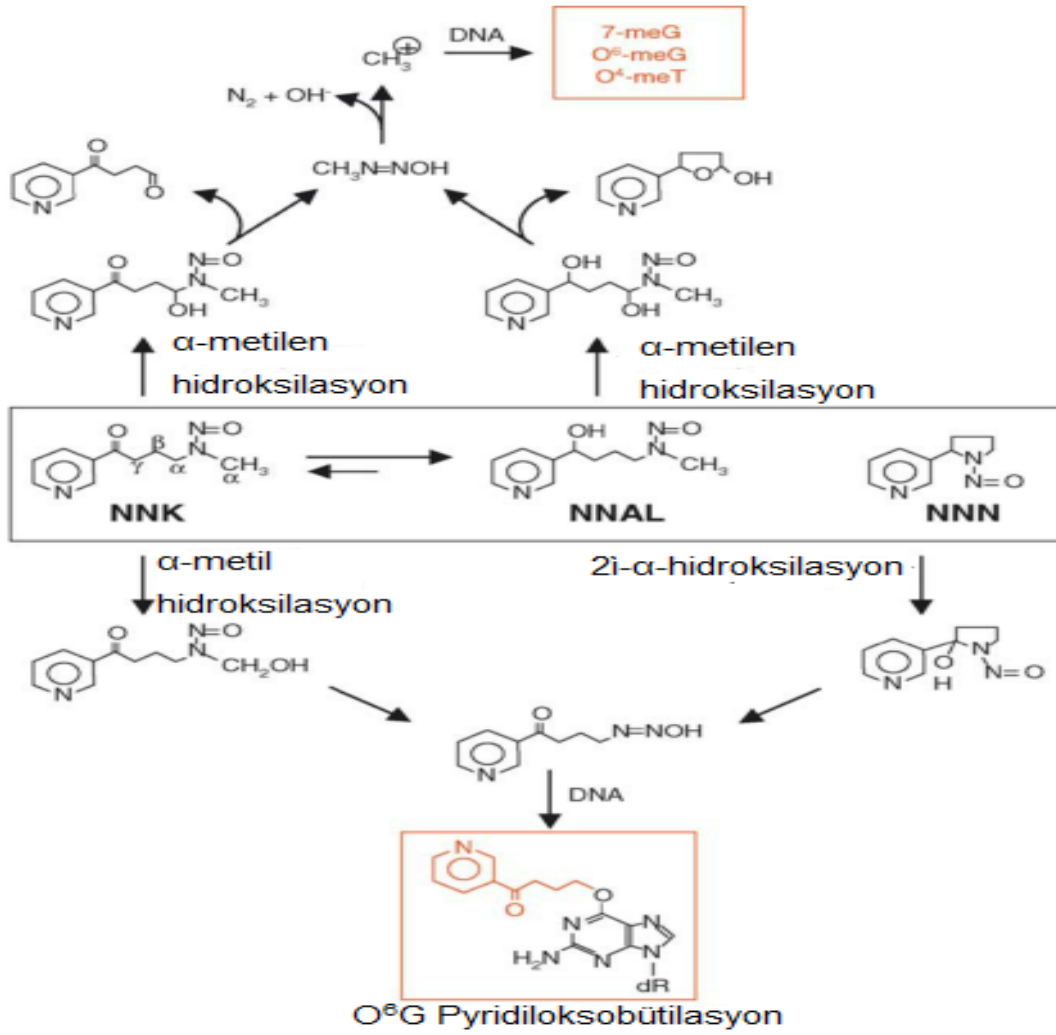
Çizelge 2.10. TSNA düzeyleri karşılaştırması (ng/g)

Ürün	NNN	NNK	NAT	NAB	Toplam
Elektronik sigaralar	3,87	1,46	2,16	0,69	8,18
Nikotin sakızı	2,00	TE	TE	TE	2,00
Nikotin bandı	TE	8,00	TE	TE	8,00
Sigara	2900	960	2300	100	6260

NNN=4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon; NNK=N0-nitrozonornikotin; NAT=N0-nitrozoanatabin; NAB=N0-nitrozoanabasin; TE=Tespit edilemedi.

Tütüne özgü nitrozaminlerde α -Hidroksilasyon ile N-nitrozo grubuna komşu karbonların hidroksilasyonu yoluyla NNK ve NNAL metabolik aktivasyon yolağı ile DNA katım ürünü oluşumu Şekilde 2.6'da gösterilmektedir (Drablös ve diğerleri, 2004). Bu metabolik aktivasyon yolağı nitrozaminlerin çoğu için geçerlidir (Preusman, 1984; Hecht, 1998).

NNK'nın α -Hidroksilasyonu metil ya da metilen karbon üzerinden yürür (Drablös ve diğerleri, 2004). Tütün içeriğı uçucu nitrozaminler, uçucu olmayan (kalıcı) nitrozaminler, nitrozamino asitler ve tütüne özgü nitrozaminler şeklinde ayırt edilir. Son grup olan tütüne özgü nitrozaminler birkaç nedenden dolayı önem taşır. TSNA'lar nikotin ve nikotiana minör alkaloidlerinin (nornikotin, anatabin, anabasin) N-nitrozasyonu ile oluşur (Hoffmann ve diğerleri, 1994). Deney hayvanlarında tütüne özgü karsinojen olan 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon (NNK) fetal karaciğerde mikroçekirdek oluşumunu ve oksidatif hasarı (8-oxo-dG) indüklediğı bilinmektedir (Alaoui-Jamali, Rossignol, Schuller, Castonguay, 1989; Sipowicz, Amin, Desai, Kasprzak, Anderson, 1997). İki majör NNK-DNA katım ürünü tipi vardır, bunlar; metil katım ürünü ve piridiloksobütil katım ürünüdür. α -metilen hidroksilasyon tarafından metil katım ürünü oluşurken, α -metil hidroksilasyon tarafından piridiloksobütil katım ürünü oluşur (Hecht, 1998).



Şekil 2.6. Tütüne özgü nitrozaminler ve DNA katım şekli

DNA Metilasyon (α -metilen hidroksilasyon): NNK'nın α -metilene hidroksilasyonu ile DNA ile reaksiyona girerek 7-mG, O⁶-mG, and O⁴-mT üreten metan diazohidroksit ve/veya metildiazonium iyon oluşur.

DNA Piridiloksabütilyasyon (α -metil hidroksilasyon): NNK'nın α -metil hidroksilasyonu kimyasal olarak daha detaylı bilinmektedir. Diazohidroksit, diazonium iyonuna dönüşür ve üç yolağa ayrılarak nükleofiller üretimle reaksiyona girerek siklik oksonium iyon oluşur ve N² and H⁺ kaybı ile doymamış keton meydana gelir. Son oluşan iki ara ürün diğer kimyasal bileşikler oluşturmak için nükleofiller ile reaksiyona girer. Çalışmalar göstermektedir ki majör DNA katım ürünlerinin en az % 50'si keto alkol yolağıyla oluşarak DNA üzerine tutunur. Diazonium iyon N² ve/veya O⁶ dG'ye bağlanarak oksonium iyon dönüşür. Minör katım ürünleri DNA'da piridiloksobütilyasyon ile meydana gelir. NNK'nın metabolik olarak aktivasyonu ile O⁶-mG oluşur. NNK'ya maruz kalan dokularda O⁶-mG oluşumu

önemlidir. Yapılan in vivo çalışmalarda NNK'nın ratlarda (7-mG, O6-mG, O4-mT, piridiloksobütıl), hamsterda (7-mG, O6-mG), farede (7-mG, O6-mG, O4-mT, piridiloksobütıl) DNA katım ürünü oluşturduğu gösterilmiştir (Hecht, 1998). NNN'nin ise 2'- ve 5'-Hidroksilasyonu ile DNA hasarı oluşmaktadır. NNN'nin ise 2'- ve 5'-hidroksilasyonu elektrofilik nitrosiminium iyon oluşmasına neden olabilir. NNN maruziyeti ile dG katım ürünü deney hayvanlarında bildirilmiştir (Hecht, 1998). NNK veya NNN'nin ya da her ikisinin metabolik aktivasyonu ile keto alkol DNA katım ürünü oluşumu sigara içenlerin akciğerlerinde gösterilmiştir (Foiles, 1991).

2.7.2. PAH'lar

E-sigara içeriğindeki kimyasal maddelerden olan PAH'lar bazı çalışmalarda aerosol (Murphy, Wong, Lawton, 2010; Lauterbach ve Laugesen, 2012; Romagna ve diğerleri, 2012) ve sıvı içinde ölçülmüştür (Laugesen, 2008). Laugesen (2008) tarafından yapılan çalışmada 34 PAH e-sigaradaki kartuş içindeki sıvıda incelenmiş ve antrasen, fenantren, 1-metil fenantren, pirene rastlanmıştır. E-sigara içeriğinde tespit edilen PAH'lar IARC tarafından karsinojenik olarak sınıflandırılmamış grupta (IARC Grup 3) olan PAH'lardır (Laugesen, 2008). Farklı bir çalışmada ise e-sigarada analiz edilen aerosollerin çoğunda krisen hariç PAH'a rastlanmamıştır (Murphy ve diğerleri, 2010).

2.7.3. Ağır metaller

E-sigarada yapılan incelemeler soncunda hem e-sigara sıvısında hem de aerosolde toksik metal ve silikat partiküllerine rastlanmıştır. Aerosolde $> 1\mu$ kalay, gümüş, demir, nikel, alüminyum, silikat parçacıklarına, kalay nanopartiküllerine ($<100\text{nm}$), krom ve nikel parçacıklarına rastlanmıştır. E-sigara aerosolünde incelenen dokuz elementin konsantrasyonu sigara dumanındaki konsantrasyonlarından eşit ya da daha büyük bulunmuştur. Sonuç olarak e-sigara aerosolünde solunum sistemi rahatsızlıkları ve hastalıklarına neden olabilecek birçok kimyasal tanımlanmıştır (Williams, Villarreal, Bozhilov, Lin, Talbot, 2013).

Yapılan bir başka çalışmada elektronik sigara içimine bağılı olarak maruz kalınabilecek 12 metal araştırılmış ve farklı düzeylerde kadmiyum, kurşun ve nikel metallerine rastlanılmıştır (Goniewicz ve diğerleri, 2013b). Her ne kadar bu bileşiklerin düzeyleri

sigara dumanındaki ile karşılaştırıldığında daha az ise de bunların çoğu karsinojenik bileşiklerdir. Kalay, alüminyum, kadmiyum, kurşun, selenit gibi ağır metallerin potansiyel endokrin bozucu özelliği olup metalloöstrojenler olarak anılmaktadırlar (Darbre, 2006; Aquino, Seigny, Sabangan, Louie, 2012; Williams ve diğerleri, 2013). Ayrıca bazı maddeler nanopartikül boyutunda olduğunda daha yüksek toksisite gösterebilmektedir. Eski toksikolojik risk modellerinin aksine “less is more” az daha çoktur” düşüncesi yani partikül büyüklüğünün azalması ile bileşiğin vücudun savunma mekanizmasını kolayca geçebilmesine ve toksik etki göstermesine neden olabilmesi mümkündür (Williams ve diğerleri, 2013).

2.7.4. Formaldehit, akrolein ve dietilen glikol

E-sigara kullanımında temel prensip güç kaynağının kartuşun içindeki e-likiti ısıtmasıdır. E-sigara üreticileri tarafından buharlaşma haznesindeki sıcaklığın 40-65°C olduğu belirtilmektedir (Westenberger, 2009). Fakat kullanılan e-sigara ların üzerinde buharlaşma haznesi sıcaklık aralığıyla ilgili bilgi bulunmamaktadır. Aynı bilgi eksikliği buharlaşma haznesindeki propilen glikol/gliserol ya da gliserolün buharlaşma sıcaklığı için de vardır, örneğin gliserol yüksek sıcaklıkta buharlaşmaktadır fakat kullanılan e-sigarada haznedeki sıcaklığın hangi seviyeye kadar çıktığı bilinmediğinden gliserolün ya da propilen glikolün yüksek ısıdaki olumsuz etkilerine yönelik bulgular ortaya konulamamıştır. Bazı üreticiler hazne ısısının 100 °C’den düşük tutulduğunu böylelikle yüksek sıcaklığın neden olduğu toksik akrolein degradasyonunun önlendiğini belirtmişlerdir (Bertholon ve diğerleri, 2013). Fakat bazı çalışmalar batarya yardımıyla kartuşdaki çözelti ısıtılmaya çalışıldığı sırada sıcaklığın 350 °C’u geçtiğini bildirmektedirler (Schripp ve diğerleri, 2013; Talih ve diğerleri, 2015). Akroleinin yanı sıra özellikle doğrudan damlatma tekniği ile kullanılan e-sigara larada yüksek ısı nedeniyle toksik bir bileşik olan formaldehit oluşabileceği de bir diğer önemli durumdur (Talih ve diğerleri, 2015). 2009 yılında FDA tarafından yapılan araştırmada incelenen bir e-sigara örneğinde antifiriz olarak kullanılan toksik bir kimyasal olan dietilen glikol tespit edilmiştir (FDA, 2015).

2.8. Nikotin Toksikokinetiği

Nikotin, tütün alkaloidlerinin en önemli olanıdır, sigaradaki tütün ağırlığının % 1,5’u ve toplam alkaloid içeriğinin % 95’ini oluşturur (Kozlowski ve diğerleri, 1998). Bir sigarada

ortalama olarak 10-14 mg nikotin bulunmaktadır (Kozlowski ve diğerkleri 1998) ve sigara içilmesiyle ortalama olarak 1-1,5 mg nikotin sistemik olarak absorbe edilir (Benowitz ve Jacob, 1984). Nikotin inhalelerin e-sigara ve klasik sigarayla karşılaştırıldığında (Çizelge 2.11) nikotinin vücuda alımı e-sigara içenlerde daha yavaştır (Batra, Friederich, Lutz, 2009; Bullen ve diğerkleri, 2010; Dawkins ve Corcoran, 2014).

Çizelge 2.11. Nikotin inhalelerin e-sigara ve sigarayla karşılaştırılması

Ürün	Ortalama tmaks (dakika) (% 95 güven aralığı)	Ortalama Smaks (ng/ml) (% 95 güven aralığı)
Sigara	14,3 (8,8-19,9)	13,4 (6,5-20,3)
E-sigara (16 mg nikotin)	19,6 (4,9-34,2)	1,3 (0,0-2,6)
Nikotin inhaleler	32,0 (18,7-45,3)	2,1 (1,0-3,1)

Smaks: Maksimum serum nikotin düzeyi, tmaks: Maksimum serum nikotin düzeyine ulaşılan dakika

2.8.1. Absorbsiyon

Nikotinin biyolojik membranlardan emilimi pH'sına bağlıdır. pKa 8,0 değeriyle nikotin zayıf bir bazdır. İyonize halde (asitli ortamlarda olduğu gibi) nikotin membranları hızlı bir şekilde geçemez. Bazı sigaralar asidik bazıları ise alkalidir. Asidik pH'da nikotin iyonizedir ve yanak epitel hücre nikotin absorpsiyonu az miktardadır. Avrupa sigaraları daha alkalidir ve nikotin de iyonize değildir bu nedenle de ağız yoluyla emilimi daha fazladır. Örneğin tütün dumanı Amerikan sigaralarında pH 5,5 (asidik) olduğu için bu pH'da nikotin iyonize olur, membranları geçemez ve dumanın içindeki nikotin dudak mukozasından emilmez. Bunun yanı sıra pipo ve puro ile alınan sigara dumanının pH'sı 8,5'tir (alkali). Bu pH'da nikotin iyonize olmamış bir şekilde bulunur ve ağızdan emilir (Armitage ve diğerkleri, 1978; Gori, Benowitz, Lynch, 1986).

Sigaranın içilmesiyle birlikte tütün dumanı akciğerdeki alveollere ulaşır ve hızla emilir. Alveollerin yüzey alanı geniş olduğundan emilim hızlı bir şekilde olmaktadır. pH 7,4 olan insan akciğerlerindeki sıvı da nikotinin çözünmesi ve zarlardan geçişini kolaylaştırır (Benowitz, 1990).

2.8.2. Dağılım ve atılım

Absorpsiyondan sonra dolaşıma geçen nikotinin % 69'u iyonize, % 31'i non iyonizedir ve plazma proteinlerine bağlanma oranı % 5'den azdır (Benowitz, Jacob, Jones, Rosenberg, 1982a). Sigara içen insanların otopsi örneklerinde nikotin için en yüksek afiniteye

karaciğer, böbrek, dalak, akciğer ve en düşük olarak da adipöz dokuda rastlanmıştır (Urakawa, Nagata, Kudo, Kimura, Imamura, 1994). Nikotin ana metaboliti olan kotinin en yüksek konsantrasyonuna karaciğerde rastlanmıştır. İskelet kasında nikotin ve kotinin konsantrasyonları birbirine yakındır. Nikotin beyin dokusuna yüksek afiniteyle bağlanır ve reseptöre bağlanma kapasitesi sigara içenlerde, içmeyenlere göre fazladır (Breese ve diğerleri 1997; Perry, Dávila-García, Stockmeier, Kellar, 1999). Reseptörlere bağlanmada artış sigara içen kişilerin beyinde nikotinik kolinerjik reseptörlerin sayıca artışına neden olmaktadır (Lindell, Lunell, Graffner, 1996). Nikotin anne sütünde de bulunmaktadır (süt/plazma oranı=2,9). Sigara kullanan ve emziren annelerde çocuğa 0,09-1,03 µg/vücut ağırlığı nikotin transfer edilebilmektedir (Dahlström, Lundell, Curvall, Thapper, 1990).

Nikotin plasental bariyeri kolaylıkla geçebilmektedir, nikotin fetal serumda ve amniyotik sıvıdaki konsantrasyonu maternal seruma göre biraz daha yüksek bulunmuştur (Dempsey ve Benowitz 2001). Kan nikotin konsantrasyonu sigara içenlerde 10-50 ng/ml arasındadır (Benowitz ve diğerleri, 1990). Sigara içiminin sonunda nikotin konsantrasyonu en yüksek noktaya ulaşır ve 20 dk içinde dokuya dağılımın gerçekleşmesi nedeniyle düşüş gösterir. Sigara içenlerde kanda kotinin konsantrasyonu nikotinden daha yüksektir. Kotinin konsantrasyonu kanda yaklaşık olarak 250-300 ng/ml dir (Benowitz ve diğerleri, 1983a; Gori ve Lynch, 1985). Nikotin toplam klerensi ortalama 1200 ml/dk. dir. Nonrenal klerens karaciğer kan akışının yaklaşık % 70'ini oluşturur. Nikotin çoğunluğunun karaciğerde metabolize edildiği varsayılırsa bu durumun anlamı kanın karaciğerden her geçişinde % 70'i ekstrakte edilir şeklindedir. Nikotinle karşılaştırıldığında kotinin metabolizması daha yavaştır. Kotinin klerensi yaklaşık 45 ml/dk dir. Çizelge 2.12'de intravenöz uygulamadan sonra nikotin ve nikotin önemli metabolitlerine ait farmakokinetik parametreler özetlenmiştir (Benowitz, Hukkanen, Jacob, 2009). Nikotin böbreklerden atılımı glomerular filtrasyon ve tübüler sekresyon ile gerçekleşmektedir. Üriner pH'ya bağlı olarak reabsorbsiyon değişkenlik gösterebilir. Kontrolsüz idar pH'sında renal klerens ortalama olarak 35-90 ml/dk iken eliminasyon miktarı toplam klerensin % 5'i kadardır (Çizelge 2.12).

Asit idrarda, nikotin daha çok iyonizedir ve tübüler reabsorbsiyon minimal düzeydedir. Ayrıca idrar pH'sı 4,4 civarındayken üriner akış hızına bağlı olarak reabsorbsiyon 600 ml/dk'ya kadar yükselmektedir (Benowitz ve Jacob, 1985). Alkali idrarda nikotin büyük bir bölümü noniyonizedir ve idrar pH'sı 7 olduğunda tübüler reabsorbsiyon ağı renal

klerensin 17 ml/dk'ya kadar düşmesinde neden olur (Benowitz, Kuyt, Jacob, Jones, Osman, 1983b). Kotinin proteinle bağlanma göstermediği için yoğun bir tübüler reabsorbsiyon gösterir ve kotininin renal klerensi aşırı üriner asidifikasyon ile % 50'ye kadar çıkabilir. Nikotinle karşılaştırılacak olursa, kotinin atılımı idrar pH düzeyinden daha az etkilenmektedir bunun nedeni daha az bazik olması ve fizyolojik pH aralıklarında noniyonize olmasıdır.

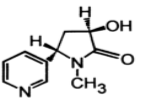
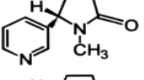
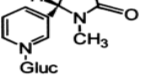
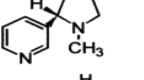
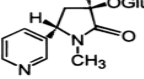
Çizelge 2.12. İntravenöz uygulamadan sonra nikotin ve önemli metabolitlerinin farmakokinetik parametreleri

Madde	Klerens	Renal Klerens (ml/dk)	Nonrenal klerens	Dağılım hacmi (L/kg)	$t_{1/2}^a$ (dk)	Kaynaklar
Nikotin	1110-1500	35-90	1050-1460	2,2-3,3	100-150	Benowitz ve diğerleri, 1999, 2002a
Kotinin	45-55	3-9	36-52	0,69-0,93	770-1130	Benowitz ve diğerleri, 1999, 2002a
Trans-3'-OH-kot	82	50	32	0,66	396	Benowitz ve Jacob, 2001

Benowitz ve diğerleri, 2009. (S)-Nikotin, (S)-Kotinin ve (3'R,5'S) Trans-3'-hidroksikotinin, $t_{1/2}^a$ (dk): Eliminasyon yarılanma zamanı

Hemodiyalizdeki sigara kullanmış son dönem böbrek hastalarında serum nikotin seviyesinin belirgin derecede yükseldiği tespit edilmiştir (Perry, Griffiths, Dextraze, Solomon, Trebbin, 1984). Bu durum sadece renal klerensin azalması ile değil aynı zamanda böbrek hastalığında nikotinin düşük metabolik klerensi ile de açıklanır. Bu sonucun üremik toksinlerin karaciğer enzimleri olan CYP2A6'nın ekspresyonunu arttırması ya da azlatması ile de meydana gelebileceği tartışılmaktadır (Hukkanen, Jacob, Benowitz, 2005). İdrardaki önemli nikotin metabolitleri kotinin, kotinin glukuronid, trans-3'-hidroksikotinin (Çizelge 2.13) olup yarılanma süresi en uzun olan nikotin metaboliti kotinindir (Scherer ve diğerleri, 1987; Benowitz, 1996).

Çizelge 2.13. İdrardaki önemli nikotin metabolitleri

İsim	Formül	İdrarla atılan sistemik nikotin dozu	Yarılama süresi
Trans-3'-Hidroksikotinin		%33.6	5.9 sa.
Kotinin		%13.0	17.1 sa.
Kotinin glukuronid		%12.6	
Nikotin		%9.8	0.37/2.9 sa.
Trans-3'-Hidroksikotinin glukuronid		%7.4	

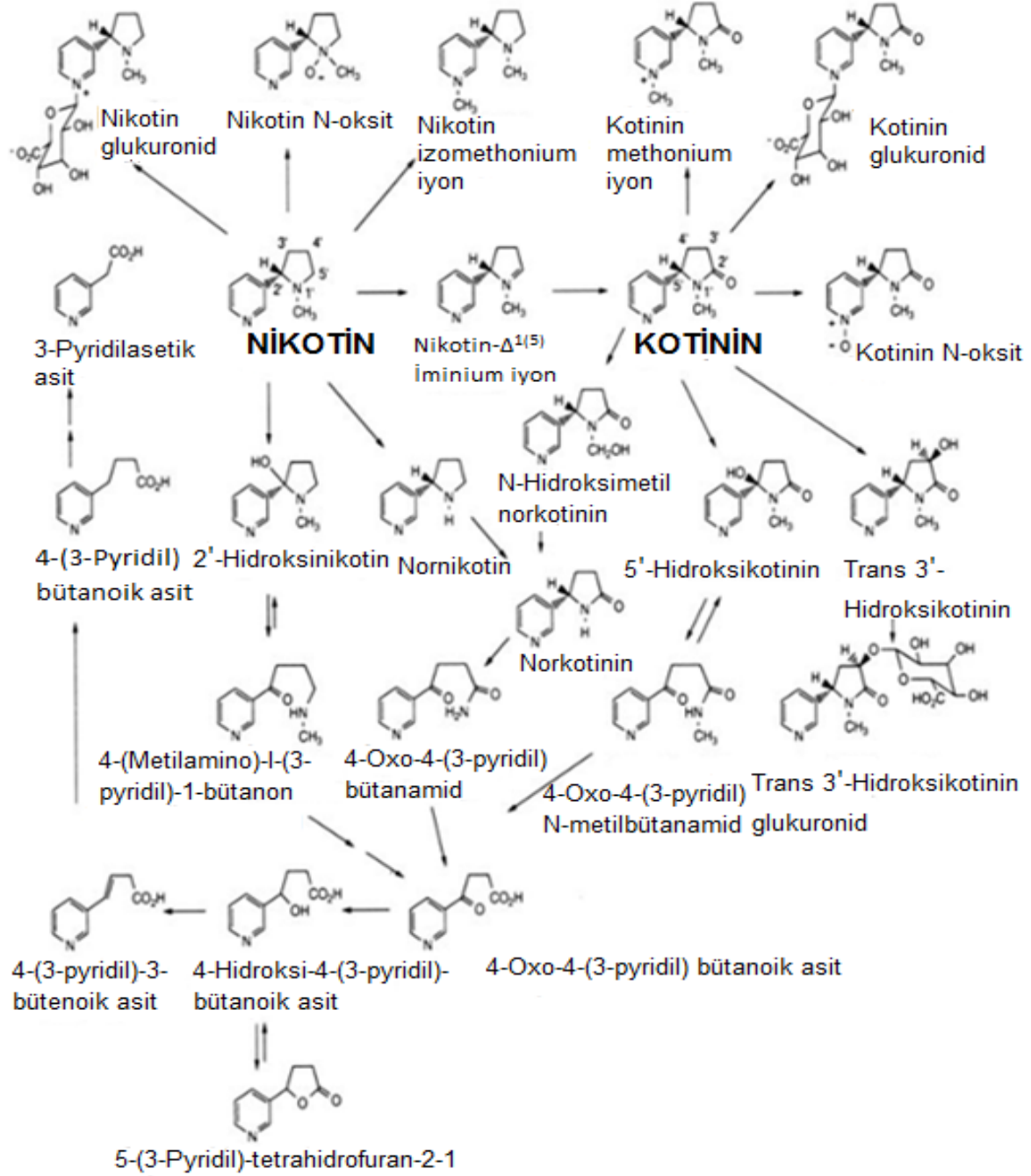
2.8.3. Metabolizma

Nikotin, karaciğer tarafından bir dizi metabolite dönüşmektedir. Nikotinin altı tane primer metaboliti tespit (Şekil 2.7) edilmiştir (Hukkanen ve diğerleri, 2005). Kantitatif olarak çoğu memeli türlerinde nikotinin en önemli metaboliti laktam türevi kotinindir (Benowitz ve Jacob, 1994). İnsanlarda nikotinin kotinine dönüşümü iki basamakta gerçekleşmektedir. İlki CYP 450 enzim sistemiyle, diğeri ise sitoplazmik aldehit oksidazlar tarafından gerçekleşmektedir. Nikotin CYP 450 enzim sistemiyle nikotin iminium iyon ve nikotin iminium iyon da aldehit oksidazlarla kotinine dönüşmektedir. Nikotin iminium iyon alkileyci bir ajan olduğu için nikotin farmakolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Jacob, Ulgen, Gorrod, 1997).

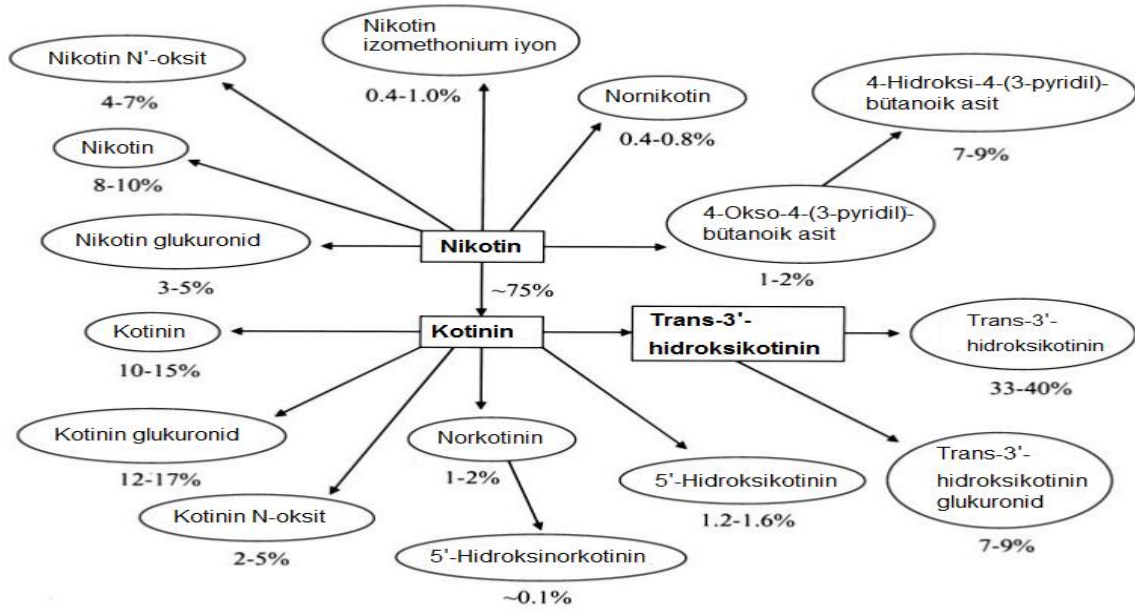
İnsanlarda nikotin metabolizmasının nicel olarak ayrımı hakkında yeterince bilgi vardır. Nikotinin sistemik dozunun % 90'ı idrarda nikotin ve metabolitleri şeklinde tespit edilmiştir (Benowitz, Jacob, Fong, Gupta, 1994). Nikotin ve kotinin üzerine yapılan çalışmalar nikotinin % 70 ile % 80'inin kotinine dönüştüğünü göstermektedir (Benowitz ve Jacob, 1994).

Nikotinin % 4 ile % 7'si nikotin N'-oksit ve % 3-5'i nikotin glukuronid şeklinde atılır. Nikotin metabolizmasının kantitatif olarak dağılımı Şekil 2.8'de özetlenmiştir (Byrd, Chang, Greene, 1992; Benowitz ve diğerleri, 1994). Kotininin ise çok küçük bir miktarı yaklaşık olarak idrarda nikotin ve metabolitlerinin % 10-15'i idrarla değişmeden atılır. %

33–40'ı trans-3'-hidroksikotinine, % 12–17'si kotinin glukuronide ve % 7-9'u da trans-3'-hidroksikotin glukuronid metaboliti şeklinde idrarla atılır (Hukkanen ve diğerleri, 2005).

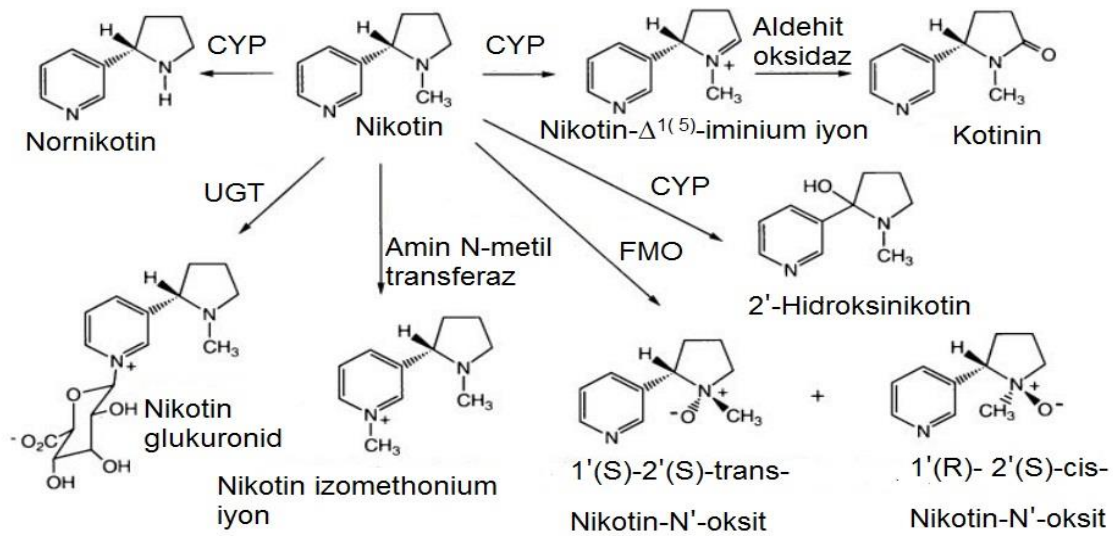


Şekil 2.7. Nikotin metabolizması



Şekil 2.8. Nikotin metabolizmasının kantitatif olarak dağılımı

Nikotin öncelikli olarak karaciğer enzimleri CYP2A6, UDP Glukuronosiltransferaz (UGT), Flavin içeren monooksijenazlar (FMO) tarafından metabolize edilmektedir (Şekil 2.9). Nikotin metabolizmasını genetik faktörlerin yanı sıra diyet, beslenme, yaş, cinsiyet, östrojen içeren hormonların kullanımı, gebelik, böbrek hastalıkları, kullanılan bazı ilaçlar etkilemektedir. Nikotin metabolizmasında çevresel faktörler ve genetik faktörlerin etkilemesi nedeniyle ırksal ve etnik farklılıklar, gözlemlenmektedir. Alınan nikotinin en yaygın olarak kullanılan biyogöstergesi kanda, idrarda, tükürükte, saçta veya tırnakta ölçümü yapılabilen kotinindir (Hammond, 2004: 3, 28).



Şekil 2.9. Nikotin metabolizmasında öncelikli yollar

İnsanlarda nikotin % 70-80'i kotinin yolağı ile metabolize olur, sigara içicileri tarafından absorbe edilen nikotin sadece % 10-15'i kotinine değişmeden idrarla atılır (Benowitz ve diğerleri, 1994). Kotinin metabolitleri yapısal olarak Şekil 2.7'de karakterize edilmiştir. İnsanlarda 6 temel kotinin metaboliti tespit edilmiştir. Bunlar; 3'-hidroksikotinin, 5'-hidroksikotinin (allohidroksikotinin), tautomerik denge halindeki açık zincirli türevi olan 4-okso-4-(3-piridil)-N-metilbütanomid, kotinin N-oksit, kotinin methonium iyon, kotinin glukuronid ve norkotinin (dimetilkotinin) dir. 3'-hidroksikotinin ve onun glukuronid konjugatı idrardaki nikotin dozunun % 40 ile % 60'ını oluşturmaktadır (Byrd ve diğerleri, 1992; Benowitz ve diğerleri, 1994).

İnsanlarda kotininin 3'-hidroksikotinine çevrimi trans izomer için yüksek seçicilik gösterir. İdrarda cis-3'-hidroksikotinin % 5'den daha az miktarda tespit edilmiştir. İdrarda nikotin ve kotinin konjugatları N-glukuronid şeklinde olmalarına rağmen yalnızca 3'-hidroksikotinin konjugatı O-glukuronid şeklindedir. İnsan CYP 2A6 enzimleriyle yapılan çalışmalarda kotininin norkotinine ve 5'-hidroksikotinine CYP2A6 enzimiyle katalizlenerek çevrildiği gösterilmiştir. Sigara içen insanların idrarında 5'-hidroksikotinin % 4'den az miktarda bulunmuştur. İnsanlarda nikotin yaklaşık % 3 ile % 5'i nikotin glukuronid şekline dönüşerek idrarla atılır (Hukkanen ve diğerleri, 2005).

2.9. Nikotin Maruziyeti Biyogöstergeleri

2.9.1. Nikotin maruziyetinde biyogösterge olarak kotinin

Nikotin, kotinin ve diğer tütün alkaloidleri tütüne maruziyette kullanılan biyogöstergelerdir. Kotinin, nikotin maruziyetinin biyolojik sıvılardaki önemli bir biyogöstergesidir. Vücut sıvıları dışında saçta, tırnakta nikotin ve kotinine rastlanılabilir. Plazmada, tükürükte, idrarda kotinin konsantrasyonu ölçülebilir ve bu ölçüm nikotin maruziyeti göstergesi olarak kullanılabilir. Kan, idrar ve tükürük gibi vücut sıvılarında kotinin düzeyi tayinininden, sigara kullanan ya da sigara dumanına pasif olarak maruz kalan kişilerde sigaraya olan maruziyetin bir belirteci olarak biyoizleme çalışmalarında yararlanılmaktadır. Bu nedenle kotinin, nikotin maruziyetinin hassas ve spesifik bir biyogöstergesidir. Nikotin kendisi de maruziyetin bir göstergesi olarak belirlenebilir. Fakat nikotin yarı ömrünün çok kısa olması nikotinden ziyade çok daha uzun ömre sahip olan kotininin bir biyogösterge olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Kyerematen,

Damiano, Dvorchik, Vesell, 1982). Hergün 24 mg nikotin alan bir insanda kandaki kotinin konsantrasyonu yaklaşık olarak 30 ng/ml dir. Nikotinin vücutta yarılanma süresi 1-2 sa. iken kotinin yarılanma süresi 16-18 sa. dir. Nikotin alımının bir göstergesi olarak her ne kadar kotinin miktarı kullanılsa da nikotin metabolizması bireylerde de farklılık gösterebileceğinden kusursuz bir biyogösterge olarak görülmemektedir. Çünkü kotinin metabolizması ırk, cinsiyet, yaş, CYP 2A6 karaciğer enziminde genetik varyasyon, gebelik, karaciğer ya da böbrek rahatsızlığı gibi faktörlerden etkilenebilmektedir. Bir diğer kısıtlayıcı etki ise kotininin yarılanma zamanının yaklaşık olarak 16 sa. olması ve tütüne olan kısa dönem (son 3-4 gün içindeki) maruziyeti yansıtmasıdır (Hammond, 2004: 3, 28).

2.10. Biyogöstergeler

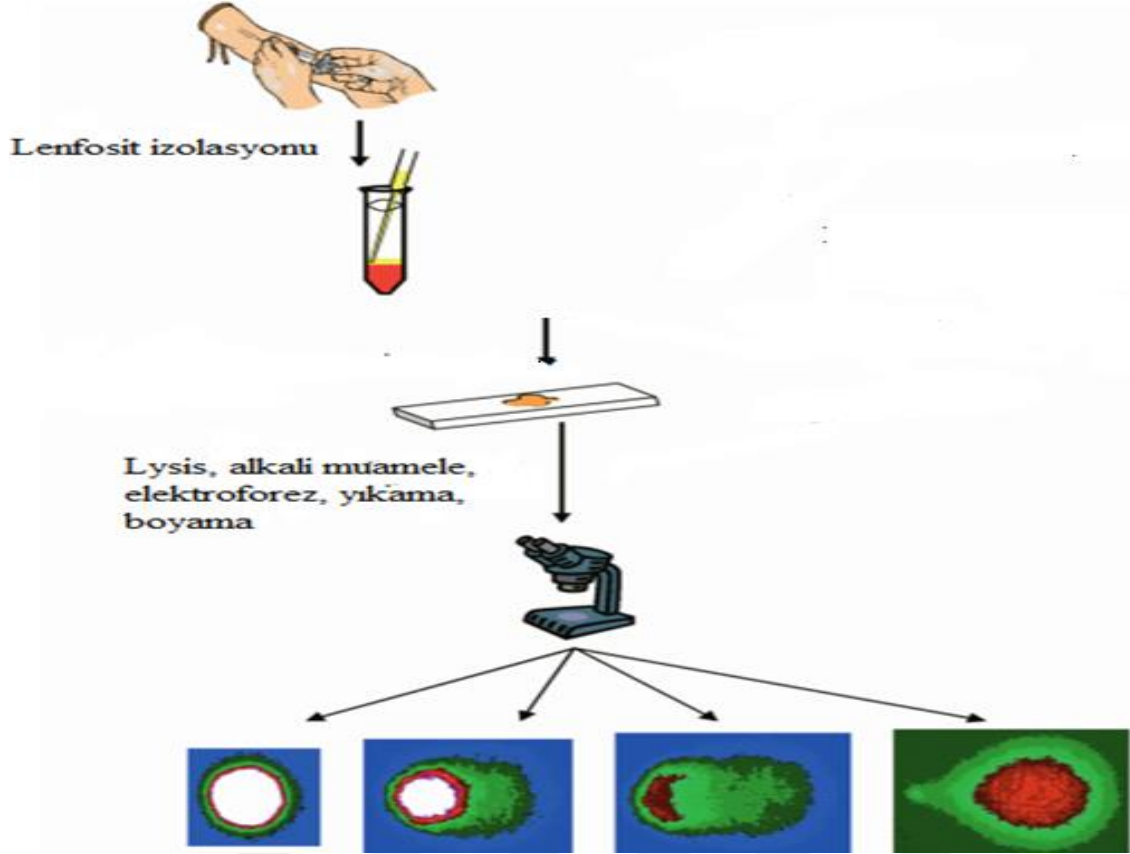
Biyogöstergeler çevresel ajanların ya da diğer maruz kalınan kimyasalların neden olduğu hastalıkların risk değerlendirmesinde kullanılan önemli araçlardır. Biyogöstergeler, hastalık gelişiminin erken döneminde belirlenmesi ya da bireysel duyarlılığın değerlendirilmesi için kullanılabilen, ölçülebilir değişkenlerdir. Günümüzde insan sağlığının değerlendirilmesinde karmaşık etkilerinin bir bütün olarak incelenmesini ve risklerin erken dönemde belirlenmesini sağlayabilen ve bireysel duyarlılığının da değerlendirilebildiği biyogöstergeler ile yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Biyogöstergeler maruziyetin, erken biyolojik etkinin ve duyarlılığın miktarını kantitatif olarak ölçerler (Moller, 2006). Komet yöntemi, mikroçekirdek yöntemi ve kromozomal aberasyon yöntemleri biyogöstergelerin değerlendirilmesinde yaygın olarak yararlanılan genotoksisite testleridir. Genotoksisite testleri; toksik maddeyi kullanan kişilerdeki genetik etkileri ve güvenirliliğini araştırmada, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarının tespitinde, genetik hasar ile hastalıklar arasındaki ilişkinin belirlenmesinde, kanserden korunmada, kansere duyarlılığın tayininde ve takibinin yapılmasında biyoizleme testleri olarak kullanılmaktadır. Bu biyoizleme çalışmalarında yaralanılan mikroçekirdek yöntemi; etkinin biyogöstergesi (Moller, 2006; Fenech, 1999) ve komet yöntemi erken dönem biyolojik etkinin göstergesi (Anderson ve diğerleri, 2013) olması bakımından önem arz etmektedir. Komet yöntemi biyolojik efektif doz hakkında bilgi sağlayan önemli bir biyogöstergedir. Periferik kanda incelenen kromozomal aberasyon ve mikroçekirdek sıklığı gibi erken dönem biyolojik etkinin biyogöstergeleri karsinogenez aşamalarının tahmininde önemli yer tutmaktadır (Moller, 2006).

