

**NARGİLE VE SİGARA KULLANICILARINDA FERROPTOZ
YOLAĞININ İNCELENMESİ**

ECE YAKUPOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. CEYHAN HACIOĞLU**

DÜZCE, 2024

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

NARGİLE VE SİĞARA KULLANICILARINDA FERROPTOZ YOLAĞININ
İNCELENMESİ

Ece YAKUPOĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU
Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU
Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Merve ALPAY
Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Fatih KAR
Kütahya Sağlık Bilimleri
Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

28 Haziran 2024

ECE YAKUPOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde beni yönlendiren, araştırma konusunu belirlerken fikirlerini esirgemedi yol gösteren, karşılaştığım zorluklarda bilgi ve tecrübesi ile her zaman yardımcı olan ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destekten dolayı çok değerli ve kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU'na en içten dileklerle teşekkür eder, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın tavsiye, görüş ve yardımları ile yanımda olan deneyimleri ile beni yönlendiren Doç. Dr. Merve ALPAY'a teşekkür ederim.

Her zaman olduğu gibi tez sürecimde de yanımda olan, bana güvenen ve beni hiç yalnız bırakmayan her türlü ilgi, alaka ve desteğini esirgemeyen ben yokken çocuğuma anne olan biricik annem Gül ÇORBACIOĞLU'na, ilkokula kayıt olduğum günden beri her zaman kız çocuklarının daha çok okuması gerektiğini savunun ve beni bu konuda yüreklendirip desteğini gösteren değerli babam Cihan ÇORBACIOĞLU'na, zorlu süreçte her başımı çevirdiğimde gözümün iliştiği noktada olan biricik kardeşim Bahtiyar ÇORBACIOĞLU'na sonsuz sevgi ve minnetimi sunuyorum.

Hayatımın her anında ve tez sürecimde maddi manevi desteğini esirgemeyen varlığıyla güç veren, çalışmam boyunca beni sürekli cesaretlendiren, akademik olarak hep ilerlememe teşvik eden ve her daim sevgisi ile hayatımı güzel kılan sevgili eşim Dr. Muammer YAKUPOĞLU'na ve bu zorlu süreçte onun varlığı ile güç bulduğum, en darlandığım zamanlarda minik kalbine sığındığım biricik kızım Zeynep Duru Yakupoğlu'na tüm kalbim ile teşekkür ederim.

28 Haziran 2024

Ece YAKUPOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	viii
KISALTMALAR.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. TÜTÜN	3
1.2. SİGARA.....	4
1.1.1. Sigara Epidemiyolojisi	6
1.1.2. Sigara Dumanının İçinde Yer Almakta Olan Zararlı Maddeler.....	7
1.1.2.1.Nikotin	7
1.1.2.2.Katran.....	8
1.1.2.3.Arsenik.....	8
1.1.2.4.Benzen	8
1.1.2.5.Kadmiyum.....	9
1.1.2.6.Karbonmonoksit.....	9
1.3. NARGİLE.....	9
1.3.1. Nargilenin Tarihçesi.....	10
1.3.2. Nargile Epidemiyolojisi.....	10
1.3.3. Nargile Kullanımının Yaygınlığı	11
1.4. HÜCRE	11
1.4.1. Ökaryotik Hücre	12
1.4.2. Prokaryotik Hücre	12
1.5. HÜCRE ÖLÜMÜ	13
1.5.1. Otofaji.....	13
1.5.2. Nekroz.....	14
1.5.3. Apoptoz.....	14
1.5.4. Ferroptoz.....	15
1.5.5. Ferroptoz Mekanizmaları	17
1.5.5.1. Ferroptoz Demir Metabolizması	18
1.5.5.2. Lipid Peroksidasyonu	18
1.5.5.3. ACSL4.....	19
1.5.5.4. Ferroptozda GPX4'ün Rolü.....	19
2. BULGULAR VE YÖNTEM.....	21
2.1. MATERİYAL.....	21
2.1.1. Araştırmanın Yeri Ve Süresi	21
2.1.2. Araştırmanın Örneklemi.....	21
2.1.3. Biyokimyasal Analizler	22
2.1.4. Araştırmada Etik Konular.....	22
2.1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	23
2.1.6. Elisa Test Prosedürü	23
2.1.6.1.Serum ACSL4 Seviyelerinin Ölçümü.....	23

2.1.6.2.Serum GPx4 Seviyelerinin Ölçümü.....	25
2.1.6.3.Serum GSH Seviyelerinin Ölçümü	26
2.1.6.4.Serum MDA Seviyelerinin Ölçümü	27
2.1.6.5.Verilerin Değerlendirilmesi	28
3. BULGULAR.....	30
3.1. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM ACSL4 SEVİYELERİ	30
3.2. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM GPx4 SEVİYELERİ	31
3.3. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM GSH SEVİYELERİ	32
3.4. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM MDA SEVİYELERİ	33
4. TARTIŞMA.....	34
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	38
6. KAYNAKLAR	39
7. EKLER.....	54
7.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ.....	55
8. ÖZGEÇMİŞ	56

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. Nargile ve sigara içen kişilerdeki ACSL4 seviyeleri	30
Şekil 3.2. Nargile ve sigara içen kişilerdeki GPx4 seviyeleri.....	31
Şekil 3.3. Nargile ve sigara içen kişilerdeki GSH seviyeleri.	32
Şekil 3.4. Nargile ve sigara içen kişilerdeki MDA seviyeler.....	33



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. ACSL4 analizi sırasında kullanılan reaktifler .	23
Çizelge 2.2. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi	24
Çizelge 2.3. GPx4 analizi sırasında kullanılan reaktifler	25
Çizelge 2.4. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi	25
Çizelge 2.5. GSH analizi sırasında kullanılan reaktifler	26
Çizelge 2.6. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi	27
Çizelge 2.7. MDA analizi sırasında kullanılan reaktifler	27/28
Çizelge 2.8. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi	28

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACSL4	Uzun Zincirli Yağ Asiti-KoA ligaz 4
As	Arsenik
ATP	Adenozintrifosfat
CO	Karbonmonoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
Fe	Demir
ELİSA	Enzim Bağlı İmmüno sorbent Deneyi
FSP1	Ferroptoz Baskılayıcı Protein 1
GPX4	Glutasyon peroksidaz 4
GSH	Glutasyon
H	Hidrojen
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₂ S	Hidrojen Siyanür
LPCAT3	Lisofosfatidilkolin Asiltransferaz 3
MDA	Malondialdehit
M.Ö.	Milattan Önce
MPOWER	Küresel Tütün Kontrolü Politikası
NH ₃	Amonyak
O	Oksijen
OH	Hidroksil
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ROM	Reaktif Oksijen Metabolitleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SLC7A11	Çözünen Taşıyıcı Ailesi 7-11
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Yy	Yüzyıl

ÖZET

NARGİLE VE SİĞARA KULLANICILARINDA FERROPTOZ YOLAĞININ İNCELENMESİ

Ece YAKUPOĞLU

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU

Haziran 2024, 55 sayfa

Sigara kıyılmış tütünden elde edilen rahatlatıcı etki ettiğine inanılmakta olan dumanı içine çekerek tüketilen bir nesnedir. Nargile ise kömürün yanıp ısınması sonucu tütün dumanını bir hortum vasıtasıyla içine çekip rahatlatıcı etkisi olduğuna inanılan bir nesnedir. Hücre canlılığının canlılık özelliğini taşımakta olan görev ve yapı bakımından ise en küçük birimine denilmektedir. Vücudumuzda bulunan her bir hücrenin ise ömrü farklıdır. Örneğin kırmızı kan hücresi ile beyaz kan hücresinin ölüm zamanları farklılık göstermektedir. Vücudumuzda bulunan göz lensinin ortasında yer alan hücre ise yaşamımız devam ettiği sürece bizimledir. Hücre ölümü ise yaşam süreci boyunca kaçınılmaz bir son noktadır. Hücrenin beklenen bir zamanda ölmesi olayına apoptoz denilmektedir. Diğer bir deyişle programlanmış hücre ölüm türüdür apoptoz. Son yıllarda yeni bir hücre ölüm yöntemi daha gözlemlenmiştir bu gözlemlenen yeni hücre ölüm yöntemi demir (Fe) birikimi sayesinde gerçekleşen programlı hücre ölüm yolağıdır. Bu yolağın adı ise ferroptozdur. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda ferroptozun vücudumuz içerisinde yer alan mekanizmalardaki etkileri incelenmiştir. Yürütmekte olduğumuz tez çalışmamızda aktif bir şekilde sigara ve nargile içen kullanıcılarda ferroptoz yolağının incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda sigara tüketen 45 kişi, nargile tüketen 45 kişi, sağlıklı birey kontrol grubu 45 kişi olmak üzere 135 kişi şeklinde toplamda 3 grup oluşturulmuştur. Çalışmamızda kullandığımız biyokimyasal parametrelerimiz glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz 4 (GPx4), malondialdehit (MDA), uzun zincirli yağ asidi—KoA ligaz 4 (ACSL4) şeklinde olup Enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELİSA) metodu ile analizi yapılmıştır. Ulaşılan veriler ışığında sigara ve nargile içen kullanıcıların serumlarında, kontrol grubunda yer alan hastaların serumlarına kıyas ile MDA, ACSL4 biyokimyasal parametrelerimizde artışın olduğuna, GSH, GPx4 biyokimyasal parametrelerinde ise düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,0001$). Sonuç olarak sigara ve nargile içen kullanıcılarda incelenen ACSL4, MDA biyokimyasal parametreleri sigara ve nargile içen kullanıcılarda ferroptoz sinyal yolağı artmaktadır. GPx4, GSH biyokimyasal parametrelerinde ise sigara ve nargile içen kullanıcılarda ferroptoz sinyal yolağını azaltmaktadır. Yapılan bu çalışmada ise aktif bir şekilde sigara ve nargile tüketicisi olan hasta kişilerin altında yatan mekanizmalar zincirinin detaylı incelenmesi ve hücre ölüm yolaklarından biri olan ferroptozun sigara ve nargile kullanıcısı olan hastalarda meydana gelen hasarlara katkı sağlayabileceği ön görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ferroptoz, Hücre Ölümü, Nargile, Sigara.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE FERROPTOSIS PATHWAY IN HOOKAH AND CIGARETTE USERS

Ece YAKUPOĞLU

Düzce University
Graduate School, Department of Medical Biochemistry
Master's Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ceyhan HACIOĞLU

June 2024, 55 pages

A cigarette is an object consumed by inhaling the smoke obtained from chopped tobacco, which is believed to have a relaxing effect. Hookah is an object that is believed to have a relaxing effect by inhaling tobacco smoke through a hose as a result of burning coal and heating it. Cell is the smallest unit of a living thing in terms of function and structure that carries the characteristics of life. Each cell in our body has a different lifespan. For example, the death times of red blood cells and white blood cells differ. The cell located in the middle of the eye lens in our body is with us as long as we live. Cell death is an inevitable end point throughout the life process. The phenomenon of cell death at an expected time is called apoptosis. In other words, apoptosis is a type of programmed cell death. In recent years, a new cell death method has been observed. This observed new cell death method is the programmed cell death pathway, which occurs thanks to iron (Fe) accumulation. The name of this pathway is ferroptosis. In studies conducted so far, the effects of ferroptosis on the mechanisms within our body have been examined. In our thesis study, we aimed to examine the ferroptosis pathway in active cigarette and hookah smokers. In our study, 3 groups were formed: 45 people who smoke cigarettes, 45 people who consume hookah, and 45 people in the healthy control group, for a total of 135 people. The biochemical parameters we used in our study were glutathione (GSH), glutathione peroxidase 4 (GPx4), malondialdehyde (MDA), long-chain fatty acid—CoA ligase 4 (ACSL4) and were analyzed by the Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. In the light of the data obtained, it was observed that there was an increase in MDA, ACSL4 biochemical parameters, and a decrease in GSH and GPx4 biochemical parameters in the serum of cigarette and hookah smokers compared to the serum of patients in the control group ($p < 0.0001$). As a result, ACSL4 and MDA biochemical parameters examined in cigarette and hookah smokers are increased in the ferroptosis signaling pathway. GPx4 reduces the ferroptosis signaling pathway in GSH biochemical parameters in cigarette and hookah smokers. In this study, the chain of underlying mechanisms in patients who are active smokers and hookah consumers is examined in detail and it is predicted that ferroptosis, one of the cell death pathways, may contribute to the damage occurring in patients who are cigarette and hookah users.