2.10.1. Komet yöntemi

Tek hücreli jel elektroforezi veya sıklıkla tercih edilen diğer adıyla “Komet yöntemi” hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak ve miktarını belirlemek için uygulanan non-invaziv, hızlı ve hassas bir floresan mikroskopik yöntemdir. Komet yöntemi birçok memeli hücrelerinde çeşitli ajanların indüklediği DNA hasarı ve onarım bozukluğunun tayinini amaçlayan in vivo ve in vitro çalışmalarda kullanılmaktadır. Hücrelerde DNA kırıklarının ölçülebilmesi için komet yöntemi hassas ve iyi valide edilmiş bir yöntemdir. DNA kırıklarının tayini prensibine dayanan komet yöntemi, düşük hasar seviyelerine duyarlı olması nedeniyle pek çok DNA hasarının ve onarımın tayininde mesleki, yaşamsal ve çevresel maruziyetlerin biyoizleme çalışmalarında ve genetik toksikolojide kullanım alanı bulmuştur (Wong, Szeto, Collins, Benzie, 2005).

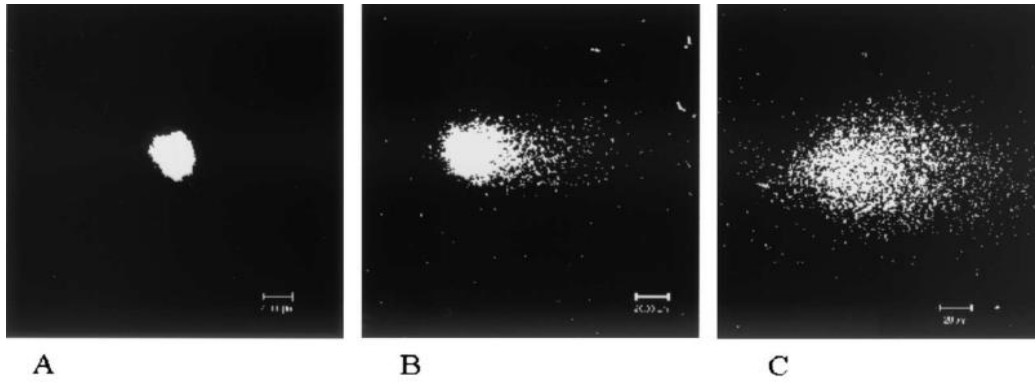
Komet yöntemi erken dönem biyolojik etkinin biyogöstergesi olması bakımından önemli bir genotoksisite testidir (Resim 2.3) (Faccioni, Franceschetti, Cerpelloni, Fracasso, 2003; Moller, 2006). Literatürde komet tekniği yardımıyla gerçekleştirilmiş olan sigara içen bireylerde ve çocuklarında DNA hasarını belirlemeye yönelik çalışmalar mevcuttur (Betti, Davini, Giannessi, Loprieno, Barale, 1995; Binkova, 1996). Sigara kullanımı birçok kanserojene maruziyete neden olması yüzünden elektrofilik özelliğe sahip maddeler metabolik aktivasyon sonucunda DNA katım ürünü oluşturarak ya da hücre proteinlerle katım ürünü oluşturarak karsinojenik etkiye neden olmaktadır. Ayrıca sigara kullanımı oksidatif DNA hasarını da indüklemektedir (Philips, 2002).

Japonyada 53 erkek üzerine yapılan çalışmada DNA da meydana gelen zincir kırıklarının günlük olarak maruz kalınan sigara miktarıyla ilişkili olduğu alkali komet tekniği ile gösterilmiştir. Günlük olarak maruz kalınan tar nedeniyle ve nikotin miktarı ile DNA üzerinde meydana gelen genotoksik etki yüksek korelasyon gösterebilmektedir (Lu ve Morimoto, 2008).



Resim 2.3. Komet tekniği uygulaması özeti

Tek hücre jel elektroforezi diğer bir deyişle komet tekniği insan biyoizleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan genotoksisite testlerinden biridir. Bunun nedeni uygulama kolaylığı ve çeşitli türlerdeki DNA hasarını gösterebilmesidir. Resim 2.4’de komet tekniğinde “Komet Görüntü İşleme ve Analiz Programı Sistemi” değerlendirmesinin fotografik sunumu verilmiştir (Hofmann ve diğerleri, 2005).

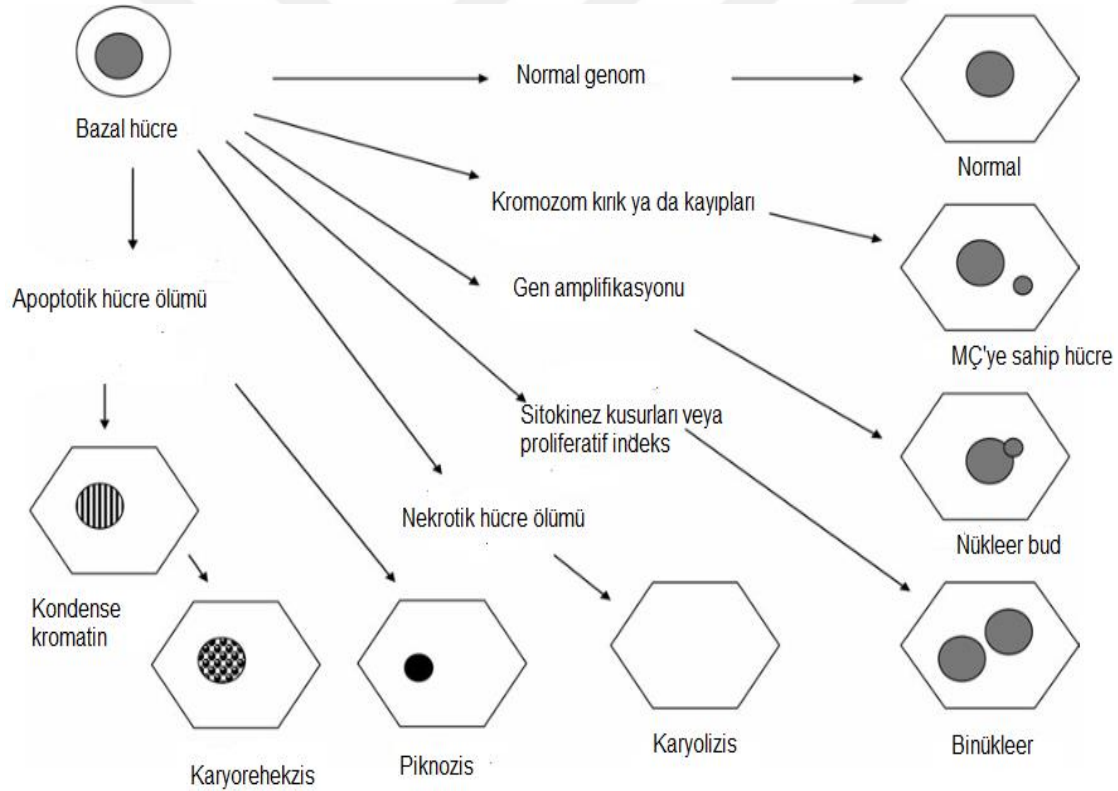


Resim 2.4. Komet tekniğinde değerlendirmenin fotografik sunumu

(Komet tekniğinde hücre görüntüsü (x400) A, Hücrede DNA hasarı yok; B, Hasar görmüş hücre; C, Apoptotik hücre)

2.10.2. Mikroçekirdek yöntemi

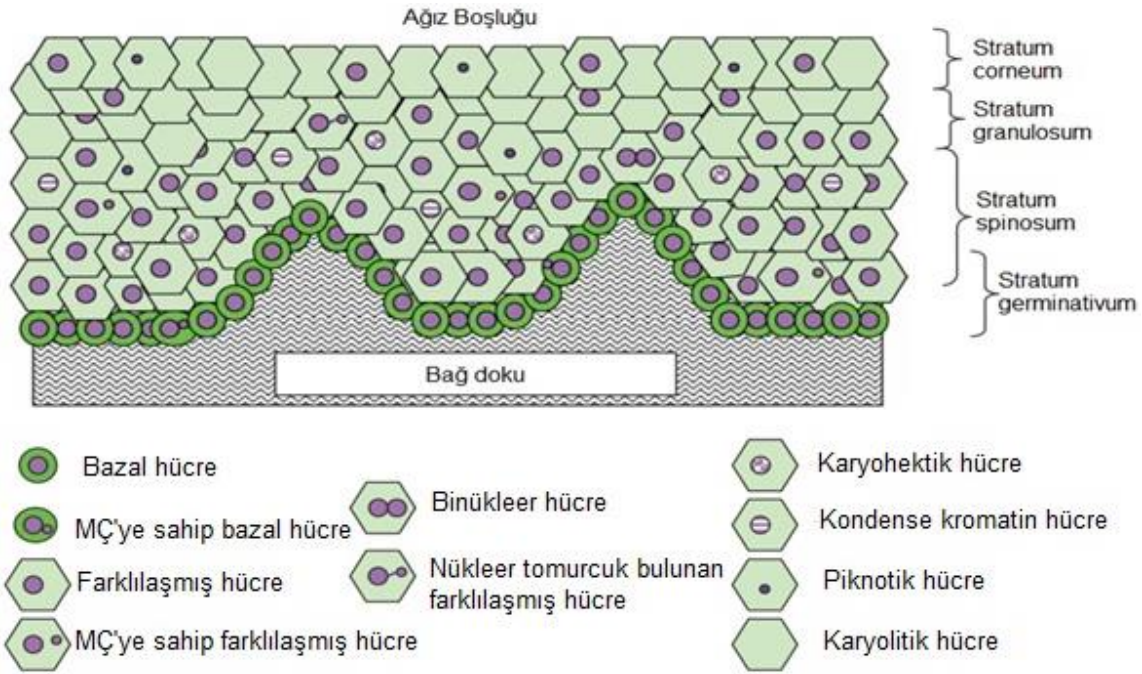
Mikroçekirdek yöntemi, bölünebilme özelliği olan hücrelerde anafazda geride kalan asentrik koromozom/kromatid parçacıkları ya da tam kromozom/kromatidlerinden oluşan parçaların değerlendirildiği bir yöntemdir. Mikroçekirdekler; küçük, çekirdek yapısında parçacıklardır. Bunlar, telofaz safhasında yavru çekirdeklerde yer almayarak kendilerini gösterirler. Sitokinezin durdurulduğu hücrelerde MÇ sıklığı ile kanser gelişimi arasında ilişki kuran çok sayıda çalışma vardır. Bu sebeple mikroçekirdek yöntemi kanseri öngören bir deney olması sebebiyle önemlidir (Thomas ve diğerleri, 2009). Şekil 2.10'da bazal hücrenin farklılaşmasıyla meydana gelen hücre tipleri gösterilmektedir (Holland ve diğerleri, 2008).



Şekil 2.10. Ağız içi hücre tiplerinin orijinleri ve muhtemel oluşum mekanizması diyagramı

Mikroçekirdek testi hem klastojenik hem de anojenik etkili kimyasalların teşhisine olanak veren önemli genotoksik biyogöstergedir. Periferik kan hücrelerinden sonra mikroçekirdek yönteminin eksfoliyat epitel hücrelerine adapte edilerek uygulanmasıyla genotoksik maddelere maruz kalan topluluklarda genetik hasarın izlenmesinde yararlı bir gösterge olarak giderek artan biçimde kullanılmaktadır. Yanak epitel hücre MÇ yöntemi ilk temas

yerinde genotoksik etkilerin biyoizlenimi sebebiyle önem teşkil etmektedir. Yanak epitel hücre mikroçekirdek yöntemi ilk defa 1983’de öne sürülmüş ve çeşitli uygulamalar ile genetik hasarın biyogöstergesi olarak yaygınlık kazanmıştır. Bugün pek çok ülkede kırkdan fazla laboratuvarında kullanılmakta ve yıldan yıla düzenli olarak artan sayıda bir çok makalede yayımlanmaktadır. Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek oluşumunda sigara içmenin rolü pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (Rosin, 1992; Holland ve diğerleri, 2008). Şekil 2.11’de normal yanak epitel mukoza kesitinin diyagramatik gösterimi verilmiştir. Sağlıklı bireylerde farklı hücre tabakalarında çeşitli hücre türleri gösterilmektedir (Thomas ve diğerleri, 2009).



Şekil 2.11. Normal yanak mukoza kesitinin diyagramatik gösterimi

Yanak epitel hücre mikroçekirdek yönteminde hücrelerin tanımlanma kriterleri

Bazal hücre: Farklılaşmış, yanak epitel hücresinden daha büyük çekirdek/sitoplazma oranına sahiptir. Farklılaşmış hücreyle karşılaştırıldığında sitoplazma daha koyu yeşil renkte boyanmaktadır.

Normal farklılaşmış hücre: Bazal hücreden daha büyük boyutta olması ve küçük çekirdek/sitoplazma oranıyla ayrılır.

MÇ'ye sahip hücre: Ana çekirdek ve ana çekirdekten daha küçük boyutta mikroçekirdek olarak adlandırılan yapıya sahiptir. Mikroçekirdeğin büyüklüğü ana çekirdeğin 1/3 ile 1/16'sı kadar olabilmektedir. MÇ, ana çekirdekle aynı renk yoğunluğunda boyanmaktadır. Hücrede bir ya da birden fazla MÇ bulunabilmektedir.

Nükleer tomurcuk bulunan hücre: Ana çekirdeğin yanında tomurcuklanma şeklinde görülen nükleer materyal nükleer bud (nükleer tomurcuk) olarak adlandırılmaktadır. Nükleer tomurcuk ve çekirdek birbirine çok yakın ve birbirlerine bağlı gibi görünmektedir. Nükleer tomurcuk, çekirdek ile aynı morfoloji ve boyama özelliklerine sahiptir. Fakat çapı ana çekirdeğin yarısı ya da dörtte biri aralığında değişmektedir.

Binükleer hücre: İki ana çekirdek içeren hücrelerdir. Çekirdekler birbirine çok yakın ya da birbirine değecek şekilde görülmektedir. Bu hücre tipinin bazal hücre tabakasındaki hücrelerin bölünmesi sırasında başarısız bir sitokinez geçirerek oluştuğu düşünülmektedir.

Kondense kromatine sahip yanak epitel hücre: Agrege olmuş kromatinin yoğun şekilde boyandığı ve nükleer şeklin kabaca çizgili şekilde görüldüğü hücrelerdir.

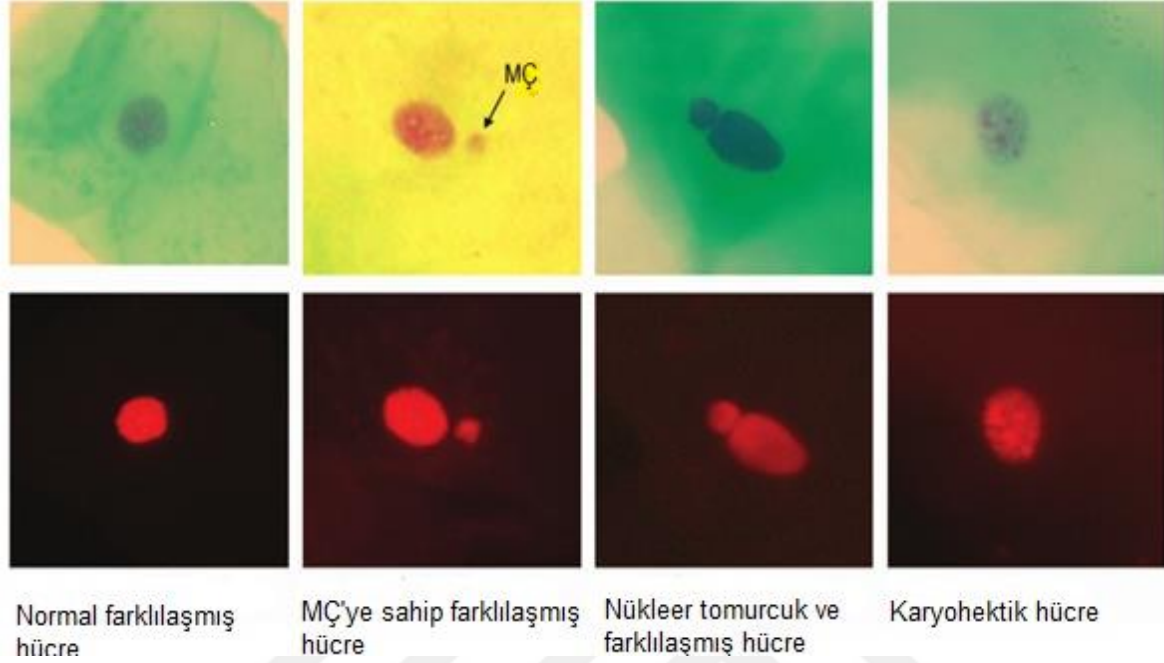
Karyohektik hücre: Kondense kromatine sahip hücreye göre çekirdeğinde daha yoğun kromatin agregasyonuna sahip olan hücredir. Bu tip hücreler apoptozisin son dönemini geçiriyor olabilmektedir.

Piknotik hücreler: Bu tip hücreler küçük ve büzülmüş çekirdek ile karakterize edilirler. Homojen ve yoğun boyanmış, yüksek yoğunlukta nükleer materyal içermektedirler.

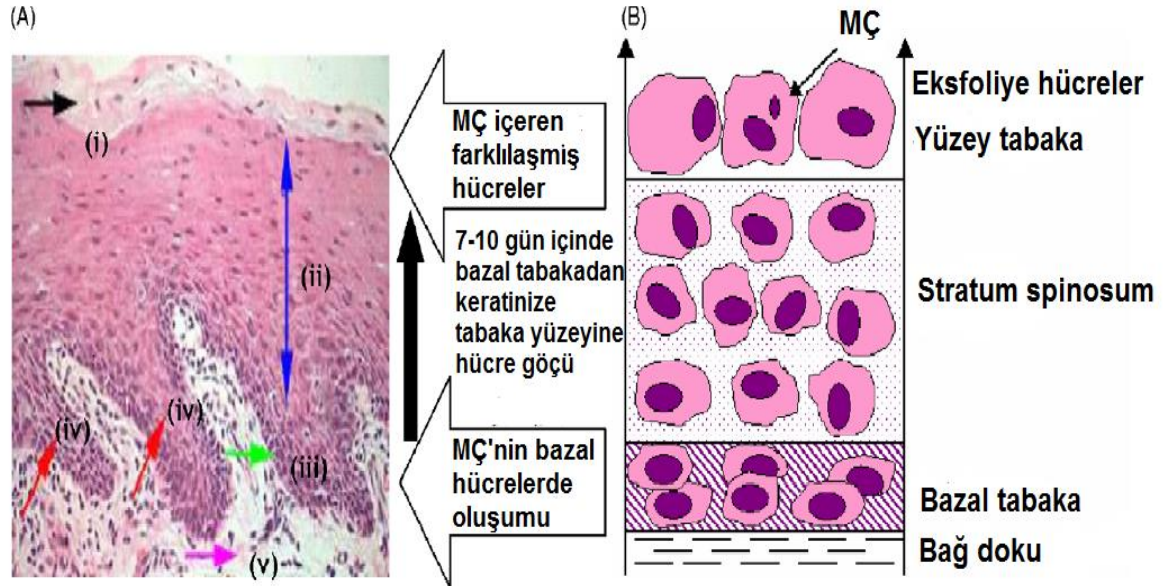
Karyolitik hücreler: Çekirdeğin tamamen tükendiği hücrelerdir. Feulgen boyamasında çekirdeğe rastlanmaz. Çekirdeğe sahip olmaması sebebiyle bu hücreler hücre ölüm sürecinin en geç aşamasını temsil etmektedirler.

MÇ yöntemiyle değerlendirme yapılırken; 1000 hücrede bazal, farklılaşmış, kondense kromatin, karyohektik, karyolitik, nükleer tomurcuk ve 1000 hücrede MÇ ve MÇ'li hücre sayısı olmak üzere en az 2000 hücre sayılmaktadır (Thomas ve diğerleri, 2009). Resim 2.5'de feulgen ile boyama yapılmış hücrelerin floresans mikroskop ve ışık mikroskobu altındaki görüntüleri sunulmuştur (Thomas, Hecker, Faunt, Fenech, 2007). Resim 2.6'da

ise ağız içi epitelinin yapısı, farklılaşması ve MÇ'ye sahip hücreler ile anomalili hücrelerin oluşum şekli verilmiştir (Holland ve diğerleri, 2008).



Resim 2.5. Feulgen ile boyama yapılmış hücrelerin mikroskop altındaki görüntüleri

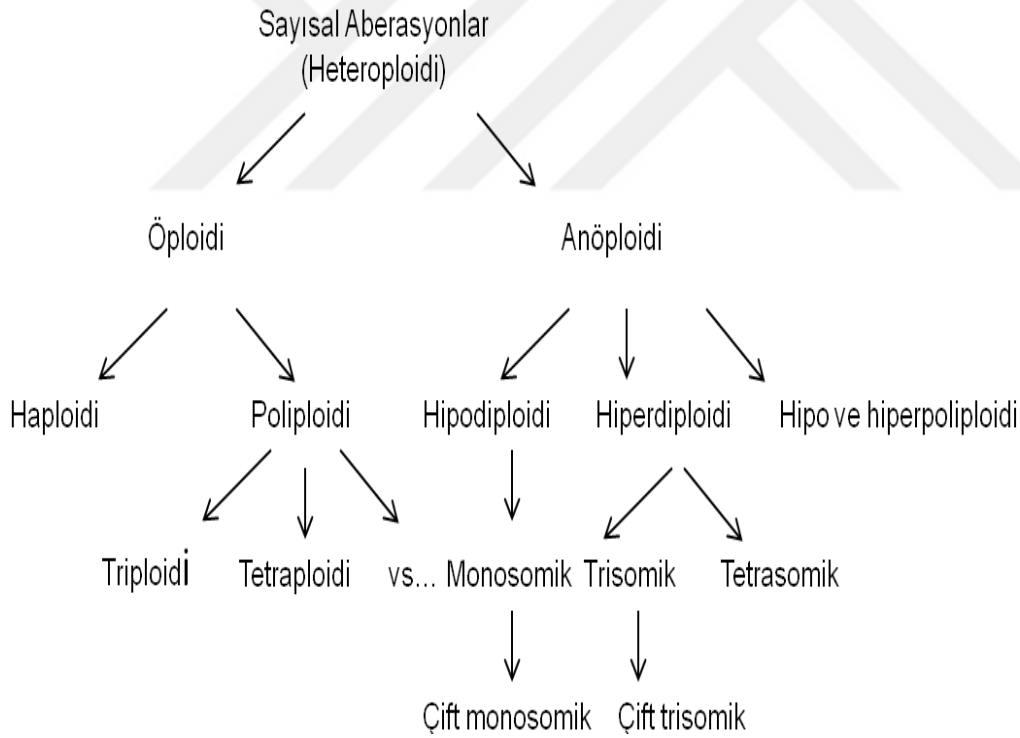


Resim 2.6. Ağız içi epitelinin yapısı ve farklılaşması

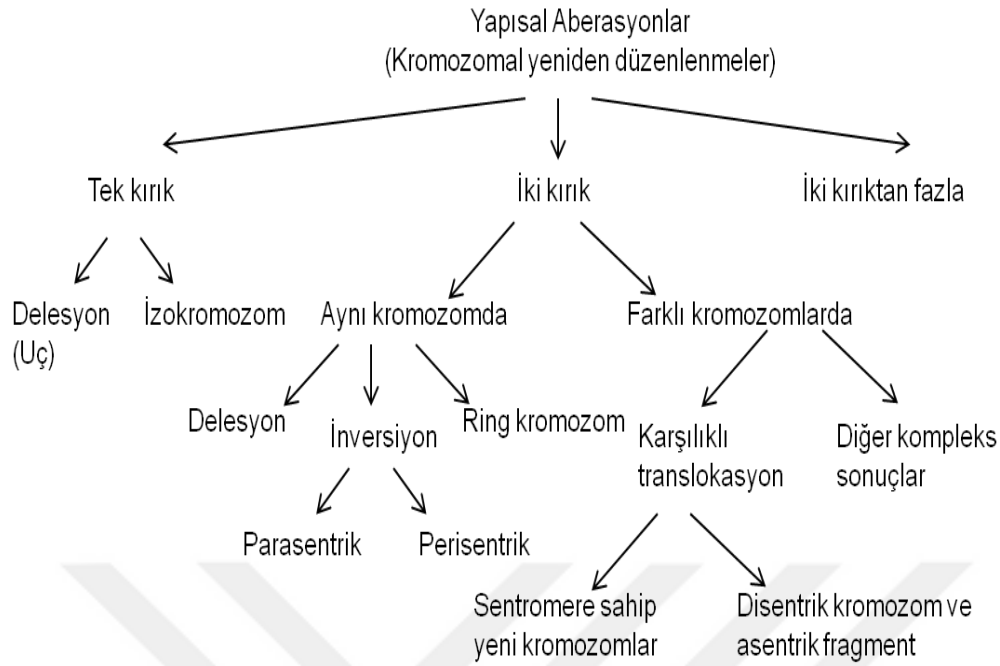
i:Keratinize tabaka, ii: stratum spinosum, iii: bazal tabaka, iv: rete pegs (bağ dokunun epitel oku üzerine yaptığı parmaklı uzantılar), v: lamina propria (bağ doku)

2.10.3. Kromozomal aberasyon tekniği

Kromozomal aberasyonlar (KA), genotoksisite çalışmalarının validasyonu için geliştirilmiş yöntemlerden birisi olup, veriler kromozomal aberasyonun sadece etkinin biyogöstergesi değil aynı zamanda kanser riskinin de biyogöstergeleri olduğunu göstermektedir. Teknik tüm genomdaki hasarın izlenmesine imkan tanınması ve maruziyetin değerlendirilmesinde büyük ölçüde uluslararası geçerli standartlara erişmiş olması bakımından önemlidir. Kromozomal aberasyon tekniğinden, kromazomlardaki yapısal anomalilerin, iyonizan radyasyona maruziyetin ölçülmesinde ve kimyasalların klastojenik aktivitesinin değerlendirilmesinde yararlanılmaktadır (Tucker ve Preston, 1996). Kromozomal aberasyonlar; yapısal ve sayısal aberasyonlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2.12, Şekil 2.13). Sayısal aberasyonlar kromozom sayısında değişikli meydana getirirken yapısal aberasyonlar ise kromozomal yeniden düzenlemeleri kapsamaktadır (Fecheimer, 1968).



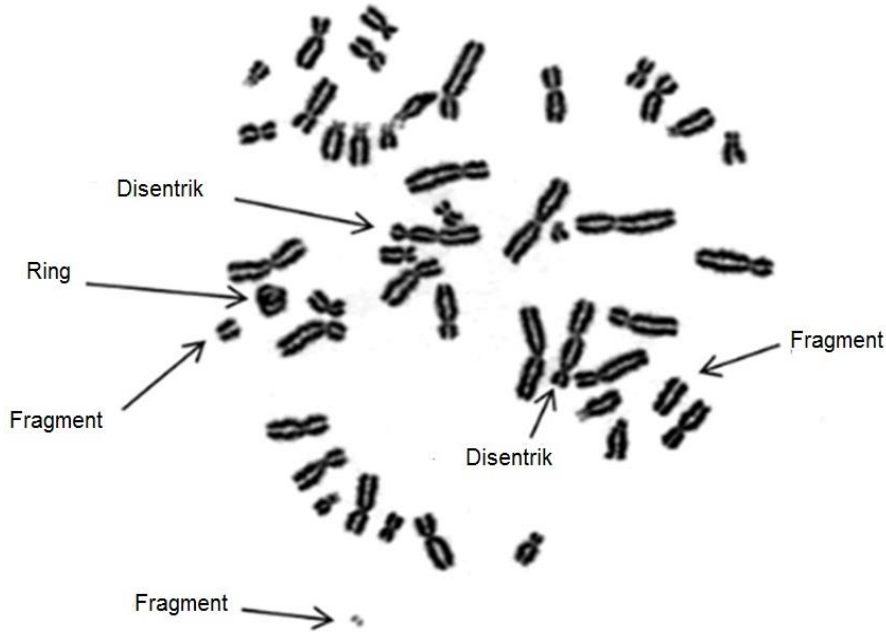
Şekil 2.12. Kromozomal aberasyonların sınıflandırılması, sayısal aberasyonlar



Şekil 2.13. Kromozomal aberasyonların sınıflandırılması, yapısal aberasyonlar

Kültüre alınmış periferik kan lenfositlerinde kromozomal aberasyon sıklığının belirlenmesi mesleki ya da çevresel olarak bilinen veya şüphelenilen genotoksik maddelere maruziyeti ya da maruziyetin biyolojik etkilerini değerlendirmede en fazla kullanılan yöntem olup, genetik hasarın boyutunu saptar. Bu nedenle de metafaz evresinde yapılır. En sık rastlanan kromozomal aberasyonlar; kromatid açıklığı (gap), kromatid kırığı (break), asentrik ve disentrik fragment, halka kromozom (ring), kromatid değişimi, inversiyonlar ve translokasyon (Resim 2.7) şeklinde belirtilebilir (Sivikova ve diğerleri, 1999).

Sigara içimine bağlı olarak maruz kalınan çeşitli kimyasalların neden olduğu kromozomal hasarların değerlendirildiği çok sayıda yayın literatürde yer almaktadır (Rossner ve diğerleri, 2005; Norpha ve diğerleri, 2006). Sigara içimi ve kromozomal aberasyon sıklığı arasında İskandinav ülkelerinde yapılan çalışmalar karsinogene maruz kalan grupta kromozomal aberasyon sıklığının arttığı yönündedir (Hagmar ve diğerleri, 1998; Bonassi ve diğerleri, 2000). KA sıklığı, karsinogenlere maruziyet ile meydana gelebilecek kanser riskinin tahmin edilebilmesini etkilemektedir. KA sıklığı ve kanserinin öngörülmesi üç ana periyoda bağlıdır. Bunlardan ilki erken yaşlarda maruziyet sonucu kalıcı kromozom hasarlarının ya da genomda istikrarsızlıkların meydana gelmesi ve bunun sonucu olarak kanser insidansının artmasıdır. Diğer bir neden ise son birkaç yılda maruziyet sonucu hedef organlarda KA sıklığının artması ve kanser riskinde artış meydana gelmesidir.



Resim 2.7. Bazı kromozomal aberasyonlar

Vaka kontrol çalışmalarının sonuçları KA'nın sadece maruziyetin biyogöstergesi olmadığını aynı zamanda kanser riskinin de biyogöstergesi olduğunu göstermektedir (Bonassi ve diğerleri, 2000). Epidemiyolojik çalışmalar sigaranın akciğer kanserine neden olabildiğini göstermektedir. Laboratuvar çalışmaları sigara kullanımının tümör üretimini ve malignant transformasyonu arttırdığı için teşvik edici özelliği ve ko-karsinojenik etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Tümörün teşvik edilmesinde klastojenik aktivitelerin önemi sigara içen kişilerde kardeş kromatid değişimi ve kromozomal aberasyon deneyleriyle gösterilmiştir. Sigara içiminin DNA'da tek zincir kırıklarına neden olabileceği in vitro olarak kültürü yapılmış insan hücrelerinde gösterilmiştir (Nakayama, Kaneko, Kodama, Nagata, 1985).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma dört farklı çalışma grubundan elde edilen verler yardımıyla yürütülmüştür. Bu çalışma grupları: e-sigara içen bireyler (n=32), sigara içen bireyler (n=33), sigaraya pasif olarak maruz kalanlar (n=32) ve kontrol grubu (n=33) bireylerinden oluşmaktadır. Dolayısıyla çalışma toplam 130 gönüllü bireyden oluşmaktadır. Çalışmada yer alan her bireyden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu doldurulup imzaları alındıktan sonra hemşire kontrolünde heparinli tüple 2 ml kan örneği alınmıştır. Kan örneklerinde DNA hasarının belirlenmesi amacıyla *komet yöntemi*, kromozomal hasarın belirlenmesi amacıyla da *kromozomal aberasyon yöntemi* uygulanmıştır. Çalışmada yer alan her bireyin yanak epitel hücre örnekleri (sağ ve sol yanak) tahta spatül yardımıyla alınıp, diğer bir genotoksisite yöntemi olan *mikroçekirdek yöntemi* ile genotoksik etkileri değerlendirilmeye çalışılmıştır. Çalışmaya katılan her gönüllüden kan ve yanak epitel hücre örneklerinin yanı sıra spot idrar örnekleri (~50 ml) alınmıştır. İdrar örneklerinden *kotinin* düzeyleri GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) kullanılarak ölçülmüştür.

E-sigara kullanan gönüllülere kişisel girişimlerle, e-sigara kullanıcılarına yönelik olarak sosyal medyada yer alan gruplarla iletişime geçilerek ya da gruplar oluşturularak birebir iletişime geçilerek ulaşılmıştır. Sigara içen bireylerin büyük bir kısmı Numune Eğitim Araştırma Hastanesine bağlı Sigara Bırakma Kliniğine gelen bireylerden sağlanmış olup, sigaraya pasif maruz kalan bireylere bireysel iletişim sonucu ulaşılmıştır. Çalışmada Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (22.08.2013 tarihli ve 2013/257 karar numaralı) izniyle (EK-3) örnekler alınmıştır.

Araştırmaya katılan tüm gönüllülere (e-sigara kullanan, sigara kullanan, pasif maruz kalan, kontrol grubu) kan, idrar ve yanak epitel hücre örnekleri alınmadan önce ayrı ayrı hazırlanmış anketler uygulanmıştır (EK-4). Tez çalışmasında uygulanan anket sorularına göre çalışmaya katılan e-sigara kullanan gönüllülere beyana dayalı olarak e-likitte kullandıkları nikotin miktarı sorulmuştur. E-sigara kullanan bireyler kullandıkları e-likit nikotin miktarlarına göre (4, 6, 9, 11, 16, 18, 24 mg/ml) alt gruplara ayrılmıştır. Sigara içen bireyler ise anket sorularına beyana dayalı olarak alınan cevaplara göre içtikleri sigara miktarına bağlı olarak <10, 10-20, >20 sigara /gün olarak alt gruplara ayrılmıştır.

3.1. Analitik Yöntemler

3.1.1. İdrar örneklerinde kotinin tayini

Bireylerden alınan idrar numunelerinde nikotin maruziyetinin göstergesi olan kotinin miktarları GC-MS yardımıyla analiz edilmiştir. GC-MS ile yapılmış olan bu çalışmada idrar örnekleri spot olarak alındığı için kreatinin faktörü ile düzeltmeler yapılmıştır. GC-MS ile idrar örneklerinde kotinin tayini Man, Gam, Ismail, Lajis, Awang (2006) metodu uyarlanarak yapılmıştır.

Kullanılan ekipman, alet ve malzemeler

- Vorteks (Labnet)
- Santrifüj (Eppendorf, Mini Spin Plus)
- Buzdolabı
- GC-MS (Agilent Technologies 7820 GC/ 5977E MSD)

Kullanılan kimyasallar

- Metanol (Merck)
- Kloroform (Sigma)
- Sodyum Hidroksit (0,1 M) (Merck)
- Kotinin (- (-) Cotinine solution 1,0 mg/ml $\pm$ 5 methanol Sigma)
- Difenilamin (Merck)

GC-MS ile kotinin tayini için gerekli çözeltilerin hazırlaması

Kotinin analizleri için metanol içerisinde 1 mg/ml kotinin içeren standart çözelti kullanılmıştır. Stok solüsyonundan 10.000, 1000 ve 100 ng/ml’lik çalışma solüsyonları hazırlanır. Çalışma solüsyonunda günlük olarak idrarda kotinin için 7 tane; 2,5/5/ 10/ 50/ 100/ 500/ 1000 ng/ml dilüsyon çözeltisi kalibrasyon oluşturmak için hazırlanmıştır. İç standart olarak yararlanılacak difenilamin stok çözeltisi metanol içinde 250 ng/ml olarak hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler analizden önce -20 °C’da saklanarak korunmuştur.

Örneklerin hazırlanması

1 ml idrar örneği üzerine difenilamin (0,175 ml), 0,1 M sodyum hidroksit (0,050 ml) ve kloroform (0,325 ml) eklenip, karışım 1500 rpm de 1 dk vortekslenir ve 2500 rpm de 4 dk santrifüj edilmiştir. Küçük bir miktar susuz sodyum sülfat (~0,1 g) eklendikten sonra, elde kısa süre karıştırılmış ve organik ekstre şişelere alınmıştır.

Kotininin GC-MS ile tayin koşulları

Kotinin tayini için Agilent Technologies 7820 GC System Gaz Kromatografisi ve Agilent Technologies 5977E MSD Kütle Spektrometresi kullanılmıştır. Yöntemde kullanılan GC-MS koşullarına ait özellikler Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Kotinin analizi için sağlanmış GC-MS koşulları

Kolon	HP-5MS UI kolon (30 m×0.25mm i.d.; 0.25µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz	Helyum
Enjeksiyon hacmi	1 µl
Mod	Splitless
Enjektör sıcaklığı	SIM: Kotinin: <i>m/z</i> 176, 118, 98, Difenilamin: + <i>m/z</i> 169, 168, 85 iyonları
Fırın sıcaklığı	250 °C.
Fırın sıcaklığı	70 den 230 °C, artış 25 °C/dk
Yüzeylerarası sıcaklık	280 °C
İç Standart	Difenilamin

3.1.2. Analitik yöntemin validasyonu (Geçerlilik onayı)

Geçerlilik; bir cihazın, yöntemin veya sistemin başarısının belirlenen şartlara uygun olduğunu göstermek için yapılan işlemlerin bütünüdür (Ertaş ve Kayalı, 2005). Başka bir tanıma göre geçerlilik (validasyon), metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilerek yazılı delillerle kanıtlanmasıdır. Bir metodun performansını belirlemek için yapılan bir takım değişkenlere göre test ve ölçme işlemleridir. Çeşitli alanlarda pek çok karar, yapılan ölçümlerin sonucuna dayanılarak verilir. Doğru karara verebilmek için analitik ölçüm sonucunun doğru ve güvenilir (tekrarlanabilir) olması istenmektedir (ICH, 2005).

Yöntem başarımlarını esasları, geçerlilik yapılacak yöntemin uygulama amacına ve kapsamına bağlı olarak belirlenir. Yöntem geçerliliği; bir yöntemin laboratuvarında ilk kez uygulanması, bir analiz için yeni bir yöntem geliştirilmesi, kullanılmakta olan yöntemde

değişiklik yapılması, geçerli edilmiş bir yöntem başka bir laboratuvarında kullanılması veya uygulayan kişi veya kullanılan cihazda değişiklik olması, kalite kontrol testlerine göre yöntemin başarımında zamanla bir değişme olması durumlarında yapılmalıdır. Yöntem geçerlilik göstergeleri; kesinlik, doğruluk, miktar tayin sınırı, teşhis sınırı, seçicilik-özgüllük, doğrusallık ve ölçüm aralığı, duyarlılık ve sağlamlıktır (Ertaş ve Kayalı, 2005).

Çalışmada elde edilen veriler ICH (2005) ve FDA (2001) validasyon kabul verilerine göre değerlendirilmiş ve validasyon sağlanmıştır. Çalışmada FDA (2001) rehberine göre metod validasyonu gerçekleştirilmiş ve özgünlük, doğrusallık, doğruluk ve geri kazanım, gün içi ve günler arası kesinlik, teşhis sınırı ve miktar tayini alt sınırı çalışmaları yapılmıştır.

Özgünlük (Specifity)

Kullanılan analitik yöntemin araştırılan madde ya da maddeleri tayin edebilme yeteneğinin belirlenmesidir.

Doğrusallık (Linearity)

Bir analitik yöntemin doğrusallığı; analit derişimi (miktarı) ile cevap ilişkisinin belli bir derişim aralığında doğrusal olarak derişim göstermesidir. En az 5 farklı derişimde standart çözelti ile hazırlanır. Alt sınır hedef seviyenin % 50'sinden düşük, üst sınırın % 150'sinden büyük olmalıdır. En az 3 kez tekrar edilir. Korelasyon katsayısı (r) ve determinasyon katsayısı (r^2) doğrusallık derecesinin göstergeleridir. Eğim, kesişim değerlerinin bağıl standart sapmaları veya standart hataları da verilebilmektedir (ICH, 2005).

Doğrusallık ve geri kazanım (Accuracy, Recovery)

Geri kazanım için standart çözeltilerin hazırlandığı ara stok çözeltisinden plaseboya en az üç farklı derişimde spike edilir ve standart çözeltiler ile aynı işleme tabii tutulur. Kalibrasyonun oluşturulmasından sonra bu çözeltilerin okutulmasıyla tayin yapılır. Cevaptaki farklılıklar matriks girişimi, veya numune hazırlamadan kaynaklanan hataların göstergesidir. Bu en basit yaklaşımda % 100 civarında doğruluk beklenir. Biyolojik sıvılarda geri kazanımın % 100'den düşük olması normaldir. Bu durumda kalibrasyon matriks uyumlu (match) ortamda hazırlanır. Sonuçlar % geri kazanım ve % BSS (Bağıl Standart Sapma) olarak gösterilir.

Kesinlik (Precision)

Ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığını gösterir. Aynı operasyonel koşullarda ve kısa süre aralığındaki kesinlik;

% BSS = Standart Sapma/Ortalama olarak hesaplanır (ICH, 2005)

Gün içi kesinlik (Tekrarlanabilirlik)

Yapılan analitik çalışmada gün içi kesinliğin belirlenmesi için 100 ng/ml konsantrasyonda çözelti hazırlanıp aynı gün içinde ardışık altı ölçüm yapılmıştır.

Günler arası kesinlik (Orta Kesinlik)

Yapılan analitik çalışmada günler arası kesinliğin belirlenmesi için 10, 50 ve 100 ng/ml konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Her bir derişim için birbirini takip eden üç gün arda arda üçer enjeksiyon yapıp ölçüm alınmıştır.

Teşhis ve miktar tayini alt sınırı (LOD, LOQ)

Gaz kromatografisinde tayin limiti örnekte ölçülebilen fakat kesin olarak miktarı belirlenemeyen en düşük miktardır. Sinyal/gürültü oranının bir konsantrasyonu ile ifade edilmektedir. Ölçüm limiti ise kabul edilebilir doğrulukta ve tekrarlanabilirlikte ölçülebilen en düşük konsantrasyondur. Kromatografik analizlerde tayin limiti sinyal/gürültü oranının 3 katı, ölçüm limiti ise sinyal/gürültü oranının 10 katı olarak ifade edilir.

3.1.3. Kreatinin analizi

E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve sigara kullanmayan sağlıklı gönüllülerden alınan idrar örneklerine Lutsgarten ve Wenk (1972) metodundan yararlanılarak “Kreatinin Alkali Pikrat” reaksiyonuna göre kreatininle düzeltme yapılmıştır. İdrar kotinin düzeyleri ng/g kreatinin cinsinden ifade edilmiştir.

Kullanılan kimyasallar

Kreatinin (Sigma kat no: C4255)

Sodyum Hidroksit (Merck)

Pikrik Asit (Merck)

Hidroklorik asit (Merck)

İdrar örneklerinden kreatinin analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanması*Stok Kreatinin Standartı:*

0,5 g kreatinin 0,1 N HCl'de çözüldü ve 500 ml'ye tamamlanır buzdolabında saklandı.

Seyreltik kreatinin çözeltisi

1 ml stok kreatinin çözeltisi 0,1 N HCl ile 100 ml'ye tamamlandı.

0,1 N HCl

4,2 ml konsantre HCl distile su ile 500 ml ye tamamlandı.

%10 NaOH

10 g sodyum hidroksit tartılıp distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

Pikrik asit çözeltisi

11,75 g pikrik asit distile suda çözülerek 1 lt'ye tamamlandı.

İdrar Örneklerinden kreatinin analizi

1 ml idrar 3000 rpm de santrifüj edildi ve süzüldü. 0,1 ml süzüntü alınıp distie su ile 10 ml ye tamamlandı. 5 ml'si başka bir tüpe alınarak 2,5 ml pikrik asit ve 0,5 ml %10 NaOH eklendi. Vortekste karıştırıldıktan sonra 10 dk bekletildi ve 520 nm'de spektrofotometrede köre karşı okundu. Örnekler okunmadan önce 0,2/0,4/0,6/0,8/1/2/ ve 4 mg/100 ml arasında değişen aralıklarda standartlar hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

3.2. Genotoksisite Yöntemleri

3.2.1. Periferik lenfositlerde komet yöntemi

Yöntemde kullanılan aletler

- Dijital üstten keşeli terazi (Shimadzu)
- Ph metre (Thermo Orion star A211)
- Soğutmalı santrifüj (Hettich Zentrifugen mikro200 R)
- Elektroforez tankı
- Güç Kaynağı (Thermo EC250-90)
- Manyetik Karıştırıcı (Wisestir)
- Otomatik mikro pipetler
- Traşlı lam
- Lamel (32x64 boyutunda)
- 1,5 ml ependorf tüpü
- Plastik pastör pipeti
- Steril lateks eldiven
- Parafilm
- Cam şale
- Floresan ataçmanlı mikroskop (Olympus BX51)
- Isıtıcı
- Buzdolabı

Yöntemde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- DMSO (Biomatik)
- NaCl (Merck)
- KCl (Merck)
- NaOH (Merck)
- Lenfosit ayırma çözeltisi (Multicell)
- Etidyum Bromide (Merck)
- Triton-X 100 (Merck)
- EDTA (Amresco)

- Trizma Base (Merck)
- HMA (Sigma)
- LMA (Sigma-Aldrich)
- Fosfat tamponu (PBS) (Biological Ind.-Kat. No:02-023-1A)

Yöntemde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

10 M NaOH çözeltisi (+4 °C'da saklanır)

NaOH	400 g
Distile su	ym 1000 ml

0.2 M EDTA çözeltisi (+4 °C'da saklanır)

EDTA	74,4 g
Distile su	ym 1000 ml

10 M KOH çözeltisi (Oda sıcaklığında saklanır)

KOH	561,1 g
Distile su	ym 1000 ml

Stok 100 µg/ml Etidyum Bromür Çözeltisi

EB	5 mg
Distile su	ym 50 ml

Lamlar boyanacağı zaman çözelti 1:4 oranında distile su ile seyreltilip kullanıldı. +4 °C'da saklandı.

Stok Liziz Çözeltisi

2,5 M NaCl	146,1 g
100 mM EDTA	37,2 g
10 mM Tris	1,2 g
Distile su	ym 900 ml

Çözeltinin pH'sı 10 M NaOH ile 10'a ayarlandı. Hazırlanan stok liziz çözeltisi oda sıcaklığında saklandı.

Liziz Çözeltisi

Her 100 ml liziz çözeltisi için stok lizizden 89 ml alındı. 1 ml Triton X ve 10 ml DMSO ilave edildi veya 1 şale için 66,75 ml stok liziz çözeltisi, 7,5 ml DMSO ve 0,75 ml Triton X ile karıştırıldı. +4 °C da saklandı.

Elektroforez Tamponu

10 M NaOH	37,5 ml
0.2 M EDTA	6,75 ml
Distile su	ym 1250 ml

Nötralizasyon Tamponu

0.4 M Tris	48,5 g
Distile su	ym 1000 ml

Çözeltinin pH'sı konsantre HCl ile 7,5'e ayarlandı.

Düşük kaynama dereceli agar (% 0,65)

%0,65'lik LMA PBS içinde hazırlandı. Tek seferde kullanılacağı için 10 ml genellikle yeterli olup 0,065 gr LMA ısıtılarak PBS içinde çözüldü.

Yüksek kaynama dereceli agar (% 0,65)

0,65 gr HMA 100 ml distile su içinde ısıtılarak çözülür.

Periferal kan lenfositlerinde komet yöntemi uygulaması

Komet yöntemi uygulamasında Tice ve diğerleri (2000), ile Wong ve diğerleri, (2005) metodu izlenmiştir.

Lamların Hazırlanması

Rodajlı lamlar, agarın kaymasını önlemek için ısıtılarak sıvı hale getirilmiş % 0,65'lik HMA içine batırılıp oda ısısında birkaç gün kurumaya bırakılmıştır.

Hücrelerin hazırlanması

Heparinli, steril ve vakumlu tüplere alınan kan numunesinden 100 µl kan örneği üzerine 1 ml PBS çözeltisi (+4°C) eklenerek 1,5 ml'lik ependorf tüplerine konuldu ve 10-15 dk buzda bekletildi. Daha sonra tüplere 100 µl lenfosit izolasyon çözeltisi (Histopaque 1077 veya Lymphoprep) ilave edilerek 1060 rpm'de +4°C'da 3 dakika santrifüj edildi. Lenfositler PBS ile Histopaque tabakası arasından dikkatlice alındı. 100 µl lenfosit üzerine 100 µl LMA (37°C) ilave edilip agar katılaşmadan hemen pipetaj yapılarak karıştırıldı. Bu karışımdan daha önceden HMA ile kaplanan lam üzerine 100 µl ilave edilip lamelle kapatıldı. Lamlar agar katılaşp lama sabitleninceye kadar en az 20 dk buzdolabında bekletildi. Bu arada stok çözeltiden liziz çözeltisi hazırlandı. Buzdolabından çıkartılan lamların üzerindeki lameller kenarından dikkatlice çekilerek cam şaleye konuldu. Liziz çözeltisi tüm lamları kaplayacak şekilde ilave edilerek kapağı kapatılıp en az 1 saat (ya da 1 gece) buzdolabında liziz solüsyonunda bekletildi.

Elektroforez

Liziz çözeltisinden alınan lamlar elektroforez için taze hazırlanan ve soğuk lektroforez çözeltisiyle doldurulmuş elektroforez tankına yerleştirildi. Lamlar bu çözelti içinde 20 dakika bekletilerek alkali ile muamele edildi. Bu işlem sonunda elektroforez tankı 25 V ve 300 mA'de 20 dakika elektrik akımı sayesinde negatif yüklü DNA sarmal kırıklarının

anoda doğru göç etmesi için çalıştırıldı. Tank içindeki çözeltinin soğuk kalması için altındaki boşluklara buz konuldu ve ışıktan korumak amacıyla alüminyum folyo ile sarıldı.

Boyama

Elektroforez tankından çıkarılan lamalar şaleye alınarak oluşan kimyasal reaksiyonu stabilize etmek ve fazla tuz ve deterjanı uzaklaştırmak amacıyla nötralizasyon tamponuyla 3 kez 5'er dakika yıkandı. Bu işlem sonrasında her preparat üzerine floresan renk vermesi için 1:4 oranında hazırlanan etidyum bromid çözeltisinden 65 µl damlatılarak lamelle kapatıldı ve iyice boyanması için 15-20 dakika buz dolabında bekletildi.

Lamların Değerlendirilmesi

Lamlar boyandıktan sonra her birey için paralel olarak hazırlanan iki preparattan rastgele 100 lenfosit seçilerek x40 büyütme, 515-560 nm eksitasyon filtreli, 100 W cıva lambalı, Zeiss-Axioskop 2 marka floresan mikroskopta, bilgisayar destekli *Komet Image Analysis* (COMET III) programı kullanılarak incelendi. Komet deneyi sonuçları kuyruk momenti, kuyruk yoğunluğu (%) ve kuyruk uzunluğu (µm) parametreleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomalileri sıklıklarının analizi

Yanak epitel hücre mikroçekirdek çalışması, Thomas ve diğerlerinin (2009) yönteminden yararlanılarak gerçekleştirilmiştir.

Yöntemde kullanılan alteler ve malzemeler

- Tahta spatül
- Lam
- Lam saklama kutusu
- Şale
- Erlen
- Beher
- Mezür
- Balon joje
- Huni

- Terometre
- Hassas terazi
- Süzgeç kağıdı
- Alüminyum folyo

Yöntemde kullanılan kimyasal maddeler

- Metanol (Merck)
- Hidroklorik Asit (Merck)
- Pararosanilin (Merck)
- Sodyumbisülfid (Sigma-Aldrich)
- Aktif Kömür (Merck)
- Etanol (Merck)
- Fast Green (Merck)
- Distile Su

Yöntemde kullanılan çözeltiler

- % 80 Metanol Çözeltisi
- 1M HCl çözeltisi
- Feulgen boyası
- Fast green boyası

Yöntemde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

% 80 metanol çözeltisinin hazırlanması

80 ml metanol distile su ile 100 ml hacme tamamlandı ve iyice karışması sağlandı.

5 N HCl çözeltisi hazırlanması

415 ml HCl 1 l'ye distile suyla tamamlandı. Çözelti buz içine konulan bir balon jode ve çeker ocakta hazırlandı.

Feulgen Reaktifinin Hazırlanması

Erlen içine 1g pararosanilin 100 ml kaynamış distile suyla çözüldü. Erlen alüminyum folyo ile kaplanarak +60°C'a soğuması beklendi. Yeterince soğuyan çözelti filtre kağıdından süzülerek içine 20 ml 1N HCl ve 2 gr sodyum disülfid eklendi. Çözelti alüminyum folyo kaplı bir şişeye alınarak ağzı kapatıldı ve oda ısısında karanlıkta bekletildi. 24 saat sonra içine 300 mg aktif kömür ilave edilerek 1 dk iyice çalkalandı. Çözelti filtre kağıdı ile süzülerek alüminyum folyo ile kaplı bir şişeye aktarıldı ve +4 °C'a kaldırıldı.

Fast Green çözeltisinin hazırlanması

0,5 g fast green 100 ml % 95'lik etanolde çözüldü. Filtre kağıdı ile süzülen çözelti alüminyum folyo kaplı bir şişede oda ısısında saklandı.

Yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyi uygulaması

Örneklerin Alınması

Tahta spatül yardımıyla ağız içinden, yanakların iç bölgesinden hücreler toplandı. Alınan örnek lam üzerine sürülerek hücrelerin lama aktarımı sağlandı.

Fiksasyon

Lamlar kurutulduktan sonra % 80 metanol içeren şale içinde fiksasyon amaçlı olarak 10 dk bekletildi. Şaleden çıkarılan lamlar dik şekilde kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu.

Boyama

Fiksasyonu yapılmış lamlar içinde 5N HCl bulunan şalelerin içinde 30 dk bekletildi ve kurutuldu. Daha sonra çeşme suyunda 3 dk bekletildi ve tekrar kurutuldu. Bu aşamadan sonra lamların kuru olmasına dikkat edilerek Feulgen boyamasına geçildi. Feulgen boyası ışığa duyarlı olduğu için şalelerin kapakları da dahil olmak üzere alüminyum folyo ile kaplandı. Lamlar 90 dk oda sıcaklığında karanlık bir ortamda Feulgen boyasında bekletildi. Feulgen boyasından alınan lamlar distile suda 5 dk tutuldu. Suyu süzülen lamlar beher içinde Fast Greende 5-10 sn tutuldu. Boya artıklarının giderilmesi için önce % 50'lik sonra

% 20'lik etanolden geçirildi ve lamaların iyice kurumasi beklendi. Kurutulan lamalar ceker ocak altında ksilen olan şalede 10 dk bekletildi ve oda ısısında kurutuldu. Uygulanan Feulgen-Fast Green boyama yöntemi ile hücrenin çekirdeği parlak pembe sitoplazması ise açık yeşil boyanması sağlandı.

Lamların değ erlendirilmesi

Iş ık mikroskobunda X40 objektifte her birey için MÇ, MÇ'li hücre ve nükleer tomurcuk sıklıkları 2000 hücrede değ erlendirildi. Diğ er çekirdek anomalileri (bazal, kondense kromatin, karyohektik, karyolitik) 1000 farklılaş mış hücrede değ erlendirildi. Sonuç lar 1000'de hücre sıklığı olarak değ erlendirildi (Thomas ve diğ erleri, 2009).

3.2.3. Perifer al lenfositlerde kromozomal aberasyon sıklığ ının analizi

Alınan kan örneklerinden kromozomal aberasyon deneyi Moorhead ve diğ erlerine (1960) göre uygulanmı ştır.

Yöntemde kullanılan aletler

- 37°C'lik inkübatör (Nuaire)
- Kabin (Esco)
- Santifüj (NüveFuge CN180)
- Iş ık Mikroskobu (Zeiss, Primo Star)
- Vorteks (Labnet)
- Dikey cam şale
- Traş lı lam
- Steril kapaklı kromozom tüpü
- Steril enjektör
- Cam pastör pipeti
- Steril lateks eldiven

Yöntemde kullanılan kimyasal maddeler

- RPMI 1640 Besiyeri (Multicell)
- Fetal Calf Serum (Biological Industries)

- Fitohemaglutinin (Biological Industries)
- L-Glutamin (Multicell)
- Antibiyotik (Streptomisin/Penisilin) (Multicell)
- Kolşisin Çözeltisi (Merck)
- Potasyum Klorür (Merck)
- Metanol (Merck)
- Asetik asit (Merck)
- Giemsa (Merck)
- İmmersiyon yağı

Yöntemde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Hipotonik Çözelti (0,075 M KCl)

5,592 g KCl (potasyum klorür) 1000 ml distile suda çözülerek hazırlandı.

Fiksatif Çözelti

1 kısım glasiyel asetik asit üzerine 3 kısım metanol ilave edilerek iyice karıştırıldı. Çözelti daima taze olarak hazırlandı ve buzlukta soğutulularak kullanıldı.

Kromozom Kültürünün Hazırlanması

100 ml RPMI-1640 besiyeri üzerine kültür ortamını zenginleştirmek amacıyla 25 ml FCS ve 0,75 ml L-glutamin laminar flow altında ilave edildi. Kültür ortamına mitotik induksiyonu sağlamak amacıyla 2,5 ml fitohemaglutinin ve kontaminasyon riskine karşı 1,3 ml antibiyotik eklendi. Hazırlanan vasat kullanılacağı zamana kadar buzlukta saklandı.

Boyama Çözeltisinin Hazırlanması

Boyamada % 4'lük Giemsa çözeltisi kullanıldı. 4 ml Giemsa boyası distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak % 4'lük Giemsa boyama çözeltisi hazırlandı.

Kromozomal aberasyon tekniği uygulanışı

Dondurulmuř vasat etüvde 37°C'a getirildi. 0,5 ml kan içeren kromozom tüplerine steril enjektör yardımıyla her tüpte 5 ml olmak kaydıyla ilave edildi. Kromozom tüpleri hücrelerin daha iyi üremesi için yatay şekilde 37°C'luk etüvde 48 saat sürecek inkubasyona bırakıldı. 45. saat sonunda her tüpe kolşisin çözeltisi (0,2 µg/ml) ilave edilerek 3 saat daha inkubasyona bırakıldı. 48. saatin sonunda 10 dakika 1000 rpm'de santrifuj edilerek supernatan kısmı su trompu ile atıldı. ökelti üzerine 0,075 M potasyum klorürden 5 ml vorteks üzerinde karıştırılarak eklendi. Tüpler 25 dakika 37°C'luk etüvde inkübe edildi. 1000 rpm'de 10 dakika santrifuj edilerek supernatan kısmı atıldı. Buzlukta bekleyen taze hazırlanmış fiksatif (metanol/asetik asit, 3/1) çözeltisinden 5 ml ilave edildi ve 10 dakika 1000 rpm'de santrifuj edilerek supernatan kısmı atıldı. Bu işleme dipteki pellet iyice beyazlaşana kadar devam edildi.

Fiksasyon sonucunda tüplerin dibinde pellet şeklinde kalan hücreler cam pastor pipetiyle pipetaj yapılarak karıştırıldı. Distile su içinde buzdolabında soğutulmuş lamalar iyice kurulandıktan sonra 30 cm yükseklikten 3-4 damla suspansiyon damlatıldı. Damlanın iyice yayılmasıyla lamalar oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Çalışma süresince her birey için 3 lama yayım yapıldı.

Lamların Boyanması ve Değerlendirilmesi

Lamlar Giemsa boyama çözeltisi içinde 20 dakika bekletildi. Boyamanın tamamlandığına karar verilince lamalar distile su ile iyice yıkanıp oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

Lamların Değerlendirilmesi

Boyanmış metafazlar, yapısal kromozomal bozuklukları (kromozomal aberasyonları) belirlemek amacıyla ışık mikroskopunda 100x objektif altında immersiyon yağı damlatılarak incelendi. Kromozomal aberasyon değerlendirilmesi için deney ve kontrol grubundaki kromozom yapı anormalliklerini, belirlemek için her kişiden hazırlanan, iyi dağılmış kromozomlara sahip 100 hücre incelendi. İnceleme sırasında, bu hücrelerde gözlenen *kromatid kırığı*, *kromatid gap*, *kromatid değişimi*, *kromozom kırığı*, *kromozom gap*, *kromozom değişimi (disentrik ve sentrik halka)* gibi yapısal kromozom anomalilikleri

(kromozom tipi ve kromatid tipi anormalilikler) kaydedildi. Çalışmada Yadav, Thakur, Chillar (2001) metoduna göre sitotoksitenin belirlenmesi için ayrıca mitotik indeks de belirlenmiştir.

3.3. İstatistiksel Analizler

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics ver. 19.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma veya medyan (minimum-maksimum) biçiminde, kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve (%) şeklinde gösterildi. Ayrıca, mikroçekirdek deneyi ölçümlerine ilişkin 1. ve 2. okuma arasındaki değişkenlik katsayıları hesaplandı.

Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile medyanlar açısından farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle incelendi. Tek Yönlü Varyans Analizi veya Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde post-hoc Tukey HSD veya Conover'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edildi. Sürekli değişkenlerin birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin olup olmadığı Spearman's Korelasyon testi kullanılarak araştırıldı. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare testiyle değerlendirildi.

Aksi belirtilmedikçe $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak, olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

Çalışma grubu toplamda 130 kişiden oluşmaktadır. Dört kadın ve yirmisekiz erkek olmak üzere otuziki e-sigara kullanıcısı araştırmaya katılmıştır. Çalışmaya katılan kan, idrar ve ağız içi sürüntü örneği veren gönüllülere ait demografik veriler Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

Gruplar	n	Yaş (yıl)	Kadın faktör
Kontrol	33	29,7±7,6 ^{a,b}	22 (%66,7) ^{a,b}
Pasif maruziyet	32	28,0±8,0 ^{c,d}	19 (%59,4) ^{c,d}
Sigara içen	33	38,7±12,1 ^{a,c}	9 (%27,3) ^{a,c}
E-sigara	32	37,9±7,3 ^{b,d}	4 (%12,5) ^{b,d}
p-değeri		<0,001†	<0,001‡

† Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA), ‡ Pearson'un Ki-Kare testi, a: Kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Kontrol grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), c: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), d: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

4.2. İdrar Örneklerinde Kotinin Miktar Tayini ve Yöntem Validasyonu

4.2.1. Analitik yöntem validasyonu

Özgünlük (Specifity)

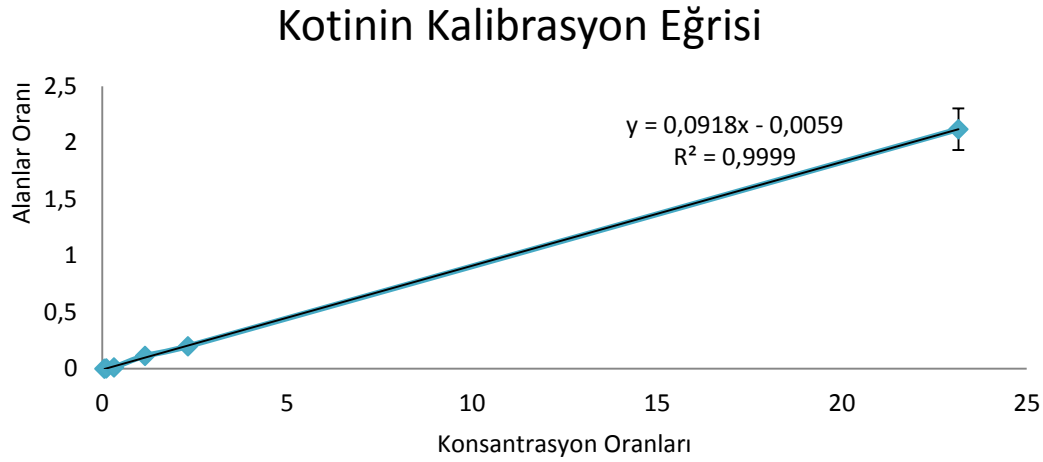
Özgünlük çalışmasından elde edilmiş olan difenilamin ve miktar tayini yapılan kotinine ait kromatogramlar Resim 4.2 ve Resim 4.3’de verilmiştir. Analizi yapılan kotinin ve iç standart olarak kullanılan difenilamine ait alıkonma zamanları Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Analiz edilen kotinin ve difenilamin alıkonma zamanları

Madde	Alıkonma Zamanı (RT)
Kotinin	6,3
Difenilamin	5,9

Doğrusallık (Linearity)

Kalibrasyon eğrisi 2,5/5/10/50/100/1000 ng/ml olarak değişen konsantrasyonlarda kotinin standartı kullanılarak oluşturulmuştur. Kotinin/difenilamin konsantrasyonları oranı ve kotinin/difenilamin alanları oranları kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. İdrar örneklerinde kotinin tayinine ait kalibrasyon grafiği ve denklemi

Doğruluk ve geri kazanım (Accuracy, Recovery)

Geri kazanım deneysel saptanan miktarın teorik ilave edilen miktara bölünmesiyle elde edilmiştir. Kotinin maddesine ait geri kazanım sonuçları Çizelge 4.3’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. Kotinine ait doğruluk ve geri kazanım çalışması sonuçları

Teorik Kons. (ng/ml)	Deneysel Kons. (ng/ml)	Geri kazanım (%)	Ort. Geri Kazanım (%)	% BSS
100	104,65	104,65	106,29	1,12
100	105,13	105,13		
100	106,74	106,74		
100	106,86	106,86		
100	107,89	107,89		
100	106,49	106,49		

Kesinlik (Precision)

Tekrarlanabilirlik koşulları aynı metot ile eşdeğer örneklerde aynı laboratuvarında, aynı ekipman ve aynı analist tarafından kısa zaman aralığında elde edilen bağımsız test

sonuçları elde edilmesi olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlanabilirlik hesaplamaları analiz sonuçları arasındaki tutarlılığı göstermesi açısından önemlidir. Örneklerin analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla günlerarası ve gün içi tekrarlanabilirlik % BSS (gün içi ve günler arası kesinlik yüzde bağıl standart sapma) değerleri hesaplanmıştır.

Gün içi kesinlik (Tekrarlanabilirlik)

Kotinin için gün içi tekrarlanabilirlik 100 ng/ml konsantrasyonda aynı gün içinde farklı zamanda yapılan ardışık altı ölçümle gerçekleştirilmiş olup % BSS değeri ölçümlerden alınan sonuçlar yardımıyla hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.4’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. Kotinin için gün içi kesinlik çalışması sonuçları

Ölçüm no	Sabah	Öğle	Akşam
1	117,60	117,03	112,37
2	106,49	107,71	110,72
3	113,45	111,85	115,90
4	99,29	106,63	117,83
5	102,77	112,09	114,91
6	109,45	108,42	112,09
Ort. Kons.	108,17	110,62	113,97
SS	6,77	3,84	2,68
% BSS	6,25	3,47	2,35

Günler arası kesinlik (orta kesinlik)

10, 50 ve 100 ng/ml konsantrasyonda ardışık 3 ölçümle üç gün gerçekleştirilen günler arası kesinlik sonuçları ve istatistiksel hesaplamalar Çizelge 4.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Kotinin için günler arası kesinlik çalışması sonuçları

Konsantrasyon	Günler	Kons. ng/ml (n=3)	Ort. Kons. ng/ml	SS	% BSS
10 ng/ml	1. gün	9,10/9,14/9,28	9,68	0,48	4,95
	2. gün	9,43/9,62/9,91			
	3. gün	10,11/10,14/10,42			
50 ng/ml	1. gün	49,38/49,70/49,99	49,64	1,43	2,88
	2. gün	52,55/50,55/50,20			
	3. gün	48,28/47,94/48,21			
100 ng/ml	1. gün	100,45/103,98/102,47	102,43	1,15	1,12
	2. gün	100,70/103,35/102,65			
	3. gün	102,54/103,11/102,66			

Teşhis ve miktar tayini alt sınırı (LOD, LOQ)

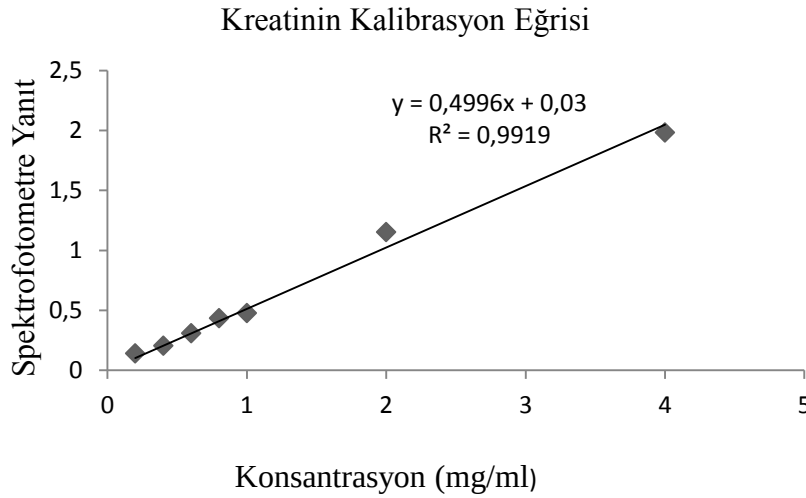
Yaptığımız çalışmada kotinin için tayin limiti (LOD) 0,0186 ng/ml ve ölçüm limiti (LOQ) ise 0,0620 ng/ml bulunmuştur. En küçük konsantrasyonun standart sapması ve kalibrasyon eğrisi eğimi kullanılarak hesaplanan teşhis sınırı ve miktar tayini alt sınırı değerleri Çizelge 4.6’da gösterilmektedir.

Çizelge 4.6. Kotinin teşhis sınırı ve miktar tayini alt sınırı sonuçları

Kimyasal madde	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
Kotinin	0,0186	0,0620

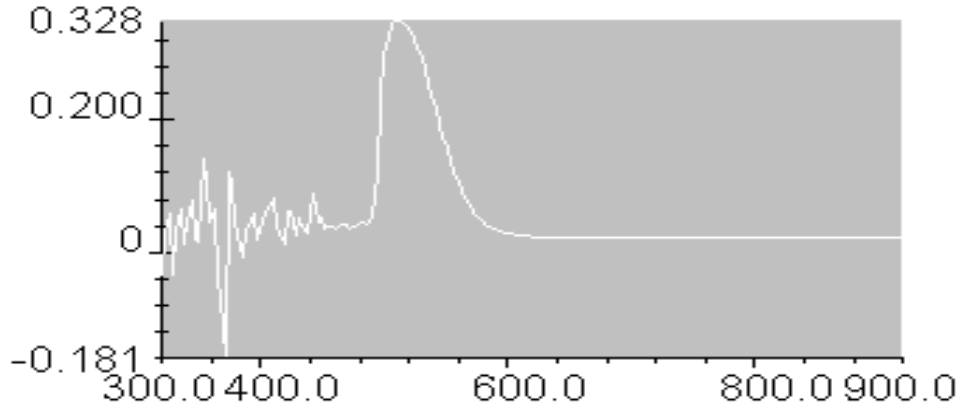
4.2.2. Kreatinin tayini sonuçları

İdrar örnekleri spot alındığı için örneklere kreatininle düzeltme uygulanmıştır. Kreatinin kalibrasyon grafiği Şekil 4.2’de sunulmuştur.



Şekil 4.2. Kreatinin kalibrasyon eğrisi

Kreatinin ölçümü sırasında bir örneğe ait spektrofotometre görüntüsü Resim 4.1’de gösterilmiştir.



Resim 4.1. İdrar örneklerinde kreatinin spektrofotometre görüntüsü

4.2.3. İdrar örneklerinde kotinin miktar tayini sonuçları

Kotinin miktar tayini sonuçları Çizelge 4.7’de sunulmuştur. Kontrol grubu bireylerde kotinin tespit edilemediği (<LOD) için istatistiki değerlendirmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.7. E-sigara kullanan, sigara içen ve pasif maruz kalan bireylerin kotinin düzeylerinin (ng/g kreatinin) karşılaştırılması

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	<i>p</i> -değeri †
Gruplar						<0,001
Pasif ^{a,b}	83,7	98,57	51,5	1,0	397,0	
Sigara içen ^a	1695,5	1267,70	1409,0	80,8	4946,0	
E-sigara ^b	1656,9	1633,80	1064,0	4,1	4954,0	

† Kruskal Wallis testi, a: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

E-sigara kullanan kişiler e-likit içeriğindeki nikotin miktarına göre alt gruplara ayrılmıştır. E-likitteki nikotin miktarı (4, 6, 9, 11, 16, 18, 24 mg/ml) değerleri ve idrar kotinin değerleri arasındaki korelasyon katsayısı ve önemlilik düzeyi Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. E-sigara kullanıcılarının e-likitte kullandıkları nikotin miktarı ve idrardaki kotinin miktarı

E-likitteki kotinin miktarı (mg)	N	Kotinin (ng/g kreatinin) Ortalama (±SS)
4	1	18
6	3	516,77±392,10
9	7	761,96±857,86
11	5	1728,30±2111,90
16	3	1578,30±1930
18	11	2522,70±1412,10
24	2	2768,00±2525,80

Çizelge 4.9. E-sigara kullanan grup içerisinde e-likit nikotin miktarı ile kotinin ölçümleri arasındaki korelasyon katsayısı ve önemlilik düzeyi

	n	Korelasyon katsayısı	p-değeri †
E-likit Nikotin - Kotinin	32	0,558	<0,001

† Spearman's korelasyon testi.

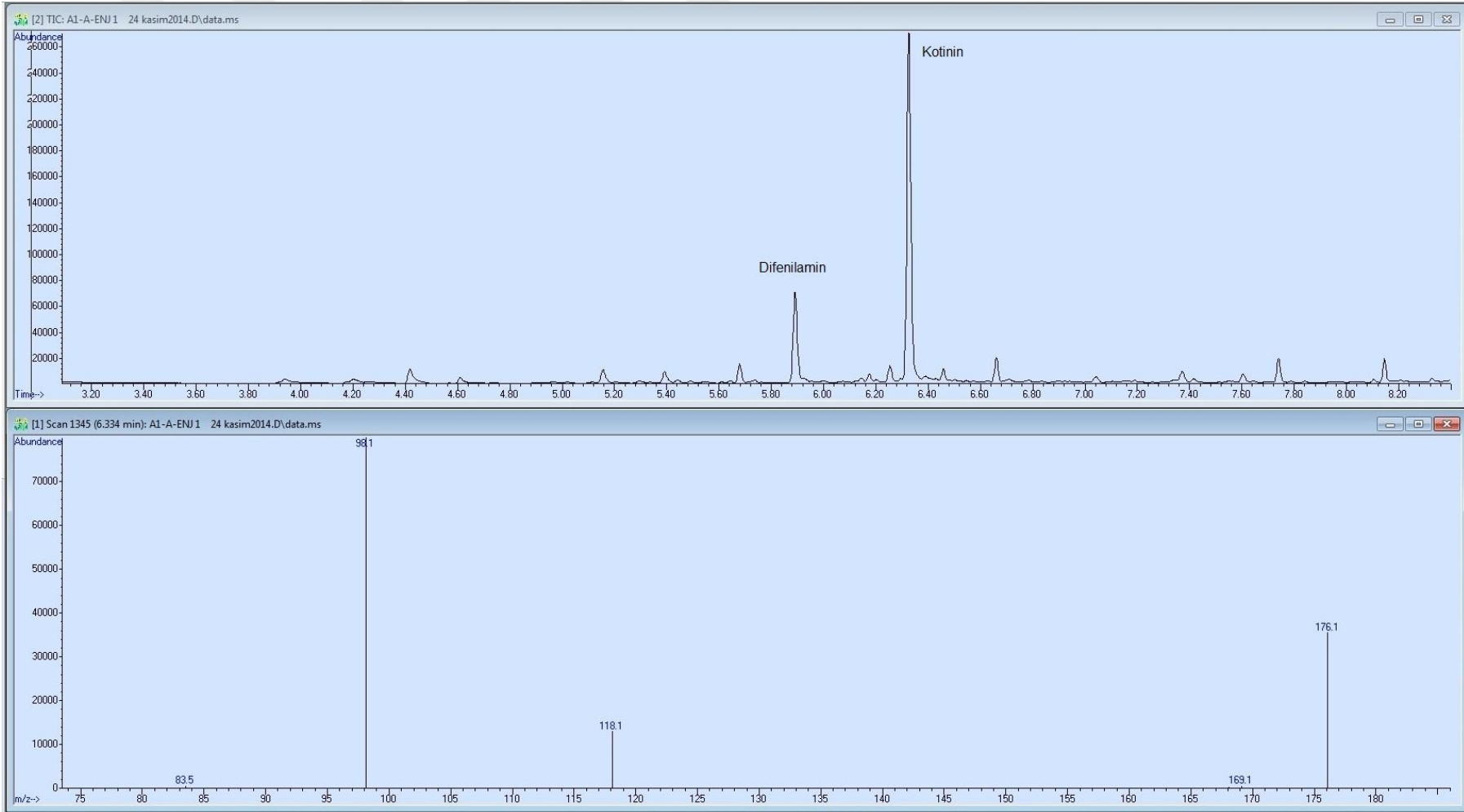
Sigara içen gruba ait sonuçların günlük sigara tüketim miktarına göre; 1-10 sigara/gün, 11-20 sigara/gün, >20 sigara/gün alt gruplarında kotinin düzeylerinin karşılaştırılması gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.10'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre olguların kotinin düzeyleri

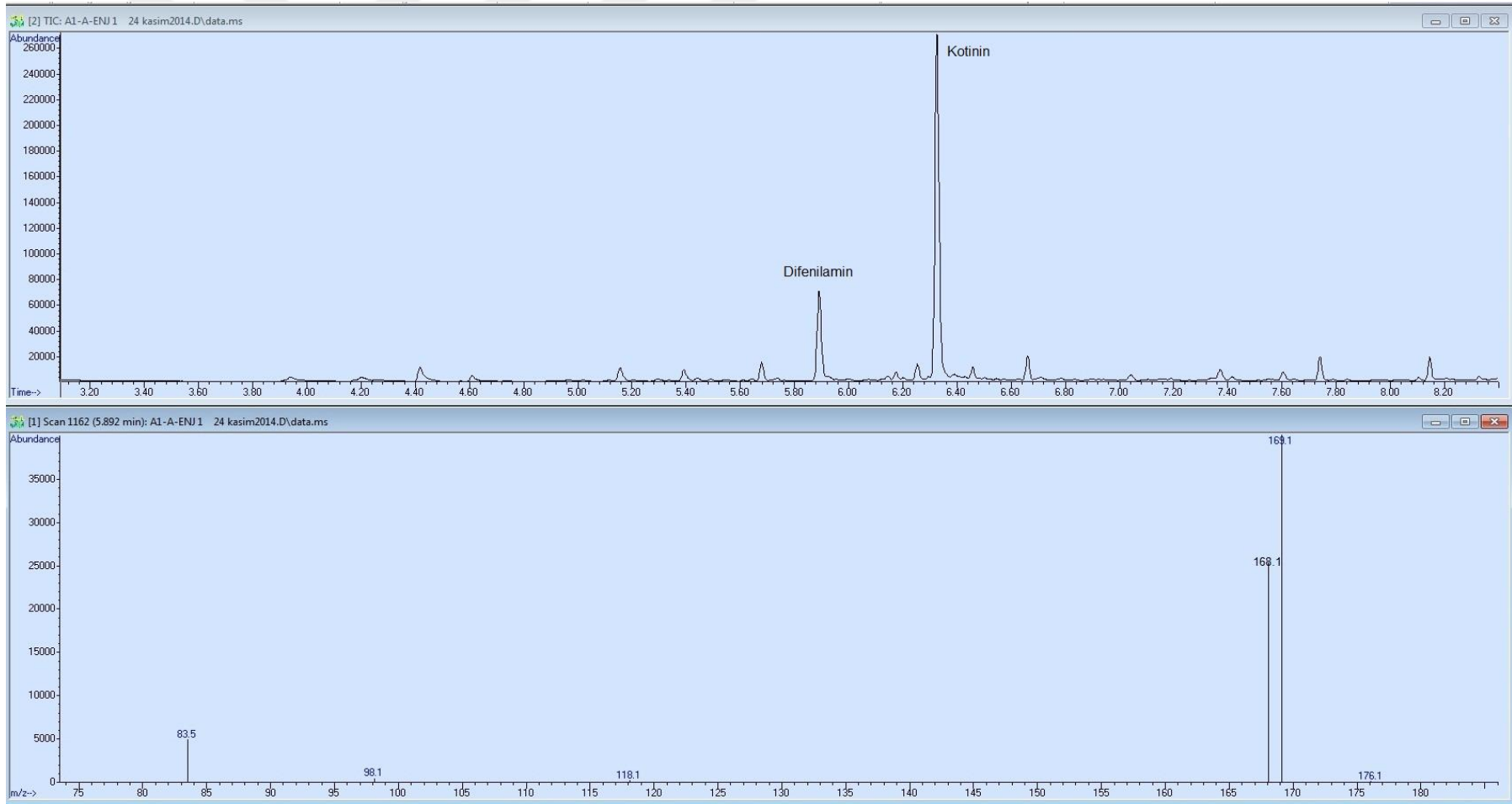
	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p-değeri †
Sigara (adet)						0,066
1-10	1007,7	568,29	902,0	80,8	1864,0	
11-20	2286,7	1354,33	2185,0	633,0	4946,0	
>20	1624,0	1333,66	1149,0	482,0	4941,0	

† Kruskal Wallis testi.

GC-MS analizlerinde kotinin için 98,1; 118,1; 176,1 iyon numaraları kullanılırken iç standart difenilamin için 83,5; 168,1; 169,1 iyon numaraları kullanılmıştır. E-sigara kullanan bir bireyde kotinin tayini yapılırken kotinine ait örnek kromatogramlar Resim 4.2'de ve difenilamine ait kromatogramların görüntüsü Resim 4.3'de sunulmuştur.