Keywords: Cell Death, Cigarette, Ferroptosis, Hookah

1. GİRİŞ

Sağlık, sadece hastalık ve sakatlık durumunun olmayışı değil kişinin bedenlen, ruhen ve sosyal yönden tam bir iyilik halidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın sağlık ile ilgili yapmış olduğu tanım bu şekildedir [1].

Günümüzde yer alan sağlık anlayışının en temeli ise mental ve psikolojik olarak bireyin en başta kendisi, ailesi ve toplumun sağlığını koruma yönünde olmalıdır. Bu anlayış itibarı ile sağlıklı olmak adına sağlık bilincinde olma ve bu bilinç çerçevesinde davranma, sigara ve benzeri tütün mamüllerini kullanmama, alkol tüketmeme, kişisel temel sağlık önlemlerini alma, yeterli ve dengeli beslenme, düzenli egzersiz yapma, toplumsal olarak doyumlu bir yaşam sürme, insan ilişkilerinde olumlu etkileşimlerde bulunabilme gibi birçok davranış örneği sağlıklı yaşam için olmazsa olmaz davranış ve tutumlar içerisinde yer almaktadır. İnsanlar yaşam süreçleri boyunca sağlıklı yaşam biçimlerini geliştirebilir veya sağlıksız yaşam biçimlerine de zaman içerisinde yönelebilirler. Bu süreç hem kendilerini hem de toplumu etkilemektedir. Sağlıksız yaşam örneklerinden toplumda bir hayli fazla görülen yaşam biçimi tütün kullanımıdır.

Dünyada ve Türkiye’de tütün kullanımı mortalite ve morbidite bakımından önenebilir sağlık nedenlerinden en çok bilinen ve önemli sebeplerden biri olmaktadır [2]. Tüm dünya da ve Türkiye’de artan tütün kullanımı ile sosyal, ekonomik, yasal, tıbbi sorunlara sebebiyet verme, tütün kullanımının önemli bir halk sağlığı problemi olduğu gerçeğini göz önüne koymaktadır [3]. Nikotin, tütün bitkisinde yer alan bağımlılık yapan ve kişinin tiryaki olmasına sebebiyet veren bir maddedir. Tütün kullanımı kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer, akciğer, 20’den fazla farklı kanser türü veya alt tipi için (özellikle akciğer, gırtlak ve ağız kanserleri gibi) hayli önemli bir risk faktörüdür.

Her sene yaklaşık olarak 5 milyondan daha fazla insan tütün ve tütün mamülleri kullanımından ölmektedir [4]. Bu ölümlerin birçoğu gelir düzeyi olarak orta ve düşük gelir seviyesine sahip ülkelerde yaşanmaktadır. Gereken ve gerekli tedbirler alınmaz ise bu yüz yılın (yy) sonuna kadar tütün kullanımının bir milyar kişinin

ölümüne sebebiyet vereceği ve bu ölümlerin %80'lik kısmının düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşanacağı varsayılmaktadır [5]. Küresel anlamda tütün kullanımının en bilinen ve kullanım koşulu olarak en baskın olan tütün çeşidi sigaradır. Sigara içicilerinin büyük bir çoğunluğu sigarayı bırakmak istemekte fakat sigara içerisinde bulunan bağımlılık içeren maddelerden dolayı bu bağımlılığı bırakmaktaki başarı oranı oldukça düşüktür. Sigara dumanı içerisinde başta nikotin olmak üzere nitrozamimler, aromatik hidrokarbonlar, amonyak (NH_3), hidrojen siyanür (HCN), karbon monoksit (CO), kurşun, arsenik (As) gibi yaklaşık olarak 4000'den fazla zararlı madde içermektedir [6]. Sigara kullanım oranı hem küresel olarak hem de ülkemizde ciddi bir halk sağlığı sorunu olmak ile birlikte bulunduğumuz yy. içerisinde ciddi sorun teşkil etmektedir.

Nargile 16 yy'dan beri kullanılmakta olan geleneksel tütün içme aracıdır. Özellikle son 10 senede Ortadoğu, Güneybatı Asya, Afrika, Avrupa, Kanada ve Amerika'da genç nüfus arasında nargile kullanımı hızla artmaktadır [7]. Son yıllarda nargile de sigara gibi küresel anlamda bir tütün salgını olarak karşımıza çıkmaktadır [8]. Nargile; hookah, shisha, hubble bubble gibi farklı adlarda ve şekillerde çeşitli kültürlerde bilinmektedir [9]. Yeryüzünde yaygın olarak 100 milyon kişinin nargile tükettiği bilinmektedir [10]. Genellikle genç nüfusun özellikle ergenlik dönemi boyunca nargile kullanım yoğunluğunun orta ve ileri yaş nüfusa oranla daha fazla olduğu gözlenip tütün ve tütün mamüllerinde küresel olarak yeni bir mücadele ortamının ortaya çıktığı bilinmektedir [11]. Yapılan çalışmalar ışığında nargile kullanımının sigaraya kullanımına göre daha sağlıklı olduğu yönünde bir bilginin varsayıldığı yönündendir. Fakat nargile de sigara kadar sağlığa zararlı bir tütün ürünüdür [12].

Hücre, canlıların canlılık özelliği taşıdığı, vücudun en küçük yapı taşı olan ve yaşamsal faaliyetlerin tüm özelliklerini sergileyen organizmanın en ufak parçasına denilmektedir. Hücreler doğarlar, gelişimini sürdürürler ve zamanı geldiğinde ölürler. Yeni bir hücre üretilmesi ne kadar doğal bir durum ise hücre ölümü çok hücreli canlılar için olağan bir süreçtir. Hücre ölüm yolları apoptoz, nekroz, otofaji ve ferroptozdur.

Ferroptoz 2012 yılında Dixon ve arkadaşları tarafından araştırılmış hücre ölüm yolunun tanınmamış bir şekli olarak bilim hayatının içerisine girmiştir. Son yıllarda keşif edilen ve diğer hücre ölüm yollarından farklı olan, Fe bağımlı

lipid peroksidasyonu birikiminden kaynaklanan programlanmış bir hücre ölüm yolağıdır [13]. GPX4, ferroptozun ana enzimatik inhibitörüdür. Ferroptoz apoptotik olmayan bir hücre ölüm yolağıdır.

Son yıllarda süregelen çalışmalar sonucunda ferroptozun kanser, akut böbrek hasarı, kan hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, felç gibi birçok hastalığın ortaya çıkışı ve gelişiminde çok önemli ve düzenleyici bir görev üstlenmektedir [14]. Homeostatik düzenin sağlanması için ferroptozun meydana gelmesine ihtiyaç vardır.

Bu çalışma ile sigara ve nargile kullanıcılarında ferroptoz sinyal yolağının incelenmesi yapılmıştır. Bunun için 45 sigara içicisi, 45 nargile içicisi ve 45 sağlıklı bireyden kan örnekleri toplanarak glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz 4 (GPx4), malondialdehit (MDA), uzun zincirli yağ asidi-KoA ligaz 4 (ACSL4) enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) metodu ile çalışılıp ferroptozun mekanizması aydınlatılmak istenmiştir. Ferroptozun literatürde henüz yeni bir konu olmasına binaen daha fazla bilgi veri akışı toplama, nargile ve sigara kullanıcıları ile ferroptoz arasındaki ilişkinin incelenmesi ve konunun önemine dikkat çekilmesi hedeflenmektedir.

1.1. TÜTÜN

Amerika kıtasında Milattan Önce (M.Ö) 6000’li yıllarda yetiştirilmeye başlanan tütün bitkisi [15] tütünden üretilmiş olan tüttürerek içme, çiğneme, burnuna çekme veya emerek kullanılmak üzere üretilen, hammadde olarak hepsini veya bir kısmının kurutulmuş tütün yapraklarından elde edilen bir maddedir. Amerika kıtasının bulunuşundan sonra Avrupa’ya getirilen tütün bitkisinin ülkemize getirilişi İspanyol, İngiliz ve İtalyan gemici ve tüccarlar vasıtasıyla İstanbul üzerinde olduğu varsayılmaktadır [16]. Sigara, nargile, puro elektronik sigara, pipo gibi başlıca tütün ürünleri mevcuttur [17].

Tütün (Nicotiana), patlıcangiller (Solanaceae) familyasından olan keyif verici ve tek senelik bir bitki türüdür [18]. Tütün bitkisi hoş kokulu bitkiler sınıfında da yer almaktadır. Bu bitki çeşitli ülkelerde ve değişik coğrafi şartlara uyum sağlayan ve adaptasyon sorunu nadir olan bir bitki çeşididir. Tarım alanları incelendiğinde tütün bitkisi kadar dağılım gösterebilen ve çeşitli alana yayılabilen başka bir bitki

çeşidi nadirdir [19]. Dünya üzerinde geniş bir yetiştirme alanına sahip olan bitki, tarım alanının genişliğine bağlı olmayışı, toprak ile uyumunun kolay ve elverişli oluşu, iklim şartlarına karşı uyumlu hali durumu tütün bitkisinin ekimini ve yayılımını oldukça elverişli bir hale sokmaktadır. Farklı coğrafi bölgelerde 60'dan fazla farklı tütün çeşidi yayılım göstermektedir [20]. Tütün bitkisi keyif verici özelliğinin yanı sıra tıp dünyasında da birçok hastalığı tedavi etme amacıyla kullanmışlardır [21]. Evrende en fazla kötüye kullanılan bir ürün olup ulaşılması kolay olan bitki çeşididir. Tütünde yer alan nikotin bağımlılık yapıcı etkiye sahiptir. Diğer bitkilerden farklı olarak tütün bitkisinin yapraklarında nikotin maddesi bulunmaktadır [22]. Tütün bitkisinin kalitesini ve tadını kurutma işlemi büyük oranda etkilemektedir. Kurutma işlemleri Flue -Cured tütünler (ısı ile kurutma), Air-Cured (hava ile kurutma), Sun-Cured (güneş ile kurutma), Fire-Cured (ateş ile kurutma) şeklinde dörde ayrılmaktadır. Türkiye'de yetişen tütünlerin kurutma sistemleri genellikle Sun-Cured (güneş ile kurutma) metodu uygulanmaktadır. Tütün bitkisi üretim aşamasından tüketim aşamasına kadar ülkemizde ekonomik olarak büyük yer kaplamaktadır. Türkiye ekonomisinde milli gelir dağılımında tütün bitkisi ciddi bir etkiye sahiptir [18]. Çin, Türkiye, Amerika Birleşik Devletler (ABD), Hindistan, Endonezya, Brezilya tarafından dünya tütün üretiminin %75'lik kısmı karşılanmaktadır [23].

1.2.SİGARA

Sigara tütün bitkisinin kurutulmuş yapraklarından elde edilen rahatlatıcı etkisi olduğuna inanılan, tüketicisine yaşamsal faaliyet olarak zarar veren, bırakılması genellikle tıbbi destek ve tedavi süreci ile olan uyarıcı etkiye sahip bir maddedir.

20. yy başlarında sigara kullanımı tütün maddesinin kâğıt ile buluşması ve ucunda filtre kullanımı ile artış göstermiştir. Çok uzun süre boyunca sigara çiğneme aracı olarak kullanılmıştır [24]. Sigaranın ucunda bulunan havalandırma yardımıyla sigaradan gelen duman hava ile daha az yoğun olmaktadır. Sigaranın kalitesini kullanılan tütünün çeşidi, sigarayı sarmak için kullanılan kâğıdı, filtre tipi ve havalandırma derecesi tayin etmektedir [25]. Sigara fabrikasyon yöntemi ve içerisinde kullanılan tütünün türüne göre gruplandırılır. Şark (Türk), Virginia (İngiliz), Amerikan blend, Fransız tipi, Kretek cinslerindeki tütünler ile 5 türe ayrılmaktadır [26]. Sigara kullanımı dünya genelinde en çok kullanılan

alışkanlıkların başında gelmektedir. Geçmiş yıllara oranla her geçen gün sigaraya başlama yaşı düşmektedir. Bu problem ülkelerin ortak problemi haline gelmiştir [27]. Her yıl yaklaşık 5 milyon kişinin tütün yüzünden hayatını kaybettiği bilinmektedir. Gerekli önlem ve tedbirlerin alınmadığı takdirde 2030 senesine gelindiğinde bu rakamın 8 milyona geçeceği düşünülmektedir. Tütün kullanımının sağlığımız üzerinde ciddi sorun ve hastalıkların temel nedeni olduğu bilinmekte ve akciğer kanserinin %90'ından sorumlu olup diğer kanser türleri ile de bağlantılı olduğu bilinen bir gerçektir [28-29]. Sigaraya bağlı gelişen ölümlerin ve sağlıksız bir şekilde hastalıklı geçirilen yılların değerlendirilmesi incelendiğinde dünyadaki hastalık yükünün 59 milyon kişiyi etkilediği görülmektedir. Bu rakamın oransal değeri ise %4,1 tekabül etmektedir [28]. Sigara sanayisinin en önde gelen R.J.Reynold şirketi 1913 yılında ilk sigarayı piyasaya sürmüştür [30]. Sigara ve tütün kullanımında belirli evrelerin varlığı belirtilmektedir. İlk evrede sigara içme miktarı düşük seviyelerdedir. Erkeklerin kadınlara göre artış miktarının daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu duruma örnek ülke Afrika ülkeleridir. İkinci evre, tütün ve sigara kullanımında şiddetli bir artışın yaşandığı evredir. Birinci evrede olduğu gibi artışın erkeklerde daha fazla olduğu, kadınlarda ise yaygınlaştığı safhadır. Bu duruma örnek ülkeler ise Çin ve Japonya gibi ülkelerdir. Üçüncü evrede, tütün ve sigara kullanımına bağlı olarak sağlık problemlerinin ciddi oranda görüldüğü ve sigara içme sıklığında ciddi azalmaların yaşandığı basamaktır. Azalmalar erkeklerde başlayacak ve daha sonra kadınlar arasında da yaygınlaşacaktır. Ayrıca ölüm oranlarında da hem erkekler hem kadınlar arasında artış miktarı görülmektedir. Bu duruma Batı Avrupa, Latin Amerika örnek verilebilir. Dördüncü ve son evrede ise tütün ve sigara kullanımında hem erkek hem de kadınlar arasında ciddi azalmalar görülmüştür. Erkek bireyler arasında ölümlerde azalmalar görülürken kadın bireyler arasında ölüm oranı hala artış eğilimindedir. Örnek ülkeler ise İngiltere, ABD ve Kanada denilebilir [31]. Sigara kullanma prevelansı çoğu ülkede erkeklere göre kadın bireylerde daha azdır. Sigaranın erkek bireylerin problemi olarak görülmesi ile sonuçlanmaktadır [32]. Yapılan araştırmalar sonucunda sigara içme yayılım prevelansının 1980'li yıllardan sonra erkek ve kadın bireyler arasındaki farkın git gide azaldığını göstermiştir [33]. Sigara ve tütün kullanımı hem mortalite üzerine etkili olmak ile birlikte kişinin yaşam kalitesini ciddi oranda etkilemektedir. Akut ve kronik hastalıkların temelini oluşturmaktadır. Sigara kullanımının ne kadar erken yaşta başlanırsa hastalıklara

yakalanma oranı ve beraberinde ölüm riski o kadar erken bir zamanda gelmektedir [34]. Sigaranın etkili olduğu başlıca hastalıklar ise;

- Periferik damar hastalığı,
- kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH),
- pnömoni,
- astım,
- kronik kalp hastalığı,
- akciğer kanseri,
- ağız ve nefes borusu kanseri,
- yemek ve mesane kanseri,
- mide ve duodonal ülserdir [35].

1.2.1. Sigara Epidemiyolojisi

Tütün kullanımı evrenin önlenabilir ve yasal olan ve temininin kolay olduğu sağlık problemlerinden biridir. WHO her sene tütün ve tütün mamullerinden kaynaklı 8 milyon kişinin öldüğünü tahmin edilmektedir [28]. WHO'nün donelerine göre tütün ve tütün mamülleriin kullanımı Batı Pasifik'te %16,0-52,9, Avrupa'da %14,4-40,2, Asya'da %7,4-48,6, Güney Akdeniz'de %7,0-20,9, Amerika'da %6,1-31,5, Afrika'da %0,2-24,5 arasında değişiklik göstermektedir [36]. Dünya'da en çok sigara kullanımının olduğu ülkeler sırasıyla şu şekildedir; Çin, Hindistan, Endonezya, Rusya ve ABD gelmektedir. Türkiye ise bu sıralama da 10. Sırada yer almaktadır [37]. Erkek bireylerde sigara kullanımı gelişmiş ülkelerde %35, gelişmekte olan ülkelerde %50 oranındadır. Kadın bireylerde ise gelişmiş ülkelerde %7, gelişmekte olan ülkelerde %24 olarak tespit edilmiştir [38].

2003 senesinde WHO tarafından WHO Tütün Kontrolü Çerçeve Sözleşmesi ve esas ilkeler belirlenmiştir. Küresel Tütün Kontrolü Politikası (MPOWER), WHO 5 sene sonra yayımlamıştır. Bu pakete göre tütün ve tütün mamülleri ile verilen savaşta önemli olduğuna inanılan 6 ilkeyi kapsar [39]. MPOWER ilkeleri; **M**onitor tobacco use and prevention policies yani Tütün kullanımını ve önleme politikalarını izleme, **P**rotect people from tobacco smoke yani Bireylerin sigara dumanından pasif etkilenimlerinin önlenmesi, **O**ffer help to quit tobacco use yani

Sigarayı bırakmak isteyenlere yardım edilme, **Warn about the dangers of tobacco** yani Bireylerin sigaranın zararları konusunda uyarılması, **Enforce bans on tobacco advertising, promotion, and sponsorship** yani Tütün reklâmı, tanıtımı ve sponsorluğu ile ilgili yasakların uygulanma, **Raise taxes on tobacco** yani Tütüne uygulanan vergi miktarının artırılması şeklindedir.

MPOWER uygulama siyaseti başlandığı 2007 yılında tütün ve tütün mamülü kullanımı %22,5 iken, 2017 yılında %19,2 ye gerilemiştir. En çok gerileme yüksek gelir grubundaki ülkelerdedir görülmektedir. Orta ve düşük gelir grubundaki ülkelerde ise gerileme birbiri ile benzer durumda yer almaktadır [36].

1.2.2. Sigara Dumanı İçerisindeki Zararlı Bileşikler

Sigaranın yanması ile birlikte içerisinde yer alan zararlı ve bağımlılık yapıcı tüm maddeler insan vücuduna alınmış olmaktadır [40]. Sigara içerisinde bulunmakta olan maddeler gaz ve partikül fazı olarak sınıflandırılmaktadır. Partikül fazda olan maddelere örnek verirse; nikotin, nitrozaminler, polinüklear aromatik hidrokarbonlar, tarım ilacı kalıntıları, vs kapsamaktadır. Gaz fazda olan maddelere örnek verirse CO, hidrojen sülfür, HCN ve aldehitler gibi bileşikler kapsamlıdır [41]. Sigara dumanında yer almakta olan başlıca zararlı maddeler şöyle sıralanabilir; Nikotin, zift, benzen, kadmiyum, krom, formaldehit, CO, toluen, aseton, asetik asit, naftalin, katran, HCN, metan ve NH₃ olarak sıralanabilir [42].

1.2.2.1. Nikotin

Nikotin tanecikler halinde sigara dumanında yer almakta olan ve bağımlılığa yol açan bir maddedir. Nikotin maddesi organik azotlu maddelerden oluşmakta olan alkaloiddir [43].