Resim 4.2. E-sigara kullanan bireyde kotinine ait örnek kromatogram



Resim 4.3. İç standart Difenilamin'e ait kromatogram

4.3. Periferal Lenfositlerde Komet Yöntemi Sonuçları

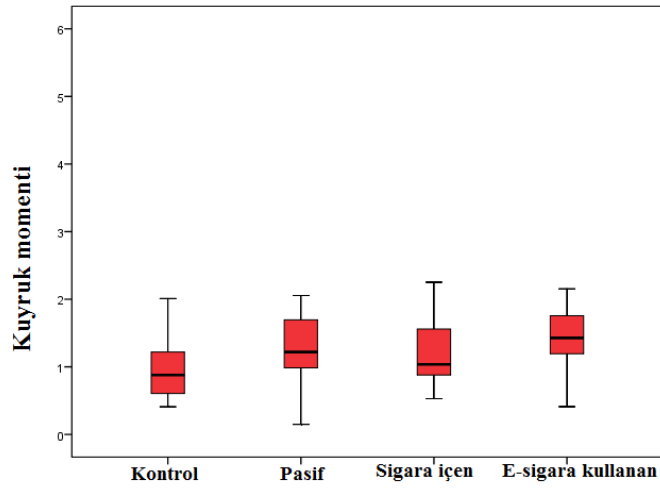
E-sigara kullanan, sigara içen, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan ve kontrol grubuna ait bireylerin komet yöntemi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu, kuyruk moment, kuyruk yoğunluğuna ait veriler Çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Çalışma gruplarının kuyruk moment, yoğunluğu ve uzunluğu düzeyleri

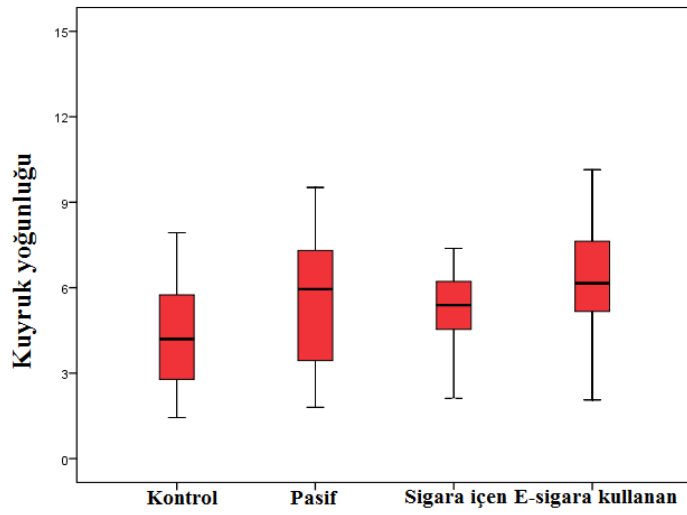
	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	p-değeri †
Kuyruk Momenti						<0,001
Kontrol ^{a,b,c}	1,0	0,43	0,9	0,4	2,0	
Pasif ^a	1,3	0,50	1,2	0,2	2,1	
Sigara içen ^{b,d}	1,4	1,44	1,0	0,5	9,0	
E-sigara ^{c,d}	1,5	0,45	1,4	0,4	2,7	
Kuyruk Yoğunluğu (%)						0,004
Kontrol ^{a,b,c}	4,5	2,18	4,2	1,4	10,6	
Pasif ^a	5,6	2,24	6,0	1,8	9,5	
Sigara içen ^b	5,8	2,77	5,4	2,0	16,5	
E-sigara ^c	6,4	1,72	6,2	2,1	10,1	
Kuyruk Uzunluğu (µm)						0,856
Kontrol	29,1	5,36	28,0	22,0	43,1	
Pasif	28,3	4,60	28,4	18,0	39,8	
Sigara içen	28,9	4,56	28,0	22,9	39,3	
E-sigara	29,3	3,64	28,8	20,7	38,3	

† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile pasif maruziyet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), b: Kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), c: Kontrol grubu ile E-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Sigara içen grup ile E-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,021$).

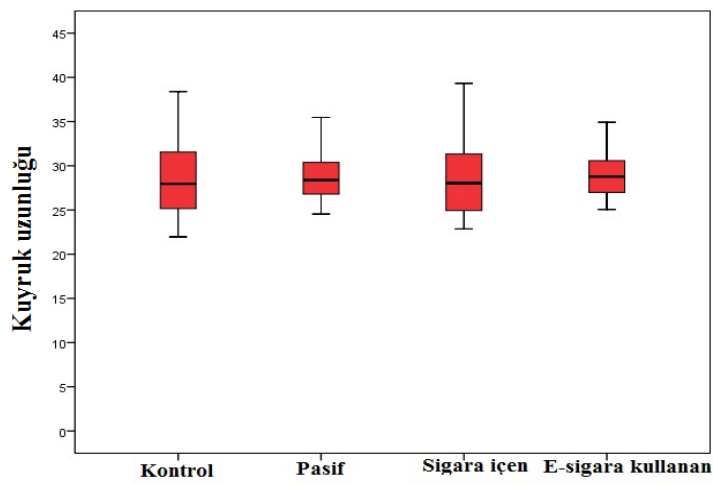
Kontrol grubu, pasif maruz kalan bireyler, sigara içen ve e-sigara kullanan bireylere ait kuyruk moment, kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğunu içeren komet sonuçları Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de sunulmuştur.



Şekil 4.3. Gruplara ait kuyruk momenti sonuçları



Şekil 4.4. Gruplara ait kuyruk yoğunluğu sonuçları



Şekil 4.5. Gruplara ait kuyruk uzunluğu sonuçları

Sigara dumanına pasif olarak maruz kalan, sigara içen ve e-sigara kullanan bireylere ait kotinin düzeyi sonuçlarının komet deneyi sonuçları ile kıyaslanması Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. Tüm gruplar içerisinde kotinin düzeyi ile kuyruk momenti, yoğunluğu (%) ve uzunluğu (μm) ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	N	Korelasyon katsayısı	<i>p</i> -değeri †
Pasif maruziyet			
Kuyruk Momenti	32	-0,224	0,218
Kuyruk Yoğunluğu	32	-0,043	0,815
Kuyruk Uzunluğu	32	0,150	0,414
Sigara içen			
Kuyruk Momenti	33	-0,317	0,072
Kuyruk Yoğunluğu	33	-0,208	0,246
Kuyruk Uzunluğu	33	-0,292	0,099
E-sigara			
Kuyruk Momenti	32	-0,100	0,586
Kuyruk Yoğunluğu	32	-0,057	0,757
Kuyruk Uzunluğu	32	0,004	0,981
Toplam*			
Kuyruk Momenti	97	-0,094	0,360
Kuyruk Yoğunluğu	97	-0,060	0,561
Kuyruk Uzunluğu	97	0,003	0,973

† Spearman's korelasyon testi. *Kontrol grubunun kotinin değeri tespit edilemediğinden toplam sonuçlar içerisine alınmamıştır.

E-sigara kullanan bireylere ait veriler kullandıkları e-likit içeriğindeki nikotin miktarına göre 6 mg/ml, 9 mg/ml, 11mg/ml, 16 mg/ml, 18 mg/ml ve 24 mg/ml olarak alt gruplara ayrılmıştır. Çizelge 4.13’de e-sigara kullanan kişilerin e-likitte kullandıkları nikotin miktarına göre komet deneyi kuyruk momenti sonuçları sigara içen kişiler, pasif maruz kalan kişiler ve sağlıklı sigara içmeyen kontrol grubuyla birlikte verilmiştir. E-likitteki nikotin miktarına göre komet sonuçlarının kıyaslanması ise Çizelge 4.14’de gösterilmiştir. Sigara içen kişilerin günlük tükettikleri sigara miktarına göre komet değerleri ise Çizelge 4.15’de sunulmuştur.

Çizelge 4.13. E-sigara kullanan ve sigara içen kişilerde e-likit nikotin miktarı ve günlük içilen sigara sayısına göre komet yöntemi sonuçları

Çalışma grubu	N	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.
E-sigara kullanıcıları	32	1,48	0,45	1,42	0,0	2,01
- E-sıvıdaki nikotin miktarı (ml)						
4 mg	1	1,58	-	-	-	-
6 mg	3	1,37	0,43	1,78	0,0	1,87
9 mg	7	1,41	0,33	1,31	0,0	1,56
11 mg	5	1,50	0,46	1,48	0,0	2,15
16 mg	3	1,39	0,22	1,46	0,0	2,01
18 mg	11	2,83	3,07	1,46	0,0	2,70
24 mg	2	1,10	0,98	1,10	0,0	1,80
Sigara içenler	33	1,25	0,60	1,03	0,0	8,99
-Bir günde içilen sigara sayısı						
<10	9	1,24	0,54	1,15	0,0	2,09
10-20	10	1,17	0,56	1,03	0,0	8,99
>20	14	1,12	0,41	1,05	0,0	2,18
Pasif maruz kalan	32	1,25	0,50	1,22	0,0	2,05
Kontrol grubu	33	0,95	0,40	0,88	0,0	2,01

Çizelge 4.14. E-sigara kullanan grup içerisinde e-likit nikotin miktarı ile kuyruk momenti, yoğunluk (%) ve uzunluk (µm) ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	n	Korelasyon katsayısı	p-değeri †
Kuyruk Momenti	32	0,070	0,703
Kuyruk Yoğunluğu	32	0,123	0,502
Kuyruk Uzunluğu	32	-0,012	0,950

† Spearman's korelasyon testi.

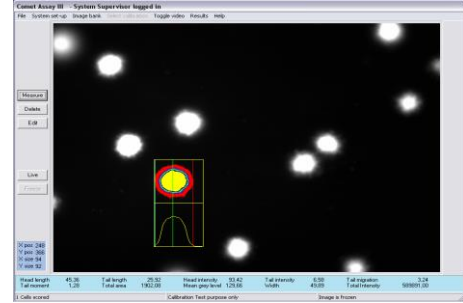
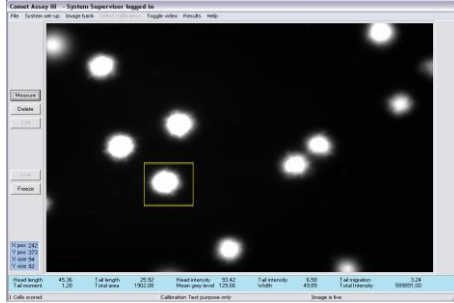
Çizelge 4.15. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre grupların kuyruk momenti, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğu düzeyleri

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p-değeri †
Kuyruk Momenti						0,989
1-10	1,2	0,54	1,2	0,5	2,1	
11-20	1,9	2,42	1,0	0,6	9,0	
>20	1,2	0,46	1,1	0,6	2,2	
Kuyruk Yoğunluğu (%)						0,530
1-10	5,1	2,07	5,4	2,1	8,8	
11-20	6,8	3,91	6,0	2,0	16,5	
>20	5,4	1,85	5,3	2,7	9,2	
Kuyruk Uzunluk (µm)						0,216
1-10	31,8	5,32	29,8	26,2	39,3	
11-20	27,5	4,57	26,0	23,3	37,3	
>20	28,4	3,58	28,1	22,9	35,3	

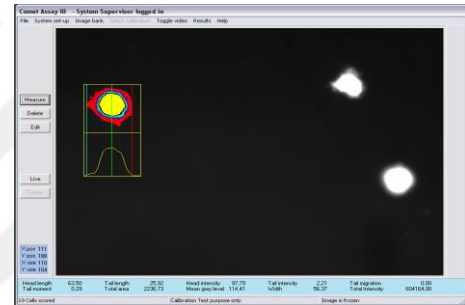
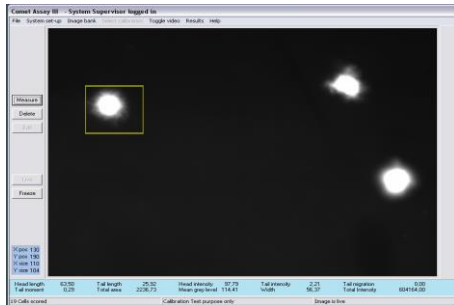
† Kruskal Wallis testi.

Kontrol grubunda bulunan sağlıklı ve sigara içmeyen bireye (Resim 4.4), sigara dumanına pasif maruz kalmış bir bireye (Resim 4.5), sigara içen bir bireye (Resim 4.6) ve e-sigara

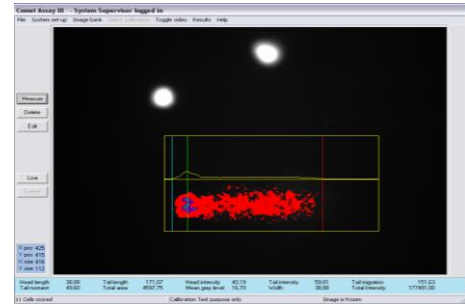
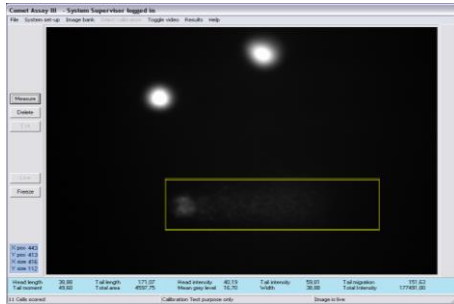
kullanan (Resim 4.7) bir bireye ait komet çalışmaları fotografik sunumları aşağıda gösterilmiştir.



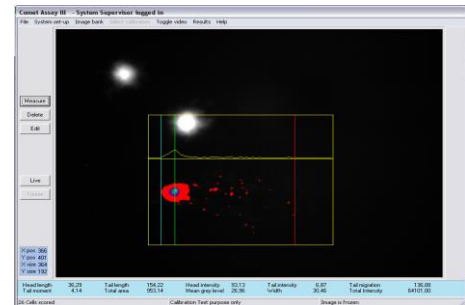
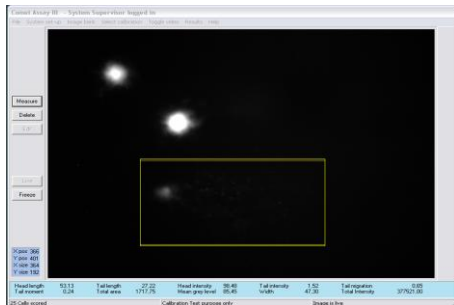
Resim 4.4. Sağlıklı bireyler grubundan bir bireye ait komet çalışması görüntüsü



Resim 4.5. Sigaraya pasif maruz kalan bir bireyin komet çalışması görüntüsü



Resim 4.6. Sigara içen bireye ait komet çalışması görüntüsü



Resim 4.7. E-sigara içen bireye ait komet çalışması görüntüsü

4.4. Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek ve Diğer Çekirdek Anomalileri

Sonuçları

E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan, kontrol grubundaki bireyler yanak epitel hücrelerindeki mikroçekirdek, mikroçekirdekli hücre ve yanı sıra nükleer tomurcuk (BUD), binükleer (BN), kondanse kromatin (KK), karyohektik (KH), piknotik (PK), karyolitik (KL) hücre gibi diğer çekirdek anomalilerinin sıklıkları (%) Çizelge 4.16 ve 4.17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. E-sigara kullanan, Sigara içen, Pasif maruz kalan ve Kontrol grubundaki bireyleri yanak epitel hücrelerindeki MÇ, MÇ’li hücre sıklıkları düzeyleri (%)

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	<i>p</i> -değeri †
MÇ						<0,001
Kontrol ^{a,b}	0,9	1,89	0,0	0,0	10,0	
Pasif ^{c,g}	0,9	1,13	0,0	0,0	4,0	
Sigara içen ^{a,c,d}	5,2	5,34	3,0	0,0	20,0	
E-sigara ^{b,d,g}	1,9	2,31	1,0	0,0	9,0	
MÇ’li hücre sayısı						<0,001
Kontrol ^{a,b}	0,8	1,37	0,0	0,0	7,0	
Pasif ^{c,e}	0,6	0,75	0,0	0,0	2,0	
Sigara içen ^{a,c,d}	3,5	3,13	2,0	0,0	10,0	
E-sigara ^{b,d,e}	1,2	1,13	1,0	0,0	4,0	

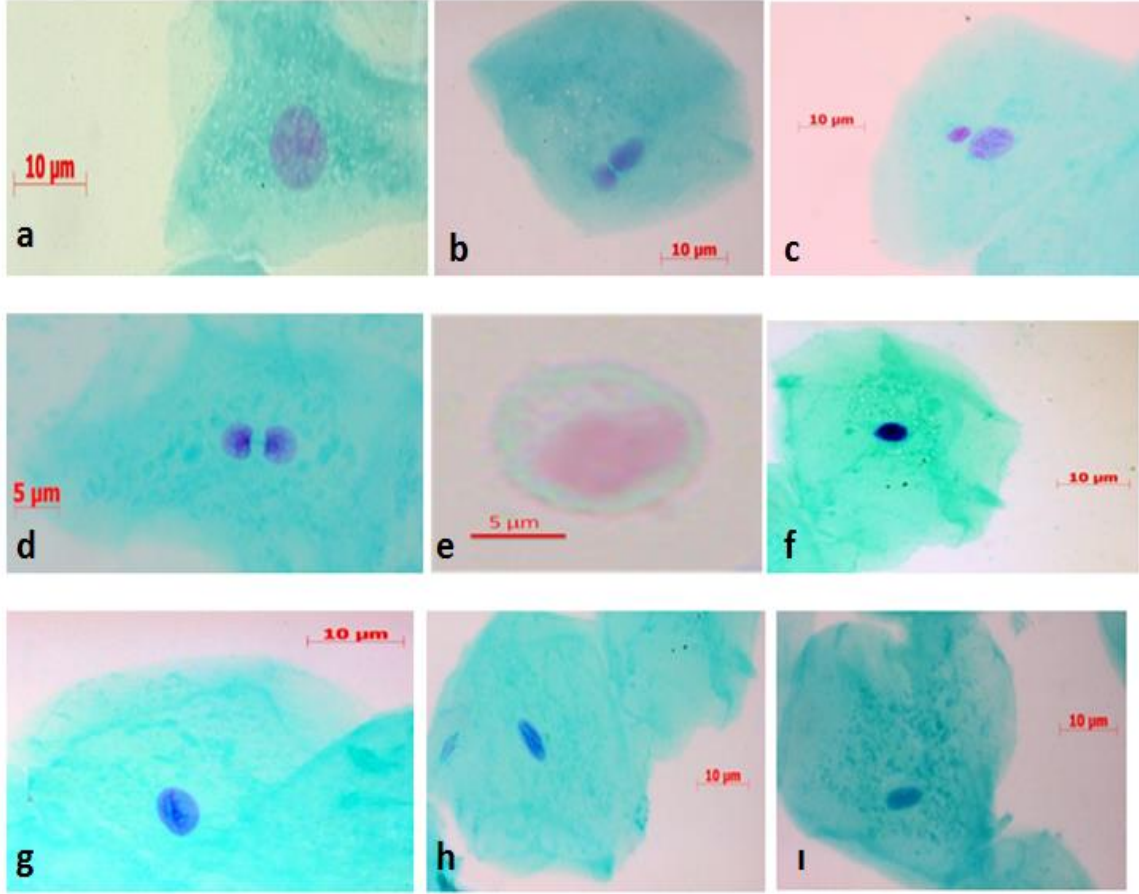
† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), b: Kontrol grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), c: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: Sigara içen grup ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), e: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,046$), g: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok ($p>0,007$).

Çizelge 4.17. Deney ve kontrol grubu bireylerin yanak epiteli hücrelerindeki diğer çekirdek anomalileri sıklıklarına ait (‰) veriler.

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	<i>p</i> -değeri †
Piknotik (PK)						0,002
Kontrol ^{a,b}	9,2	5,21	8,0	1,0	21,0	
Pasif ^{a,c}	5,3	3,70	4,0	1,0	15,0	
Sigara içen ^{c,d}	8,5	5,19	7,0	0,0	24,0	
E-sigara ^{b,d}	6,1	5,53	5,0	0,0	26,0	
Karyohektik (KH)						<0,001
Kontrol ^{a,b}	21,2	15,50	19,0	4,0	84,0	
Pasif ^{a,c}	30,7	15,04	30,5	6,0	56,0	
Sigara içen ^{c,d}	21,6	19,11	15,0	1,0	70,0	
E-sigara ^{b,d}	35,6	21,55	30,0	4,0	92,0	
Karyolitik (KL)						<0,001
Kontrol ^{b,e}	36,9	25,50	30,0	10,0	113,0	
Pasif ^c	47,1	29,59	38,5	13,0	122,0	
Sigara içen ^{c,e}	73,3	49,31	61,0	10,0	222,0	
E-sigara ^b	59,5	35,53	45,0	8,0	153,0	
Kondanse kromatin (KK)						0,006
Kontrol ^e	21,3	15,66	21,0	1,0	71,0	
Pasif ^c	17,8	12,66	15,0	2,0	60,0	
Sigara içen ^{c,e}	12,3	12,46	6,0	1,0	47,0	
E-sigara	14,7	9,93	11,5	5,0	50,0	
Binükleer (BN)						0,002
Kontrol ^e	1,0	1,24	1,0	0,0	5,0	
Pasif ^c	1,1	1,15	1,0	0,0	4,0	
Sigara içen ^{c,d,e}	2,8	3,26	2,0	0,0	16,0	
E-sigara ^d	0,9	1,17	1,0	0,0	4,0	
Bazal						<0,001
Kontrol ^{a,e}	1,7	2,24	1,0	0,0	7,0	
Pasif ^{a,c,h}	0,6	0,98	0,0	0,0	4,0	
Sigara içen ^{c,e}	4,2	5,57	3,0	0,0	29,0	
E-sigara ^h	1,9	1,89	1,0	0,0	8,0	
Nükleer tomurcuk (Bud)						0,005
Kontrol ^f	1,9	1,87	1,0	0,0	6,0	
Pasif ^{g,f}	1,3	2,16	1,0	0,0	9,0	
Sigara içen ^{g,ğ}	2,4	2,06	2,0	0,0	8,0	
E-sigara ^ğ	1,2	1,35	1,0	0,0	4,0	

† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile pasif maruziyet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), b: Kontrol grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), c: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), d: Sigara içen grup ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), e: Kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), f: Kontrol grubu ile pasif maruziyet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,037$), g: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), ğ: Sigara içen grup ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$), h: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$).

Resim 4.8’de e-sigara kullanan bir bireye ait yanak epitel hücrelerindeki MÇ ve çekirdek anomalileri görüntüsü sunulmuştur. Hücreler 1000 büyütmede ZEISS AIX10 Imager. M1 mikroskop ve Axio Cam MRc5 kamerası ile fotograflanmıştır.



Resim 4.8. E-sigara kullanan bireyde MÇ ve diğer çekirdek anomalileri görüntüsü

*100x büyütme (a: normal farklılaşmış, b: nükleer tomurcuk, c: mikroçekirdek, d: binükleer, e: bazal, f: piknotik, g: kondanse kromatin, h: karyohektik, i: karyolitik)

E-sigara kullanan bireylerde e-likit içeriğindeki nikotin miktarı ve sigara içen bireylerde günlük içilen sigara sayısına göre mikroçekirdek ve mikroçekirdekli hücre sayısı değerleri arasındaki korelasyon katsayıları Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.18. E-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile MÇ, MÇ’li hücre sayısı ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Korelasyon katsayısı	<i>p</i> -değeri †
MÇ	0,064	0,729
MÇ’li hücre	0,108	0,557

† Spearman's korelasyon testi.

Çizelge 4.19. Sigara içen grup içerisinde günlük içilen sigara sayısına göre olguların MÇ, MÇ'li hücre sayısı

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	p-değeri †
MÇ						0,403
1-10	7,6	6,78	6,5	0,0	20,0	
11-20	4,3	5,73	3,0	0,0	20,0	
>20	4,6	3,95	3,5	0,0	15,0	
MÇ'li hücre sayısı						0,378
1-10	5,3	3,88	5,5	0,0	10,0	
11-20	2,8	2,86	2,0	0,0	10,0	
>20	3,1	2,71	2,0	0,0	10,0	

† Kruskal Wallis testi.

Yapılan komet deneyi, yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyi sonuçları ve kotinin düzeyleri arasındaki korelasyon Çizelge 4.20'de sunulmuştur.

Çizelge 4.20. Tüm gruplar içerisinde kotinin ve kuyruk momenti düzeyleri ile MÇ, MÇ'li hücre sayısı ve BUD ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kotinin		Kuyruk Momenti	
	Korelasyon katsayısı	p-değeri †	Korelasyon katsayısı	p-değeri †
Kontrol*				
MÇ	-	-	0,246	0,167
MÇ'li hücre	-	-	0,247	0,165
BUD	-	-	0,056	0,757
Pasif maruziyet				
MÇ	0,238	0,189	0,178	0,329
MÇ'li hücre	0,195	0,285	0,349	0,050
BUD	-0,120	0,514	0,017	0,927
Sigara içen				
MÇ	0,018	0,923	0,025	0,891
MÇ'li hücre	0,008	0,965	0,009	0,960
BUD	-0,321	0,068	-0,039	0,831
E-sigara				
MÇ	0,179	0,326	-0,046	0,805
MÇ'li hücre	0,269	0,136	0,064	0,727
BUD	0,331	0,064	-0,168	0,359
Toplam				
MÇ	0,391	<0,001	0,126	0,153
MÇ'li hücre	0,422	<0,001	0,183	0,037
BUD	0,224	0,027	-0,106	0,232

† Spearman's korelasyon testi. *Kontrol grubunda kotinin değeri <LOD olduğundan hesaplamalara katılmamıştır.

Mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomalileri sıklıklarının mikroskopik değerlendirmesi sırasında okuyucudan kaynaklı gerçekleşebilecek değişkenliği tespit etmek için 130 kişiye ait preparatlardan 50 tanesi seçilerek ikinci kez çift kör olarak okunmuştur. Seçilen 50 kişiye ait birinci okuma ve ikinci okuma arasında % güvenilirlik analizinin değerlendirildiği sonuçlar ise Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.22’de gösterilmiştir. Sonuçlara göre birinci ve ikinci okuma arasında MÇ sayısında değişkenlik katsayısı % 95 iken, MÇ’li hücre sayısında bu oran % 78 dir. Diğer çekirdek anomalilerine ait sınıf güvenilirlik katsayıları nükleer tomurcuk (% 45), binükleer (% 31), kondanse kromatin (% 54), piknotik (% 60), karyolitik (%72) ve bazal (%42) olarak tespit edilmiştir. Çekirdek anomalileri arasında karyohektik hücrelerde birinci ve ikinci okunmasında güvenilirlik katsayısı % 82 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. Birinci ve ikinci mikroskop okumasındaki MÇ, MÇ’li hücre ölçümleri arasındaki sınıf içi güvenilirlik katsayıları

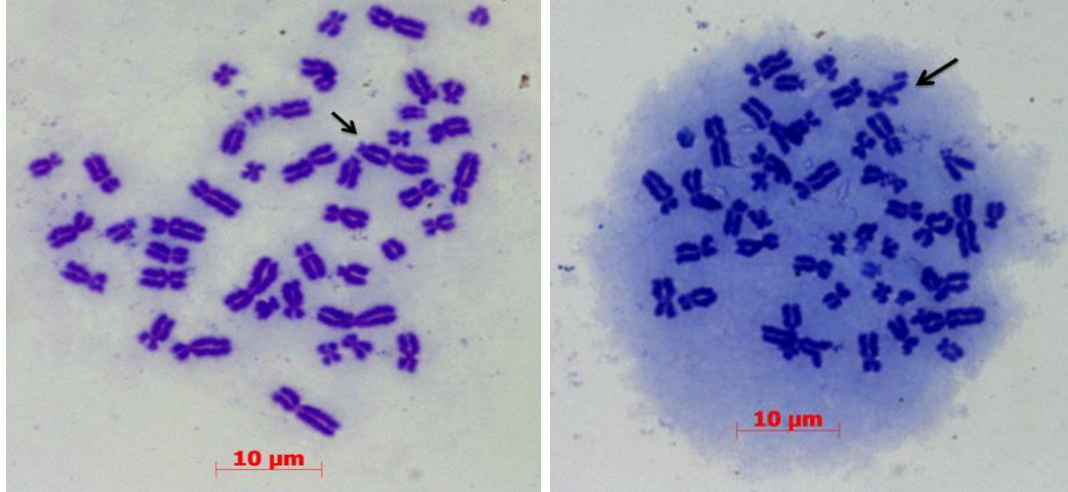
	Güvenilirlik katsayısı (%)
MÇ	95
MÇ’li hücre	78

Çizelge 4.22. Diğer çekirdek anomalilerine ait birinci ve ikinci mikroskop okumasındaki sınıf içi güvenilirlik katsayıları

	Güvenilirlik katsayısı (%)
Nükleer tomurcuk	45
Binükleer	31
Kondanse Kromatin	54
Karyohektik	82
Piknotik	60
Karyolitik	72
Bazal	42

4.5. Kromozomal Aberasyon Deneyi Sonuçları

Çalışmaya katılan e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon (KA) çeşitleri ve sıklıkları Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24’de gösterilmiştir. E-sigara kullanan bireye ait 1000 büyütmede ZEISS AIX10 Imager. M1 mikroskop ve Axio Cam MRc5 kamerası ile fotoğraflanmış olan disentrik kromozom ve kromatid kırık görüntüsü Resim 4.9’da gösterilmiştir.



Resim 4.9. Çalışmada incelenen e-sigara kullanan bir bireye ait kromozomal aberasyon görüntüsü

Çizelge 4.23. E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon sonuçları

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	p-değeri †
Kromatid kırığı						0,008
Kontrol	1,1	1,43	0,0	0,0	4,0	
Pasif ^a	0,9	1,08	1,0	0,0	4,0	
Sigara içen ^{a,b}	0,4	0,79	0,0	0,0	4,0	
E-sigara ^b	2,5	3,22	1,0	0,0	11,0	
Kromatid gap						0,090
Kontrol	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	
Pasif	0,3	0,82	0,0	0,0	4,0	
Sigara içen	0,0	0,17	0,0	0,0	1,0	
E-sigara	0,3	1,12	0,0	0,0	5,0	
Kromozom kırığı						0,399
Kontrol	1,6	2,36	0,0	0,0	8,0	
Pasif	0,5	0,95	0,0	0,0	5,0	
Sigara içen	0,8	1,11	0,0	0,0	4,0	
E-sigara	0,8	1,40	0,0	0,0	6,0	
Kromozom gap						<0,001
Kontrol ^c	0,1	0,38	0,0	0,0	2,0	
Pasif ^{a,c,d}	1,4	2,65	0,0	0,0	12,0	
Sigara içen ^a	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	
E-sigara ^d	0,1	0,35	0,0	0,0	2,0	
Asentrik fragment						0,206
Kontrol	1,4	1,73	1,0	0,0	6,0	
Pasif	1,0	1,31	0,5	0,0	5,0	
Sigara içen	2,2	2,27	1,0	0,0	8,0	
E-sigara	3,9	6,72	0,0	0,0	27,0	

† Kruskal Wallis testi, a: Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), b: Sigara içen grup ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), c: Kontrol grubu ile pasif maruziyet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,030$), d: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,019$).

Çizelge 4.24. E-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon ve MI sonuçları

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Min.	Maks.	p-değeri †
Disentrik kromozom						0,225
Kontrol	0,6	1,09	0,0	0,0	4,0	
Pasif	1,0	1,08	1,0	0,0	3,0	
Sigara içen	0,9	1,57	0,0	0,0	6,0	
E-sigara	1,3	1,82	0,0	0,0	6,0	
Kromatid tipi halka						0,065
Kontrol	0,3	0,59	0,0	0,0	2,0	
Pasif	0,2	0,47	0,0	0,0	2,0	
Sigara içen	0,6	1,14	0,0	0,0	4,0	
E-sigara	1,1	1,79	0,0	0,0	7,0	
Disentrik halka						0,856
Kontrol	0,6	0,96	0,0	0,0	3,0	
Pasif	0,9	1,49	0,0	0,0	6,0	
Sigara içen	0,7	1,33	0,0	0,0	5,0	
E-sigara	0,8	1,30	0,0	0,0	4,0	
Mitotik indeks						<0,001
Kontrol ^a	5,3	3,79	3,8	1,7	19,5	
Pasif ^b	7,3	4,65	6,8	1,3	18,1	
Sigara içen ^c	5,0	2,86	4,2	0,9	10,6	
E-sigara ^{a,b,c}	3,6	2,96	2,7	0,9	11,4	

† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,020), b: Pasif maruziyet grubu ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001), c: Sigara içen grup ile E-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,019).

E-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile aberasyon ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri de araştırılmıştır. Bu araştırmaya ait bilgiler Çizelge 4.25’de gösterilmiştir. Kromozomal aberasyon çalışmasında sigara içen grupta bulunan bireyler günlük içtikleri sigara miktarına göre alt gruplara ayrılmıştır ve sigara içen grup içerisinde günlük tüketilen sigara sayısına göre yapılan aberasyon ölçümleri Çizelge 4.26’da sunulmuştur. Çizelge 4.27, 4.28, 4.29 ve 4.30’da çalışmada yapılan komet, kromozomal aberasyon, mikroçekirdek deneyi ve kotinin analizine ait deneyler arası korelasyonlar sunulmuştur.

Çizelge 4.25. E-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile aberasyon ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

Değişkenler	Korelasyon katsayısı	p-değeri †
Kromatid kırığı	-0,197	0,279
Kromatid gap	0,064	0,730
Kromozom kırığı	-0,040	0,829
Kromozom gap	-0,050	0,787
Asentrik fragment	-0,133	0,468
Disentrik kromozom	-0,009	0,961
Kromatid tipi halka	-0,038	0,837
Disentrik halka	-0,226	0,214
Mitotik indeks	-0,094	0,608

† Spearman's korelasyon testi.

Çizelge 4.26. Sigara içen grup içerisinde günlük tüketilen sigara sayısına göre alt grupların aberasyon ölçümleri

	Ortalama	Std.Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p-değeri †
Kromatid kırığı						0,107
1-10 adet	0,6	0,52	1,0	0,0	1,0	
11-20 adet	0,2	0,40	0,0	0,0	1,0	
>20 adet	0,4	1,09	0,0	0,0	4,0	
Kromatid gap						0,210
1-10 adet	0,1	0,35	0,0	0,0	1,0	
11-20 adet	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	
>20 adet	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	
Kromozom kırığı						0,337
1-10 adet	1,1	1,36	0,5	0,0	3,0	
11-20 adet	0,4	0,67	0,0	0,0	2,0	
>20 adet	0,9	1,21	0,5	0,0	4,0	
Asentrik fragment						0,133
1-10 adet	2,3	2,55	1,0	0,0	8,0	
11-20 adet	1,2	1,60	1,0	0,0	5,0	
>20 adet	2,9	2,41	3,0	0,0	8,0	
Disentrik kromozom						0,092
1-10 adet	0,3	0,46	0,0	0,0	1,0	
11-20 adet	0,5	1,29	0,0	0,0	4,0	
>20 adet	1,6	1,95	1,0	0,0	6,0	
Kromatid tipi halka						0,033
1-10 adet	0,8	1,39	0,0	0,0	3,0	
11-20 adet ^a	0,0	0,00	0,0	0,0	0,0	
>20 adet ^a	1,0	1,30	0,5	0,0	4,0	
Disentrik halka						0,332
1-10 adet	0,6	1,19	0,0	0,0	3,0	
11-20 adet	0,3	0,65	0,0	0,0	2,0	
>20 adet	1,1	1,70	0,0	0,0	5,0	
Mitotik indeks						0,351
1-10 adet	5,5	3,07	4,1	1,7	10,6	
11-20 adet	3,9	2,75	3,4	0,9	9,3	
>20 adet	5,6	2,81	5,8	1,5	10,1	

† Kruskal Wallis testi, a: 11-20 adet grubu ile >20 adet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,002).

Çizelge 4.27. Kontrol grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk momenti	MÇ	MÇ'li hücre	BUD
Kromatid kırığı				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	-0,267	0,291	0,275	-0,133
<i>p-değeri †</i>	0,133	0,101	0,122	0,460
Kromozom kırığı				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	-0,182	0,307	0,313	0,088
<i>p-değeri †</i>	0,310	0,082	0,076	0,625
Kromozom gap				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	-0,266	0,349	0,349	0,055
<i>p-değeri †</i>	0,135	0,046	0,046	0,763
Asentrik fragment				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	-0,104	0,256	0,248	0,012
<i>p-değeri †</i>	0,563	0,150	0,164	0,947
Disentrik kromozom				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	-0,206	0,269	0,255	0,134
<i>p-değeri †</i>	0,250	0,130	0,152	0,458
Kromatid tipi halka				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	0,084	0,091	0,075	-0,142
<i>p-değeri †</i>	0,641	0,616	0,678	0,431
Disentrik halka				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	0,154	0,244	0,230	0,254
<i>p-değeri †</i>	0,391	0,171	0,198	0,154
Mitotik indeks				
<i>Korelasyon katsayısı</i>	0,345	0,458	0,458	0,084
<i>p-değeri †</i>	0,049	0,007	0,007	0,642

† Spearman's korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 4.28. Pasif maruziyet grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk momenti	MÇ	MÇ'li hücre	BUD
Kromatid kırığı				
Korelasyon katsayısı	0,279	-0,052	0,034	0,187
p-değeri †	0,122	0,779	0,853	0,305
Kromatid gap				
Korelasyon katsayısı	0,019	0,048	0,098	0,287
p-değeri †	0,918	0,795	0,592	0,111
Kromozom kırığı				
Korelasyon katsayısı	0,236	0,049	0,093	0,088
p-değeri †	0,193	0,790	0,612	0,632
Kromozom gap				
Korelasyon katsayısı	-0,219	-0,364	-0,315	0,449
p-değeri †	0,229	0,041	0,079	0,010
Asentrik fragment				
Korelasyon katsayısı	0,166	-0,078	-0,060	0,032
p-değeri †	0,365	0,673	0,746	0,864
Disentrik kromozom				
Korelasyon katsayısı	-0,314	-0,088	-0,109	-0,035
p-değeri †	0,080	0,632	0,551	0,848
Kromatid tipi halka				
Korelasyon katsayısı	0,143	0,267	0,249	-0,178
p-değeri †	0,435	0,139	0,169	0,330
Disentrik halka				
Korelasyon katsayısı	-0,105	-0,088	-0,048	0,146
p-değeri †	0,566	0,631	0,794	0,424
Mitotik indeks				
Korelasyon katsayısı	-0,343	-0,008	-0,058	-0,062
p-değeri †	0,055	0,964	0,751	0,737

† Spearman's korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 4.29. Sigara içen grup içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk momenti	MÇ	MÇ'li hücre	BUD
Kromatid kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,319	0,183	0,246	-0,150
p-değeri †	0,071	0,307	0,168	0,404
Kromatid gap				
Korelasyon katsayısı	0,074	0,224	0,216	-0,144
p-değeri †	0,681	0,210	0,227	0,425
Kromozom kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,267	-0,226	-0,234	0,073
p-değeri †	0,133	0,206	0,191	0,687
Asentrik fragment				
Korelasyon katsayısı	-0,146	0,078	0,044	0,111
p-değeri †	0,419	0,665	0,809	0,538
Disentrik kromozom				
Korelasyon katsayısı	-0,109	-0,239	-0,279	0,066
p-değeri †	0,547	0,180	0,116	0,716
Kromatid tipi halka				
Korelasyon katsayısı	-0,023	-0,017	-0,011	0,088
p-değeri †	0,900	0,926	0,952	0,624
Disentrik halka				
Korelasyon katsayısı	-0,216	0,087	0,015	0,056
p-değeri †	0,227	0,628	0,934	0,755
Mitotik indeks				
Korelasyon katsayısı	-0,118	0,066	0,053	-0,100
p-değeri †	0,513	0,715	0,770	0,581

† Spearman's korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 4.30. E-sigara grubu içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk momenti	MÇ	MÇ'li hücre	BUD
Kromatid kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,452	-0,075	-0,161	0,242
p-değeri †	0,009	0,682	0,380	0,182
Kromatid gap				
Korelasyon katsayısı	-0,043	-0,387	-0,383	-0,054
p-değeri †	0,815	0,029	0,030	0,769
Kromozom kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,503	0,295	0,159	0,164
p-değeri †	0,003	0,101	0,386	0,370
Kromozom gap				
Korelasyon katsayısı	0,010	-0,232	-0,235	-0,184
p-değeri †	0,958	0,202	0,195	0,312
Asentrik fragment				
Korelasyon katsayısı	-0,335	0,212	0,135	0,277
p-değeri †	0,061	0,245	0,460	0,125
Disentrik kromozom				
Korelasyon katsayısı	-0,328	-0,167	-0,285	0,103
p-değeri †	0,067	0,362	0,114	0,574
Kromatid tipi halka				
Korelasyon katsayısı	-0,289	-0,036	-0,037	0,329
p-değeri †	0,108	0,846	0,841	0,066
Disentrik halka				
Korelasyon katsayısı	-0,303	-0,372	-0,458	-0,037
p-değeri †	0,092	0,036	0,008	0,841
Mitotik indeks				
Korelasyon katsayısı	-0,136	0,160	0,159	0,082
p-değeri †	0,458	0,382	0,385	0,656

† Spearman's korelasyon testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çizelge 4.31. Tüm olgular içerisinde kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre ve BUD ile aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri

	Kuyruk momenti	MÇ	MÇ'li hücre	BUD
Kromatid kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,082	-0,038	-0,035	-0,033
p-değeri †	0,351	0,666	0,691	0,711
Kromatid gap				
Korelasyon katsayısı	0,102	-0,101	-0,092	-0,024
p-değeri †	0,247	0,251	0,298	0,790
Kromozom kırığı				
Korelasyon katsayısı	-0,183	0,085	0,069	0,126
p-değeri †	0,037	0,337	0,433	0,155
Kromozom gap				
Korelasyon katsayısı	-0,096	-0,210	-0,196	0,039
p-değeri †	0,279	0,016	0,026	0,662
Asentrik fragment				
Korelasyon katsayısı	-0,113	0,186	0,167	0,134
p-değeri †	0,201	0,034	0,058	0,128
Disentrik kromozom				
Korelasyon katsayısı	-0,167	-0,063	-0,105	0,037
p-değeri †	0,058	0,475	0,233	0,680
Kromatid tipi halka				
Korelasyon katsayısı	-0,003	0,081	0,071	0,042
p-değeri †	0,972	0,359	0,423	0,638
Disentrik halka				
Korelasyon katsayısı	-0,084	-0,065	-0,090	0,074
p-değeri †	0,343	0,465	0,311	0,400
Mitotik indeks				
Korelasyon katsayısı	-0,095	0,082	0,067	-0,017
p-değeri †	0,280	0,355	0,449	0,849

† Spearman's korelasyon testi.