Bitkisel zehirlerden en güçlülerinden olan nikotinin kimyasal gösterimi C₁₀H₁₄N₂ şeklindedir. Saf nikotin sıvı formda olup renksiz, uçucu ve yağlıdır. Nikotin 240° de kaynamaya başlar. Kaynamaya başladıktan sonra kahverengi renge döner. Nikotin suda, alkol içerisinde ve yağlarda çözünür. Bireyin ölümüne sebebiyet verecek nikotin miktarı tam olarak belli olmamak ile birlikte vücudumuza ne kadar zarar vereceği kısmı da gizemini korumaktadır. Öldürücü olması için 2-3 damla olmasının bile yeterli olduğu düşünülmektedir [44]. İştah azalmaya, sempatik sinir sistemini uyararak kalp hızında, kan şekeri ve kan basıncında artışa sebebiyet vermektedir [45]. Sigara kullanımı ile vücuda alınan nikotin çok kısa süre

içerisinde kana karışarak hücre membranından basitçe geçmektedir. Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) vasıtası ile hedef hücreler üzerinde etkisini göstererek hücrenin fizyolojik mekanizmasını değiştirmektedir. Bu değişim beyinde daha fazla nörotransmitter salgılanmasına sebebiyet vermektedir [46,50]. Fiziksel olarak kişide damarlarda vazokonstrüksiyona sebep olmakta ve kalp atım hızını yükseltmektedir. İnsanda kısa süreli dikkati toplama, algılama, farkındalık gibi kabiliyetler artarken rahatlama, endişe ve sıkıntı halinde azalma gibi duygu durumları ortaya çıkmaktadır [47-48]. Nikotin dopamin, glutamat ve gama aminobütirik asit salınımını arttırmak için beyinde yer alan nikotinik kolinerjik reseptörlere tesir ederek haz alma, memnuniyete neden olmaktadır [49].

Nikotin bağımlılığı;

- kanser,
- kalp rahatsızlıkları,
- akciğer hastalıkları,
- felç ve damar hastalıklarına sebebiyet vermektedir [51].

1.2.2.2 Katran

Sigara yanması neticesinde oluşan duman içerisindeki katı parçacıkların hepsine denilmektedir. Kansere sebebiyet vermektedir. Tütün soğuduğunda koyu kahverengi bir renk alıp yapışkan bir kıvam haline gelmektedir [52].

1.2.2.3 Arsenik

Kalp ve kan hastalıklarına neden olan sigaranın üretimi aşamasında kullanılan bir metaloiddir (Yarı metaller, metaller ile tepkime verirken ametel, ametaller ile tepkime verirken metal gibi davranan kimyasal bileşik). Keskin kokulu, zehirli, renksiz bir gaz olan As genellikle temizlik ürünleri ve gübreler de kullanılmaktadır [52].

1.2.2.4 Benzen

Aromatik hidrokarbon sınıfının en basit üyesi olan sıvı bir bileşiktir. Lösemiye sebep olmaktadır [52].

1.2.2.5 Kadmiyum

Toksik bir ağır metal elementtir ve kansere neden olmaktadır [52].

1.2.2.6 Karbonmonoksit

Bir karbon ve bir oksijen (O) atomundan oluşan inorganik molekülün ismidir. Renksiz, kokusuz bir gazdır. Organ ve uzuvlara ulaşması gereken O miktarını düşürmektedir [52].

1.3. NARGİLE

Kömürle ısıtıldığında düzenini içerdiği sudan çeken kişinin ağzı ile uzun ve esnek olan bir boruyu üfleyerek oluşan özel bir mekanizmalı tütün içme aracının adına nargile denilmektedir. Kökeninin çok belli olmamasına binaen rivayetlere göre nargile 16 yy. da ortaya çıktığına inanılan Hindistan, Çin gibi uzak doğu ülkelerinden arap ülkelerine ardından Türkiye 'de de yayılan şimdilerde ise ABD ve Avrupa'da da popülerlik kazanan bir tütün içme aracıdır [53]. Nargile ismi memlekete, bölgelere, lisana göre değişiklik göstermektedir. Türk dilinde kullanılan nargile, diğer dil ve bölgeler de Water pipe, hookah, hubble bubble, shisha, boory, goza, narghile, argmile, ghalyan şeklinde kullanılmaktadır [54-55]. Şimdilerde ise Türkiye'de Mısırdan getirilen ve ismine “Bahri” veya “Arap Tömbekisi” denilen nargile tütünleri bulunmaktadır. Özellikle ülkemizdeki genç nüfus popülasyonunun daha çok tercih ettiği bu tütün çeşitlerinin aromaları elma, nane, karpuz, çilek, muz, kayısı, ananas gibi keskin kokuya ve tada sahip meyve ve bitki türlerini kapsamaktadır [56]. Nargilenin çalışma prensibi tömbeki denilen tütün incelendikten sonra nemli havlu ile ıslatılıp biraz bekletilir. Islanan tömbeki lüleye sarılır, suyu sıkılır ve delikli tablaya konulur. Tütün çelik şişlerin aracılığı ile ortasından bölünür. Tömbeki ıslatılmış tütün yaprağı ile sarılır. Sonra ise sere yerleştirilir ve kömür aracılığı ile yakılır. Oluşan sıcaklık ile ısınan tütün dumanı ise serin içerisinde yer alan sıvının tütünün dumanında yer alan katranı süzdüğü varsayılmaktadır. Marpuç kısmından nefes alındığında oluşmakta olan baskı ile hava kömürü alevlendirir tütün iyice yanar ve duman hortumdan geçerek imame aracılığı ile kişiye aktarılır [57].

1.3.1. Nargilenin Tarihçesi

Nargilenin adının öyküsü ise Farsça'da 'Hindistan cevizi' anlamına gelen "nargil" sözcüğünden gelmektedir. Araplar tarafından "Şisa", İranlılar tarafından ise "Kalyan" olarak isimlendirilmiştir. Hindistan cevizinin içinin boşaltılmasının ardından kabuğuna bir kamyş sokularak ilk nargile örneği yapılmıştır. Hindistan cevizi zamanla yerini kabağa bırakmıştır. Zaman içerisinde nargilenin yaygınlaşmasından itibaren ise porselen ve bronz gövdeli nargileler ve bunları, çini, gümüş cam gövdeli nargileler takip etmiştir [57]. Ana vatanının Hindistan olduğu nargile, zamanla Farslar ve Araplar toprakları arasında genişlemiş ve ciddi kitlelere hitap etmiştir. Araplardan Osmanlı Devleti'ne yayılan nargile o dönemlerde keyif ve narkotik maddelerin içimi için kullanılmış olup daha sonraları tütünün Amerika'dan gelmesi ile gündelik hayatın içerisine hızlı bir şekilde yerini almıştır [58].

Geçmiş yıllarda nargile kullanımı genellikle yoksul ülke ve bölgelerde yaşlı ve emekli insanların kahvehanelerde toplaşarak kullandığı bir tütün içme ürünüydü. 1990 senesinden günümüze doğru nargile kullanımı Ortadoğu ve ABD'nin de içerisinde bulunduğu dünyanın çeşitli ülke ve bölgelerinde kullanılmakta olan ve ekonomik gelir düzeylerinin iyi olan insan grupları arasında da yaygınlaştığı görülmektedir [59].

1.3.2. Nargile Epidemiyolojisi

Nargile kullanımı Hindistan ve Pakistan gibi Güney Asya ülkelerinde kullanılmaya başlanmış ve sonraki yıllar içerisinde tüm dünya ülkelerine yayılım göstermiştir. WHO örgütünün yapmış olduğu incelemelere göre nargile en çok Kuzey Afrika, Doğu Akdeniz bölgesi ve Güneydoğu Asya'da kullanılmaktayken, Kuzey Amerika, Brezilya ve Avrupa'da da hızla yayılmaktadır [60]. Nargile kullanımı artık global bir tütün pandemisi olarak isimlendirilebilir [59].

Amerika'da yetişkinler üzerinden yapılan bir çalışmada nargile kullanım durum oranı % 5 ila 17 arasında olduğu görülmüştür [61]. Türkiye'de 2010 senesinde yapılmış olan bir çalışmada %27,9'unun sigara kullanmadığı, yalnız nargile kullandığı sonucu ortaya çıkmıştır [62].

1.3.3. Nargile Kullanımının Yaygınlığı

Birkaç yy. öncesine kadar bilinmeyen nargilenin günümüzde Asya ve Afrika sınırlarını aşırp dünya genelinde popölarite kazanmıştır [63]. 20 yy. sonlarına doğru nargile kullanımı orta ve yaşlı erkek bireylerin kullandığı tütün mamölü olarak hayatın içerisindeydi. şimdilerde ise gençlerin ve cinsiyet ayrımı olmadan insanların tercih ettiği bir tütün ürünü olarak yaşamlarımızın içerisinde yer almaktadır. Bu durumun asıl sebebi ise nargile içerisinde katılan aromatik tatlandırıcılar olduğu ileri sürölmektedir [64].

Nargilenin popölerlik kazanmasına en etkili olan düşöncelerden bir diğeri ise sigara ve diğeri tütün içme araçlarına göre daha az zararlı olduğu inanışdır. Nargilenin diğeri tütün içme araçlarından ayrılış nedeninin en önemli olanı budur. Zararı azaltmanın dumanın başlangıç aşamasında bir su kabından geçiyor oluşu günümüzde bile yaygın olan bir inanış olmaya devam etmektedir [65]. Genç nüfusun çoğu nargileyi bir tütün mamölü olarak görmemekte ve nargile içmenin sağlık için herhangi bir tehlike arz ettiğini düşünmemektedir [66]. Nargilenin zararlı olmadığına yönelik bir diğeri inanış ise sigara gibi nargilenin sürekli bir içim durumunun olmadığı için sağlık adına olumsuz bir etki bırakmayacağı yönündedir [67]. Ancak son deneysel ve klinik çalışmaları nargilenin diğeri tütün ürünlerinden daha az zararlı olduğu inanışının gerçeği yansıtmadığını göstermektedir [68].

1.4. HÜCRE

Hücre kelimesi ilk kez 1665'te Robert Hooke tarafından Micrographia kitabında mikroskop altında tespit ettiği yapılar olduğunu yazdı ve tespit edilen bu yapılara 'hücre' ismini verdi [69]. Hücre görev ve yapı bakımından canlıların tüm özelliklerini gösteren en küçük yapı taşına denilmektedir.

Hücre yaşamsal faaliyet gösteren organizmaların yapısal ve fonksiyonel olarak temel birimi olarak kabul edilir. Bilinmekte olan tüm canlı grupları tek ya da birden fazla hücreye sahiptir. Tüm hücre grupları var olan hücrelerin çoğalması ile meydana gelir. Canlı organizmaların içerisinde meydana gelen tüm biyokimyasal süreçler hücrede meydana gelmektedir. Hücreler sahip olunan tüm genetik talimatları, kalıtımsal bilgileri hücre bölünmesi aracılığı ile bir hücreden diğeri bir hücreye aktarım sağlamaktadır [72].

Hücreler tartışmasız en özel konulardan biridir. Hücrenin keşfi ile beraber tıp, bilim, sağlık dünyasında ilerlemeler kaydedilmiştir. Canlıların gelişmişlik düzeyi göz önüne alındığında ise iki tip hücre tipi önümüze çıkmaktadır bunlar ökaryotik ve prokaryotik hücre tipleridir [70].