4.6. Çalışma Gruplarına Uygulanan Anket Sonuçlarının Değerlendirilmesi

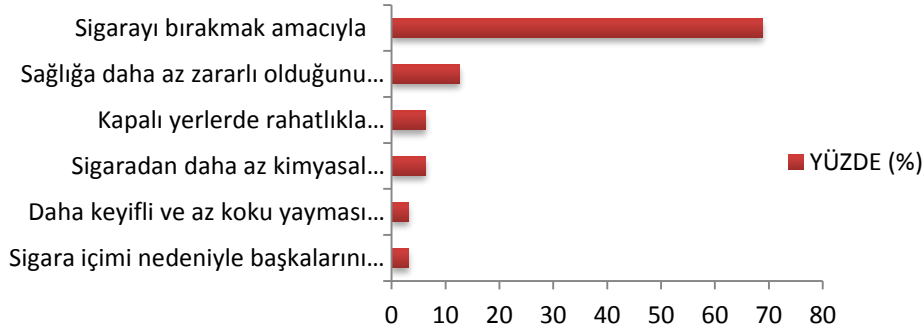
Tez çalışmasına gönüllü olarak katılan her bireye anket uygulanmıştır. Uygulanan anketler (EK-4) e-sigara kullanıcıları için e-sigara kullanım alışkanlığını, kullanma sıklığını, e-sigara içeriğindeki nikotin miktarını öğrenmeye yönelik spesifik sorular da içermektedir. Çalışmaya katılarak kendisine anket uygulanan 32 e-sigara kullanıcısının e-sigarayı tercih etme nedenleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. E-sigara kullanan bireylerin % 68,75'i sigarayı bırakmak amacıyla, % 12,5'i sağlığa daha az zararlı olduğunu düşünmeleri nedeniyle, % 6,25'i kapalı yerlerde rahatlıkla içebilmek amacıyla ve sigaradan daha az kimyasal içerdiğini düşünmeleri nedeniyle, % 3,12'si daha keyifli olduğunu düşünmeleri, az koku yayması ve sigara içimi nedeniyle başkalarını rahatsız etmemek amacıyla e-sigara kullanımını tercih etmektedirler.

Yapılan anketlerde e-sigara kullanıcılarına e-likitteki nikotin miktarları da sorulmuş ve not edilmiştir. Çalışmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-likit nikotin miktarı bilgileri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. E-sigara kullanan bireylerin % 3,12'si e-likitlerinde 4 mg/ml nikotini tercih etmekteyken, % 9,37'si 6 mg/ml içeren e-likiti, % 21,87'si 9 mg/ml içeren e-likiti, % 15,62'si 11 mg/ml içeren e-likiti, % 9,37'si 16 mg/ml içeren e-likiti, % 34,37'si 18 mg/ml içeren e-likiti ve % 6,25'i ise 24 mg/ml nikotin içeren e-likitleri kullanmaktadırlar.

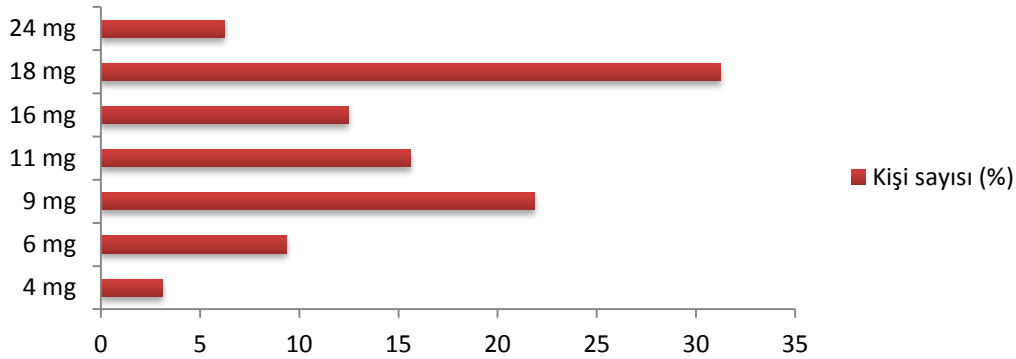
Uygulanan anketlerde e-sigara kullanıcılarına e-likitte tercih ettikleri gıda aroması türü de sorulmuş ve not edilmiştir. E-sigara kullanıcılarının çoğu kahve ve tütün aromalı e-likit tercih ederlerken hazır olarak e-likit almayıp evde farklı gıda katkı maddelerini karıştırarak aroma hazırlayan kullanıcılar da mevcuttur. E-likitteki gıda aromaları çeşidine yönelik bilgiler Şekil 4.8'de gösterilmiştir. E-sigara kullanıcılarının % 15,6'sı kahve, % 12,5'i tütün, nane ve vanilya, % 9,3'ü vişne, % 6,2'si redbull ve elma aromalı ya da aromasız e-likit kullanımını tercih ederken % 3,1'i kendileri tarafından farklı aromaların karıştırılmasıyla yaptıkları karışık aromaları ya da çikolata, kapuçino, absint aromalarını e-likitlerinde kullanmayı tercih etmektedirler.

Ülkemizde kullanılan e-sigara çeşitlerinin ve araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarının hangi tipte e-sigara (birinci nesil ya da ikinci nesil) kullandıklarının, belirlenmesi amacıyla kullanıcılara ait e-sigaralar da fotoğraflanmıştır. Resim 4.10'de araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-sigaraların resimleri sunulmuştur. Çalışmaya katılan, e-sigara kullanan 32 bireyin 21'i 1. nesil e-sigara kullanırken 11'i doğrudan damlatma tekniği ile çalışan

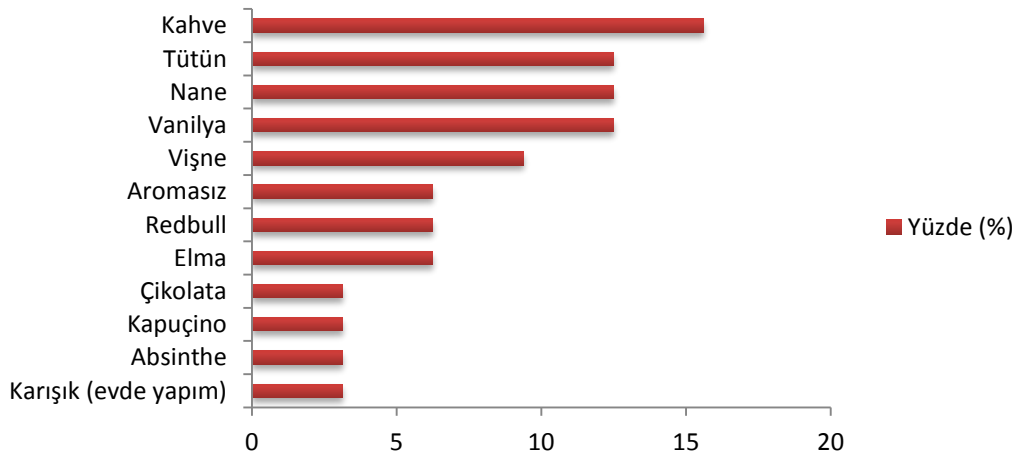
ikinci nesil e-sigaraları kullanmayı tercih ettiği görülmüştür. E-sigara kullanıcılarına ait e-likit bilgileri içeriğindeki nikotin miktarının öğrenilebilmesi açısından önem kazanmaktadır. Çalışmaya katılan gönüllülere ait e-likit resimleri Resim 4.11’de sunulmuştur.



Şekil 4.6. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-sigarayı tercih etme nedenleri



Şekil 4.7. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-likitteki nikotin miktarları



Şekil 4.8. Araştırmaya katılan kullanıcıların e-likitteki aroma tercihleri



Resim 4.10. Araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-sigara resimleri



Resim 4.11. Araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-likitlerin resimleri

5. TARTIŞMA

Sunulan tez çalışması tüm toplumlarda kullanım sıklığı giderek artan e-sigaranın güvenliğine yönelik olarak ihtiyaç duyulan bilgilerin oluşmasına katkı sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla özellikle e-sigara kullanan bireylerin e-sigara kaynaklı çeşitli kimyasallara maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkabilecek genotoksisite sonuçlarının ilk kez elde ediliyor olması çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca bağımlılığın önemli bir komponenti olan nikotine e-sigara kullanımı yoluyla maruz kalınmasının, nikotin tipi bağımlılığın devamı açısından ne derece önemli olduğunun saptanması da bu çalışmanın en önemli çıktılarından biridir. Mevcut çalışmadan elde edilen genotoksisite ve nikotin maruziyeti değerleri ayrıca bu değerlerin birbirleriyle ilişkili olup olmadığının araştırılması da çalışmamıza ayrı bir özgünlük katmaktadır. Diğer bir değişle sunulan çalışma e-sigara kullanan bireylerden elde edilen genotoksisite değerleri ve nikotin bağımlılığına yönelik değerleri içermesi açısından bir ilk olup, DSÖ'nün "e-sigara güvenliği" konusunda eksikliğini duyduğu pek çok veriye bilgi eklemesi açısından son derece önemlidir.

İdrar Kotinin Düzeyleri

Tütün ürünlerinde en önemli alkaloid nikotindir. Tütün ürünleri kullanan insanlarda nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için kotinin düzeyinden yararlanılmaktadır. Kotinin, nikotinin ana metabolitidir ve nikotinin % 70'i C-oksidasyon ile kotinine dönüşmektedir. Sigara içen, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan insanların nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için kan, idrar, tükürük gibi vücut sıvılarında kotinin düzeyinin tayini sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Miller ve Cocores, 1993; Hammond, 2004:3,28). Nikotinin büyük bir kısmının kotinine dönüşerek atılması, kotininin yarı ömrünün nikotine göre daha uzun olması, vücut sıvılarında tespitin kolaylıkla yapılabilmesi gibi nedenlerle epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için hassas ve spesifik bir biyogösterge olarak kotinin kullanılmaktadır (Benowitz ve Jacob, 1994). Yapılan literatür taramasında e-sigara kullanan kişilerde idrar örneklerinde nikotin maruziyetinin değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle nikotin maruziyetinin biyogöstergesi olan kotininin de değerlendirilmesi çalışma kapsamı içine alınmıştır. Ayrıca e-sigara, klasik sigarayla karşılaştırıldığında daha az miktarda olsa da formaldehit, asetaldehit, akrolein (Westenberger, 2009; Goniewicz ve diğerleri, 2013a) ve

insanlarda karsinojenik özelliğe sahip olan tütüne özgü nitrozaminler (N-nitrozonornikotin–NNN ve 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon–NNK) gibi toksik kimyasal maddeler içermektedir (Fischer, Spiegelhalder, Preussmann, 1991). Çalışmalar e-sigara kartuşunda 3,9–8,2 ng NNN ve NNK'nın bulunabileceğini göstermektedir (Westenberger, 2009; Goniewicz ve diğerleri, 2013a). Sunulan tez çalışmasındaki kotinin düzeyi sonuçları e-sigara kullanan kişilerdeki potansiyel NNN ve NNK maruziyet düzeyinin de anlaşılabilmesine yardım edecektir. Bu nedenlerle çalışmaya katılan gönüllülerden nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için idrar örnekleri alınmış ve kotinin tayini yapılmıştır.

Yüksek Performans Likit Kromatografi Kütle Spektrometresi (HPLC), Radioimmunoassay (RIA), Enzim İmmünoassay Kitleri (EIA), Chemiluminescent immünoassay (Immulate); tükürük, serum ve idrar gibi vücut sıvılarında kotinin tayininde tercih edilen analiz yöntemlerindendir. Fakat onaylanmış analitik bir test sonucunun elde edilmesi için alternatif olarak daha spesifik bir kimyasal metot kullanılmalıdır. Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ve/veya Likit Kromatografi/Kütle/Kütle/ Spektrometresi (LC/MS/MS) kotinin tayininde tercih edilen metotlardır (Lawson ve diğerleri, 1998; Tuomi, Johnsson, Reijula, 1999; Bramer ve Kallungal, 2003; Binnie ve diğerleri, 2004; Park, Lee, Park, Lee, Chung, 2010). Çalışma kapsamında idrar örneklerinde kotinin analizi GC MS yardımıyla yapılmıştır.

E-sigara kullanımı ve sigara içiminin karşılaştırıldığı bazı çalışmalar, aynı miktarda nefes alımında e-sigara kullanan kişilerde daha az nikotin absorpsiyonu olduğunu ileri sürmektedirler (Eissenberg, 2010; Vansickel ve diğerleri, 2010). E-sigara kullanımında 15 nefeste alınan nikotin miktarı 0,5 ve 15,4 mg dir. Çoğu analiz göstermektedir ki e-sigara kullanımındaki ilk 150-180 nefeste nikotinin büyük bir bölümü, yaklaşık olarak % 50-60'ı buharla alınmaktadır (Goniewicz ve diğerleri, 2013b). E-sigara buharıyla nikotinin hızlı bir şekilde alınıyor olması bağımlılık riskini arttırabilmektedir. Bazı çalışmalar e-sigaranın sigara bırakma tedavisinde kullanılabileceğini (Bullen ve diğerleri, 2010; Etter ve Bullen, 2011a) bazı çalışmalar ise e-sigaranın nikotin tipi bağımlılığa neden olabileceğini rapor etmişlerdir (Vickerman ve diğerleri, 2013). Sunulan tez çalışması ile e-sigara kullanımının nikotin tipi bağımlılığın tedavisinde rol oynayıp oynamayacağına da cevap aranmış olup bu amaçla e-sigara kullanan kişilerden elde edilen kotinin değerleri sigara içen kişilerden elde edilen kotinin değerleri ile karşılaştırılmıştır. Nitekim e-sigara kullanan bireylerde

(n=32) kotinin konsantrasyonu 1656 ± 1633 ng/g kreatinin, sigara içen bireylerde (n=33) 1695 ± 1267 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7). E-sigara kullanan ve sigara içen bireylerde kotinin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bu değerler, kotinin düzeyleri karşılaştırıldığında e-sigara kullanan kişilerin en az sigara içen bireyler kadar nikotine maruz kaldıklarını göstermektedir. Kotinin, nikotin maruziyetinin biyogöstergesi olduğundan sigara içen bireyler ve e-sigara kullanan bireyler arasında istatistiki bir farkın bulunmayışı nikotin bağımlılığı düşünüldüğünde önem arz etmektedir. Çünkü sigarayı bir alışkanlık olmaktan öte götüren ve bir bağımlılık olarak kabul görmesine neden olan madde içeriğindeki nikotindir. Son yıllarda e-sigara kullanım sıklığının geçler arasında artış göstermesi hatta hiç sigara kullanmamış kişilerin e-sigara kullanımına başlaması nikotin tipi bağımlılığa neden olabilecek yeni bir ürünle karşı karşıya kalabileceğimiz ihtimalini ortaya koymaktadır. Sonuçlarımız göstermektedir ki, e-sigara kullanan kişiler en az sigara içen kişiler kadar nikotine maruz kalmakta, bu durum da en az sigara içenler kadar nikotin bağımlılığı riskiyle karşı karşıya kalabilme ihtimalini ortaya çıkarmaktadır. E-sigara kullanan kişilerin e-likitlerde kullandıkları nikotin miktarı ve idrar kotinin düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu durum bize e-likitteki nikotin miktarı ile idrar kotinin düzeyi arasında korelasyon olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9). Sigara içen bireyler ise kotinin miktarı 1-10 sigara/gün içenlerde $1007,7$ ng/g kreatinin; 11-20 sigara/gün içenlerde $2286,7$ ng/g kreatinin ve günde 20 sigara üzerinde içenlerde $1624,0$ ng/g kreatinin olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Bu verilere göre sigara içenler sigara/gün alt grubuna ayrıldığında alt gruplarda kotinin düzeyleri arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır ($p = 0,066$). İçilen sigara miktarı ve kotinin düzeyi arasında korelasyonun bulunmayışının nedeni olarak sigaradan alınan nefes miktarı, kotininin yarılanma süresinin ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Her ne kadar çalışmamızda elde edilen kotinin düzeyleri ile sigara içen bireylerden elde edilen kotinin değerleri ortalamaları arasında bir fark bulunmamışsa da e-sigara kullanan kişilerin kotinin değerlerinin sigaraya pasif olarak maruz kalan kişilerin kotinin değerleri ile karşılaştırılması bu çalışmayı ayrıca önemli kılmaktadır. Çünkü literatürde bu konuda da bilgi eksikliği mevcuttur. Nitekim sigaraya pasif maruz kalanlardan elde edilen kotinin düzeyleri ortalaması (83 ± 98 ng/g kreatinin) (Çizelge 4.7) e-sigara kullananlardan elde edilen kotinin düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı derece düşük bulunmuştur ($p < 0.001$).

Sonuçlar göstermektedir ki e-sigara kullanan kişiler, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan kişilerden daha fazla olarak nikotine maruz kalmaktadırlar. Bu durumdan ayrıca gerek nikotinden gerekse e-sigaranın kendisinden kaynaklı diğer toksik kimyasallara da e-sigara kullanıcılarının pasif içicilerden daha fazla maruz kaldığı şeklinde bir ön düşüncenin de doğmasına neden olabilir. Bu düşünce ancak e-sigara kullanan bireylerden sağlanacak biyolojik numunelerde ilgili toksik maddelerin düzeylerinin saptanmasıyla ortaya konulabilir.

E-sigara kullanan bireylerden elde edilen kotinin değerlerinin sigara içen ve sigaraya pasif olarak maruz kalan kişilerden elde edilen kotinin değerleri ile karşılaştırılması nikotin maruziyetinin belirlenmesi açısından önemli olup, benzer karşılaştırmalara literatürde rastlanmamıştır. Diğer yandan literatürde sigara içen ve sigaraya pasif olarak maruz kalan bireylere yönelik elde edilmiş çok çeşitli kotinin sonuçları vardır. Daha önceden de belirtildiği gibi, özellikle idrarda kotinin düzeyinin belirlenmesi genel olarak tütün ve tütün ürünlerine maruziyette önemli bir biyolojik gösterge olarak değerlendirildiğinden, pek çok biyoizleme çalışmasında kullanılmaktadır. Örneğin, Haufroid ve Lison (1998) tarafından yapılan derlemede sigara dumanına pasif olarak maruz kalan kişilerde idrar kotinin düzeyinin 20-100 ng/ml aralığında bulunabileceği bildirilmiştir. Massadeh, Gharaibeh, Omari (2009) tarafından GC-MS kullanılarak yapılan çalışmada sigara içen kişilerin idrarında kotinin konsantrasyonu 6-3946 ng/ml aralığında ve ortalama olarak 865 ng/ml olarak bulunmuştur. Sigara içen kişilerin sonuçları sigara içmeyen kişilerin idrar örnekleriyle karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu ortaya koymaktadır ($p<0,05$). Levine ve diğerleri (2013) İsrail’de yaptıkları çalışmada sigara içenlerde ($n=91$) ve sigara içmeyen kontrol grubunda ($n=153$) idrar kotinin düzeyini araştırmışlardır. Kotinin düzeyi sigara içenlerde 89,7 µg/g kreatinin olarak bulunurken sigara içmeyenlerde 1,3 µg/g kreatinin olarak bulunmuştur. Aurrekoetxea ve diğerleri (2013) tarafından yapılan araştırmada 2263 hamile kadın üzerinde enzim immunoassay (EIA) tekniği kullanılarak pasif sigara maruziyeti nedeniyle oluşan idrar kotinin düzeyi ortalama 82 ng/ml olarak bulunmuştur. Sigara içen kişilerde idrar kotinin ortalama düzeyi 1744,3 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu değer günde 1-2 sigara içen kişilerde 1036,4 ng/ml; günde 3-4 sigara içen kişilerde 1330,7 ng/ml; 5-9 sigara içen kişilerde 1848,5 ng/ml olarak bulunurken günde 10 ve üzeri sigara içen kişilerde ortalama değeri 3033,0 ng/ml olarak bulunmuştur. Gulati ve diğerleri (2014) tarafından yapılan çalışmada günde 10 sigara ve üzerinde içen kişilerin idrar örneklerinde kotinin düzeyi 1695 ± 976 ng/ml olarak

bulunmuştur. İspanya’da hamile ve sigara dumanına pasif maruz kalmış olan 1783 kadın üzerinde yapılan ve LOQ değeri 4,0 ng/ml olan çalışma sonucunda idrar kotinin düzeyi 7,6 µg/gr kreatinin olarak bulunmuştur (Aurrekoetxea ve diğerleri, 2014). Lupsa ve diğerleri (2015) tarafından Romanya’da sigara dumanına pasif olarak maruz kalan anne ve çocukları (n=360) üzerinde yapılan çalışmada annesi sigara içen çocukların idrar kotinin düzeyi 0,489 µg/g kreatinin olarak bulunurken annesi sigara içmeyen fakat çevresel sigara dumanı maruziyeti olan çocuklarda kotinin düzeyi 0,573 µg/g kreatinin olarak bulunmuştur. Brajenović, Karačonji, Bulog (2015) GC-MS kullanarak idrar örneklerinde yaptıkları çalışmada kotinin değerini 18,0–1943 µg/l aralığında ve ortanca değerini 356 µg/l olarak bulunmuşlardır. Bu çalışmalara göre sigara içen ve sigara dumanına pasif maruz kalan kişilerde elde edilen kotinin konsantrasyon değerleri ile çalışmamızda elde ettiğimiz değerler benzer sonuçları ortaya koymaktadır.

Çalışmamız kapsamında ayrıca sağlıklı ve sigara içmeyen, sigara dumanına maruz kalmamış bireylerden (n=33) de idrar örneği alınmış ve kotinin metabolitine bakılmıştır. Fakat elde edilen veriler teşhis alt sınırından da düşük olduğu için (<LOD) kotinin değeri tespit edilememiştir. Bu nedenle kotinin sonuçlarının karşılaştırılması e-sigara kullanan, sigara içen ve sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerden elde edilen sonuçlar arasında yapılmış olup kontrol grubu dahil edilmemiştir.

Ayrıca çalışmamızda idrarda kotinin atılımının kreatinin miktarına bağlı olarak değişim gösterebilmesi nedeniyle kreatininle düzeltme yapılmıştır. 24 saatlik idrarda çalışılması daha doğru sonuçlar verebilecek olsa da gönüllülerden idrar örnekleri spot olarak alındığı için toplam varyansın elde edilebilmesi ve daha geniş bir kabul görmesi nedeniyle idrar örneklerinden analizi yapılmış olan kotinin değerlerine kreatininle düzeltme yapılmıştır.

Her ne kadar e-sigara kullanımına bağlı olarak maruz kalınan nikotin/kotinin düzeylerini idrarda belirleyen bir çalışma olmadığı yukarıda konu edilmiş olsa da, e-sigara kullanan kişilerin idrar dışında plazma, tükürük gibi farklı vücut sıvılarında nikotin/kotinin düzeylerinin belirlendiği çalışmalar mevcuttur (Çizelge 2.9). Bu çalışmalarda farklı düzeylerde nikotin içeren e-sigara kullanımı ve e-sigara dumanına farklı zaman aralıklarında maruziyette farklı vücut sıvılarındaki nikotin/kotinin düzeyleri araştırılmaya çalışılmıştır. Nitekim bu konuda Bullen ve diğerleri (2010) e-likitte 16 mg nikotin içeren e-sigarayı 5 dk boyunca kullanan 8 kişiden alınan kan örneğini çalışmasında incelemiştir.

Plazma nikotin miktarı analiz edildiğinde 1,3 ng/ml olarak kaydedilmiştir. Kullanımdan itibaren 19,6. dakikada plazma nikotin değerinin maksimum konsantrasyona ulaştığı belirlenmiştir. Diğer yandan Eisenberg (2010), e-likitte 16 mg nikotin içeren e-sigarayı 2 nöbet şeklinde her bir nefes arasında kullanıcılara 30 saniye ara verdirerek kullanıcıların 10 nefes e-sigara kullanmalarını sağlamıştır. Nöbetler arasında da 1 saat nöbet aralığı verilmiş ve kullanımdan sonra plazma nikotin düzeyi ölçülmüştür. E-sigara kullanımdan 5 dk sonra plazma nikotin değeri 2,5-3,5 ng/ml arasında bulunmuştur. Vansickel ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, e-likitteki nikotin miktarı 16-18 mg arasında değişen e-sigara 32 kişiye 2 nöbet şeklinde nöbet araları bir saat olacak şekilde 10 nefes olarak kullandırmışlardır. Her nefes arasında 30 saniye ara verilmiştir. Sonuç olarak plazma nikotin seviyesinde önemli bir artış bulunmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Etter ve Bullen (2011b) tarafından 30 kişi üzerinde yapılan çalışmada ise, e-likitte 18 mg/ml nikotin içeren e-sigara kullanan bireylerden tükürük örneği alınmış ve incelenmiştir. Bu bireylerin tükürüklerindeki ortalama kotinin miktarı 322 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Vansickel ve diğerleri (2012) düzenledikleri bir çalışmada, 18 mg/ml nikotin içeren e-sigarayı 20 kişiye 6 nöbet olarak kullandırmıştır. 30 dakika nöbet aralığı verilmiştir. Kullanıcılar 10 nefes e-sigara almış olup nefesler arasında 20 saniye e-sigara kullanımına ara vermişlerdir. Çalışmada plazma nikotin seviyesi içme nöbeti bitiminden 5 dk sonra 2,2-7,4 ng/ml olarak bulunmuştur. Bir başka çalışmada Caponnetto ve diğerleri (2013a) 12 hafta boyunca 7,2 mg/nikotin içeren e-sigara kullanan grup ile ilk 6 hafta boyunca 5,4 mg/nikotin içeren e-sigara kalan 6 haftada ise 7,2 mg/nikotin içeren e-sigara kullanan iki grubun tükürük kotinin düzeylerini değerlendirmişlerdir. İlk grupta tükürük kotinin düzeyi 6. haftada 42,5 ng/ml, 12 haftanın sonunda 91 ng/ml olarak kaydedilmiştir. İkinci grupta ise tükürük kotinin düzeyi 6. haftada 67,8 ng/ml, 12. hafta sonunda ise 69,8 ng/ml olarak kaydedilmiştir. Sonuçta kotinin düzeyinin alınan nikotin miktarına bağlı olarak azalıp/arttığı bildirilmiştir. Flouris ve diğerleri (2013) e-likitte 11 mg/ml nikotin olan e-sigara kullanan 15 kişide serum kotinin düzeyini ölçmüş ve e-sigara kullanımından 1 saat sonra serum kotinin düzeyini inceledikleri çalışma sonucunda kotinin seviyesinde önemli artış tespit etmişlerdir (60,6±34,3 ve 61,3±36,6 ng/ml). Vansickel ve Eissenberg (2013) tarafından e-likitteki nikotin miktarı 9-24 mg/ml arasında değişen 8 e-sigara kullanıcısına nefes aralarında 30 saniye beklenerek 10 nefes e-sigara kullandırılmış ve kullanımdan sonra kan örneği alınarak plazma nikotin düzeyi incelenmiştir. E-sigara kullanımından 5 dk sonra plazma kotinin düzeyi 2-10,3 ng/ml arasında bulunmuştur. Ayrıca kullanıcılarda e-sigara kullanımından sonra kalp atım hızında belirgin bir artış not edilmiştir. Dawkins ve

Corcoran (2014) tarafından e-likitteki nikotin miktarı 18 mg/ml olan e-sigara 14 kişiye 1 saat boyunca *ad libitum* olarak ve 5 dk içinde 10 nefes olarak kullandırılmıştır. E-sigara kullanımından sonra plazma nikotin değerleri incelenmiştir. Plazma nikotin değeri kısa süreli kullanımdan 10 dk sonra 0,74-6,77 ng/ml olarak ölçülürken, 1 saat kullanımdan sonra plazma nikotin değeri 4,35-25,6 ng/ml aralığında bulunmuştur. Ortalama olarak plazma nikotin değeri 13,91 ng/ml dir. Etter (2014) tarafından yapılan çalışmada e-likitteki nikotin miktarı 16 mg/ml olan 71 e-sigara kullanıcısının tükürük kotinin düzeyi tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda alınan tükürük örneklerinde e-sigara kullanan kişilerde 353 ng/ml kotinin tespit edilmiştir.

Periferik Lenfositlerde Komet Sonuçları

Sunulan tez çalışmasında nikotin maruziyetinin belirlenmesinin yanında e-sigara kullanımının olası genotoksik etkisi komet, kromozomal aberasyon ve yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyleri yapılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. E-sigara kullanan kişilerde nikotin maruziyetinin belirlenmesi kadar etkinin biyogöstergesi olması bakımından olası genotoksik hasarın da çalışmamızda incelenmiş olması önem arz etmektedir. Bu amaçla alınan kan örneklerinden komet deneyi yapılarak, bireylerdeki DNA hasar düzeyleri tespit edilmiş ve gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Tek hücre jel elektroforezi diğer bir adıyla “Komet yöntemi” birçok memeli hücrelerinde çeşitli ajanların indüklediği DNA hasarı ve onarım bozukluğunun tayinini amaçlayan in vivo ve in vitro çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Wong, 2005; Moller, 2006). DNA kırıklarının tayini prensibine dayanan komet yöntemi, düşük hasar seviyelerine duyarlı olması nedeniyle pek çok DNA hasarının ve onarımın tayininde mesleki, yaşamsal ve çevresel maruziyetlerin biyoizleme çalışmalarında ve genetik toksikolojide geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Çalışma gruplarımızdan elde edilen komet deneyi sonuçları göz önüne alındığında kuyruk momenti değeri ortalamaları e-sigara kullanan kişilerde $1,5 \pm 0,45$; sigara içen kişilerde $1,4 \pm 1,44$; pasif maruz kalan grupta $1,3 \pm 0,50$ ve kontrol grubunda $1,0 \pm 0,43$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11). Kuyruk momenti sonuçları göz önüne alındığında; kontrol grubu ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark ($p < 0,001$) ve sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki kuyruk momenti değerlendirmeleri istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,021$) bulunmuştur. Bu değer çalışmamızın en öne çıkan sonuçlarının başında gelmektedir. Son yıllarda komet çalışmalarının değerlendirilmesinde kuyruk momenti temel belirleyici parametre olarak kabul edilmekte ve bu parametre göz önüne alınarak kimyasalların

genotoksik etkisi hakkında yorumda bulunmaktadır (Møller ve diğerleri, 2006). Çalışmamızda e-sigara içen bireylerden elde edilen kuyruk momenti değerinin sigara içenler ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden elde edilen kuyruk momenti değerlerinden yüksek bulunması e-sigara kullanımının yaratacağı genotoksik risk açısından son derece önemli olarak görülmektedir. Kuyruk yoğunluğu sonuçları değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile e-sigara kullanan grup arasındaki ve kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olarak saptanmıştır. Diğer bir parametre olan kuyruk yoğunluğu sonuçları karşılaştırılacak olunursa sigara içen ve e-sigara kullanan bireylerden elde edilen kuyruk yoğunluğu değerleri kontrol grubundan elde edilen kuyruk yoğunluğu değerlerinden oldukça yüksek bulunmuştur. Bu sonuç da çalışmamızda öne çıkan bulgulardan biri olarak değerlendirilmektedir. Komet çalışmasında değerlendirilen bir başka parametre olan kuyruk uzunluğu sonuçları incelendiğinde e-sigara kullanan bireylerden elde edilen kuyruk uzunluğu değerleri ile sigara içen, sigaraya pasif olarak maruz kalan ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p>0,05$) görülmemiştir (Çizelge 4.11).

Çalışmamızda ayrıca tüm gruplar arasında kotinin değerleri ve komet deneyi parametreleri (moment, uzunluk ve yoğunluk) genel olarak değerlendirilmiş olup kotinin miktarı ve komet parametreleri arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir (Çizelge 4.12).

Çalışmamızda e-sigara kullanan kişiler e-likitteki nikotin içeriğine göre alt gruplara ayrıldığında kuyruk momenti değerleri e-likitte 4 mg/ml nikotin tüketen kişilerde 1,58; 6 mg/ml nikotin tüketen kişilerde $1,37\pm0,43$; 9 mg/ml nikotin tüketen kişilerde $1,41\pm0,33$; 11 mg/ml nikotin kullanan kişilerde $1,50\pm0,46$ ve 16 mg/ml tüketen kişilerde $1,39\pm0,22$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14). Yüksek nikotin konsantrasyonlarına sahip e-likit kullanan kişilere ait kuyruk momenti sonuçlarına bakıldığında 18 mg/ml kullanan kişilerde $2,83\pm3,07$; 24 mg/ml kullanan kişilerde $1,10\pm0,98$ olarak bulunmuştur. 18 mg/ml nikotin kullanan 11 kişiden örnek alınabilirken yüksek nikotin içeriğine (24 mg/ml) sahip e-likit tüketen sadece 2 gönüllü kişiye ulaşılmıştır. Bu nedenle e-likit içeriğinde 18 mg/ml nikotin kullanan kişilerde hasarın 24 mg/ml nikotin kullanan kişilerden daha yüksek çıkmasının nedeni alt gruplardaki kişi sayısı ile ilişkilendirilebilir. E-likittteki nikotin konsantrasyonu ve komet sonuçları kıyaslandığında moment için $p=0,703$, yoğunluk için $p=0,502$ ve uzunluk için $p=0,950$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Her üç

değer içinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuç bize e-likit nikotin konsantrasyonu ve komet parametreleri arasında korelasyon bulunmadığını göstermektedir.

Benzer şekilde e-sigara kullanan kişiler günde içtikleri sigara sayısına göre alt gruplara ayrılmıştır. Günde 10 sigaradan az içen kişilerde kuyruk momenti değeri $1,24 \pm 0,54$ olarak bulunurken günde 11-20 sigara içen kişilerde bu değer $1,17 \pm 0,56$ olarak bulunmuştur. Günde bir paket ve üzeri sigara içen kişilerde ise bu sayı $1,121 \pm 0,41$ olarak bulunmuştur. Pasif olarak sigara dumanına maruz kalan kişilerde kuyruk momenti değeri $1,25 \pm 0,50$ iken kontrol grubunda $0,95 \pm 0,40$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Günlük içilen sigara miktarına göre kuyruk momenti, kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğu değerleri karşılaştırıldığında bütün sigara içen kişilere ait alt gruplarda istatistiksel farklılık saptanmamıştır. Günlük içilen sigara sayısındaki değişim ile komet parametreleri arasında istatistiksel bir farkın bulunmayışının nedeni sigaradan alınan nefes miktarı ile ilişkilendirilebilir. Çünkü içilen sigara sayısı kadar alınan nefes miktarı da toksik kimyasal bileşiklere maruziyetin artış ya da azalışına neden olmaktadır.

E-sigara kullanan kişilerde komet sonuçları değerlendirildiğinde e-sigara kullanan grup içerisinde e-likit nikotin miktarı ile kuyruk momenti, yoğunluk (%) ve uzunluk (μm) ölçümleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri karşılaştırıldığında e-likit nikotin miktarı ve komet sonuçları arasında korelasyon bulunmamıştır. Yapılan komet deneyi sonuçları ve nikotin maruziyetinin belirlenmesine yönelik kotinin tayini sonuçları incelendiğinde gözlenen DNA hasarı ve nikotin miktarı arasında ilişki bulunmamıştır. Bu sonuçlar bize e-sigara içeriğindeki nikotin dışındaki diğer kimyasal maddelerin DNA hasarına neden olabileceği ihtimalini ortaya koymaktadır. E-sigara kullanan kişilerde e-likitteki nikotin miktarındaki artışla birlikte genotoksik hasar arasında korelasyon bulunmayışı fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüksek bir genotoksik hasarın tespit edilmesi e-sigara içeriğinde bulunan ağır metaller, formaldehit, etanol, ksilen, PAH'lar ve TSNA'lar gibi diğer karsinojenik bileşiklerin genotoksik hasara neden olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Sunulan tez çalışması e-sigara kullanan kişilerde olası genotoksik hasarın belirlendiği ilk çalışma olması nedeniyle genotoksisite sonuçları diğer yayınlarla karşılaştırılamamıştır. Bunun yerine çalışma grubunda olan, sigara içen ve sigara dumanına pasif maruz kalan kişilerin genotoksisite sonuçları derlenerek aşağıda verilmiştir. Literatürde sigara içen

kişilerde ve pasif maruz kalan kişilerde komet, mikroçekirdek, kromozomal aberasyon çalışmalarına ait veriler oldukça fazladır. Günümüze kadar e-sigara kullanımının neden olabileceği genotoksik hasarın komet yöntemiyle araştırıldığı tek bir çalışma söz konusu olup, bu çalışma hücre hattında gerçekleştirilmiştir. Yu ve diğerleri (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, normal epitel hücre hattı ile baş ve boyun kanserli hücre hatlarında (HNSCC) e-sigara buharının genotoksik etkisi olup olmadığını nötral komet yöntemiyle belirlenmeye çalışılmıştır. HaCaT, UMSCC10B, ve HN30 hücre hatları, farklı zaman dilimlerinde, 48 saat ve 8 hafta aralığında, nikotin içeren ve nikotinsiz e-sigara buharına maruz bırakılmışlardır. Marketlerde satılan iki popüler e-sigara markası seçilerek % 70 PG % 30 VG ile sıfır nikotine sahip e-sigara buharı ile, % 70 PG % 30 VG ve ml de 12 mg nikotin içeren e-sigara buharına maruz kalan hücre hatları DNA hasarı bakımından karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak nikotinli e-sigara buharına maruz bırakılan HNSCC hücre hattında ve normal epitel hücre hattında komet yöntemi sonuçlarına göre DNA kuyruk uzunluğu önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Çizelge. 5.1’de sigara içen, sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerde yapılan komet çalışmaları sonuçları özetlenmiş olup bu çalışmalardan bazıları kısaca sonuçlarıyla açıklanmıştır. Bu çalışmalardan bir tanesinde Şardaş, Walker, Akyol, Karakaya (1995) tarafından yeni doğan çocuklarda maternal sigara içimi maruziyetinin neden olabileceği olası genotoksik hasar alkali komet tekniği uygulanmasıyla araştırılmıştır. Sigara içen (n=21), sigara dumanına pasif maruz kalan (n=8) ve sigara kullanmayan sağlıklı (n=10) annelerin yedi doğan çocuklarından kan örneği alınmış ve komet tekniği uygulanmıştır. Annesi pasif olarak sigara dumanına maruz kalan çocuklarda ve az sayıda sigara (<5/gün) içme alışkanlığına sahip annelerin çocuklarında yüksek DNA hasarına rastlanmazken, maternal sigara içim sıklığı ve süresiyle doğru orantılı olarak DNA hasarının arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan bir başka çalışmada Dhawan, Mathur, Seth, (2001) tarafından Hindistan’da 23 ve 57 yaş arasında 62 gönüllü üzerinde sigara içimi ve genotoksik hasar komet tekniği ile araştırılmıştır. Sigara içenler (n=31) ve kontrol grubu (n=31) arasında komet sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Sonuçlar sigara içiminin genotoksik hasara neden olabileceği yönünde yorumlanmaktadır. Kuyruk yoğunluğu (%) sigara içmeyenlerde $4,6 \pm 2,1$; sigara içenlerde $7,8 \pm 1,7$ olarak bulunmuştur. Kuyruk uzunluğu (μm) sigara içmeyenlerde $18,5 \pm 7,3$ sigara içenlerde $36,6 \pm 11,3$ (ortalama $\pm$ SS) olarak tespit edilmiştir. Kuyruk momenti değeri ise kontrol grubunda $1,3 \pm 0,4$ sigara içenlerde ise $2,6 \pm 0,7$ (ortalama $\pm$ SS) olarak bulunmuştur.

Kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti değerlerinin her üçünde de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). Sigara içen bireyler kendi aralarında bir yılda içtikleri sigara paket sayısı ve kuyruk yoğunluğu, kuyruk uzunluğu, kuyruk momenti değerleri ile karşılaştırılmıştır. Yılda 10 paket ve üzerinde sigara içen kişilerde kuyruk yoğunluğu $7,8\pm1,4$; kuyruk uzunluğu $38,8\pm15,8$ μm ; kuyruk momenti $2,8\pm0,8$ (ortalama $\pm$ SS) olarak bulunmuştur. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ($p<0,001$). Mohankumar, Janani, Prabhu, Kumar, Jeevanram (2002) yaptıkları çalışmada periferik lenfositlerde komet tekniği uygulanmış ve kuyruk uzunluğu sigara içen ($n=16$) kişilerde $36,25\pm8,45$ μm ; sigara içmeyenlerde ($n=10$) $21,6\pm2,06$ μm olarak bulmuşlardır. Sonuç olarak sigara içen kişilerde içmeyenlere göre daha yüksek miktarda DNA hasarı saptanmıştır ($p<0,0001$). Bu çalışmada da bizim çalışma sonuçlarımızda olduğu gibi içilen sigara miktarıyla DNA hasarı arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Bir diğer çalışma Speit, Witton-Davies, Heepchantree, Trenz, Hoffmann (2003) tarafından gerçekleştirilmiş olup, sigara içen ($n=20$) ve sigara içmeyen ($n=20$) kişi üzerinde kuyruk momenti değerleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada gruplar arasında genotoksik hasar açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Hininger ve diğerleri (2004) çalışmasında günde 13 ± 3 sigara içen ($n=10$) ve içmeyen kontrol grubuna ait kişilerde ($n=10$) DNA hasarını komet tekniğiyle karşılaştırmıştır. Sigara içmeyenlerde kuyruk momenti değerleri $1,25\pm0,30$ olarak bulunurken, sigara içen bireylerde $1,92\pm0,70$ olarak bulunmuştur ($p=0,01$). Sonuç olarak sigara içen kişilerde sigara içmeyenlere oranla % 56 daha fazla genotoksik hasar tespit edilmiştir. Danadevi, Rozati, Banu, Grover (2004) 57 sigara içen, 45 sigara içmeyen kişi üzerinde komet tekniği uygulanmış ve DNA kuyruk uzunluğunu iki grup arasında kıyaslamıştır. Sonuç olarak sigara içen ve sigara içmeyen kişiler arasında DNA hasarı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Hofmann ve diğerleri (2005) tarafından 52 sigara içmeyen (kontrol) ve 51 sigara içen kişiden oluşan çalışma grubunda komet çalışması uygulanmış ve karşılaştırılan gruplarda DNA hasarına yönelik anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte Hoffmann ve Speit (2005) sigara içen kişilerde DNA hasarını komet ve mikroçekirdek deneyi ile araştırmıştır. Günde 20 sigaradan fazla sigara kullanan 12 kişi ve sigara kullanmayan sağlıklı 12 kişinin sonuçları karşılaştırılmıştır. Hem komet sonuçlarında hem de mikroçekirdek sonuçlarında maruz kalan grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hoffmann, Högel, Speit (2005) 38 farklı literatür inceleyerek yaptıkları

metanaliz çalışmasında komet deneylerini karşılaştırarak sigara içiminin DNA üzerine etkisini araştırmışlardır. Literatür taraması yaptıkları 38 çalışmanın 15'inde sigara içen kişilerde genotoksik hasarın dikkate değer bir şekilde yüksek bulunduğu ortaya konulmuştur. Zalata, Yahia, El-Bakary, Elsheikha (2007) pasif olarak sigara dumanına maruz kalan çocuklarda komet yöntemiyle genotoksik hasarın seviyesini ölçmeyi amaçlamışlardır. 66 çocuk (1-8 yaş) çalışmaya alınmış ve günde 20 sigaradan fazla maruz kalan (n=23) ve 20 sigaradan az maruz kalan (n=23) olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır. Sigara dumanına maruz kalan çocukların komet deneyi sonuçları sağlıklı ve sigara dumanına maruz kalmamış (n=20) çocuklarla karşılaştırılmıştır. Kuyruk uzunluğuna göre yapılan karşılaştırmada DNA hasarı pasif maruz kalanlarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Kontrol grubunda kuyruk DNA yüzdesi (kuyruk yoğunluğu) $7,46\pm2,44$; 20 sigaradan az maruz kalanlarda $11,81\pm2,49$; 20 sigaradan fazla maruz kalanlarda $17,46\pm4,36$ bulunmuştur. Kontrol grubu ve 20 sigaradan az maruz kalanların, kontrol grubu ve 20 sigaradan fazla maruz kalanların ayrıca 20 sigaradan az maruz kalanlar ve 20 sigaradan fazla maruz kalanların sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0,0001$) bulunmuştur. Bir diğer çalışmada Asis ve diğerleri (2009) tarafından sigara içen (n=40), pasif (n=40), sağlıklı sigara içmeyen (n=40) kadınlar üzerinde sigara içimi ve olası genotoksik hasar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sigara içen kadınların komet kuyruk momenti sonuçları pasif içici ($p<0,05$) ve kontrol grubuna ($p<0,01$), ait bireylerle kıyaslandığında en yüksek DNA hasarına sigara içen kadınlarda rastlanmıştır. Sigara içen kadınlarda kuyruk momenti değeri ($2,97\pm2,76$), sigara içmeyen kontrol grubunda ($1,63\pm1,47$) ve pasif maruz kalanlarda ($1,74\pm1,37$) karşılaştırıldığında (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$) sigara içen kadınlarda DNA hasarında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir artış bulunmuştur. Pasif maruz kalan ve sigara içmeyen kadınların sonuçları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,41$). Diğer çalışma Shetty ve Nachane (2013) tarafından yapılmış olup sigara içen (n=30) ve sigara kullanmamış (n=20) kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinde komet deneyi yapılmıştır. Kuyruk momenti değerleri kullanılarak yapılan karşılaştırmada sigara içenler ($7,48\pm2,34$) ve kontrol grubu arasında ($5,98\pm4,70$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 5.1. Sigara içen, sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerde yapılan komet çalışmaları

Referans	Sigara içen (n)	Sigara içmeyen (n)	Pasif maruz kalan	Komet veri çeşidi	Sonuç Pasif maruz kalan	Sonuç Sigara içen	Sonuç Sigara içmeyen	p-Değeri
Betti ve diğerleri, 1995	60	140	-	Komet uzunluğu (µm)	-	-	-	<0,0001
Zhu ve diğerleri, 1999	58	90	-	Kuyruk momenti	-	47,25±14,02	38,90±10,75	p<0.001
Dhawan ve diğerleri, 2001	31	31	-	Kuyruk uzunluğu (µm)	-	36,60±11,30	18,50±7,30	<0,001
				Kuyruk momenti	-	2,60±0,70	1,30±0,40	
Mohankumar ve diğerleri, 2002	16	10	-	Kuyruk uzunluğu (µm)	-	36,25±8,45	21,6±2,06	p< 0,0001
Speit ve diğerleri, 2003	20	20	-	Kuyruk momenti	-	0,77±0,28	0,45±0,07	p<0,05
Schabath ve diğerleri, 2003	5	72	-	Kuyruk momenti	-	-	-	<0.001
Hininger ve diğerleri, 2004	10	10	-	Kuyruk momenti	-	1,92±0,70	1,25±0,30	p=0,01
Danadevi ve diğerleri, 2004	57	45	-	Kuyruk uzunluğu (µm)	-	10,67±2,62	6,77±2,34	p > 0.05
Park ve Kang, 2004	37	72	-	Kuyruk momenti	-	-	-	p<0.01
Hoffmann ve Speit, 2005	12	12	-	Kuyruk momenti	-	0,33±0,10	0,34±0,07	p>0,05
Zalata ve diğerleri, 2007	-	20	23	Kuyruk uzunluğu (µm)	17,46±4,36	-	7,46±2,44	p <0,001
Asis ve diğerleri, 2009	40	40	40	Kuyruk momenti	1,74±1,37	2,97±2,76	1,63±1,47	p<0,01; p<0,05**
Shetty ve Nachane, 2013	30	20	-	Kuyruk momenti	-	7,48±2,34	5,98±4,70	p>0,05
Aydoğan ve diğerleri, 2013	28	22	-	Kuyruk yoğunluğu (%)	-	7,76±2,42	7,39± 1,92	p>0,05

**sigara içen kişiler pasif maruz kalan kişilerle karşılaştırıldığında

Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek ve Diğer Çekirdek Anomalileri

Genotoksik etkinin değerlendirildiği en önemli çalışmalardan biri e-sigara içeriğindeki kimyasallara maruziyette ilk temas yeri olması bakımından önem teşkil eden ağız içi epitelden sürüntü alarak gerçekleştirdiğimiz yanak epitel hücre mikroçekirdek (MÇ) yöntemidir. Genel bilgi bölümünde de belirtildiği gibi mikroçekirdek yöntemi bölünebilme özelliği olan hücrelerde; anafazda geride kalan asentrik koromozom/kromatid parçacıkları ya da tam kromozom/kromatidlerinden oluşan parçaların değerlendirildiği bir yöntemdir. Eksfoliye epitel hücrelerine uygulanan mikroçekirdek yöntemi genotoksik maddelere maruz kalan topluluklarda genetik hasarın izlenmesinde yararlı bir gösterge olarak giderek artan biçimde kullanılmaktadır (Thomas ve diğerleri, 2009). Mikroçekirdek çalışmasıyla farklı kimyasallara maruziyette genotoksik etkinin gösterildiği çok sayıda çalışma literatürde yer almaktadır (Rosin, 1992; Holland, 2008).

Çalışmamızda ağız içi epitelden alınan yanak epitel hücrelerde gerçekleştirdiğimiz MÇ çalışması sonuçlarına göre; e-sigara kullanan bireylerde MÇ sayısı $1,9 \pm 2,31$; sigara içen bireylerde $5,2 \pm 5,34$; pasif maruz kalan bireylerde $0,9 \pm 1,13$ ve sigara içmeyen sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda $0,9 \pm 1,89$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16). MÇ sayısı bakımından gruplar arasında kıyaslama yapıldığında kontrol grubu ile sigara içen grup ($p < 0,001$) ve e-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur. Ayrıca pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulunmuştur. MÇ sayısına göre sigara içen kişilerde ve e-sigara kullanan kişilerde kontrol grubuna göre yüksek bir genotoksik hasara rastlanmıştır. Gerçekte bu beklenen bir durumdur. Zira sigara içimine bağlı olarak ortalama dörtbin kimyasal maddeye maruz kalınmaktadır ve bunların ortalama kırküz tanesi karsinogenik etkinliğe sahiptir. Şu ana kadar e-sigara içiminden kaynaklandığı bildirilen kimyasal maddelerin sayısı ve çeşitliliği genel bilgi bölümünde bildirildiği gibi sigaraya göre oldukça az olup, bu kimyasalların düzeyi de sigara içiminden kaynaklanan maruziyete göre örneğin formaldehit 9 kat daha az, asetaldehit maruziyeti 450 kat daha az, akrolein maruziyeti 15 kat daha az, toluen maruziyeti 120 kat daha az, N'-nitrozonornikotin maruziyeti 380 kat daha az, N'-nitrozonornikotin ve 4(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon maruziyetleri 40 kat şeklindedir (Goniewicz ve diğerleri, 2014). Bunun sonucu olarak ilk temas yerinde görülecek MÇ sayısı e-sigara kullanan kişilerde daha az olarak

beklenmektedir. Öte yandan e-sigara kullanan bireylerden elde edilen MÇ sayısının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında elde edilen anlamlı sonuç, e-sigara-pasif grubu karşılaştırıldığında elde edilmemiş olmasına karşın ($p>0.07$), fark anlamlılık düzeyine oldukça yakındır. Bu bulgular da bu çalışmadan e-sigaranın genotoksik etkisinin değerlendirilmesine yardımcı olacak önemli bulgular olarak ön plana çıkmaktadır.

MÇ'li hücre sayısı ise e-sigara kullanan bireylerde $1,2\pm1,13$; sigara içen bireylerde $3,5\pm3,13$; pasif maruz kalan bireylerde $0,6\pm0,75$ ve kontrol grubunda $0,8\pm1,37$ olarak bulunmuştur. Elde edilen MÇ'li hücre sayısı sonuçlarına göre, e-sigara kullanan grup ile kontrol grubu ($p<0,05$) ve pasif olarak sigara dumanına maruz kalan grup ($p=0,046$) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgular da ayrıca çalışmamızın değerini arttıran bulgular olarak değerlendirilmektedir. Sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki MÇ sayısı ve MÇ'li hücre sayısı arasındaki fark sigara içen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$) olarak saptanmıştır. Diğer değişle MÇ sayısı ve MÇ'li hücre sayısı çalışma grubumuzdaki sigara içen bireylerde e-sigara kullananlara göre çok daha yüksektir.

Deney ve kontrol grunu bireylerin yanak epiteli hücrelerindeki diğer çekirdek anomalileri sıklıklarına ait (%) veriler de sitom analizi ile değerlendirilmeye alınmıştır (Çizelge 4.17). Çalışmamızda mikroçekirdek deneyinde diğer bir değerlendirme kriteri olan Nükleer tomurcuk sonuçları göz önüne alındığında; e-sigara kullanan kişilerde $1,2\pm1,35$; sigara içen kişilerde $2,4\pm2,06$; pasif maruz kalan kişilerde $1,3\pm2,16$ ve kontrol grubunda $1,9\pm1,87$ olarak bulunmuştur. Nükleer tomurcuk sıklığı gruplar arasında karşılaştırıldığında sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark, sigara içen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$) bulunmuştur. Sigara içen gruba ait nükleer tomurcuk sıklığı sonuçları hem pasif maruz kalan grup sonuçları karşılaştırıldığında ($p<0,001$) hem de e-sigara kullanan gruba ait sonuçlarla karşılaştırıldığında ($p<0,01$) aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. E-sigara kullanan bireylerden elde edilen sonuçlarının kontrol ve pasiflerle karşılaştırılmasında istatistiksel bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Nükleer tomurcuklar gen amplifikasyonu nedeniyle oluşabilmektedir (Holland ve diğerleri, 2008). Sonuçlarımız bize e-sigara kullanan, sigara dumanına pasif maruz kalan ve kontrol grubuna ait kişilerde gen amplifikasyonu nedeniyle oluşabilecek genotoksik hasarın birbirine yakın düzeyde olduğunu, sigara içen kişilerde ise bu hasarın anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Piknotik hücreler bakımından değerlendirme yapıldığında e-sigara kullanan kişilerde $6,1 \pm 5,53$; sigara içen bireylerde $8,5 \pm 5,19$; pasif maruz kalanlarda $5,3 \pm 3,70$ ve kontrol grubunda $9,2 \pm 5,21$ (ortalama $\pm$ SS) olarak tespit edilmiştir. Piknotik hücre sayısına göre kontrol grubu ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) ve sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark sigara içen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) dir. Ayrıca kontrol grubu ile pasif maruziyet grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) fark görülmüştür. Piknotik hücreler apoptotik hücre ölümünü işaret etmektedir. Sonuçlarımız e-sigara kullanan grupta kontrol grubuna kıyasla apoptotik hücre ölümü gerçekleşen hücrelerin fazlalığına dikkat çekmektedir.

Karyohektik hücre sayısı sonuçları değerlendirildiğinde; e-sigara kullanan kişilerde $35,6 \pm 21,55$; sigara içen kişilerde $21,6 \pm 19,11$; pasif maruz kalanlarda $30,7 \pm 15,04$ ve kontrol grubunda $21,2 \pm 15,50$ olarak saptanmıştır. Karyohektik hücre sayısı gruplar arasında değerlendirildiğinde kontrol grubu ile e-sigara kullananlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) ve sigara içen grup ile e-sigara kullananlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Karyohektik hücreler de programlı hücre ölümünün göstergesidir (Holland ve diğerleri, 2008). Genotoksik hasara sahip hücreler hücre kontrol mekanizmasıyla apoptoz sürecine girmektedirler. Sigara içen kişilerde maruz kalınan toksikanların fazlalığı nedeniyle hücre ölümünün diğer gruplara kıyasla daha fazla görülmesi beklenen bir durumdur. Kontrol grubuna ve sigara içen kişilere kıyasla e-sigara kullanan kişilerde karyohektik hücre sayısının fazla olması bu kişilerdeki epitel hücrelerin toksik kimyasal maddelere maruziyet nedeniyle programlı hücre ölümünün meydana geldiği şeklinde yorumlanabilir. Sigara içen kişilere kıyasla e-sigara kullanan kişilerde karyohektik hücre sayısının fazlalığı e-sigara kullanan kişilerin e-sigara buharının temel bileşeni olan propilen glikol ve gliserol nedeniyle daha yoğun bir şekilde buhara maruz kalmaları bu durumun da sonucu olarak buhardaki toksik kimyasal bileşenlere e-sigara kullanıcılarının epitel hücrelerinin daha fazla maruz kalmaları olası bir neden olarak gösterilebilir. Diğer bir neden ise e-sigara kullanımında e-likitteki kimyasal bileşiklerin yüksek ısıda formaldehit, akrolein gibi toksik kimyasal bileşikler buharda bulundurmasıdır. Sunulan bu nedenlerle e-sigara kullanıcılarında karyohektik hücre sayısındaki yükseklik açıklanabilmektedir.

Karyolitik hücre sayısı değerlendirildiğinde e-sigara kullananlarda $59,5 \pm 35,53$; sigara içen kişilerde $73,3 \pm 49,31$; pasif maruz kalan kişilerde $47,1 \pm 29,59$ ve kontrol grubunda $36,9 \pm 25,50$ olarak bulunmuştur. Karyolitik hücre sayısı bakımından kontrol grubu ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) dir. Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) ve kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) olarak bulunmuştur.

Kondanse kromatin hücre sayısı ortalama olarak e-sigara kullananlarda $14,7 \pm 9,93$; sigara içenlerde $12,3 \pm 12,46$; pasif maruz kalanlarda $17,8 \pm 12,66$ ve kontrol grubunda $21,3 \pm 15,66$ bulunmuştur. Kontrol grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p < 0,001$). Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) bulunmuştur. Kondanse kromatin açısından e-sigara grubu ile diğer gruplardan herhangi biri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$). Binükleer hücre sayısı göz önüne alındığında; e-sigara kullananlar için $0,9 \pm 1,17$; sigara içenler için $2,8 \pm 3,26$; pasif maruz kalanlar için $1,1 \pm 1,15$ ve kontrol grubu için $1,0 \pm 1,24$ (ortalama $\pm$ SS) sonuçları elde edilmiştir. Sigara içen grubun binükleer hücre sonuçları e-sigara kullanan ($p < 0,05$), pasif maruz kalan ($p < 0,01$) ve kontrol grubuna ait bireylerin sonuçlarından ($p < 0,001$) istatistiksel olarak farklıdır. Binükleer hücreler sitokinez kusurları nedeniyle oluşan hücre gruplarıdır. Sigara içen kişiler ve e-sigara kullanan kişilerin binükleer hücre sonuçları kıyaslandığında hücre bölünme safhalarındaki kontrol noktalarında meydana gelen hasar ve bu durumun sonucu olarak binükleer hücre oluşumu sigara içen kişilerde daha fazladır.

Sitom analizi sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde sigara içen grup ve e-sigara kullanan grup arasında ($p < 0,05$) ve pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasında tüm hücre gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,01$) vardır. Bu durum sigara içen kişilerde e-sigara kullanan kişilere ve sigara dumanına pasif maruz kalan kişilere göre daha fazla sitotoksik hasarın görüldüğü sonucunu ortaya koymaktadır. Sitom analizinde bazı hücre gruplarında kontrol grubuyla kıyaslandığında e-sigara kullanan kişilerde daha yüksek bir sitotoksik hasarın olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak sigara içen kişilerde e-sigara kullanan kişilere göre daha yüksek bir sitotoksik hasar, e-sigara kullanan kişilerde ise kontrol grubuna göre daha yüksek bir sitotoksik hasar saptanmıştır.

MÇ deneyi sonuçları kullanılan nikotin miktarına göre oluşturulmuş alt gruplarda değerlendirildiğinde; e-sigara içen grup içerisinde e-likit nikotin miktarlarına göre MÇ ($p=0,729$), MÇ'li hücre ($p=0,557$) sayıları ile e-likit nikotin konsantrasyonu arasında bir korelasyon saptanamamıştır (Çizelge 4.18). Genel sonuçlarda MÇ ve MÇ'li hücre bakımından anlamlı bir farklılık görülürken alt gruplarda nikotin maruziyetine bağlı olarak MÇ ve MÇ'li hücre sayıları arasında korelasyon görülmemesi varolan genotoksik hasarın e-sigara kullanımından kaynaklı diğer toksik kimyasal bileşikler nedeniyle oluşabileceğini düşündürmektedir.

Benzer şekilde sigara içen kişilerin alt grupları incelendiğinde 1-10 sigara içenlerde, 11-20 sigara içenlerde ve günde 20 üzeri sigara içenlerde MÇ, MÇ'li hücre sayısı ve nükleer tomurcuk değerlerinde içilen sigara miktarıyla ilgili olarak istatistiksel anlamlı bir korelasyon belirlenmemiştir (Çizelge 4.19).

Sunulan çalışmada nikotin maruziyeti ve genotoksisite sonuçları birbirleriyle kıyaslanarak değerlendirildiği gibi genotoksisite deneyleri arasında korelasyon olup olmadığı sorusuna da cevap aranmaya çalışılmıştır (Çizelge 4.20). Bu amaçla elde edilen komet deneyi sonuçları, MÇ, MÇ'li hücre sayısı arasında korelasyon olup olmadığı da değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler çerçevesinde; gruplar bütün olarak değerlendirildiğinde, komet çalışmasında değerlendirilen kuyruk momenti ve ayrıca saptanan kotinin değeri ile arttıkça MÇ'li hücre sayısında bir artış söz konusu olup, bu korelasyonda istatistiki olarak anlamlı bir fark ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Benzer durum e-sigara içen bireylerin oluşturduğu grup için söz konusu değildir. Diğer bir değişle e-sigara içen bireylerde komet deneyi sonuçları, MÇ, MÇ'li hücre sayısı ve nükleer tomurcuk sayıları arasında bir korelasyon elde edilememiştir.

Yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyi mikroskop okumalarındaki hata payını azaltmak için seçilen 50 preparattan çift kör olarak ikinci okuma yapılmıştır. Birinci okuma ve ikinci okuma arasında % güvenilirlik analizinin sonuçları değerlendirdiği zaman % 80 ve üzeri korelasyon ilk okuma ve ikinci okuma arasında iyi bir uyum olduğunu göstermektedir. Sonuçlara göre birinci ve ikinci okuma arasında MÇ sayısında % 95'lik iyi bir uyum yakalanırken, MÇ'li hücre sayısında bu oran % 78 olup nispeten iyi bir sonuç alınmıştır. Nükleer tomurcuk (% 45), binükleer (% 31), kondanse kromatin (% 54), piknotik (% 60), ve bazal (%42) sonuçlarında ortalamanın altında bir uyum vardır. Karyolitik (%72)

sonuçlarında da kısmen iyi bir uyum yakalandığı ortaya çıkmıştır. Çekirdek anomalileri arasında % 82'lik güvenilirlik katsayısı ile karyohektik hücrelerin birinci ve ikinci okunmasında iyi bir uyum yakalanmıştır (Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.22). Mikroskop çalışması sırasında okuyucudan kaynaklanan hatayı azaltmak amacıyla yapılan bu çalışma sonucunda MÇ ve MÇ'li hücre sayısı göz önüne alındığında mikroskop değerlendirmelerinde az hata paylı bir tarama yapıldığının sonucunu ortaya koymaktadır.

Yapılan literatür taramasında şimdiye kadar e-sigara kullanımının neden olabileceği genotoksik hasarın mikroçekirdek yöntemiyle araştırıldığı tek bir çalışma olup (Leverette, Misra, Cooper, Bennett, 2014) bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak insanlarda yapılmayıp, Çin Hamster lenfosit hücrelerinde, sitokinezin durdurulduğu MÇ yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. İlgili çalışmada e-sigara likitinin genotoksik etkisi mikroçekirdek deneyi ile araştırılmış olup ayrıca mutajenite (AMES), sitotoksisite (Nötral Red Uptake), inflamasyon (IL-8) deneyleri yapılmıştır. Kültürü yapılmış Çin Hamster hücrelerine in vitro ortamda e-sigara likiti ile etkileşime bırakılmış ve sitokalsin B ile sitokinezin durdurulması sağlanmıştır. Nikotinsiz (0 mg/ml) ve yüksek miktarda (24 mg/ml) nikotine sahip gıda aroması olmayan e-sigara likitleri kullanılmıştır. İn vitro olarak klasik sigara ile e-sigaranın karşılaştırıldığı çalışmada mikroçekirdek deneyleri sonucuna göre hem nikotiniz hem de yüksek miktarda nikotine sahip e-sigara likitinin istatistiksel olarak anlamlı bir genotoksik ve sitotoksik etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmada yapılan diğer deneylerde (Ames, NRU and IL-8) benzer sonucu ortaya koymuştur.

Şimdiye kadar yapılan literatür taramasında e-sigara kullanan bireylerde olası genotoksik hasarın mikroçekirdek deneyi ile değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sonuçlarımız daha önce yapılan sonuçlarla kıyaslanamadığı için sigara içen ve sigara dumanına pasif maruz kalan bireyler üzerinde yapılan yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyi uygulayan diğer çalışmalara ait sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Dumansız olarak tütün kullanımının ağız mukozasında mikroçekirdek sıklığını indüklediği pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Livingston, Reed, Olson, Lockey, 1990; Stich, Parida, Brunnemann, 1992; Kayal ve diğerleri, 1993). Sigara yapımı sırasında tütüne maruz kalan işçilerde yanak epitelinde mikroçekirdek sıklığı yüksek bulunmuştur (Begwe, 1993). Sigara içenlere trakeobronşiyal epitelde mikroçekirdek sıklığı değerlendirilmiş ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Lippmann, 1990). Bir başka çalışmada Burgaz, İşcan,

Büyükbingöl, Bozkurt, Karakaya (1995) sigara içen (n=23) ve sigara kullanmayan sağlıklı bireylerde (n=20) eksfoliyе üroteliyal hücrelerde mikroçekirdek sıklığını değerlendirmişlerdir. Sigara içen bireylerde MÇ sıklığı ortalama $1,93 \pm 0,11$ (maksimum: 1,27- minimum: 3,42) ve sağlıklı bireylerde $0,66 \pm 0,05$ (maksimum: 0,27-minimum: 1,02) olarak bulunmuştur. Sonuçlara göre sigara içenlerin MÇ'li hücre sayısı sigara içmeyen kişilerin MÇ'li hücre sayısından oldukça yüksektir ($p < 0,001$). Günde 11-20 sigara içen kişilerde MÇ'li hücre sayısı 1.86 ± 0.10 olarak bulunurken günde 20 sigara ve üzerinde içen kişilerde $2,18 \pm 0,34$ olarak bulunmuştur. Sigara kullanan kişilerin MÇ'li hücre sayısı değerleri (11-20 sigara/gün ve >20 sigara/gün) kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.001$). Mikroçekirdek sıklığında ise sigara içenler ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak korelasyon ($p > 0,05$) bulunmamıştır. Bizim sonuçlarımızda ise MÇ sayısı ve MÇ'li hücre sayısı arasındaki fark sigara içen grup lehine istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) olarak saptanmıştır. MÇ sayısı ve MÇ'li hücre sayısı çalışma grubumuzdaki sigara içen bireylerde e-sigara kullananlara göre çok daha yüksektir. Burgaz ve diğerleri (1995) çalışması ile çalışmamız kıyaslanacak olunursa her iki çalışmada da MÇ'li hücre sayısı sigara içen bireyler ve kontrol grubu değerleriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur. Çavuşoğlu, Yapar, Yalçın (2008) sigara içen 20 kişi ve sigara içmeyen 20 kişiden yanak içi epitel hücre örneği olarak mikroçekirdek deneyi uygulamıştır. Sigara içmeyen erkeklerde MÇ sıklığı $2,60 \pm 0,82$ iken kadınlarda $2,65 \pm 0,81$ olarak tespit edilmiştir. Sigara içen erkeklerde ise MÇ sıklığı $15,90 \pm 1,89$ olarak bulunurken kadınlarda $15,95 \pm 1,99$ olarak kaydedilmiştir. Sonuç olarak sigara kullanan kişilerin MÇ'li hücre sayısı sigara kullanmayan kişilerle kıyaslandığında önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Bosna Hersek'de Nefić, Mušanović, Kurteshi, Prutina, Turcalo, (2013) yapılan çalışmada sağlıklı kişiler (n=60) ve sigara içen kişilerden (n=60) alınan yanak içi epitel hücrelerinde mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomalilerinin sıklığı değerlendirilmiştir. Yanak epitel hücrelerinde MÇ sıklığı % 1,35 olarak bulunmuştur. 17.62 ± 9.26 sigara/gün içen kişilerde piknotik hücre $2,08 \pm 2,9$; karyolitik hücre $1,93 \pm 1,54$; karyohektik hücre $5,72 \pm 3,53$; nükleer tomurcuk $0,02 \pm 0,13$ ve MÇ sayısı $1,35 \pm 1,15$ (ortalama $\pm$ SS) olarak bulunmuştur. Sigara içen kadınlar, sigara içmeyen kadınlar, sigara içen erkekler ve sigara içmeyen erkeklerin sonuçları da çalışmada ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Sigara içen kadınlara MÇ sıklığı $2,05 \pm 1,53$ iken sigara içmeyen kadınlarda $0,97 \pm 0,72$ olarak tespit edilmiştir. Sigara içen erkeklerde MÇ sıklığı $1,30 \pm 0,88$ iken sigara içmeyen erkeklerde $0,90 \pm 0,70$ olarak bulunmuştur. Yanak içi epitel hücrelerinde mikroçekirdek sayısı kadınlarda daha yüksek olarak bulunmuştur ($p < 0,05$).

Ayrıca MÇ sayısı ve diğer çekirdek anomalileri (karyohektik, karyolitik) sigara içen kişilerde sigara içmeyenlere göre dikkat çekici derecede yüksek bulunmuştur. Ahmad ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada sigara içen (n=100), pasif maruz kalan (n=100) ve sağlıklı sigara içmeyen (n=100) kişi üzerinde yanak epitel mikroçekirdek deneyi uygulamışlardır. Çalışma sırasında içilen sigara sayısı ve sigara içim süresinin mikroçekirdek sayısını etkilediği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda Ahmad ve diğerleri (2005) çalışmasından farklı olarak içilen sigara miktarı ve MÇ sayısı arasında ilişki bulunmamıştır. Ayrıca sigara içen kişilerde MÇ sayısının kontrol grubu ve pasif maruz kalanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu bulgular arasındadır ($p<0,001$).

Periferik Lenfositlerde Kromozomal Aberasyon Sıklıkları

Çalışmamızda genotoksisiteye yönelik bilgilerin değerlendirilmeye çalışıldığı testlerinden biri olan kromozomal aberasyon deneyi ile de kromozomlarda meydana gelmiş olan hasarlar değerlendirilmeye çalışılmıştır. Kromozomal aberasyon deneyi toksik madde ya da maddelere maruz kalan kişilerde oluşan genetik etkileri ve ilgili kimyasalın güvenilirliğini araştırmada, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarının saptanmasında, genetik hasar ile hastalıklar arasındaki ilişkinin belirlenmesinde, kanserden korunmada, kansere duyarlılığın tayininde ve takibinin yapılmasında biyoizleme testleri olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Kromozomal aberasyon deneyi de biyolojik etkinin biyogöstergesi olması bakımından ve karsinogenez aşamalarının tahmininde önemli yer tutmaktadır (Tucker ve Preston, 1996; Hagmar, 1998; Bonassi ve diğerleri, 2000). Periferik kan lenfositlerinde kromozomal hasarda artış, kanseri öngörmeye etkin bir biyogösterge olarak bilinmektedir (Bonassi ve diğerleri, 2000). Araştırmamızda periferik kan lenfositlerinde kromozom yapısındaki olası her tür değişiklikliğin değerlendirilmesi kromozomal aberasyon deneyi yardımıyla gerçekleştirilmiş olup e-sigara kullananlarda, sigara içenlerde, pasif maruz kalanlarda ve kontrol grubundaki bireylere ait kromozomal aberasyon sonuçları da değerlendirilmiştir.

Sunulan çalışmada kromozomal aberasyon deneyi yardımıyla kromatid tipi ve kromozom tipi aberasyonlara ait veriler elde edilip, bu veriler çalışma gruplarımız arasında karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24). Bu çalışmaların yanısıra sitotoksitenin belirlenmesi amacıyla mitotik indeks sonuçları da çalışmamızda değerlendirilmiştir. Çalışmamızda değerlendirilen ve kromatid tipi aberasyonlardan olan kromatid kırığı

sonuçları göz önüne alındığında e-sigara kullananlarda $2,5\pm 3,22$; sigara içen bireylerde $0,4\pm 0,79$; pasif maruz kalan bireylerde $0,9\pm 1,08$ ve kontrol grubunda $1,1\pm 1,43$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Kromatid kırığı verileri sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olarak bulunmuştur. E-sigara içen bireylerle kontrol grubu bireylerinin kromatid kırığı değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiki bir farklılık söz konusu değilse de ($p>0,097$), aradaki bu fark oldukça büyük olarak dikkati çekmektedir. Pasif maruziyet grubu ile sigara içen grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olup, e-sigara kullananlarla karşılaştırıldığında bu anlamlılık elde edilmemiştir.

Kromatid gap sonuçları ise e-sigara kullanan bireylerde $0,3\pm 1,12$; sigara içen bireylerde $0,0\pm 0,17$; pasif maruz kalanlarda $0,3\pm 0,82$ ve kontrol grubunda $0,0\pm 0,00$ olarak bulunmuştur. Gruplar arasında kromatid gap sonuçları değerlendirildiğinde $p=0,090$ olarak tespit edildiğinden gruplar arasında kromatid gap sonuçları göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır.

Kromozom kırığı değerleri e-sigara kullananlarda $0,8\pm 1,40$; sigara içen kişilerde $0,8\pm 1,11$; pasif maruz kalanlarda $0,5\pm 0,95$ ve kontrol grubunda $1,6\pm 2,36$ olarak bulunmuştur. Kromozom kırığı sonuçları gruplar arasında değerlendirildiğinde ($p=0,399$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kromozom gap sonuçları göz önüne alındığında e-sigara kullanan kişilerde $0,1\pm 0,35$; sigara içen kişilerde $0,0\pm 0,00$; pasif olarak maruz kalan kişilerde $1,4\pm 2,65$ ve kontrol grubunda $0,1\pm 0,38$ olarak bulunmuştur, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Kromozom gap sonuçlarına göre pasif maruziyet grubu ile e-sigara grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,019$) dır. Pasif maruz kalan kişilerde kromozom gap düzeyi e-sigara kullanan ($p=0,019$), sigara kullanan ($p<0,05$) ve kontrol grubunda ($p=0,030$) bulunan kişilerin sonuçlarından daha yüksek olarak bulunmuştur. IARC, karsinojenik bileşikler sınıflandırılmasına göre sigara kullanımı Grup 1 karsinojenler listesinde bulunmaktadır. En az sigara içimi kadar insanların toksik kimyasal bileşiklere inhalasyonla maruziyeti, sigara dumanına pasif olarak maruz kalmak da IARC tarafından Grup 1 karsinojenler listesinde bulunmaktadır. Aberasyon sonuçlarımız sigara dumanına pasif olarak maruz kalınması durumunda da kromozomda yapısal değişikliklerin olabileceğini desteklemektedir. Asentrik fragment sonuçlarımızda e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol gruplarında gruplar arasında (sırasıyla; $3,9\pm 6,72$; $2,2\pm 2,27$; $1,0\pm 1,31$; $1,4\pm 1,73$)

istatistiki bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,206$). Disentrik kromozom sonuçlarında da e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol gruplarında (sırasıyla; $1,3\pm1,82$; $0,9\pm1,57$; $1,0\pm1,08$; $0,6\pm1,09$) benzer şekilde gruplar arasında istatistiki bir farklılık ($p>0,225$) görülmemiştir. Kromatid tipi halka sonuçlarında e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol gruplarında (sırasıyla; $1,1\pm1,79$; $0,6\pm1,14$; $0,2\pm0,47$; $0,3\pm0,59$) gruplar arasında istatistiki bir farklılık ($p>0,065$) bulunmamıştır. Disentrik halka sonuçlarına göre e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol gruplarında (sırasıyla; $0,8\pm1,30$; $0,7\pm1,33$; $0,9\pm1,49$; $0,6\pm0,96$) istatistiki bir farklılık ($p>0,856$) tespit edilmemiştir (Çizelge 4.24). Mitotik indeks sonuçlarına göre e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan ve kontrol gruplarında (sırasıyla; $3,6\pm2,96$; $5,0\pm2,86$; $7,3\pm4,65$; $5,3\pm3,79$) sonuçlar gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark ($p<0,001$) olduğunu göstermiştir. Mitotik indeks sonuçlarımız göstermektedir ki e-sigara kullanan grubun kontrol grubu ($p=0,020$), pasif maruziyet grubu ($p<0,001$) ve sigara içen grup ($p=0,019$) ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Sitotoksisite mitotik indeks oranındaki azalma ile belirlenebilmektedir. E-sigara ile ilgili olarak sitotoksisitenin belirlenebilmesine yönelik yapılan in vitro hücre kültürü çalışmalarında e-sigara buharı, sigara dumanına göre daha az sitotoksik bulunmuştur (Romagna ve diğerleri, 2013; Neilson ve diğerleri, 2015). Çalışmamızda sitotoksisite değerlendirmesi yapıldığında e-sigara kullanan kişilerde sigara içen kişilere göre daha düşük bir mitotik indeksin görülmesi ve istatistiksel olarak anlamlı fark oluşu önem arz etmektedir. Sonuçlarımız literatürdeki e-sigara sitotoksisitesi üzerine yapılan çalışmalardan (Romagna ve diğerleri, 2013; Neilson ve diğerleri, 2015) farklı olarak e-sigara kullanan kişilerde sigara içen, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan ve sigara içmeyen sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bir sitotoksik hasarın olduğu yönündedir.

Çalışmamızda e-sigara grubu içerisinde e-likit nikotin miktarı ile aberasyon göstergelerine ait ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Bu sonuç e-likit içeriğindeki nikotin miktarındaki değişikliğin kromozomlardaki yapısal hasarlar arasında bir ilişki olmadığı şeklinde yorumlanabilir (Çizelge 4.25). Ayrıca sigara içen grup içerisinde günlük tüketilen sigara sayısı da istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Günlük tüketilen sigara miktarı ile kromatid tipi halka hariç diğer tüm aberasyon göstergeleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Gruplar arasında kromatid tipi halka sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,033$), söz konusu farka neden olan durum 11-20 adet sigara içen gruba göre >20 adet

sigara içen grubun kromatid tipi halka sayısının daha fazla olmasıdır ($p=0,002$). Günde 1-10 adet sigara içen grup ile 11-20 adet sigara içen grup arasında ve 1-10 adet sigara içen grup ile günde >20 adet sigara içen grup arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,095$ ve $p=0,201$).

Çalışmamızda kromozomal aberasyon deneyi sonuçları, komet ve mikroçekirdek deneyi sonuçları arasında korelasyon olup olmadığı da irdelenmiştir (Çizelge 4.27). Kontrol grubunda MÇ ve MÇ'li hücre sayısı ve mitotik indeks arasında pozitif korelasyon olduğu sonuca ulaşılmıştır ($p=0,007$). Pasif maruz kalan kişilerde kromozom gap sayısı arttıkça nükleer tomurcuk sayısının da arttığı ve bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,010$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.28). Sigara içen kişilerin kromozomal aberasyon deneyi, komet ve mikroçekirdek deneyi sonuçları arasında deneyler arasında anlamlı korelasyon bulunmamıştır (Çizelge 4.29). E-sigara kullanan kişilerin de kuyruk momenti, MÇ, MÇ'li hücre, BUD ve kromozomal aberasyon göstergeleri arasındaki korelasyon katsayıları ve önemlilik düzeyleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.30). E-sigara kullanan kişilerde kromatid kırığı ve kromozom kırığı düzeyleri ile kuyruk momenti arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. E-sigara kullanan grupta disentrik halka sayısının artışıyla MÇ'li hücre sayısı arasında negatif korelasyon olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p=0,008$). Tüm gruplar (e-sigara kullanan, sigara içen, pasif maruz kalan, sağlıklı sigara içmeyen kontrol grubu) kıyaslandığında asentrik fragment ve MÇ arasında pozitif korelasyon ($p=0,034$), kromozom gap ile MÇ ($p=0,016$) ve MÇ'li hücre sayısı ($p=0,026$) arasında negatif korelasyon olduğu, kromozom kırığı ve kuyruk momenti arasında negatif korelasyon olduğu ($p=0,037$) sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.31).

Şimdiye kadar literatürde e-sigara kullanımının neden olabileceği genotoksik hasarın kromozomal aberasyon deneyi ile değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sigara içen, sigaraya pasif olarak maruz kalan kişiler üzerinde yapılan çalışmalarda kromozomal aberasyon sonuçları aşağıda sunulmuştur.

Scarpato, Hirvonen, Migliore, Falck, Norppa (1997) tarafından 30 tarım işçisi ve 32 kontrol grubuna ait kişide kromozomal aberasyon deneyi uygulanmıştır. Sigara içen gruptaki kişilerin ($n=44$) kromozomal aberasyon sonuçları sigara içmeyenlerle ($n=18$) kıyaslanmıştır. Sigara içmeyenlerde KA sıklığı $1,72\pm0,14$ olarak bulunurken sigara içenlerde bu sayı $2,22\pm0,24$ olarak tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre sigara içen

ve içmeyen kişilerin KA sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya konulmuştur ($p<0.026$). Prabhavathi, Fatima, Rao, Reddy (2000) sigara içen kişilerde kromozomal aberasyon sıklığını araştırmışlardır. Sigara içmeyen kişilerde toplamda 180 kromatid gap, 102 kromatid kırık, 36 asentrik fragment, 8 izokromatid gap, 22 izokromatid kırık ve 21 asentrik frangment tespit edilirken sigara içen grupta toplamda 238 kromatid gap, 168 kromatid kırık, 185 asentrik fragment, 18 izokromatid gap, 16 izokromatid kırık, 31 asentrik fragment ve 64 disentrik kromozom tespit edilmiştir. Hem sigara içen grupta hem de sigara içmeyen grupta ring (halka) kromozoma rastlanmamıştır. Sigara içen gruptaki kişilerde toplam aberasyon sayısı $464\pm0,51$ ve sigara içmeyenlerde $181\pm0,30$ olarak bulunmuştur. Çalışmada sigara içen kişilerin ($n=94$) kromozomal aberasyon sıklığı kontrol grubuna ($n=118$) göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Tawn ve Whitehouse (2001) tarafından yapılan çalışmada 90 sigara içmeyen ve 72 sigara içen kişi üzerinde kromazomal aberasyon tekniği kullanılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda sigara içen grupta translokasyonların ve simetrik değişikliklerin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli derecede artış gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. 100 kişilik (50 sigara içen, 50 sigara içmeyen) bir çalışma grubu üzerinde yapılan bir diğer araştırmada kromozomal aberasyon yüzdesi sigara kullananlarda 2,94 olarak belirlenmişken kontrol grubunda 0,98 olarak tespit edilmiş ve aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca sigara içen kişilerde KA yüzdesi kullanılan sigara miktarıyla doğru orantılı olarak artış göstermektedir (Yadav ve diğerleri, 2001). Çelik ve Akbaş (2005) benzin istasyonunda çalışan işçilere periferik kanda kromozomal aberasyon deneyi uygulamışlardır. 30 benzin istasyonunda çalışan işçi (15 sigara içen ve 15 sigara içmeyen), 30 kontrol grubunu oluşturan (15 sigara içen ve 15 sigara içmeyen) kişilerin KA değerleri karşılaştırılmıştır her birey için 100 hücre değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda; sigara içmeyen kişilerde 3 kromatid gap, 5 kromatid kırık, 3 kromozom gap, 0 kromozom kırık ve 3 fragment tespit edilirken yine kontrol grubundaki sigara içen kişilerde 10 kromatid gap, 7 kromatid kırık, 7 kromozom gap, 2 kromozom kırık, 2 fragment, 1 disentrik kromozom bulunmuştur. Kontrol grubunda sigara içmeyen kişilerde toplam yapısal kromozomal aberasyon sayısı 14 iken sigara içen kişilerde bu sayı 29 dur ($p<0,05$). Sigara içiminin mitotik indeksi düşürdüğünü fakat sigara kullanımı ve KA değerleri arasında bir ilişki bulunmadığı sonucuna varmışlardır ($p>0,05$). Karahalil, Akkas, Cok, Sengul, (2008) tarafından yapılan çalışmada maternal ve paternal olarak sigaraya maruziyet araştırılmıştır. Eşleri günde 20 adetten fazla sigara içen kadınların çocuklarında kromazomal aberasyon sıklığı ve idrar kotinin düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak paternal maruziyetin KA değerini kontrol grubuna göre önemli derecede etkilediği gösterilmiştir.