1.4.1. Ökaryotik Hücre

Gelişkin organellere sahip tüm canlı gruplarına ise ökaryotik hücre denilmektedir. Birbirinden farklı olmalarına karşın tüm ökaryotik hücreler birden fazla ortak yapısal özellikleri bulunmaktadır. Bunlar ise Hücre zarı, Stoplazma ve Nükleus olmak üzere üç esas kısımdan oluşmaktadır. Hücre stoplazmasında bağımsız bölümler bulunmaktadır. Bu bölmeler organelleri meydana getirmektedir. Ökaryotik hücrelerde hücre zarı, stoplazma, nükleus(çekirdek), nükleolus (çekirdekçik), golgi aygıtı, mitokondri, plastid, ribozom, lizozom, sentriol, sentrozom, endoplazmik redikulum, peroksizom, koful organelleri gibi organeller yer almaktadır [71]. Yaşam denilen süreç belirli aşamalardan oluşmaktadır. Sırasıyla doğum, canlılığın neslinin devamı için üreme, yaşlanma ve en nihayetinde yaşamın sonlanması yani ölüm. Sürecin bu şekilde devamlılığı için yeni hücreler oluşur iken diğer bir taraftan hücrelerin ölümü gerçekleşmektedir. Ve böylece yaşam ve ölüm arasındaki müthiş denge hali sürmektedir.

Fizyolojik ve patolojik her iki durumda da hücrenin ölümüne kadar ki olan süreçte mekanizmaları farklı olan iki hücre ölüm yolu bilinmektedir. Bunlar nekroz ve apaptozdur [72].

1.4.2.Prokaryotik Hücre

Genetik materyali stoplazma organeli içerisinde dağılmış halde bulunan ve membranlar ile çevrili organelleri bulunmayan en ufak, en ilkel, en basit canlı çeşitliliğine prokaryotik hücre denilmektedir. Virüsler, mavi-yeşil algler, bakteriler, mikroorganizmalar, archaea prokaryotik hücrelere örnek olarak verilmektedir [73]. Prokaryotik hücreler de ökaryotik hücrenin her ikisinde de bulunan plazma zarı veya hücre zarı adı verilen seçici geçirgen zar bulunmaktadır. Prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde sitozel adı verilen jelimsi bir madde bulunmaktadır [74]. Prokaryotik hücreler de kromozomlar halkasal Deoksiribonükleik asit (DNA) bulundurlar. Prokaryotik hücreler miyoz ve matoz bölünme görülmemektedir. Pilus (bakteri hücrelerinin yüzeyinde bulunan saca

benzer yapılar) ve flagellum (kamçı) vasıtası ile hareket mekanizması gerçekleşir [75].

1.5. HÜCRE ÖLÜMÜ

Hücre çoğalması ile artan hücre sayısı hücrelerin ölümü ile birbirini dengeler. Organizma içerisinde hücreye artık ihtiyaç duyulmuyor ise o hücrenin intihar süreci başlatılmış olmaktadır [76]. Hücre çoğalması ile artan hücre sayısı hücrelerin ölümü ile birbirini dengeler. Hücre ölümü görevini tamamlamış, ihtiyarlamış, gelişigüzel gelişmiş, fazladan üretimi sağlanmış, genetik olarak kusurlu olan hücrelerin metabolizma içerisinde kontrollü biçimde gelişen mekanizmasına denilmektedir [77].

Hücre ölümü sadece bedenin gelişimi ve homeostazı için değil immün sistem ile alakalı hastalıkların gelişimi ve iyileştirilmesi içinde gereklidir.

Kerry, Wyllie ve Currie tarafından 1972 senesinde ortaya atılmış olan iki tip hücre ölüm yolu bulunmaktadır. Bu hücre ölüm yolu apoptoz ve nekrozdur. Sonraki senelerde yapılan çalışmalar sonucunda 1990 senesinde Clarke'nin yaptığı çalışmalara istinaden 3 tip hücre ölüm yolu daha tanımlanmış bulunmaktadır.

1.5.1. Otofaji

Canlıların yapı ve biçimini inceleyip, moleküler düzeyde yapılan incelemeler ışığında apoptoza ek veya apoptoza bir başka seçenek olarak otofaji kavramı oluşmuştur. Otofaji, besinin olmaması durumunda yeni ve sağlıklı hücreler için hasarlı organların temizlenmesi, hücre içi moleküllerin geri dönüşümünü sağlayarak vücudun iç dengesini korunmasına ve hücre içi kalite kontrolü sağlamak adına hayatta kalma mekanizması olarak isimlendirilir [78]. Otofaji geleneksel hücre ölüm biçimlerindendir. Apoptoz ve nekrozda geleneksel olarak isimlendirilen hücre ölüm yöntemleri içerisinde yer almaktadır. [84]. Otofajik hücre ölümü lizozom organelinin kopması ile zehirleyici kimyasalların salgılanması sonucunda meydana gelen bir çeşit hücre ölüm yolağıdır [79]. Kromatin yoğunlaşması ve DNA fragmantasyonu da otofaji de görülmektedir [80]. Ayrıca otofajik hücre ölümü enerji dengesinde de yer almaktadır. Yanlış katlanmış proteinleri, tahrip olmuş organelleri, lipid damlacıklarını uzaklaştırarak reaktif oksijen türlerinin azalmasına yardımcı olarak karaciğer homeostazına

yardımcı olup iç dengeyi sağlamaktadır [81,82].

Açlık durumuna uyum hali, hücre içi protein ve organellerin kalitesel olarak değerlendirilmesi, gelişme, nörodejenerasyonun engellenmesi, bağışıklık vs olmak üzere vücutla ilgili birçok hastalık sürecinde önemli görev üstlenir [83].

1.5.2 Nekroz

Nekroz ani ve patolojik olan bir hücre ölüm yolağıdır [85]. Nekroz ile ölümün gerçekleştiği hücrelerde boyut olarak bir artış gözlenmektedir. Hücrenin içerisine sıvı girişinin hızlanması ile hücre şişmekte, vakuol genişlemesi olmakta ve hemen ardından hücre zarında meydana gelen parçalanmalar oluşmaktadır. Nekroz esnasında mitokondride ve sitoplazma da şişme meydana gelmektedir [72]. Sitoplazma hücrenin dışına geçerek iltihaplanmaya sebep olmaktadır. Radyasyon, sıcaklık, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi şartlar yüksek dozda hücrenin nekroz yolağına gitmesine neden olmaktadır [86].

1.5.3 Apoptoz

Hücreyi hücre yapan her bir birimin kendisi veyahut DNA'sı zarar görmüş hücrelerin, bağlantılı olduğu diğer hücelere zarar vermeyecek bir biçimde ortadan kaldırılmasına yarayan, genler ile kontrol altına alınan ve süregelen olayların gerçekleşmesi için enerjiye ihtiyaç duyulan hücre ölüm yolağına apoptoz denilmektedir. Embriyolojik dönemden başlayıp hayat boyu devam eden süreçte bu müthiş denge hali devam etmektedir [85].

1973 senesinde Schweichel and Merker fareler üzerinde yaptıkları deneysel çalışmalar ışığında 3 çeşit hücre ölüm yöntemi tanımlamıştır. Bunlara tip 1, tip 2, tip 3 hücre ölümü diye adlandırmışlardır. Tip 1 hücre ölüm yolağı apoptoz, tip 2 hücre ölüm yolağı otofaji, tip 3 hücre ölüm yolağına ise günümüzde nekroz denilmektedir [87].

Apoptoz sözcüğü Yunanca kökenli olup 1972 yılında Avusturalyalı bir patolog olan J.F.K Kerr tarafından kullanılmış olup sonbahar da yaprakların düşmesi ya da çiçeklerin taç yapraklarının dökülmesi anlamına gelmektedir [88]. Apoptozik yolak DNA zararlı hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar [89].

Apoptozun hücre içerisinde ne çok olması ne de az olması gerekmektedir. Denge hali içerisinde devam etmesi önem arz etmektedir. Apoptozun artması halinde

Alzheimer, Parkinson gibi nöron hücrelerinin ölümüne yol açan nörodejeneratif hastalıklara sebebiyet vermekte az çalışması ile beraberde Kanser, Tip 1 diyabet, Sedef hastalığı gibi otoimmün hastalıklara sebebiyet verdiği son yıllarda yer alan gerek klinik gerek de labaratuvar şartlarında yapılan çalışmalar ile gözlenmiş bulunmaktadır [85]. Apoptozun mekanizmalarının denge hali içerisinde çalışması gerekmektedir aksi durumda dengelerin alt üst olmasına ve hastalık haline sebebiyet vermektedir [90].

Apoptozun meydana geldiği hücrelerde hacim kaybı yaşanarak küçülme meydana gelir. Hücreler ekstrasülüler matriks içine gömülü olan yapılardır. Gerçekleşen apoptoz ile beraber matriks içerisinde yer almakta olan laminin ve aktin filamentlerinin kesilmesi ile stoplazma küçülmeye başlar. DNA parçalara ayrılır. Mitokondri nadiren şişer. Adenozintrifosfat (ATP) tüketimi yaşanır, kaspaz aktivitesi gerçekleşir [79]. Kaspazlar apoptotik mekanizmada kilit bir enzim rolü üstlenen proteazdır. Şimdiye kadar 14 tane farklı kaspaz izoformu tanımlanmıştır. Hücre içerisinde pasif halde bulunurlar. Kaspaz 2, 8, 9, 10 başlatıcı kaspazlar, kaspaz 3, 6, 7 efektör kaspazlar, Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14 inflamatuvar kaspazlar olarak isimlendirilmektedir [72].

1.5.4 Ferroptoz

Metabolizmanın oksijenizasyonunun sağlanmasında hemoglobinin yapısına katılması, DNA biyosentez sürecinde kofaktör olara görev alması ve yine ATP üretim sistemlerinde kofaktör olarak görev alması, hücrelerdeki demir (Fe) elementini, belirli bir düzeyde olması şartı ile elzem hale getirmiştir. Haliyle hücreler, içerisinde yeterli düzeyde Fe bulundurmalıdır [91].

Canlılar yaşamlarına devam etmek adına O_2 kullanırlar. Vücut sistemi içerisinde reaktif olan oksijen metabolitlerinin (ROM), en yaygın kaynağı O_2 'dir [92]. Yer kabuğunda en çok bulunan elementler O, Silisyum, Alüminyum, Fe elementleridir. Fe elementi evrende bolca bulunmakla birlikte önemli bir kofaktör görevi üstlenmektedir. İnsan vücudu, 4 ile 5 gr arası Fe ihtiva etmektedir [93]. Dünyada yer almakta olan tüm yaşam formları için Fe önemli bir geçiş metalidir [96]. Fe minerali Fe^{+2} (hem), hayvansal kaynaklardan ve Fe^{+3} (hem olmayan), bitkisel kaynaklardan olmak üzere iki şekilde diyet ile birlikte vücuda alımı sağlanır [97]. Fe elementi, O_2 taşınması ve depolanması, DNA sentezi, hücre

büyümesi ve çoğalması, oksidatif metabolizma gibi yaşamsal faaliyetlerde görev alan esansiyel bir elementtir. Sayıca az fakat önemli ölçüde Fe elementi proteinler tarafından da kullanılmaktadır. Fe elementinin en önemli görevlerinden biri aynı zaman da hemoglobin (O_2 taşıyan kırmızı kan hücreleri) üretimidir. Hemoglobin protein yapısında olan ve vücudun neresinde O_2 ihtiyacı olursa oraya O_2 taşıyan bir moleküldür [98] Temel bir anorganik besin maddesi olan Fe birden fazla biyolojik sürece katılım sağlamaktadır. Ferroptoz da bunlardan biridir [99].