Anket Sonuçları

Çalışma sonuçlarımız e-sigara kullanan bireylere ait genotoksik hasar ve nikotin maruziyetine yönelik ilk bilgileri içermesi bakımından önemli olduğu gibi e-sigara kullanan gönüllülere uygulanan anket sonuçları verileri Türkiye’de e-sigara kullanan bireylere ait ilk genel bilgileri içermesi bakımından da oldukça değerlidir. Yapılan literatür araştırmasında ülkemizdeki e-sigara kullanan kişilere yönelik kullanıcı portföyünü içeren bilgiye rastlanmamıştır. E-sigara kullanıcılarına yönelik olarak (n=32) e-sigara kullanım alışkanlığını, kullanma sıklığını, e-sigara içeriğindeki nikotin miktarını öğrenmeye yönelik spesifik sorular içeren yapılan anket (EK-4) çalışması sonuçları Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10’da sunulmuştur. Sonuçlarımıza göre e-sigara kullanan bireylerin yaklaşık % 80’i sigarayı bırakmak amacıyla, % 20’ye yakını sigarayla kıyaslandığında e-sigaranın daha az zararlı olduğu düşüncesiyle, % 10’a yakını kapalı yerlerde rahat içebilmek amacıyla ve daha az kimyasal içerdiği düşüncesiyle e-sigarayı kullanmayı tercih ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmaya katılan bireylerin % 5’ten azı ise kullanımı daha keyifli olduğu, az koku yaydığı ve e-sigara kullanmaları nedeniyle diğer insanları rahatsız etmedikleri düşüncesiyle e-sigara kullanımını tercih ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 4.8). Yapılan anket sonuçlarında e-sigara kullanıcılarına beyana dayalı olarak e-likitteki nikotin miktarları da sorulmuş ve not edilmiştir. Araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarının e-likit nikotin konsantrasyonlarının 4-24 mg/ml arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamıza katılan e-sigara kullanıcılarının % 30’u (n=11) 18 mg/ml nikotin içeren e-likitleri kullanmaktadırlar. Bu sonuçlar bize yüksek nikotin konsantrasyonuna sahip e-likiterin daha fazla sayıda kullanıcı tarafından tercih edildiğini göstermektedir. Çalışmaya katılan kullanıcıların % 10’undan daha az bir kısmı düşük nikotin oranına sahip (4-6 mg/ml) e-likitleri tercih etmektedirler (Şekil 4.9). Kullanıcıların yüksek nikotin içeriğine sahip e-likitleri sıfır nikotin içeren e-likitlerle karıştırarak kullandıkları ve böylece daha seyreltik ara dilüsyonlar elde ettikleri de not edilmiştir. E-sigara kullanıcılarının ara dilüsyonları oluşturmalarındaki en büyük etken yüksek konsantrasyona sahip e-likitleri giderek düşen oranda nikotin içeren e-likitleri kullanmaya çalışarak son evrede sıfır nikotin içeren e-likit kullanarak nikotin bağımlılığından uzaklaşmaya çalışmaları dikkat çekici bir anektot olarak not edilmiştir. Çalışmamıza katılan iki kişi bu uygulama ile sigarayı bırakmayı

denemişlerdir. Seyreltilmiş nikotin içeriğine sahip e-likitlerin yanında daha derişik konsantrasyonlara sahip e-likitler de kullanılabilmektedir. Gümrükten ülkemize geğişi yasal olmamasına karşın 100 mg/ml nikotin içeren sıvılar e-likitlerde kullanılmak üzere internet yolu ile alınmaktadır. Bu durumun sonucu olarak kullanıcıların büyük bir kısmı kendi e-likit karışımını oluşturabilecek kimyasalları (nikotin, propilen glikol, gliserin) yurt dışından getirtebilmektedirler. Anket sonuçlarımıza göre e-sigara kullanıcılarının çoğu gıda aroması türü olarak kahve ve klasik olarak tütün aromalarını e-likitlerinde kullanmayı tercih etmektedirler. Evde farklı gıda katkı maddelerini karıştıırarak aroma hazırlayan ve e-likitlerine ekleyen kullanıcılar da mevcuttur. Resim 4.12’de üzerinde etiket bulunmayan ve e-sigara kullanıcısı tarafından üretilmiş tofi, sahleple ve orman meyveli aromalı e-likit fotoğrafı görölmektedir. E-sigara kullanıcılarına ait e-likitteki gıda aromaları çeşidine yönelik bilgiler Şekil 4.10’da gösterilmiştir. Çalışmamız süresince ulaştığımız otuziki e-sigara kullanıcısına ait e-sigaralar Türkiye’de kullanılan e-sigara çeşitlerinin ve araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarının hangi tipte e-sigara (birinci nesil ya da ikinci nesil) kullandıklarının, belirlenmesi amacıyla fotoğraflanmıştır. Araştırmaya katılan 32 e-sigara kullanıcısından 21’i 1. nesil e-sigara kullanırken 11’i doğrudan damlatma tekniği ile çalışan ikinci nesil e-sigaraları kullanmaktadırlar. Resim 4.11’de araştırmaya katılan e-sigara kullanıcılarına ait e-sigaraların resimleri sunulmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz anket sonuçları Türkiye’de e-sigara kullanıcılarının tercih ettikleri e-sigara tipi, e-likit çeşidi, nikotin miktarı ve e-sigara kullanım amacına yönelik olarak ilk bilgileri içermesi bakımından önem arz etmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

E-sigara kullanıcıları; başta sigarayı bırakabilmek, sigara içilmesinin yasaklandığı ortamlarda rahatlıkla nikotin ihtiyacını gidermek, sigaradan kaynaklanan kimyasallara maruz kalmamak dolayısıyla daha az sağlık riskine sahip olmak gibi düşüncelerin yanı sıra insanları oluşturan duman ve koku gibi etkilerle rahatsız etmemek amacıyla e-sigara kullanımını tercih etmektedirler. Sıralanan bu durumlar e-sigara kullanımı hakkında yeterli bilimsel bilgi eksikliğinin sonucu olarak gerek tüm dünyada gerekse ülkemizde e-sigara kullanımının artmasına neden olmaktadır. Ayrıca düzenleyici kurumlar arasında konuya yönelik ortak kuralların belirlenememiş olması da bu artışta bir etken olarak değerlendirilmektedir. Örneğin sigara konusunda son 10 yılda uygulanan ve düzenlemeye konulan yeni kurallar çerçevesinde sigara kullanımı önüne pek çok engel oluşturulurken, e-sigara konusunda benzer önlemlerin getirilmesinde daha az kuralların konulmuş olması çok anlaşılır bulunmamaktadır.

Çalışmada e-sigara kullanan bireylerde elde edilen nikotin sonuçları e-sigaranın nikotin tipi bağımlılığın giderilmesinde bir alternatif olamayacağı şeklinde yorumlanabilir. İhtiyaç duyulduğunda el altında olacak ve sigara içimi kadar nikotin ihtiyacının karşılanacağı bu ürün yelpazesi, nikotin tipi bağımlılıkta “yerine koyma tedavisi” açısından uygun bir çözüm olmayacağı sonucu bu tez çalışması sonuçlarından rahatlıkla çıkarılabilmektedir. “Sigara bağımlılığı” giderilmeye çalışılırken insanların yeni bir bağımlılık türü “e-sigara bağımlılığı” ile karşı karşıya kalabilme ihtimalinin olduğu e-sigara üreticileri tarafından kabul edilmesi ve üreticilerinin bu ürünlerin üzerine “sigarayı bırakmak için bir alternatif değildir” ibaresini yazmaları, nikotin tipi bağımlılığın sürdürülmemesi açısından yararlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca özellikle diğer bağımlılık türlerinin gelişmesinde nikotin kartuşlarının etkin rol almaması için kartuşların kullanımına yönelik önlemlerin düşünülmesinde yarar vardır. Bu konuda düzenleyici kurumlara da ayrıca görev düşmektedir. Zira yasaklamalara ve kısıtlamalara karşın internet bu ürünlere ulaşmakta ana kaynaklardan birini oluşturmaktadır. E-sigara ürünlerinin bu yolla pazarlanmasında sağlık otoritelerinin e-sigara kullanımı nedeniyle ortaya çıkabilecek bağımlılık riskine yönelik uyarıların ilgili sayfalarda bulundurulması zorunluluğu getirilmesi ve bu konuda kamu spotlarının yayınlanması alınacak önlemler olarak ilk akla gelenlerdir. Ayrıca internette e-sigara kullanımının özendirilmesine yönelik videolar, e-sigara ve satışına yönelik

kullanıcıyı teşvik eden promosyonlara yasal düzenlemelerle kısıtlamalar getirilmesi diğer önerilerimiz arasında yer almaktadır.

Daha önceden de belirtildiği gibi e-sigara hakkındaki bilgi eksikliğini gidermeye, literatürde eksikliği hissedilen boşluğu doldurmaya yönelik olarak tasarlanan bu çalışma, e-sigara kullanımından kaynaklanan genotoksik etkilerin belirlenmesi konusunda ilk verilerin sunulması açısından önem arz etmektedir. Sunulan tez çalışması sonuçlarıyla e-sigara hakkında yapılacak yasal düzenlemelere bilimsel bir rehber ve kaynak oluşturulması en önemli çıktı olmasının yanısıra, gelecekte yapılacak olan e-sigara kullanıcılarında olası genotoksik hasar ve maruz kalınan toksik bileşiklerin aranacağı çalışmalara da bir basamak olacağı düşünülmektedir. Çalışmada elde edilen genotoksisite sonuçları göz önüne alındığında, e-sigara kullanıcılarının bu ürünün kullanımından dolayı genotoksik risklere sahip olabileceği yönündedir. E-sigara kullanan, sigara içen, pasif olarak sigara dumanına maruz kalan ve sağlıklı sigara içmeyen gönüllülerden alınan örneklerde çalışılmış olan yanak epitel hücre mikroçekirdek deneyi sonuçları ile uluslararası HUMNxl veri tabanına da (Bonassi ve diğerleri, 2011) bilgi sağlanması bakımından da tez çalışması sonuçları önem kazanmıştır. Ayrıca elde edilen komet yöntemi sonuçlarıyla da ComNet veri bankasına (Collins ve diğerleri, 2014) bilimsel kaynak oluşturmasına da katkıda bulunulacağı düşünülmektedir. Bu nedenle gelecek çalışmalarda genotoksik hasara neden olabilecek ve e-sigara içeriğinde bulunan PAH'lar, nitrozaminler, ağır metaller, metabolik aktivasyon sonucu oluşan DNA katım ürünleri gibi diğer toksik, karsinojenik maddelere e-sigara kullanıcılarının maruziyet düzeylerinin belirlenmesinin yanısıra e-sigara ve sigarayı aynı anda kullanan kişilerdeki etkiler hatta e-sigara dumanına pasif maruziyette meydana gelebilecek olası etkilerin araştırılması yönünde de yeni çalışmaların planlanmasında yarar görülmektedir. Ayrıca ileride yapılacak çalışmalarda özellikle farklı konsantrasyonlarda e-likit tüketen daha fazla sayıda e-sigara kullanıcılarına ulaşılarak olası etkiler deneylerle analiz edilmelidir. Böylece gelecekteki yapılacak çalışmalarda daha fazla e-sigara kullanan kişiye ulaşılması deney sonuçlarının geçerlilik ve güvenilirliğini arttıracaktır.

E-sigara kullanımı ve satışına yönelik yukarıda bildirilen önlemler dışında otoritelerce yapılabilecek düzenlemelere yönelik öneriler aşağıda sunulmuştur.

Sigara içiminin neden olabileceği etkilere yönelik yapılmış çalışmaların e-sigara kullanımına yönelik olarak da tasarlanıp yapılması gerekmektedir. Örneğin e-sigara için

gelecekte yapılacak düzenlemelerde e-sigara likit üretiminde hijyenik koşullara uyulması, tüm içerik, katkı maddeleri, her bir potansiyel zararlı bileşenin etikette listelenmesi gerekliliği ve içerikteki nikotin yüzdesine ait bilgilerin açıkça ürünle birlikte verilmesi, sıcaklık kontrolsüz cihazların satışı ve pazarlanmasına düzenlemeler getirilmesi gerekliliği otoritelerce endüstriye sunulmalı ve uygulamada denetimler sağlanmalıdır. Ayrıca e-sigara reklamlarında ve etiketlerinde verilen “bu ürün sigara içimine göre daha az tehlikeli olabilir” mesajı düzeltilmelidir. Verilmesi gereken doğru mesaj yanıltıcı mesajları düzeltmeye yönelik olmalı, “bu ürün sigarayla karşılaştırıldığında güvenilir bir alternatif değildir” şeklindeki bilgi verici cümlelerin endüstri tarafından etikette yazılmasının zorunlu hale getirilmesinin yararlı alacağı düşünülmektedir.

Özellikle genç kullanıcıların beğenisine sunulan çeşitli tat ve aromalara sahip e-likitlerin içeriğindeki maddeler etiketlemede ayrı ayrı yazılmalıdır. FDA gibi otoriteler tarafından paketlemede kullanıcıların etikete dikkat çekilmesi ya da uyarılması sağlanmalıdır. E-likitlerde gençlerin kullanımını arttıran bir etken olan e-likitlerdeki aroma verici maddelerin kullanımının da yasaklanması bir çözüm yolu olabilir. Fakat şimdiye kadar bu konu ile ilgili dünyada ve ülkemizde henüz yasal bir düzenleme yapılmamıştır.

Son olarak e-sigaranın çocuklarda, sigara kullanmayan bireylerde, hamile kadınlarda ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli sağlık problemlerine sahip olan bireylerde kullanımının önüne geçilecek her türlü uyarıların e-sigara ürünleri üzerinde yer almasının sağlanması, e-sigara ürünlerinin yaygın ve güvenli düşüncesiyle kullanımının önüne geçecek temel önlemlerden olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Adkison, S.E., O'Connor, R.J., Bansal-Travers, M., Hyland, A., Borland, R. and Yong, H.H. (2013). Electronic nicotine delivery systems: international tobacco control four-country survey. *American Journal of Preventive Medicine*, 44(3), 207-215.
- Alaoui-Jamali, M.A., Rossignol, G., Schuller, H.M. and Castonguay, A. (1989). Transplacental genotoxicity of a tobacco-specific N-nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, in Syrian golden hamster. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 223(1), 65-72.
- Allen, J.G., Flanigan, S.S., LeBlanc, M., Vallarino, J., MacNaughton, P. and Stewart, J.H. (2015). Flavoring Chemicals in E-Cigarettes: Diacetyl, 2, 3-Pentanedione, and Acetoin in a Sample of 51 Products, Including Fruit-, Candy-, and Cocktail-Flavored E-Cigarettes. *Environ Health Perspect.* DOI: 10.1289/ehp.1510185.
- Aquino, N.B., Seigny, M.B., Sabangan, J. and Louie, M.C. (2012). The role of cadmium and nickel in estrogen receptor signaling and breast cancer: metalloestrogens or not?. *Journal of Environmental Science and Health*, 30(3), 189-224.
- Armitage, A., Dollery, C., Houseman, T., Kohner, E., Lewis, P. J. and Turner, D. (1978). Absorption of nicotine from small cigars. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 23(2), 143-151.
- Aurrekoetxea, J.J., Murcia, M., Rebagliato, M., Fernández-Somoano, A., Castilla, A.M. and Guxens, M. (2014). Factors associated with second-hand smoke exposure in non-smoking pregnant women in Spain: Self- reported exposure and urinary cotinine levels. *Science of the Total Environment*, 470, 1189-1196.
- Aydogan, U., Durmaz, E., Ercan, C.M., Eken, A., Ulutas, O.K. and Kavuk, S. (2013). Effects of smoking during pregnancy on DNA damage and ROS level consequences in maternal and newborns' blood. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 64(1), 35-46.
- Ayers, J. W., Ribisl, K.M. and Brownstein, J.S. (2011). Tracking the rise in popularity of electronic nicotine delivery systems (electronic cigarettes) using search query surveillance. *American Journal of Preventive Medicine*, 40(4), 448-453.
- Bahl, V., Lin, S., Xu, N., Davis, B., Wang, Y.H. and Talbot, P. (2012). Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reproductive Toxicology*, 34(4), 529-537.
- Barrett, S.P. (2010). The effects of nicotine, denicotinized tobacco, and nicotine-containing tobacco on cigarette craving, withdrawal, and self-administration in male and female smokers. *Behavioural Pharmacology*, 21(2), 144-152.
- Batra, A., Friederich, H.M. and Lutz, U. (2009). Therapie der Nikotinabhängigkeit. *Der Nervenarzt*, 80(9), 1022-1029.

- Benowitz, N.L., Jacob, P.I.I.I., Jones, R.T. and Rosenberg, J. (1982a). Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 221(2), 368-372.
- Benowitz, N.L., Hall, S.M., Herning, R.I., Jacob, P., Jones, R.T. and Osman, A.L. (1983a). Smokers of low-yield cigarettes do not consume less nicotine. *New England Journal of Medicine*, 309(3), 139-142.
- Benowitz, N.L., Kuyt, F., Jacob, P., Jones, R.T. and Osman, A.L. (1983b). Cotinine disposition and effects. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 34(5), 604-611.
- Benowitz, N.L. and Jacob, P. (1985). Nicotine renal excretion rate influences nicotine intake during cigarette smoking. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 234(1), 153-155.
- Benowitz, N.L. (1990). Clinical pharmacology of inhaled drugs of abuse: implications in understanding nicotine dependence. *NIDA Research Monographs*, 99, 12-29.
- Benowitz, N.L. (1993). Nicotine replacement therapy: what has been accomplished: can we do better?. *Drugs*, 45(2), 157-170.
- Benowitz, N.L., Jacob, P.I.I.I., Fong, I. and Gupta, S. (1994). Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268(1), 296-303.
- Benowitz, N.L. (1996). Cotinine as a biomarker of environmental tobacco smoke exposure. *Epidemiologic Reviews*, 18(2), 188-204.
- Benowitz, N.L., Perez-Stable, E.J., Fong, I., Modin, G., Herrera, B. and Jacob, P. (1999). Ethnic differences in N-glucuronidation of nicotine and cotinine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(3), 1196-1203.
- Benowitz, N.L. and Jacob, P. (2001). Trans-3'-hydroxycotinine: Disposition kinetics, effects and plasma levels during cigarette smoking. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 51(1), 53-59.
- Benowitz, N.L., Jacob, P., Hall, S., Tsoh, J., Ahijevych, K. and Jarvis, M.J. (2002). Biochemical verification of tobacco use and cessation. *Nicotine and Tobacco Research*, 4(2), 149-159.
- Benowitz, N.L., Hukkanen, J., Jacob, P. (2009). Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. Springer Berlin Heidelberg. In *Nicotine Psychopharmacology*, 29-60.
- Bertholon, J. F., Becquemin, M.H., Annesi-Maesano, I. and Dautzenberg, B. (2013). Electronic cigarettes: a short review. *Respiration*, 86(5), 433-438.
- Betti, C., Davini, T., Giannessi, L., Loprieno, N. and Barale, R. (1995). Comparative studies by comet test and SCE analysis in human lymphocytes from 200 healthy subjects. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 343(4), 201-207.

- Binková, B., Lewtas, J., Mísková, I., Rössner, P., Cerná, M. and Mrácková, G. (1996). Biomarker studies in northern Bohemia. *Environmental Health Perspectives*, 104(3), 591.
- Bonassi, S., Hagmar, L., Strömberg, U., Montagud, A. H., Tinnerberg, H. and Forni, A. (2000). for the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH), Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. *Cancer Research*, 60, 1619-1625.
- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., and Burgaz, S. (2011). The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN XL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 728(3), 88-97.
- Brajenović, N., Karačonji, I.B. and Bulog, A. (2015). Evaluation of Urinary Btex, Nicotine, and Cotinine as Biomarkers of Airborne Pollutants in Nonsmokers and Smokers. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78(17), 1133-1136.
- Bramer, S. L. and Kallungal, B.A. (2003). Clinical considerations in study designs that use cotinine as a biomarker. *Biomarkers*, 8(3-4), 187-203.
- Breese, C.R., Marks, M.J., Logel, J., Adams, C.E., Sullivan, B. and Collins, A.C. (1997). Effect of smoking history on [3H] nicotine binding in human postmortem brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282(1), 7-13.
- Bullen, C., McRobbie, H., Thornley, S., Glover, M., Lin, R. and Laugesen, M. (2010). Effect of an electronic nicotine delivery device (e cigarette) on desire to smoke and withdrawal, user preferences and nicotine delivery: randomised cross-over trial. *Tobacco Control*, 19(2), 98-103.
- Bullen, C., Howe, C., Laugesen, M., McRobbie, H., Parag, V. and Williman, J. (2013). Electronic cigarettes for smoking cessation: a randomised controlled trial. *The Lancet*, 382(9905), 1629-1637.
- Burgaz, S., İscan, A., Büyükbingöl, Z.K., Bozkurt, A. and Karakaya, A. E. (1995). Evaluation of micronuclei in exfoliated urothelial cells and urinary thioether excretion of smokers. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 335(2), 163-169.
- Burstyn, I. (2014). Peering through the mist: systematic review of what the chemistry of contaminants in electronic cigarettes tells us about health risks. *BMC public health*, 14(1), 18.
- Byrd, G.D., Chang, K.M. and Greene, J.M. (1992). Evidence for urinary excretion of glucuronide conjugates of nicotine, cotinine, and trans-3'-hydroxycotinine in smokers. *Drug Metabolism and Disposition*, 20(2), 192-197.
- Cahn, Z. and Siegel, M. (2011). Electronic cigarettes as a harm reduction strategy for tobacco control: A step forward or a repeat of past mistakes&quest. *Journal of Public Health Policy*, 32(1), 16-31.

- Camenga, D.R., Delmerico, J., Kong, G., Cavallo, D., Hyland, A. and Cummings, K.M. (2014). Trends in use of electronic nicotine delivery systems by adolescents. *Addictive Behaviors*, 39(1), 338-340.
- Caponnetto, P., Campagna, D., Cibella, F., Morjaria, J.B., Caruso, M. and Russo, C. (2013a). Efficiency and Safety of an eElectronic cigAreTte (ECLAT) as tobacco cigarettes substitute: a prospective 12-month randomized control design study. *PloS One*, 8(6), e66317.
- CDC. (2013). Electronic cigarette use among middle and high school students. *United States*, 2011-2012. *MMWR* 62(35): 729-730.
- Cervellin, G., Luci, M., Bellini, C. and Lippi, G. (2013). Bad news about an old poison. A case of nicotine poisoning due to both ingestion and injection of the content of an electronic cigarette refill. *Emergency Care Journal*, 9(2), 18.
- Cho, J. H., Shin, E. and Moon, S.S. (2011). Electronic-cigarette smoking experience among adolescents. *Journal of Adolescent Health*, 49(5), 542-546.
- Collins, A., Koppen, G., Valdiglesias, V., Dusinska, M., Kruszewski, M. and Møller, P. (2014). The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: the ComNet project. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 759, 27-39.
- Çavuşoğlu, K., Yapar, K. ve Yalçın, E. (2008). Sigara içenlerde yanak mukozası epitel hücrelerindeki Toksisitenin belirlenmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(2).
- Dahlström, A., Lundell, B., Curvall, M. and Thapper, L. (1990). Nicotine and cotinine concentrations in the nursing mother and her infant. *Acta Paediatrica*, 79(2), 142-147.
- Danadevi, K., Rozati, R., Banu, B.S. and Grover, P. (2004). Genotoxic evaluation of welders occupationally exposed to chromium and nickel using the Comet and micronucleus assays. *Mutagenesis*, 19(1), 35-41.
- Dar, R., Rosen-Korakin, N., Shapira, O., Gottlieb, Y. and Frenk, H. (2010). The craving to smoke in flight attendants: relations with smoking deprivation, anticipation of smoking, and actual smoking. *Journal of Abnormal Psychology*, 119(1), 248.
- Darbre, P.D. (2006). Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *Journal of Applied Toxicology*, 26(3), 191-197.
- Dawkins, L. and Corcoran, O. (2014). Acute electronic cigarette use: nicotine delivery and subjective effects in regular users. *Psychopharmacology*, 231(2), 401-407.
- Dawkins, L., Turner, J., Hasna, S. and Soar, K. (2012). The electronic-cigarette: effects on desire to smoke, withdrawal symptoms and cognition. *Addictive Behaviors*, 37(8), 970-973.
- de Assis, K.R.C., Ladeira, M.S.P., Bueno, R.C., dos Santos, B.F., Dalben, I. and Salvadori, D.M.F. (2009). Genotoxicity of cigarette smoking in maternal and newborn

- lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 679(1), 72-78.
- Dempsey, D.A. and Benowitz, N.L. (2001). Risks and benefits of nicotine to aid smoking cessation in pregnancy. *Drug Safety*, 24(4), 277-322.
- Dhawan, A., Mathur, N. and Seth, P.K. (2001). The effect of smoking and eating habits on DNA damage in Indian population as measured in the Comet assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 474(1), 121-128.
- Dockrell, M., Morison, R., Bauld, L. and McNeill, A. (2013). E-cigarettes: prevalence and attitudes in Great Britain. *Nicotine & Tobacco Research*, ntt057.
- Drabløs, F., Feyzi, E., Aas, P.A., Vaagbø, C.B., Kavli, B. and Bratlie, M.S. (2004). Alkylation damage in DNA and RNA repair mechanisms and medical significance. *DNA Repair*, 3(11), 1389-1407.
- Eissenberg, T. (2010). Electronic nicotine delivery devices: ineffective nicotine delivery and craving suppression after acute administration. *Tobacco Control*, 19(1), 87-88.
- Ertaş, Ö.S. ve Kayalı, A. (2005). Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. *Journal of Faculty of Pharmacy*, 34(1), 41-57.
- Etter, J.F. and Bullen, C. (2011a). Electronic cigarette: users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy. *Addiction*, 106(11), 2017-2028.
- Etter, J.F. and Bullen, C. (2011b). Saliva cotinine levels in users of electronic cigarettes. *European Respiratory Journal*, 38(5), 1219-1220.
- Etter, J.F. (2010). Electronic cigarettes: a survey of users. *BMC Public Health*, 10(1), 231.
- Etter, J.F. (2012). *The electronic cigarette: an alternative to tobacco?*.
- Etter, J. F. (2014). Levels of saliva cotinine in electronic cigarette users. *Addiction*, 109(5), 825-829.
- Faccioni, F., Franceschetti, P., Cerpelloni, M., Fracasso, M. E. (2003). In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 124(6), 687-693.
- Fechheimer, N.S. (1968). Consequences of chromosomal aberrations in mammals. *Journal of Animal Science*, 27, 27.
- Fiore, M.C., Kenford, S.L., Jorenby, D.E., Wetter, D.W., Smith, S.S. and Baker, T.B. (1994). Two studies of the clinical effectiveness of the nicotine patch with different counseling treatments. *CHEST Journal*, 105(2), 524-533.
- Fischer, S., Spiegelhalder, B., Preussmann, R. (1991). Tobacco-specific nitrosamines in commercial cigarettes: possibilities for reducing exposure. *IARC Sci Publication*, (105), 489-92.

- Flouris, A.D., Chorti, M.S., Poulianiti, K.P., Jamurtas, A.Z., Kostikas, K. and Tzatzarakis, M.N. (2013). Acute impact of active and passive electronic cigarette smoking on serum cotinine and lung function. *Inhalation Toxicology*, 25(2), 91-101.
- Flouris, A.D., Poulianiti, K.P., Chorti, M.S., Jamurtas, A.Z., Kouretas, D. and Owolabi, E. O. (2012). Acute effects of electronic and tobacco cigarette smoking on complete blood count. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3600-3603.
- Foiles, P.G., Akerkar, S.A., Carmella, S.G., Kagan, M., Stoner, G.D. and Resau, J.H. (1991). Mass spectrometric analysis of tobacco-specific nitrosamine-DNA adducts in smokers and nonsmokers. *Chemical Research in Toxicology*, 4(3), 364-368.
- Garbutt, J.M., Miller, W., Dodd, S., Bobenhouse, N., Sterkel, R. and Strunk, R.C. (2015). Parental Use of Electronic Cigarettes. *Academic Pediatrics*, 15(6), 599-604.
- Gilbert, H.A. (1965). Smokeless Non-Tobacco Product, United States Patent Office. No. 3200819, 17Aus.
- Gill, N., Sangha, G., Poonai, N., Lim, R. (2015). E-cigarette liquid nicotine ingestion in a child: case report and discussion. *Canadian Journal of Emergency Medicine*, 17(6), 1-5.
- Goniewicz, M.L. and Zielinska-Danch, W. (2012). Electronic cigarette use among teenagers and young adults in Poland. *Pediatrics*, 130(4), e879-e885.
- Goniewicz, M.L., Kuma, T., Gawron, M., Knysak, J., Kosmider, L. (2013a). Nicotine levels in electronic cigarettes. *Nicotine Tobacco Research*, 15, 158-166.
- Goniewicz, M.L., Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A. and Jolanta-Kurek J. (2013b). Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes, *Tobacco Control*, 1-7.
- Goniewicz, M.L., Lingas, E.O. and Hajek, P. (2013c). Patterns of electronic cigarette use and user beliefs about their safety and benefits: an internet survey. *Drug and Alcohol Review*, 32(2), 133-140.
- Goniewicz, M.L., Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A. and Kurek, J. (2014). Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tobacco Control*, 23(2), 133-139.
- Gori, G.B. and Lynch, C.J. (1985). Analytical cigarette yields as predictors of smoke bioavailability. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 5(3), 314-326.
- Gori, G.B., Benowitz, N.L. and Lynch, C.J. (1986). Mouth versus deep airways absorption of nicotine in cigarette smokers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 25(6), 1181-1184.
- Gulati, V., Marfatia, R., Gilliam, K., Wakefield, D., Rash, C. and Alessi, S. (2014). Urinary cotinine and normetanephrine levels predict the ambulatory rate-pressure product in cigarette smokers. *Journal of the American Society of Hypertension*, 8(4), e90.

- Gupta, S., Gandhi, A., Manikonda, R. (2014). Accidental nicotine liquid ingestion: emerging paediatric problem. *Archives of disease in childhood*, archdischild-2014.
- Hagmar, L., Bonassi, S., Strömberg, U., Brøgger, A., Knudsen, L.E. and Norppa, H. (1998). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Research*, 58(18), 4117-4121.
- Hammond, K. (2004). Global Patterns of Nicotine and tobacco consumption. In Henningfield, J. London, E. Pogun, S. (Eds.), *Nicotine Psychopharmacology*, München: Springer, (192), 3-28.
- Haufroid, V. and Lison, D. (1998). Urinary cotinine as a tobacco-smoke exposure index: a minireview. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 71(3), 162-168.
- Hays, J.T., Croghan, I.T., Schroeder, D.R., Offord, K.P., Hurt, R.D. and Wolter, T.D. (1999). Over-the-counter nicotine patch therapy for smoking cessation: results from randomized, double-blind, placebo-controlled, and open label trials. *American Journal of Public Health*, 89(11), 1701-1707.
- Hecht, S.S., Carmella, S.G., Murphy, S.E., Akerkar, S., Brunnemann, K.D. and Hoffmann, D. (1993). A tobacco-specific lung carcinogen in the urine of men exposed to cigarette smoke. *New England Journal of Medicine*, 329(21), 1543-1546.
- Hecht, S.S. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chemical Research in Toxicology*, 11(6), 559-603.
- Hecht, S.S. (1999). DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1), 127-142.
- Hecht, S.S. and Hoffmann, D. (1988). Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke. *Carcinogenesis*, 9(6), 875-884.
- Hecht, S.S. and Hoffmann, D. (1989). The relevance of tobacco-specific nitrosamines to human cancer. *Cancer Surveys*, 8(2), 273.
- Hininger, I., Chollat-Namy, A., Sauvaigo, S., Osman, M., Faure, H. and Cadet, J. (2004). Assessment of DNA damage by comet assay on frozen total blood: method and evaluation in smokers and non-smokers. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 558(1), 75-80.
- Hoffmann, D. and Hecht, S. S. (1985). Nicotine-derived N-nitrosamines and tobacco-related cancer: current status and future directions. *Cancer Research*, 45(3), 935-944.
- Hoffmann, D., Brunnemann, K.D., Prokopczyk, B. and Djordjevic, M.V. (1994). Tobacco-specific N-nitrosamines and ARECA-derived N-nitrosamines: Chemistry, biochemistry, carcinogenicity, and relevance to humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 41(1), 1-52.

- Hoffmann, H. and Speit, G. (2005). Assessment of DNA damage in peripheral blood of heavy smokers with the comet assay and the micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 581(1), 105-114.
- Hoffmann, H., Högel, J. and Speit, G. (2005). The effect of smoking on DNA effects in the comet assay: a meta-analysis. *Mutagenesis*, 20(6), 455-466.
- Hoffmann, H., Isner, C., Högel, J. and Speit, G. (2005). Genetic polymorphisms and the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutagenesis*, 20(5), 359-364.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E. and Knasmueller, S. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 659(1), 93-108.
- Hukkanen, J., Jacob, P. and Benowitz, N.L. (2005). Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacological reviews*, 57(1), 79-115.
- İnternet:ACC,(2001).URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmsdsearch.dow.com%2FPublishedLiteratureDOWCOM%2Fdh_0046%2F0901b80380046c71.pdf%3Ffilepath%3Dpropyleneglycol%2Fpdfs%2Fnoreg%2F11701662.pdf%26fromPage%3DGetDoc&date=2015-12-26 adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet: Barboza, D. (2014, Dec 13). China's e-cigarette boom lacks oversight for safety. Retrieved from http://www.nytimes.com/2014/12/14/business/international/chinas-ecigarette-boom-lacks-oversight-for-safety-.html?_r=0. Adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:CASAA(2015)URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fcasaa.org%2FElectronic_Cigarettes.html&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:CDC(2015).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fmedia%2F/releases%2F2015%2Fp0416-e-cigarette-use.html&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:DSÖ(2008).<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fmediacentre%2Fnews%2F/releases%2F2008%2Fpr34%2Fen%2F&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:DSÖ(2012).URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fapps.who.int%2Fgb%2Ffctc%2FPDF%2Fcop5%2FFCTC_COP5_13-en.pdf&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:DSÖ(2015):URL:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/>.<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fmediacentre%2Ffactsheets%2Ffs339%2Fen%2F&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.
- İnternet:FDA(2001).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fda.gov%2Fdownloads%2FDrugs%2F...%2FGuidances%2Fucm070107.pdf&date=2015-12-27>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:FDA(2015).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.fda.gov%2FTobaccoProducts%2FNewsEvents%2Fucm428317.htm&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:IARC(2015).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmonographs.iarc.fr%2FENG%2FClassification%2FClassificationsAlphaOrder.pdf&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:ICH(2005)http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.ich.org%2Ffileadmin%2FPublic_Web_Site%2FICH_Products%2FGuidelines%2FQuality%2FQ2_R1%2FStep4%2FQ2_R1__Guideline.pdf&date=2015-12-27, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:KYTA(2012).URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.halksagligiens.hacettepe.edu.tr%2FKYTA_TR.pdf&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet: Lopes, M. (2013, Dec 11). E-cigarettes: A burning question for U.S. regulators. Retrieved from <http://www.reuters.com/article/2013/12/11/ususaecigarettesidUSBRE9BA0ZT20131211>.adresinden 25 Kasım 2014’de alınmıştır.

İnternet: Mangalindan, J.P. (2014, May 1). For e-cigarettemakers, a \$10 billionmarket at stake. Retrieved from <http://fortune.com/2014/05/01/for-e-cigarette-makers-a-10-billionmarket-at-stake/>. adresinden 25 Kasım 2014’de alınmıştır.

İnternet: O'Neill, M. (2014, Aug 11). How China is lighting up the e-cigarette market. EJ Insight. Retrieved from <http://www.ejinsight.com/20140811-china-e-cigartte/>. adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:OSHA(2013).URL:http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.osha.gov%2Fdfs%2Fchemicalsampling%2Fdata%2FCH_243600.html&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:ResmiGazete(2015).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.resmigazete.gov.tr%2Feskiler%2F2015%2F01%2F201501278.htm&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet: Southeast Asia Tobacco Control Alliance (2014). URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.healthjustice.ph%2Fwpcontent%2Fuploads%2F2014%2F12%2FSEATCA_EcigReport_Final.pdf&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:T.CSağlıkBakanlığı(2015).URL:<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.saglik.gov.tr%2FTR%2Fdosya%2F1-95528%2Fh%2Fulusal-tutun-kontrol-programi-eylem-plani.pdf&date=2015-12-26>, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

İnternet:TGA(2015)URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.tga.gov.au%2Fcommunity%2Felectronic-cigarettes%23.UySIFz9_tXI.&date=2015-12-26, adresinden 26 Aralık 2015’de alınmıştır.

- İnternet: UNEP (2001): OECD SIDS Initial Assessment Report 2001: Propylene glycol. www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDsids/sidspub.html, adresinden 25 Kasım 2014'de alınmıştır.
- İnternet: Westenberger, B.J. (2009). *Evaluation of e-cigarettes* Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ScienceResearch/UCM173250.pdf>. adresinden 25 Kasım 2014'de alınmıştır.
- Jablow, L.M. and Sexton, R.J. (2015). Spontaneous Electronic Cigarette Explosion: A Case Report. *American Journal of Medical Case Reports*, 3(4), 93-94.
- Jacob, P., Ulgen, M. and Gorrod, J.W. (1997). Metabolism of (–)-(S)-nicotine by guinea pig and rat brain: identification of cotinine. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 22(4), 391-394.
- Johansson, C.J., Olsson, P., Bende, M., Carlsson, T. and Gunnarsson, P.O. (1991). Absolute bioavailability of nicotine applied to different nasal regions. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 41(6), 585-588.
- Joseph, A.M., Norman, S.M., Ferry, L.H., Prochazka, A.V., Westman, E.C. and Steele, B. G. (1996). The safety of transdermal nicotine as an aid to smoking cessation in patients with cardiac disease. *New England Journal of Medicine*, 335(24), 1792-1798.
- Karahalıl, B., Akkas, E., Cok, I. and Sengül, N. (2008). Paternal Smoking and the Increased Frequency of Chromosome Aberrations in Umbilical Cord Blood Samples. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(4), 177-185.
- Kayal, J.J., Trivedi, A.H., Dave, B.J., Nair, J., Nair, U.J. and Bhide, S.V. (1993). Incidence of micronuclei in oral mucosa of users of tobacco products singly or in various combinations. *Mutagenesis*, 8(1), 31-33.
- Klein, J.D. (2014). Electronic Cigarettes Are Another Route to Nicotine Addiction for Youth. *Nicotine Tobacco Research*, 16(10), 1319-1326.
- Kozlowski, L.T., Mehta, N.Y., Sweeney, C.T., Schwartz, S.S., Vogler, G.P. and Jarvis, M. J. (1998). Filter ventilation and nicotine content of tobacco in cigarettes from Canada, the United Kingdom, and the United States. *Tobacco Control*, 7(4), 369-375.
- Kuehn, B.M. (2009). FDA: Electronic cigarettes may be risky. *JAMA*, 302(9), 937-937.
- Kyerematen, G.A., Damiano, M.D., Dvorchik, B.H. and Vesell, E.S. (1982). Smoking-induced changes in nicotine disposition: Application of a new HPLC assay for nicotine and its metabolites. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 32(6), 769-780.
- Laugesen, M. (2008). Second Safety Report on the Ruyan® e-cigarette. *Cell*, 27(488), 4375.
- Lauterbach, J.H. and Laugesen, M. (2012). Comparison of toxicant levels in mainstream aerosols generated by Ruyan® electronic nicotine delivery systems (ENDS) and

- conventional cigarette products. In *Proceedings of Society of Toxicology Conference, San Francisco, CA, USA* (pp. 11-15).
- Lawson, G.M., Hurt, R.D., Dale, L.C., Offord, K.P., Croghan, I.T. and Schroeder, D.R. (1998). Application of serum nicotine and plasma cotinine concentrations to assessment of nicotine replacement in light, moderate, and heavy smokers undergoing transdermal therapy. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 38(6), 502-509.
- Leverette, R.D., Misra, M., Cooper, B.T. and Bennett, M.B. (2014, March). Potential toxicity of electronic cigarette liquids and aerosols as measured by four in vitro assays. In *53th annual meeting of the Society of Toxicology*, 23-27.
- Levine, H., Berman, T., Goldsmith, R., Göen, T., Spungen, J. and Novack, L. (2013). Exposure to tobacco smoke based on urinary cotinine levels among Israeli smoking and nonsmoking adults: a cross-sectional analysis of the first Israeli human biomonitoring study. *BMC Public Health*, 13(1), 1241.
- Lewis, S.F., Piasecki, T.M., Fiore, M.C., Anderson, J.E., Baker, T.B. (1998). Transdermal nicotine replacement for hospitalized patients: a randomized clinical trial. *Preventive Medicine*, 27(2), 296-303.
- Lindell, G., Lunell, E. and Graffner, H. (1996). Transdermally administered nicotine accumulates in gastric juice. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 51(3-4), 315-318.
- Lippman, S.M., Peters, E.J., Wargovich, M.J., Stadnyk, A.N., Dixon, D.O. and Dekmezian, R.H. (1990). Bronchial micronuclei as a marker of an early stage of carcinogenesis in the human tracheobronchial epithelium. *International Journal of Cancer*, 45(5), 811-815.
- Liu, Q. (2014). Electronic cigarette, United States Patent Application Publication No:US 2014/0007891 A1, Jan. 9.
- Livingston, G.K., Reed, R.N., Olson, B.L. and Lockey, J.E. (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 15(3), 136-144.
- Lu, Y. and Morimoto, K. (2008). Exposure level to cigarette tar or nicotine is associated with leukocyte DNA damage in male Japanese smokers. *Mutagenesis*, 23(6), 451-455.
- Lupsa, I.R., Nunes, B., Ligocka, D., Gurzau, A.E., Jakubowski, M. and Casteleyn, L. (2015). Urinary cotinine levels and environmental tobacco smoke in mothers and children of Romania, Portugal and Poland within the European human biomonitoring pilot study. *Environmental Research*, 141, 106–117.
- Lutsgarten, J.A. and Wenk, ER, (1972). Simple, Rapid, Kinetic Method for Serum Creatinine Measurement, *Clinical Chemistry*, 18(11), 1419-1422.
- Magee, P.N. (1996). Nitrosamines and human cancer: introduction and overview. *European Journal of Cancer Prevention*, 5, 7-10.