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretildiği başka kaynaklar mevcut olmak ile beraber en bilinen ve en önemlisi O_2 suya kadar indirgendiği mitokondrilerdir. Bu indirgenme sırasında serbest radikallerde oluşmaktadır. ROS, ATP ile birlikte mitokondriyal oksidatif sırasında üretilirler [95]. Çoğu kez büyük miktarda Fe birikimi ve lipid peroksidasyonu olaya refakat etmektedir [14]. Radikaller oluşuktan sonra proteinlere, lipitlere, karbonhidratlara, DNA'ya zarar vererek büyük bir yıkıma neden olurlar. Bu olayın sonucunda hücre ölümleri meydana gelmektedir [92]. O_2 transferi, DNA' nın sentez edilmesi, elektron değişimi vs gibi birçok önemli görevlere sahiptir. Ancak insan vücuduna çok fazla Fe alımı olduğunda toksik etki göstermektedir [95].

Yağların yükseltgenmesi sonucu bozunma işlemine lipit peroksidasyonu denilir. Biyokimyasal özellik olan lipit peroksidasyonu ve Fe birikimi ile alakalı olan ROS'a bağlı bir hücre ölüm yoluna ferroptoz denilmektedir [100].

Yeni bir hücre ölüm yöntemi olan ferroptoz son yıllarda bulunmuştur [13]. Dixon tarafından 2012 senesinde hücre ölüm yolağı olarak önerilmiştir [95]. Latince Fe anlamına gelen ferrum, Yunanca başarısızlık anlamına gelmekte olan ptoz kelimelerinin birleşiminden türetilmiş bulunmaktadır [96]. Ferroptozu uyaran ilk sinyalin Fe birikimi, mitokondriyal oksidatif ile ROS üretilmesi olduğu ortaya atılan fikirler arasındadır [101].

Bilindiği üzere geleneksel hücre ölüm yöntemlerinden olan apoptoz, nekroz ve otofajiden farklı olarak ferroptoz Fe bağımlı programlanmış hücre ölüm yollarından biridir. Ferroptozun ana özelliği hücrede fazlaşan Fe ve lipit peroksit üretimi sonucu hücrenin ölüme kadar gitme sürecidir [84].

Ferroptoz birçok hastalığın ortaya çıkmasında ve aynı zamanda ilerleme kaydetmesinde görev almaktadır. Bu hastalıklardan kısaca bahsetmek gerekirse;

- nörolojik hastalıklar,
- iskemi,
- intraserebral kanama,
- travmatik beyin hasarı (TBH),
- tümörler,
- kanser gibi hastalıklardır [13].

1.5.5. Ferroptoz Mekanizmaları

Geleneksel hücre ölüm metotlarından olan apoptoz ve nekrozdan farklı olarak ferroptoz, düzensiz demir metabolizmasına ve ROS oluşumuna dayanmaktadır [102-103]. Organizmada çeşitli biyokimyasal olaylar meydana gelmektedir. Bu biyokimyasal olaylar sonucunda meydana gelen ROS hücre yıkımı ve hücre ölümüne götürür. Hücreler arasında demiri, lipid metabolizmasını kapsayan ve düzensiz olarak Fe birikimine yol açan ve ayrıca hücreyi lipid yıkımına doğru sürükleyen bir reaksiyon dizisi oluşmuş olur. Bunun önüne geçmek için ROS ve ROS benzerleri hücrede bulunan antioksidan etkili glutatyon tarafından toksik olmayan yapılara dönüştürülmektedir. Bu olaylar sonucunda membran lipidler ve diğer moleküllerin oksidasyona uğramasına mani olunmaktadır. Glutatyon varlığı hücre yaşamının devamlılığı için hayati önem taşımaktadır [104]. Glutatyon eksikliğinde hücrede artış gösteren ROS molekülleri, lipidlerin yükseltgenmesini sağlayarak lipid peroksitlerini oluşturmaktadır. Hücrelerde biriken lipid peroksitleri ile dolaşımda var olan kararsız Fe^{+2} ile reaksiyona girerek Fenton reaksiyonlarını meydana getirmektedir. Fenton reaksiyonları oluş mekanizması, Hücrede yer alan Fe^{+2} ve Hidrojen Peroksit (H_2O_2) birleşerek Hidroksil ($OH\bullet$) radikalini meydana getirir. OH hücrelerde oksidatif strese neden olan, hücresel membran ile etkileşime girerek kararsız yapıya sahip bir radikaldır [105-106]. OH sonra çoklu doymamış lipidlerle etkileşime girerek lipid radikalleri ($L\bullet$) ile reaksiyona girer ve lipid hidroper oksit ($LOOH$) ve hücrede daha fazla $L\bullet$ üretimi gerçekleşmiş olur. Fe^{2+} ile etkileşim üzerine ve Fe^{3+} , $LOOH$, $LO\bullet$ ve lipid peroksi radikaline ($LOO\bullet$) dönüşür [107-108]. Lipid radikalleri Lipit peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) yükseltgenmesi ile neticelenmektedir. PUFA'lar lipid peroksidasyonunu hızlandırır Antioksidan sistemin bozulması lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte veya inhibe edebilmektedir [109].

1.5.5.1. Ferroptozda Demir Metabolizması

Fe elementi yerkürede en çok bulunan dört elementten biridir. Vücut metabolizmasında çok önemli görevler üstlenmektedir. Fe yaşam için son derece önemli bir element olmasına rağmen aşırı birikiminde organizmayı da ölüme sürüklemiş olabilir. Fe elementinin hücre içerisindeki çoğalması ferroptotik ölümün temel gücüdür. Hücre içerisinde çoğalan fazla Fe aktif Fe^{2+} üretir. Hücre sitozolünde bu tepkime gerçekleşir. Hücrelerde demirin aşırı birikimi hücreyi fenton reaksiyonuna götürmektedir. Reaksiyon neticesinde çok fazla ROS üretimini gerçekleştirir ve makro moleküllerde oksidatif hasarlar meydana gelebilir [110]. Hücre sitozolünde oluşan bu tepkimeler sonucunda radikaller oluşur. Oluşan bu radikallerden $OH\bullet$ canlı sisteminde yer alan en reaktif türdür. DNA başta olmak üzere organizma içerisinde hücreler arası zincir kırılmalarına, modifikasyonlara ve çapraz bağlara kadar sebebiyet vermektedir [111].

1.5.5.2. Lipid Peroksidasyonu

Oksitleyici ajanlardan serbest radikallerin özellikle PUFA' larda karbon-karbon çift bağlarına sahip lipitleri hedef alarak lipit peroksidasyonunu gerçekleştirmesi ferroptozda önemli bir aşamadır [112-113]. Lipit peroksidasyonu; başlangıç, süreklilik ve sonlanma olmak üzere art arda üç fazdan oluşmaktadır [114-115].

Hidroksil radikalleri gibi prooksidanların alilik hidrojenlerden bir elektron koparması ile karbon merkezli bir $L\bullet$ oluşması başlangıç fazıdır. Bu lipit radikali hızla oksijenle birleşerek $LOO\bullet$ yu oluşturur ki bu da devamlılık fazına geçiştir. Devamında $LOO\bullet$ farklı bir lipit molekülünden bir hidrojen atomunu ayırır, yeni oluşan bir lipit radikali ve zincir reaksiyonunu sürdüren $LOOH'$ yi üretir. E vitamini gibi antioksidanlar $LOO\bullet'$ ya bir hidrojen atomu vererek karşılık gelen bir E vitamini radikali üretir. Bu da durdurma fazının sonudur. Radikal olmayan türevlerin sentezi ise bu yeni oluşan radikal ve başka bir $LOO\bullet'$ nun etkileşimi ile sağlanır. Burada lipit peroksidasyonunun bir kez katalize edilmesinin durma türevleri oluşana kadar ardı ardına bir dizi zincir reaksiyonuna neden olması önem arz etmektedir [114].

PUFA'ların oksidasyonu ferroptozun yürütülmesi için ileri düzeyde önem taşımaktadır [116-117-118]. Lipooksijenazlar ve demir süreci kolaylaştırmaktadır [119]. Ferroptozda lipit peroksidasyonu, peroksidize lipitleri nötralize eden ve

dolayısıyla ferroptozu inhibe eden glutatyon/GPX4 sistemi ve ferroptoz baskılayıcı protein 1 (FSP1)/CoQ10 sistemi dahil olmak üzere çeşitli sistemler tarafından hassas bir şekilde düzenlenmektedir [102]. Ferroptoz lipid bozukluklarının açıkça görülebilen sonuçlarından. Bu nedenle ferroptozun düzenlenmesinde lipid peroksidasyonunun araştırılması önem arz etmektedir.

1.5.5.3. ACSL4

Ferroptozun düzenlenmesinde ACSL4 ve lisofosfatidilkolin asiltransferaz 3 (LPCAT3) gibi PUFA' ların fosfolipitlere dahil edilmesini katalize eden enzimler önemlidir [120-121-122]. ACSL4 yağ asitlerinin ilgili CoA tiyoesterlerine dönüştürülmesinde kritik öneme sahip olup LPCAT3' ün rehberliğinde fosfolipitlere entegre olur. Bu enzimatik fonksiyonların bozulması ferroptoz uyarılarına karşı artan dirençle sonuçlanmaktadır. Hem in vivo hem in vitro kanıtlar bunu göstermektedir. ACSL4'ün hepatosellüler karsinomda hem tümörü agreve eden hem de inhibe eden etkilerinin olması önemlidir [120]. Ayrıca LPCAT3 ablasyonunun RSL3 aracılı ferroptozu karşı direnç sağladığı hem in vivo hem in vitro çalışmalarla kanıtlanmıştır [120-122-123]. Bu bağlamda bu enzimlerin ferroptozu karşı hücrel duyarlılıktaki rolleri hem kanserin ilerlemesi hem de terapötik uygulamalar açısından çok önemlidir [124-125].

1.5.5.4. Ferroptozda GPX4'ün Rolü

Glutatyon glutamat, sistein ve glisin olmak üzere üç aminoasitten oluşan ve birçok hücrede bulunan küçük bir moleküldür. Glutatyon, muhtelif zararlı maddelerin nötralize edilmesinden mesul olduğundan hücrelerdeki son derece önemli antioksidanlardan biridir [126-127]. Glutatyon hücrelerde sona erdiğinde, GPX4 verimli bir şekilde çalışamaz, bu da lipid peroksidlerin birikmesine ve ferroptozu hassasiyetin artmasına neden olur. Fosfolipid çift katmanlarında geniş bir alana dağıtılan bir amino asit anti-taşıyıcı olan Sistem Xc, GSH/GPX4 eksen, fosfolipid hidroperoksidlerin katalizlenmesinden sorumlu temel mekanizmadır. Sistin ve glutamat hem hücre içinde hem de hücre dışında sistem Xc- tarafından değiştirilir [128-129-130]. GPX4 türlü fizyolojik proseslerde yer alır ve ferroptozun ana inhibitör geni olarak kabul edilmektedir [131]. GPX4, lipid peroksidleri katalize edilmesini sağlar ve lipid peroksidlerin birikimini ve devamından gelen ferroptozu önlemek için çok önemlidir. GPX4 ferroptozu düzenlemektedir. Bunlardan bazıları ise lipid peroksidlerin azaltılması durumudur. GPX4, lipid peroksidleri, daha az toksik

olan alkollere dönüştürür. Alkollerin ferroptozu sebep olma ihtimali olasılığı daha düşüktür. GPX4 aktivitesinin inhibisyonu, ferroptozu harekete geçiren lipid peroksidlerin birikmesine yol açmaktadır. Membran bütünlüğünün korunması ise, hücre zarı lipid peroksidasyona karşı bilhassa hassastır, bu da zarın hasar görmesine ve ardından ferroptozu yoluna gitmesine sebep verebilir. GPX4, hücre zarındaki lipid peroksidlerin azaltılmasına neden olarak zar bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Demir metabolizmasının düzenlenmesi ise Fe, Fenton reaksiyonu ile lipid peroksidasyonunu katalize ettiği için ferroptozun önemli bir parçasıdır [132].



2. BULGULAR VE YÖNTEM

2.1. MATERYAL

2.1.1 Araştırmanın Yeri Ve Süresi

Araştırma Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğinde takip edildi. Bu hastahaneenin tercih edilme nedeni ilde yer alan en kapsamlı ve donanımlı eğitim ve araştırma hastahanesi olmasından ötürüdür.

Araştırma EKİM 2022 tarihinde başladı ve MART 2023 tarihine kadar yaklaşık olarak 6 aylık sürede yürütüldü. Yürütmekte olunan bu tez çalışması sırasında sigara ve nargile kullanıcılarında GSH, GPx4, MDA, ACSL4 seviyelerinin kontrol grubu hastalarıyla ferroptozun sigara ve nargile içen hasta grubu üzerinde yer alan etkisinin araştırılması amacı ile ilgili tez çalışması yapılmıştır.

2.1.2. Araştırmanın Örneklemi

Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğine EKİM 2022 / MART 2023 tarihleri arasında başvuran 45 sigara kullanıcısı, 45 nargile kullanıcısı ve nargile ve sigara kullanmayan 45 kişiden oluşmaktadır.

Çalışmaya katılan bireyler için dahil olma kriterleri ve dışlama kriterleri ise;

- 20-50 yaş ve üzeri olmak
- Mental sağlığı yerinde olmak
- İletişim problemi olmamak
- En az 5 adet / hafta nargile içicisi ve 0,5 paket / gün sigara kullanıcısı olan bireyler
- Araştırmaya katılmayı kabul etmek.
- Araştırmanın sınırlılıkları nargile ve sigara içmeyen tüm bireyler, kardiyovasküler hastalıklar, romatoid artrit, diabetes mellitus, karaciğer veya böbrek yetmezlikli hastalar, sepsis, sistemik hematolojik hastalık, kanser, hipertiroidizm, gebelik.

2.1.3. Biyokimyasal Analizler

Araştırma verilerinin toplanma süreci maddeler halinde aşağıdaki gibi açıklanmıştır.

- Araştırmada ilk veriler, Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğine başvuran sigara ve nargile içen hastalar üzerinden 24. saattaki alınan kan tetkikleri ile sağlandı.
- Biyokimyasal ölçümler, tüm serilizasyon şartları sağlanmış alınan kan örneklerinde enzimatik kalorimetrik yöntem ile *IDS analyzer B0728* otoanalizörü cihazı kullanılarak Düzce Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilecektir. Alınan kan örnekleri aseptik koşullara özen gösterilerek Düzce Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında 4°C’de ve 3000 rpm devir ile 15 dakika süreyle santrifüje edilecektir. Kenara ayrılan serum örnekleri -80°C’de çalışma zamanına kadar saklandı ve tüm örnekler toplandığında hep beraber analiz edildi. Analiz süreci, sigara ve nargile kullanıcılarında olabilecek hastalıkları çalışma koşullarının tüm risklerini kontrol altına alarak gerçekleştirildi.
- GSH (Katalog numarası ELK9096, ELK Biotechnology), ACSL4 (katalog numarası ELK8993, ELK Biotechnology), GPx4 (katalog numarası ELK4775, ELK Biotechnology), ve MDA (katalog numarası ELK8428, ELK Biotechnology) seviyeleri üreticinin talimatları doğrultusunda ELISA yöntemi ile çalışmaya uygun ticari olarak temin edilebilen kitler kullanılarak Biotech cihazında ölçümü gerçekleştirildi.

2.1.4. Araştırmada Etik Konular

Yapılacak olan tez çalışmasının süreci boyunca Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına başvuran ve deneye katılma kriterlerini karşılayan 45 nargile kullanıcısı, 45 sigara kullanıcısı ve 45 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 135 kişiden oluşuyordu. Çalışmanın planlanma programı sürecinde Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 17.10.2022 tarihli 2022/169 karar numarası ile gerekli izinler alınmıştır (Ek-1). Bu süreçte çalışmaya dahil olan her bir hasta ile çalışma ile ilgili bilgilendirmeler yapılarak aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

2.1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Yapılan çalışmanın sınırlılığı, çalışmaya katılanların tek merkezden ve sınır sayıda seçilmiş olmasıdır.

2.1.6. ELISA Testi Prosedürü

Tez çalışmamızda ACSL4, GPX4, GSH ve MDA kitlerini kullanılmıştır. Kit kriterlerimiz ise maddeler şeklinde aşağıda belirtilmiştir.

2.1.6.1. Serum ACSL4 Seviyelerinin Ölçümü

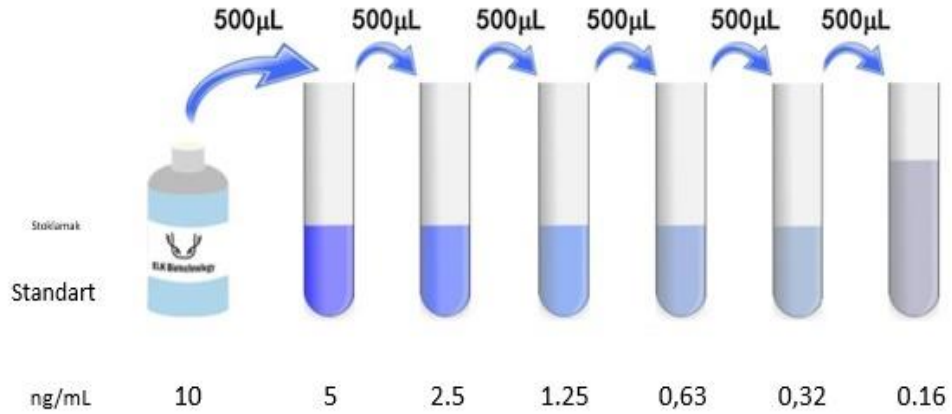
ACSL4 kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. ACSL4 analizi sırasında kullanılan reaktifler

İnsan ACSL4 (Açıl Koenzim A Sentetaz Uzun Zincirli Aile, Üye 4) ELISA Kiti		
Reaktifler	Miktar	Saklama Durumu
	96 ton	
Ön Kaplamalı Mikroplak	12 şerit x 8 kuyu	- 20°C (6 ay)
Standart (Liyofilize)	2 şişe	- 20°C (6 ay)
Biyotinlenmiş Antikor (100x)	120 mcL	- 20°C (6 ay)
Streptavidin-HRP(100x)	120 mcL	- 20°C (6 ay)
Standart/Numune Seyreltici Tamponu	20 mi	4°C
Biyotinlenmiş Antikor Seyreltici	12 mi	4°C
HRP Seyreltici	12 mi	4°C
Yıkama Tamponu(25x)	20 mi	4°C
TMB Yüzey Çözümü	10 ml	4°C (ayrıntıları)
Reaktif Durdur	6 mi	4°C
Plaka Kapakları	2 parça	4°C

ACSL4 kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.



Serum örnekleri ve kitler oda sıcaklığına getirilerek çalışmaya başlandı. 1/25 oranında seyreltme işlemi öncesi tampon çözelti çift damıtılmış su ile yıkandı. Santrifüj işlemi 60 sn süreyle 1000×g de yapıldı. Köpürmeden çalkalanacak olan donmuş haldeki standarda 1000 µl standart dilüsyon tamponu eklendi. Standartın stok konsantrasyonu 10 ng/mL şeklindedir. 7 adet tüp ve standart seyreltici tampon hazırlandı. 500 µl standart dilüsyon solüsyonu her bir tüp içerisine eklendi. Ardından hazırlanmış olan orijinal standarttan pipetleme yapılarak sırası ile tek tek diğer tüplere 500 µl aktarımı yapıldı. Kuyucukların içerisine 100 µl standart kontrollü bir şekilde eklendi. Bu şekilde 7 adet standart kuyucuk sağlanmış oldu. Bu standartların yoğunluğu ise sırasıyla 10 ng/ml, 5 ng/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,63 ng/ml, 0,32 ng/ml ve 0,16 ng/ml’ dir.

Ardından daha önce oda sıcaklığına getirilmiş numunelerin her birinden kuyucuklara 100 µl eklenerek 37°C de 80 dakika inkübe edilmek üzere plakanın üstü kapatıldı. İnkübasyon bitiminde kuyucuklardaki sıvılar aspire edildi. Her kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Ardından 37°C de 50 dakika inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 100 µl biyotinlenmiş antikor çalışma solüsyonu eklenerek plaka yeniden kapatıldı. Bu işlemler sonrasında 37°C de 50 dakika daha inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Ardından 37°C de 27 dakika daha inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. Bu işlemten sonra 50 µl durdurma reaktifi her kuyucuğa eklenerek ELİSA cihazında (Epoch, Biotek) 450 nm’ de ölçümler tamamlandı.