- Man, C.N., Gam, L. H., Ismail, S., Lajis, R. and Awang, R. (2006). Simple, rapid and sensitive assay method for simultaneous quantification of urinary nicotine and cotinine using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 844(2), 322-327.
- Massadeh, A.M., Gharaibeh, A.A. and Omari, K.W. (2009). A single-step extraction method for the determination of nicotine and cotinine in Jordanian smokers' blood and urine samples by RP-HPLC and GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 47(2), 170-177.
- McAuley, T.R., Hopke, P.K., Zhao, J. and Babaian, S. (2012). Comparison of the effects of e-cigarette vapor and cigarette smoke on indoor air quality. *Inhalation toxicology*, 24(12), 850-857.
- Miller, S.N. and Cocores, J.A. (1993). Nicotine dependence. Diagnosis, chemistry, and pharmacologic treatments. *Pediatrics Review*, (14), 275-9.
- Mohankumar, M.N., Janani, S., Prabhu, B.K., Kumar, P.V. and Jeevanram, R.K. (2002). DNA damage and integrity of UV-induced DNA repair in lymphocytes of smokers analysed by the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 520(1), 179-187.
- Møller, P. (2006). The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98(4), 336-345.
- Montharu, J., Le Guellec, S., Kittel, B., Rabemampianina, Y., Guillemain, J. and Gauthier, F. (2010). Evaluation of lung tolerance of ethanol, propylene glycol, and sorbitan monooleate as solvents in medical aerosols. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 23(1), 41-46.
- Murphy, J., Wong, E. and Lawton, M. (2010). *Chemical and operational assessment of the Ruyan classic e-cigarette*. Report P. 474.
- Nakayama, T., Kaneko, M., Kodama, M. and Nagata, C. (1985). Cigarette smoke induces DNA single-strand breaks in human cells. *Nature*, (314), 462- 464.
- Nefić, H., Mušanović, J., Kurteshi, K., Prutina, E. and Turcalo, E. (2013). The effects of sex, age and cigarette smoking on micronucleus and degenerative nuclear alteration frequencies in human buccal cells of healthy Bosnian subjects. *Journal of Health Sciences*, 3(3), 196-204.
- Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I. L., Hagmar, L., Strömberg, U. and Rössner, P. (2006). Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600(1), 37-45.
- Oregon Health Authority (2013), *E-Cigarettes: Smokeless Does Not Mean Harmless*, 62 (27).
- Park, E. and Kang, M.H. (2004). Smoking and high plasma triglyceride levels as risk factors for oxidative DNA damage in the Korean population. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 48(1), 36-42.

- Park, S., Lee, D.H., Park, J.G., Lee, Y.T. and Chung, J. (2010). A sensitive enzyme immunoassay for measuring cotinine in passive smokers. *Clinica Chimica Acta*, 411(17), 1238-1242.
- Parsons, W.D., Carmella, S.G., Akerkar, S., Bonilla, L.E. and Hecht, S.S. (1998). A metabolite of the tobacco-specific lung carcinogen 4-methylnitrosamino-1-3-pyridyl-1-butanone NNK in the urine of hospital workers exposed to environmental tobacco smoke. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, in press.
- Pérez-Stable, E.J., Herrera, B., Jacob, P. and Benowitz, N.L. (1998). Nicotine metabolism and intake in black and white smokers. *JAMA*, (280), 152-6.
- Perry, R.J., Griffiths, W., Dextraze, P., Solomon, R.J. and Trebbin, W.M. (1984). Elevated nicotine levels in patients undergoing hemodialysis: A role in cardiovascular mortality and morbidity?. *The American journal of medicine*, 76(2), 241-246.
- Perry, D.C., Dávila-García, M.I., Stockmeier, C.A. and Kellar, K.J. (1999). Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 289(3), 1545-1552.
- Phillips, D.H. (2002). Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. *Carcinogenesis*, 23(12), 1979-2004.
- Polosa, R., Caponnetto, P., Morjaria, J. B., Papale, G., Campagna, D. and Russo, C. (2011). Effect of an electronic nicotine delivery device (e-Cigarette) on smoking reduction and cessation: a prospective 6-month pilot study. *BMC public health*, 11(1), 786.
- Prabhavathi, P.A., Fatima, S.K., Rao, M.S. and Reddy, P.P. (2000). Analysis of chromosomal aberration frequencies in the peripheral blood lymphocytes of smokers exposed to uranyl compounds. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 466(1), 37-41.
- Preston-Martin, S. and Correa, P. (1988). Epidemiological evidence for the role of nitroso compounds in human cancer. *Cancer Surveys*, 8(2), 459-473.
- Preussmann, R. and Stewart, B.W. (1984). N-nitroso carcinogens, in: ŽC.E. Searle Ed., *Chemical Carcinogenesis ACS*, Washington, DC; 643-828.
- Regan, A.K., Promoff, G., Dube, S.R. and Arrazola, R. (2013). Electronic nicotine delivery systems: adult use and awareness of the 'e-cigarette' in the USA. *Tobacco Control*, 22(1), 19-23.
- Romagna, G., Alliffranchini, E., Bocchietto, E., Todeschi, S., Esposito, M. and Farsalinos, K. E. (2013). Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): comparison with tobacco cigarette smoke extract. *Inhalation Toxicology*, 25(6), 354-361.
- Romagna, G., Zabarini, L., Barbiero, L., Bocchietto, E., Todeschi, S. and Caravati, E. (2012, September). Characterization of chemicals released to the environment by electronic cigarettes use (ClearStream-AIR project): is passive vaping a reality. In *14th Annual*

Meeting of the Society for Research on Nicotine and Tobacco. Helsinki, Finland (Vol. 1).

- Rosin, M.P. (1992). The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 267(2), 265-276.
- Rossner, P., Boffetta, P., Ceppi, M., Bonassi, S., Smerhovsky, Z. and Landa, K. (2005). Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environmental Health Perspectives*, 517-520.
- Rüther, T., Wissen, F., Linhardt, A., Aichert, D. S., Pogarell, O. and de Vries, H. (2015). Electronic Cigarettes—Attitudes and Use in Germany. *Nicotine&Tobacco Research*, 1-10.
- Sardaş, S., Walker, D., Akyol, D. ve Karakaya, A. E. (1995). Assessment of smoking-induced DNA damage in lymphocytes of smoking mothers of newborn infants using the alkaline single-cell gel electrophoresis technique. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 335(3), 213-217.
- Salturk, Z., Çakır, Ç., Sünnetçi, G., Atar, Y., Kumral, T. L., Yıldırım, G. and Uyar, Y. (2015). Effects of Electronic Nicotine Delivery System on Larynx: Experimental Study. *Journal of Voice*, 29(5), 560-563.
- Scarpato, R., Hirvonen, A., Migliore, L., Falck, G. and Norppa, H. (1997). Influence of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on the frequency of chromosome aberrations in lymphocytes of smokers and pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 389(2), 227-235.
- Schabath, M.B., Spitz, M.R., Grossman, H.B., Zhang, K., Dinney, C.P. and Zheng, P.J. (2003). Genetic instability in bladder cancer assessed by the comet assay. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(7), 540-547.
- Scherer, G., Jarczyk, L., Heller, W.D., Biber, A., Neurath, G.B. and Adlkofer, F. (1987). Pharmacokinetics of nicotine, cotinine, and 3'-hydroxycotinine in cigarette smokers. *Klinische Wochenschrift*, 66, 5-11.
- Schonwald, S. (2001). *Medical toxicology*. Philadelphia, PN: Lippincott Williams & Williams.
- Schripp, T., Markewitz, D., Uhde, E. and Salthammer, T. (2013). Does e-cigarette consumption cause passive vaping?. *Indoor Air*, 23(1), 25-31.
- Schroeder, M.J. and Hoffman, A.C. (2014). Electronic cigarettes and nicotine clinical pharmacology. *Tobacco Control*, 23(2), 30-35.
- Shetty, S.S. and Nachane, H. (2013). Smoking genotoxicity in peripheral blood lymphocytes using the comet assay, *Nitte University Journal of Health Science*, 3(3), 38-41.

- Siegel, M.B., Tanwar, K.L. and Wood, K.S. (2011). Electronic cigarettes as a smoking-cessation tool: results from an online survey. *American Journal of Preventive Medicine*, 40(4), 472-475.
- Sipowicz, M.A., Amin, S., Desai, D., Kasprzak, K.S. and Anderson, L.M. (1997). Oxidative DNA damage in tissues of pregnant female mice and fetuses caused by the tobacco-specific nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK). *Cancer Letters*, 117(1), 87-91.
- Šiviková, K. and Dianovský, J. (1999). Genotoxic activity of the commercial herbicide containing bifenox in bovine peripheral lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 439(2), 129-135.
- Speit, G., Witton-Davies, T., Heepchantree, W., Trenz, K. and Hoffmann, H. (2003). Investigations on the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 542(1), 33-42.
- Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. (1996). Tobacco-specific nitrosamines. *European Journal of Cancer Prevention*, 5, 33-38.
- Stead, L.F., Perera, R., Bullen, C., Mant, D. and Lancaster, T. (2008). Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *The Cochrane Library*, (3), 1-160.
- Stepanov, I., Jensen, J., Hatsukami, D. and Hecht, S.S. (2006). Tobacco-specific nitrosamines in new tobacco products. *Nicotine & Tobacco Research*, 8(2), 309-313.
- Stich, H.F., Parida, B.B. and Brunnemann, K.D. (1992). Localized formation of micronuclei in the oral mucosa and tobacco-specific nitrosamines in the saliva of "reverse" smokers, khaini-tobacco chewers and gudakhu users. *International Journal of Cancer*, 50(2), 172-176.
- Szajewski, J. (2009). Warsaw Poison Control Centre (August, 1991). Propylene glycol (PIM 443). IPCS INChem.
- Talih, S., Balhas, Z., Salman, R., Karaoghlanian, N. and Shihadeh, A. (2015). "Direct Dripping": A High-Temperature, High-Formaldehyde Emission Electronic Cigarette Use Method. *Nicotine & Tobacco Research*, ntv080.
- Tawn, E. and Whitehouse, C.A. (2001). Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 490(2), 171-177.
- Teschke, K., Chow, Y., Netten-Van, C., Varughese, S., Kennedy, S.M. and Brauer, M. (2005). Exposures to atmospheric effects in the entertainment industry. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 2(5), 277-284.
- Thomas, P., Hecker, J., Faunt, J. and Fenech, M. (2007). Buccal micronucleus cytome biomarkers may be associated with Alzheimer's disease. *Mutagenesis*, 22(6), 371-379.
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S. and Zeiger, E. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), 825-837.

- Trehy, M.L., Ye, W., Hadwiger, M.E., Moore, T.W., Allgire, J.F. and Woodruff, J.T. (2011). Analysis of electronic cigarette cartridges, refill solutions, and smoke for nicotine and nicotine related impurities. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(14), 1442-1458.
- Trtchounian, A. and Talbot, P. (2011). Electronic nicotine delivery systems: is there a need for regulation?. *Tobacco Control*, 20(1), 47-52.
- Tucker, J.D. and Preston, R.J. (1996). Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 365(1), 147-159.
- Tuomi, T., Johnsson, T. and Reijula, K. (1999). Analysis of nicotine, 3-hydroxycotinine, cotinine, and caffeine in urine of passive smokers by HPLC-tandem mass spectrometry. *Clinical Chemistry*, 45(12), 2164-2172.
- Urakawa, N., Nagata, T., Kudo, K., Kimura, K. and Imamura, T. (1994). Simultaneous determination of nicotine and cotinine in various human tissues using capillary gas chromatography/mass spectrometry. *International Journal of Legal Medicine*, 106(5), 232-236.
- Vansickel, A.R. and Eissenberg, T. (2013). Electronic cigarettes: effective nicotine delivery after acute administration. *Nicotine & Tobacco Research*, 15(1), 267-270.
- Vansickel, A.R., Cobb, C.O., Weaver, M.F. and Eissenberg, T.E. (2010). A clinical laboratory model for evaluating the acute effects of electronic “cigarettes”: nicotine delivery profile and cardiovascular and subjective effects. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(8), 1945-1953.
- Vansickel, A.R., Cobb, C.O., Weaver, M.F., Eissenberg, T.E. (2010). A clinical laboratory model for evaluating the acute effects of electronic “cigarettes”: nicotine delivery profile and cardiovascular and subjective effects. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(8), 1945-1953.
- Vansickel, A.R., Weaver, M.F. and Eissenberg, T. (2012). Clinical laboratory assessment of the abuse liability of an electronic cigarette. *Addiction*, 107(8), 1493-1500.
- Vardavas, C.I., Anagnostopoulos, N., Kougias, M., Evangelopoulou, V., Connolly, G.N. and Behrakis, P.K. (2012). Short-term pulmonary effects of using an electronic cigarette: impact on respiratory flow resistance, impedance, and exhaled nitric oxide. *CHEST Journal*, 141(6), 1400-1406.
- Vardavas, C.I., Filippidis, F.T. and Agaku, I.T. (2014). *Determinants and prevalence of e-cigarette use throughout the European Union: a secondary analysis of 26 566 youth and adults from 27 Countries*. *Tobacco control*, tobaccocontrol-2013.
- Vickerman, K.A., Carpenter, K.M. and Altman T. (2013). Use of electronic cigarettes among state tobacco cessation quitline callers. *Nicotine Tobacco Research*, (15), 1787-91.

- Werley, M.S., Mc Donald, P., Lilly, P., Kirkpatrick, D., Wallery, J., Byron, P. and Venitz, J. (2011). Non-clinical safety and pharmacokinetic evaluations of propylene glycol aerosol in Sprague-Dawley rats and Beagle dogs. *Toxicology*, 287(1), 76-90.
- Williams, M., Villarreal, A., Bozhilov, K., Lin, S. and Talbot, P. (2013). Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and aerosol. *PloS one*, 8(3), e57987.
- Wong, V.W.C., Szeto, Y.T., Collins, A.R. and Benzie, I.F.F. (2005). The comet assay: a biomonitoring tool for nutraceutical research. *Curr Top Nutraceutical Res*, 3(1), 1-14.
- Yadav, J.S., Thakur, S. and Chillar, A.K. (2001). Genetic risk assessment in cigarette smokers. *Human Ecology in the New Millenium*, (10), 165-170.
- Yamin, C.K., Bitton, A. and Bates, D.W. (2010). E-cigarettes: a rapidly growing Internet phenomenon. *Annals of Internal Medicine*, 153(9), 607-609.
- Yu, V., Rahimy, M., Korrapati, A., Xuan, Y., Zou, A.E. and Krishnan, A.R. (2015). Electronic cigarettes induce DNA strand breaks and cell death independently of nicotine in cell lines. *Oral oncology*.
- Zalata, A., Yahia, S., El-Bakary, A. and Elsheikha, H.M. (2007). Increased DNA damage in children caused by passive smoking as assessed by comet assay and oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 629(2), 140-147.
- Zhu, C.Q., Lam, T.H., Jiang, C.Q., Wei, B.X., Lou, X. and Liu, W.W. (1999). Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the Comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 444(1), 1-6.





EK-1. Sağlık Bakanlığı Yazısı

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü

Sayı : B.10.0.İEG.0.13.00.14-312-04 /
Konu : Elektronik sigara

004646

22 Ocak 2008

İSTANBUL VALİLİĞİNE
(İl Sağlık Müdürlüğü)

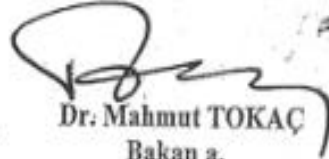
"Elektronik Sigara" isimli ürünler hakkında Bakanlığımız bünyesindeki Beşeri Tıbbi Ürünler Bilimsel Danışma Kurulu "ciddi rahatsızlıklarına sebep olabilmesi ve bağımlılık yapma riski dolayısıyla Bakanlığımızdan izin almadığı sürece yasaklanması ve özendirici olması dolayısıyla reklamlarına müsaade edilmemesi" yolundaki bir karar almıştı. Daha sonra Bakanlığımızda 07.01.2008 tarihinde yapılan Genişletilmiş Bilimsel Danışma Kurulu toplantısında; "Bu ürünlerin içermiş olduğu nikotin maddesi nedeni ile nikotin kartuşlarının tıbbi ürün, aktif maddeyi vücuda verme aracı olan cihazların ise tıbbi cihaz statüsünde ele alınması; bu şartları karşılama veya nikotinsiz şekli ile olsa bile 4207 sayılı Kanunun kısıtlama ve yasakları kapsamında değerlendirilmesi" yönünde karar alınmıştır.

Bu itibarla; tıbbi ürün statüsünde olan nikotin içeren kartuşlar için, ancak Nikotin Replasman Tedavisinde etkinliği ve güvenilirliğini kanıtlayan belgelerin sunulmasını müteakip Bakanlığımız tarafından ruhsatlandırıldıktan sonra kontrol belgesi düzenlenen ürünlere ithal izni verilmesi gerekmektedir. Bu tür ürünlerin herhangi biri için 1262 sayılı İspençiyari ve Tıbbi Müstahzarlar Kanunu kapsamında Bakanlığımız tarafından verilmiş ruhsat yoktur.

Nikotin ihtiva etmeyen kartuşların ise, nikotin veya başkaca zararlı madde ihtiva etmediğinin Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığından alınacak raporlarla teyit edilmesi halinde tıbbi ürün olarak değerlendirilmeksizin ve kontrol belgesi aranmaksızın ithali mümkün bulunmaktadır.

Yine nikotinsiz kartuşlar için kullanılacağı beyan edilse bile, elektronik sigara olarak adlandırılan cihazlar, nikotinli kartuşlarla da kullanılabileceğinden tıbbi cihaz olarak değerlendirilecektir. Bu cihazlar için de Bakanlığımıza Tıbbi Cihaz statüsünde yapılmış bir müracaat yoktur.

Açıklanan nedenlerle, Bakanlığımızdan izin almadan satışa sunulan elektronik sigara ve kartuşlarının eczaneler dahil satışına müsaade edilmemesi ve izin alınmadan piyasada satılan nikotin kartuşları hakkında 1262 sayılı Kanunun 19. maddesine ve Ek 6. maddesine göre işlem yapılması hususunda gereğini rica ederim.


Dr. Mahmut TOKAÇ
Bakan a.
Genel Müdür

19583
İl Sağlık Müd.
Vali A.

EK-2. TBMM, Elektronik Sigaralara İlişkin Soru Önergesi



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI - TBMM Tütün ve
Diğer Bağımlılık Yapıcı Maddelerle Mücadele Daire Başkanlığı - TSKK Tütün
ve Diğer Bağımlılık Yapıcı Maddelerle Mücadele Daire Başkanlığı Envanter Birimi
27.09.2013 10:31 - 2013 0078 106134 / 010
00000772167

7/10564
G.K=157

Sayı : 86696344-610
Konu :Yazılı Soru Önergesinin
Cevaplandırılması

TÜRKİYE BÜYÜK MİLLET MECLİSİ BAŞKANLIĞINA

İlgi: 18.04.2013 tarihli ve 43452547-120.00-195367 sayılı yazınız.

Bursa Milletvekili Sayın İsmet BÜYÜKATAMAN tarafından, Sayın Başbakana tevcih edilip, Bakanlığımız koordinatörlüğünde cevaplandırılması tensip kılınan "Elektronik sigaralara ilişkin" 7/20564 sıra sayılı yazılı soru önergesinin cevabı ilişikte sunulmaktadır.

Arz ederim.

Dr. Mehmet MÜEZZİNOĞLU
Sağlık Bakanı

EK:
Soru Önergesi Cevabı (2 sayfa)

EK-2. (devam). TBMM, Elektronik Sigaralara İlişkin Soru Önergesi

Bursa Milletvekili Sayın İsmet BÜYÜKATAMAN tarafından verilen “Elektronik sigaralara ilişkin”7/20564 sıra sayılı yazılı soru önergesinin cevabıdır.

Sağlık Bakanlığı daha az zararlı olduğu düşüncesiyle bazı vatandaşların tercih ettiği elektronik sigaralar konusunda uyarıda bulundu. Bakanlık yetkilileri Türkiye’de ruhsatlı elektronik sigara bulunmadığını söyleyerek, elektronik sigaraların kaçak yollarla ülkeye sokulduğunu belirtti.

Buna göre:

- 1- Bu bilgiler doğru mudur?
- 2- Tüketiciler elektronik sigaraları nasıl temin etmektedirler?
- 3- Elektronik sigaraların yasaklanması ile ilgili bir çalışmanız var mıdır?
- 4- Kapalı alanlarda elektronik sigara içenlere cezai müeyyide uygulanmakta mıdır?

CEVAPLAR:

Elektronik sigara ve benzeri ürünler ile ilgili olarak Bakanlığımız nezdinde Genişletilmiş Bilimsel Danışma Kurulu teşekkül ettirilmiş ve Kurul 07/01/2008 tarihinde toplanmıştır. Bu toplantıda alınan kararlar doğrultusunda; elektronik sigara isimli ürünlerin içermiş olduğu nikotin maddesi nedeniyle nikotin kartuşları tıbbi ürün, aktif maddeyi vücuda verme aracı olan cihazlar ise tıbbi cihaz olarak değerlendirilmiştir.

Tıbbi ürün statüsündeki nikotin içeren kartuşlara ithal izinleri ancak Bakanlığımız tarafından ruhsatlandırıldıktan sonra, kontrol belgesi düzenlenmesi halinde verilmektedir. Ayrıca kartuşların nikotin replasman tedavisinde etkinliğini ve güvenilirliğini ispatlayan belgelerin Bakanlığımıza sunulması gerekmektedir.

Kartuşu nikotin içersin veya içermesin, aktif maddeyi vücuda verme aracı olan elektronik sigara aparatları, CE işareti ve ilgili belgelere sahip olması (uygunluk beyanı, EC sertifikaları ve bu belgelerin Türkçe tercümeleri) ve bunları piyasaya arz eden üretici veya ithalatçı firmaların kayıt ve bildirim işlemlerinin İlaç ve Tıbbi Cihaz Ulusal Bilgi Bankası (TİTUBB)’na yapılmasını müteakip bu ürünler, malların serbest dolaşımı ilkesine uygun olarak ithal izin belgesi veya kontrol belgesi gibi ilave bir belgeye ihtiyaç duymaksızın piyasaya arz edilebilmektedir.

Bahse konu ürünlere ilişkin Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu’muza yapılan müracaatlar yukarıda belirtilen Kurul Kararları çerçevesinde değerlendirilmektedir. Ancak elektronik sigara ve kartuşlarının sigarayı bıraktırdığının bilimsel olarak kanıtlanamaması ve Bakanlığımız Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Beşeri ve Tıbbi ürünler Ruhsatlandırma Danışma Komisyonu tarafından söz konusu ürünlerin içeriğinde yer alan propilen glikol ve diğer maddelerin inhalasyon yolu ile kullanılmasının zararsız olduğuna dair yeterli kanıt bulunamaması, uzun vadede etkilerinin bilinmemesi nedeniyle, Bakanlığımızın sigara ile mücadele programı da nazarı dikkate alınarak uygulama esaslarının yeniden değerlendirilmesi için gerekli çalışmalar başlatılmıştır.

Bu kapsamda Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu’muzca bu güne kadar; kartuşu nikotin içeren herhangi bir elektronik sigara markası için ruhsatlandırılma yapılmamıştır.

EK-2. (devam). TBMM, Elektronik Sigaralara İlişkin Soru Önergesi

Ülkemizde elektronik sigara konusunda ithalat izni verilmiş veya ruhsatlandırılmış herhangi bir ürün bulunmamaktadır. Ülkemize girişi kaçak yollarla yada internet üzerinden olabilmektedir. Kişisel kullanım amaçlı olarak yurtdışından yolcuların beraberinde getirdiği veya sipariş üzerine getirdikleri elektronik sigaralara da bu kapsamda ithalat izni verilmemektedir.

Konuyla ilgili olarak, Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurumu (TAPDK) tarafından da, elektronik sigaranın içimsel ve şekilsel olarak sigaranın özelliklerini taşıyan bir ürün olduğu ayrıca elektronik sigaraların kartuşlarında tütün alkoloiti bulunması nedeniyle söz konusu ürünlerin tütün ve tütün mamulleri kapsamına alınması yönünde değerlendirme yapılmıştır.

Bu meyanda, elektronik sigaranın da diğer tütün mamülleri kapsamında değerlendirilmesine yönelik olarak 24.05.2013 tarihinde yapılan yasal düzenleme ile tütün içermeyen ancak tütün mamulünü taklit eder tarzda kullanılan her türlü nargile ve sigara tütün ürünü olarak kabul edilmiştir.

Yapılan yasal düzenleme ile tütün içersin ya da içermesin, tütün mamulünü taklit eder tarzda kullanılan her türlü ürün (elektronik sigara, bitkisel nargile vs.) 4207 sayılı Kanun hükümleri kapsamında değerlendirilerek kamuya açık kapalı alanlarda kullanımı yasaklanmıştır. İhlali halinde Mezkûr Kanun hükümlerine göre gerekli cezai müeyyideler uygulanmaktadır.

İlginize teşekkür ederim.

EK-3. Etik Kurul Yazısı



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı : 78017789/050.01.04/286

26 08 /2013

Konu : Etik Kurul

Sayın Prof. Dr. İsmet ÇOK
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumluluğunuzda yapılması tasarlanan "Elektronik Sigara (e-sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi" adlı araştırmaya ilişkin 22/08/2013 tarihli ve 2013/257 sayılı Kurul Kararı ile Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi arz/rica ederim.

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
 Kurul Başkanı

EKLER:

- 1- Kurulun 22/08/2013 tarihli ve 2013/257 sayılı kararı (1 sayfa)
- 2- Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu (2 sayfa)

EK-3. (devam). Etik Kurul Yazısı

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
22/08/2013	14	2013/257

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmet ÇOK'un sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Elektronik Sigara (e-sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 16/08/2013 ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkan

(Katılmadı) Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU KILINÇ Başkan Yrd. (Katılmadı) Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE Raportör (Katılmadı) Prof. Dr. Aylin ERTEKİN YAZICI Üye

İmza
Prof. Dr. Hasan Erdal DORUK
Üye

İmza
Prof. Dr. Murat ÖZEREN
Üye

İmza
Prof. Dr. Mehmet Sami SERİN
Üye

İmza
Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ
Üye

İmza
Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN
Üye

İmza
Doç. Dr. Sabire YURTSEVER
Üye

İmza
Yrd. Doç. Dr. Oya ÖGENLER
Üye

İmza
Yrd. Doç. Dr. Nalan TİFTİK
Üye

(Katılmadı) Uzm. Dr. Kuvılcım EREN ERDOĞAN
Üye

İmza
Hürrem Betül LEVENT ERDAL
Üye

(Katılmadı) Lale DAĞLI
Üye


Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkan
ASLI GİBİDİR

EK-3. (devam). Etik Kurul Yazısı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi İhsaniye Mah. 4903 Sokak No: 3 Necdet Ülger Binası, 3. Kat 33079, Mersin
	TELEFON	0 324 337 43 00-1195
	FAKS	0 324 337 43 05
	E-POSTA	meukaek@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Elektronik Sigara (e-sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. İsmet ÇOK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	F.Toksikoloji Ana Bilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ	---			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
Gözlensel ilaç çalışması		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☐			
	Diğer ise belirtiniz: Rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyaller ile yapılacak araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	Belge Adı			Açıklama
	SIGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER: GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	☒		
	ARAŞTIRMACILARIN ÖZGEÇMİŞİ	☒		
	3 ADET LİTERATÜR	☒		

EK-3. (devam). Etik Kurul Yazısı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: <u>2013-257</u>	Tarih: <u>22.08.2017</u>
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	PROF.DR.BAHAR TUNÇTAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişki	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN	Farmakoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Bölümü Farmakoloji Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Olgü HALLIOĞLU KILIÇ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÖLLE	Biyomühendislik	MEÜ Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Aylin ERTEKİN YAZICI	Psikiyatri	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Psikiyatri Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Hasan Erdal DORUK	Üroloji	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji Ab.D.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Murat ÖZEREN	Kalp Damar Cerrahisi	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kalp Damar Cerrahisi Ab.D.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Mehmet Sami SERİN	Mikrobiyoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Ab.D.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ	Biyokimya	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN	Biyoistatistik	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Sabire YURTSEVER	İç Hastalıkları Hemşireliği	MEÜ Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü İç Hastalıkları Hemşireliği Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Oya ÖGÖNLER	Tıp Tarihi ve Etik	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıp Tarihi ve Etik Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Nalan TİFTİK	Farmakoloji	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Farmakoloji Ab.D.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	H ☐	<i>[Signature]</i>
Uzm. Dr. Kıvılcım EREN ERDOĞAN	Patoloji	Mersin Devlet Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>
Yüksek Şehir Plancısı Hürrem Betül LEVENT ERDAL	Şehir ve Bölge Planlama/Uluslararası Proje Yönetimi	Mersin Ticaret ve Sanayi Odası Projesi Müdürlüğü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>
Avukat Lale DAĞLI	Hukuk	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☐	H ☒	<i>[Signature]</i>

* Toplantıda Bulunma

EK-4. Anket Formları

**SİGARAYA PASİF OLARAK MARUZ KALAN/KALMAYAN SAĞLIKLI
BİREYLER İÇİN ANKET FORMU**

Tarih

Sıra No:

1.Yaşı:

2.Eğitim durumu:

İlk ☐ Orta ☐ Lise ☐ Yüksek ☐

3.Vücut ağırlığı (kg)

4.Boy (cm):

5.Mesleği:

6.Son 24 saat içinde İş yeri ortamınızda sigara dumanına maruz kaldınız mı?

Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.

Hayır

7.Son 24 saat içinde evinizde sigara dumanına maruz kaldınız mı?

Evet ☐ Maruz kalma süresi belirtiniz.☐

Hayır

8.Son 24 saat içerisinde nargile dumanına maruz kaldınız mı?

Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtinizHayır ☐

9. Son 24 saat içerisinde sigara veya tütün ürünü içilen araba dahil kapalı bir ortamda bulundunuz mu?

Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐

10.Son 24 saat içinde fazla miktarda patlıcan içeren bir diyet ile beslendiniz mi?

Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐

EK-4. (devam). Anket Formları

11. Alkol kullanıyor musunuz?Evet ☐ Kullanma sıklığını belirtiniz.Hayır ☐ Nadiren ☐**12. Son 3 ay için de röntgen çektirdiniz mi ?(Diş ve diğer)**Evet ☐ Hayır ☐ Hangisi?**13. Çay içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐☐ 1 bardak/gün ☐ 2 bardak/gün ☐ 3 ve daha fazla bardak/günHayır ☐**14. Kahve içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐☐ 1 fincan/gün ☐ 2 fincan/gün ☐ 3 ve daha fazla fincan /günHayır ☐**15. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?**Evet ☐ Belirtiniz...Hayır ☐**16. Herhangi bir ilaç alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir? Ne kadar süredir?Hayır ☐**17. Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir? Hangi sıklıkla?Hayır ☐**TEŞEKKÜRLER...**

EK-4. (devam). Anket Formları

SİGARA İÇEN BİREYLER İÇİN ANKET FORMU**Tarih:****Sıra No:****1.Yaşı:****2.Eğitim durumu:**İlk ☐Orta ☐Lise ☐Yüksek ☐**3.Vücut ağırlığı (kg)****4.Boy (cm):****5.Mesleği:****6. Sigara içme alışkanlığı:**

Hiç içmedim

Eskiden içerdim

3 aydır içiyorum

6 ay -1 yıldır içiyorum

1-5 yıldır içiyorum

5-10 yıldır içiyorum

10-15 yıldır içiyorum

15-20 yıldır içiyorum

20 ve daha fazla yıldır içiyorum

☐☐☐☐☐☐☐☐

1-10 sigara/gün

11-20 sigara/gün

20 ve daha fazla sigara/gün

☐☐☐**7. Ev ortamınızda sigara içiliyor mu?**Evet ☐Hayır ☐**8. İş yeri ortamınızda sigara içiliyor mu?**Evet ☐Hayır ☐**9. Alkol kullanıyor musunuz?**Evet ☐

Kullanma sıklığını belirtiniz.

Hayır ☐Nadiren ☐**10. Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi ?(Diş ve diğer)**Evet ☐ Hangisi?Hayır ☐**11. Çay içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐☐ 1 bardak/gün☐ 2 bardak/gün☐ 3 ve daha fazla bardak/günHayır ☐

EK-4. (devam). Anket Formları

12. Kahve içme alışkanlığınız var mı?Evet ☐☐ 1 fincan/gün ☐ 2 fincan/gün ☐ 3 ve daha fazla fincan /günHayır ☐**13. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?**Evet ☐ Nedir?Hayır ☐**14. Herhangi bir ilaç alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir? Ne kadar süredir?Hayır ☐**15. Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir? Hangi sıklıkla?Hayır ☐**TEŞEKKÜRLER...**

EK-4. (devam). Anket Formları

ELEKTRONİK SİGARA İÇEN BİREYLER İÇİN ANKET FORMU

Tarih:

Sıra No:

1.Yaşı:

2.Eğitim durumu:

İlk ☐

Orta ☐

Lise ☐

Yüksek ☐

3.Vücut ağırlığı (kg)

4.Boy (cm):

5.Mesleği:

6.Ne kadar süredir elektronik sigara kullanıyorsunuz?

3 ay ☐

3-6 ay ☐

6 ay- 1 yıl ☐

1-2 yıl ☐

2 yıldan daha fazla ☐

7.Hangi sıklıkla elektronik sigarayı kullanıyorsunuz

Her yarım saatten daha az sürede bir kez ☐

Yarım saat-1 saat aralığında bir kez ☐

1-1,5 saat aralığında bir kez ☐

1,5- 2 saat aralığında bir kez ☐

2-3 saat aralığında bir kez ☐

Günde 1-2 kez ☐

Günde 2-4 kez ☐

8.Elektronik sigara içiminde aroma verici maddeler de kullanıyor musunuz?

Evet ☐

Adı nedir?

Hangi sıklıkla?

Hayır ☐

9.Elektronik sigara içiminde genellikle kullanmış olduğunuz kartuşun içindeki Nikotin miktarı hakkında bilginiz var mı?

Evet ☐

Miktarını belirtiniz:

Hayır ☐

10.Elektronik sigara ile birlikte sigara da kullanıyor musunuz?

Evet ☐

ise içtiğiniz sigara miktarını belirtiniz.

Hayır ☐

EK-4. (devam). Anket Formları

11.Elektronik sigara içimine ne amaçla başladınız?

- Sigarayı bırakmak amacıyla ☐
- Sigara içimi nedeniyle başkalarını rahatsız etmemek amacıyla ☐
- Kapalı yerlerde rahatlıkla içebilmek amacıyla ☐
- Sigaradan daha az kimyasal madde içerdiğini düşünmem nedeniyle ☐
- Sağlığa daha az zararlı olduğunu düşünmem nedeniyle ☐
- Fiyatının sigarayla karşılaştırıldığında uzun dönemde uygun olması nedeniyle ☐

12.İş yeri ortamınızda sizden kaynaklanmayan sigara dumanına maruz kalıyor musunuz?

Evet ☐ Hayır ☐

13.Evinizde sizden kaynaklanmayan sigara dumanına maruz kalıyor musunuz?

Evet ☐ Hayır ☐

14. Alkol kullanıyor musunuz?

Evet ☐ Hayır ☐ Nadiren ☐

15.Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi?(Diş ve diğer)

Evet ☐ Hangisi? ☐ Hayır ☐

16. Çay içme alışkanlığınız var mı?

Evet ☐

☐ 1 bardak/gün ☐ 2 bardak/gün ☐ 3 ve daha fazla bardak/gün

Hayır ☐

17. Kahve içme alışkanlığınız var mı?

Evet ☐

☐ 1 fincan/gün ☐ 2 fincan/gün ☐ 3 ve daha fazla fincan /gün

Hayır ☐

18. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?

Evet ☐ Belirtiniz...

Hayır ☐

19.Herhangi bir ilaç alıyor musunuz?

Evet ☐ Adı nedir? ☐ Ne kadar süredir?

Hayır ☐

20.Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?

Evet ☐ Adı nedir? ☐ Hangi sıklıkla?

Hayır ☐

TEŞEKKÜRLER...

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÖNEY, Gülşen
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi : 24.06.1983
 e-mail : gulsengoney@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi-F.Toksikoloji ABD.	Devam ediyor
Yükseklisans	Hitit Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2011
Yükseklisans	Selçuk Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2007
Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2005

Yabancı Dil

Almanca, İngilizce

Yayınlar

I. ULUSLARARASI (SCI'de Taranan) DERGİLERDE YAYIMLANMIŞ MAKALELER

Goney, G., Çok, İ., Tamer, U., Burgaz, S. and Sengezer, T. (2016). Urinary cotinine levels of Electronic cigarette (e-cigarette) users, Toxicology Mechanisms and Methods, Manuscript ID UTXM-2015-0333, accepted but not published yet.

II. ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER

Avci, E., Özlük, A., Bircan, F.S., Bulut, S., Göney, G. and Cevher, S.C. (2011). The effect of hibernation on oxidative events in Anatolian ground squirrel, *Spermophilus xanthoprimum* (Bennett, 1835) (Mammalia: Scuridae) from Central under the laboratory conditions. FEBS Journal, 278 (SI-1):426-427. (Poster Presentation).

Çok, İ., İkidağ, Ö.T., Battal, D., Aktaş, A. and Göney, G. (2015). *Determination of Bisphenol A (BPA) Exposure Levels In Preschool Children In Turkey*, GPSS, 12-15 Kasım, Antalya, Turkey. (Poster Presentation).

Çok, İ., Karababa, G., Göney, G., Şatıroğlu, M.H., Pehlivanlı, A.Ç. and Çiftçi, U. (2015). Changes in semen parameters over a 16 years period in 24693 Turkish men. 11th

International Symposium on Pharmaceutical Sciences. 9-12 June Ankara, (Poster Presentation).

Göney, G., Çok, İ., Tamer, U., Burgaz, S., Şengezer, T. and Ali, A.A. (2015). *Urinary cotinine levels of Electronic Cigarette (e-cigarette) users*. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences. 9-12 Haziran Ankara, Turkey. (Poster Presentation).

Göney, G., Çok, İ., Burgaz, S., Tamer, U. and Şengezer, T. (2015). *Assessment of DNA damage in peripheral blood of electronic cigarette (e-cigarette) users*, 13-16 September, Porto, Portoquese. (Poster Presentation).

Göney, G., Çok, İ., Tamer, U., Burgaz, S. and Şengezer, T. (2015). *Determination of Possible Genotoxic Damage and Nicotine Exposure of Electronic Cigarette (E-Cigarette) Users*, GPSS, 12-15 Kasım, Antalya, Turkey. (Poster Presentation).

Özlük, A., Göney, G. and Yılmaz, D. (2011). Hibernation and body weight in *Dryomys laniger* (Felten and Storch, 1968) (Rodentia: Gliridae), maintained under modifying conditions. *FEBS Journal* 278 (SI-1): 390. (Poster Presentation).

III. ULUSAL KONGRELEREDE SUNULAN BİLDİRİLER

Göney, G., Çok, İ., Burgaz, S., Tamer, U. ve Şengezer, T. (2015). *Elektronik Sigara (E-sigara) kullanıcılarında periferik kanda DNA hasarının değerlendirilmesi*, TÜSAD Kongresi, 17-21 Ekim Çeşme (Sözlü sunum). (En İyi Sözlü Sunum Ödülü/2. lik)

Karababa, G., Çok, İ., Şatıroğlu, M.H., Çiftçi, U., Pehlivanlı, A.Ç., Göney, G., Serçelik, T. ve Bayramlıoğlu, H. (2013). *Türkiye’de erkeklerde semen kalitesindeki değişimin yıllara göre araştırılması*. 10.Ulusal Androloji Kongresi, 29 Mayıs-1 Haziran, Bodrum, Muğla (Sözlü Sunum).

TAMAMLANAN VE DEVAM EDEN PROJELER

Çok, İ., Toprak İkidağ, Ö., Battal, D., Göney, G. *Türkiye’de İlköğretim Çağı Öncesi Çocuklarda Bisfenol-A Maruziyetinin Belirlenmesi*, TÜBİTAK, 115S654, (Araştırmacı) Devam ediyor.

Çok, İ., Göney, G., Burgaz, S., Tamer, U. ve Şengezer, T. *Elektronik Sigara (E-Sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi*, TÜBİTAK, 113S837, (Proje Bursiyeri) Devam ediyor.

KURSLAR

1. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu “Deney Hayvanları Kullanım Programı” Eğitim programı katılımı, 26 Aralık 2010.
2. Gülşen GÖNEY has participated in the “Awareness Raising Workshop: Pesticide Residues in Closed Cropping and Organic Pollutants in the Turkish Environment” which was held at Kuşadası, Aydın on the 10 th and 12 th of March 2014.
3. 17-21 Ekim 2015 TÜSAD 37. Ulusal Kongresi “SOLUNUM 2015” kapsamında 17 Ekim 2015 günü gerçekleşen “Tütün Bağımlılığı Tedavisi Kursu” na katılmıştır.

BİLİMSEL DERNEK ÜYELİKLERİ

1. Türk Toksikoloji Derneği (TTC)
2. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği (TÜSAD)
3. Akciğer Sağlığı ve Yoğun Bakım Derneği (ASYOD)
4. Türkiye Biyologlar Derneği (TBD)





GAZİ GELECEKTİR...



Gift of the University of Cambridge