2.1.6.2. Serum GPx4 Seviyelerinin Ölçümü

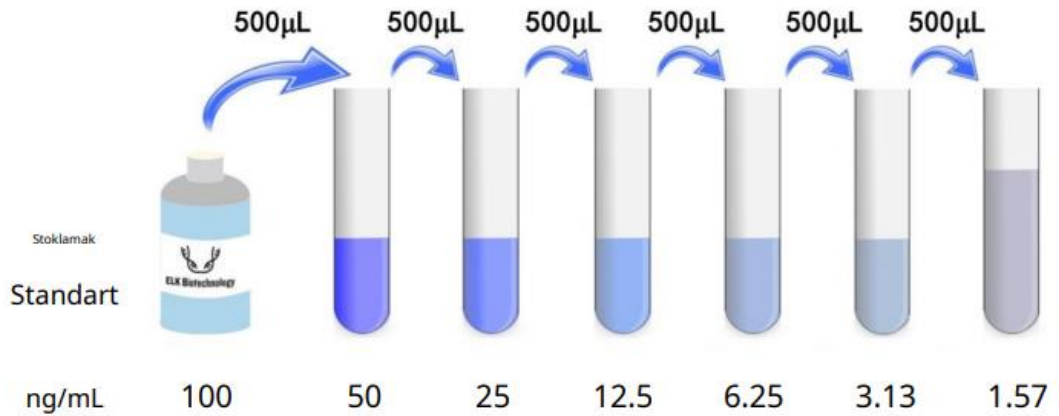
GPX4 kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. GPX4 analizi sırasında kullanılan reaktifler

Reaktifler	Miktar	Saklama Durumu
	96 ton	
Ön Kaplamalı Mikroplak	12 şerit x 8 kuyu	-20°C (6 ay)
Standart(Liyofilize)	2 şişe	-20°C (6 ay)
Biyotinlenmiş Antikor(100x)	120 mcL	-20°C (6 ay)
Streptavidin-HRP(100x)	120 mcL	-20°C (6 ay)
Standart/Numune Seyreltici Tamponu	20 mi	4°C
Biyotinlenmiş Antikor Seyreltici	12 mi	4°C
HRP Seyreltici	12 mi	4°C
Yıkama Tamponu(25x)	20 mi	4°C
TMB Yüzey Çözümü	10 ml	4°C (ayrıntıları)
Reaktif Durdur	6 mi	4°C
Plaka Kapakları	2 parça	4°C

GPX4 kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi



Serum örnekleri ve kitler oda sıcaklığına getirilerek çalışmaya başlandı. Test için gerekli olan yeterli sayıda kuyucuk belirlendi. Standart kuyucuğa 100 µl standart ve 100 µl numune her bir numune kuyucuğuna eklendi. 37°C de 80 dakika inkübe edildi. Plaka yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 100 µl

biyotinlenmiş antikor çalışma solüsyonu eklenerek plaka yeniden kapatıldı. Ardından 37°C de 50 dakika inkübe edildi. Bu işlemin sonunda 37°C de 50 dakika daha inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek 37°C de 30 dakika inkübe edildi. 50 µl durdurma solüsyonu eklenen her bir kuyucuktaki oluşan mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Gözlenen renk değişiminin ardından maksimum 10 dakika içerisinde mikropakta 450 nm ELİSA cihazında (Epoch, Biotek) okuma işlemi yapıldı.

2.1.6.3 Serum GSH Seviyelerinin Ölçümü

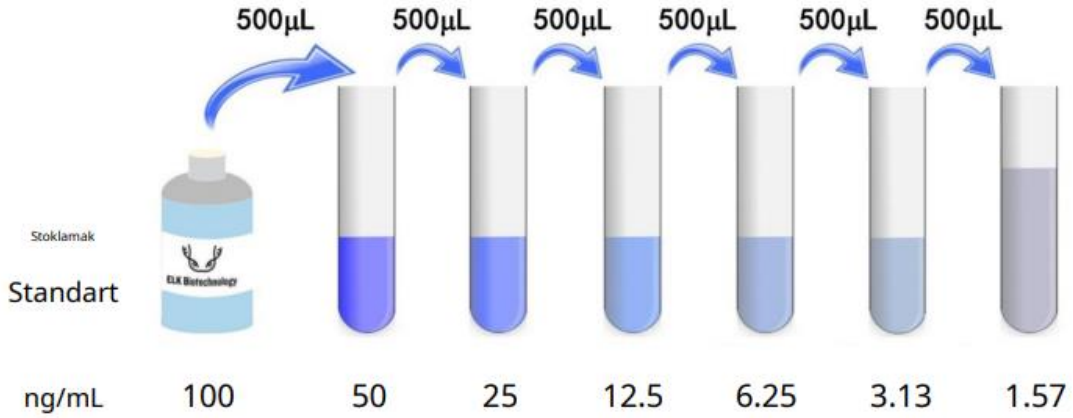
GSH kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. GSH analizi sırasında kullanılan reaktifler

Reaktifler	Miktar	Saklama Durumu
	96 ton	
Ön Kaplamalı Mikropak	12 şerit x 8 kuyu	-20°C (6 ay)
Standart(Liyofilize)	2 şişe	-20°C (6 ay)
Biyotinlenmiş-Konjugat(100x)	60 mcL	-20°C (6 ay)
Streptavidin-HRP(100x)	120 mcL	-20°C (6 ay)
Standart/Numune Seyreltici Tamponu	20 ml	4°C
Biyotinlenmiş- Konjugat Seyreltici	10 ml	4°C
HRP Seyreltici	12 ml	4°C
Yıkama Tamponu(25x)	20 ml	4°C
TMB Yüzey Çözümü	10 ml	4°C (karanlıkta saklayın)
Reaktif Durdur	6 ml	4°C
Plaka Kapakları	2 parça	4°C

GSH kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi



Çalışma süresince kullanılacak kitler ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Standart kuyucuklarına 50 µl standart ve 50 µl serum her bir numune kuyucuğuna eklendi. 37°C de 60 dakika inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 50 µl biyotinlenmiş konjugat eklendi. İşlemlerin ardından tüm kuyucuklar 200 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. 37°C de 60 dakika daha inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Bu inkübasyon işleminden sonra her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek 37°C de 20 dakika inkübe edildi. 50 µl durdurma solüsyonu eklenen her bir kuyucuktaki oluşan mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Gözlenen renk değişiminin ardından 450 nm ELİSA cihazında (Epoch, Biotek) okuma işlemi yapıldı.

2.1.6.4 Serum MDA Seviyelerinin Ölçümü

MDA kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.7. MDA analizi sırasında kullanılan reaktifler

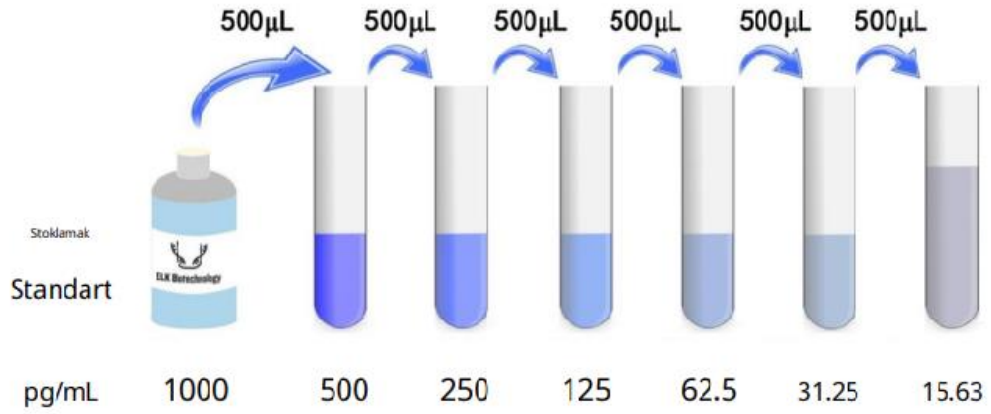
Reaktifler	Miktar	Saklama Durumu
	96 ton	
Ön Kaplamalı Mikroplak	12 şerit x 8 kuyu	-20°C (6 ay)
Standart(Liyofilize)	2 şişe	-20°C (6 ay)
Biyotinlenmiş-Konjugat(100x)	60 mcL	-20°C (6 ay)
Streptavidin-HRP(100x)	120 mcL	-20°C (6 ay)
Standart/Numune Seyreltici Tamponu	20 mi	4°C
Biyotinlenmiş- Konjugat Seyreltici	10 ml	4°C

Çizelge 2.7. (devamı.) MDA analizi sırasında kullanılan reaktifler

HRP Seyreltici	12 mi	4°C
Yıkama Tamponu(25x)	20 mi	4°C
TMB Yüzey Çözümü	10 ml	4°C (ayrıntıları)
Reaktif Durdur	6 mi	4°C
Plaka Kapakları	2 parça	4°C

MDA kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması aşağıda yer alan çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.8. Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi



Çalışma süresince kullanılacak kitler ve serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Standart kuyucuklarına 50 µl standart ve 50 µl serum her bir numune kuyucuğuna eklendi. 37°C de 60 dakika inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 50 µl biyotinlenmiş konjugat eklendi. Ardından plaka 3 kez yıkama tamponu ile yıkandı. 37°C de 60 dakika daha inkübe edilmek üzere her kuyucuğa 100 µl streptavidin-HRP solüsyonu eklendi. Bu inkübasyon işleminden sonra her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklenerek 37°C de 30 dakikayı aşmayacak şekilde karanlık ortamda bekletildi. Ardından 50 µl durdurma solüsyonu eklenen her bir kuyucuktaki oluşan mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Gözlenen renk değişiminin ardından 450 nm ELİSA cihazında (Epoch, Biotek) okuma işlemi yapıldı.

2.1.6.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen veriler GraphPad Prism 8 programı kullanılarak bilgisayar ortamında bir istatistik uzmanından danışmanlık alınarak analiz edilip değerlendirme sağlanacaktır.

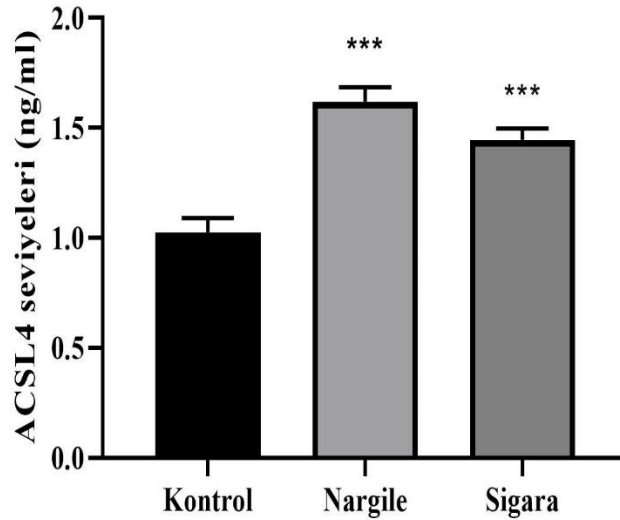
Grupların karşılaştırılmasında ise (Kolmogrov-Smirnov sonuçlarına göre) bağımsız örneklem testi ANOVA kullanımı sağlanacaktır. Verileri ortalama $\pm$ SD olarak sunulacaktır. 0.05'ten küçük herhangi bir p değeri istatistiksel analiz olarak anlamlı kabul edilecektir.



3.BULGULAR

3.1. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM ACSL4 SEVİYELERİ

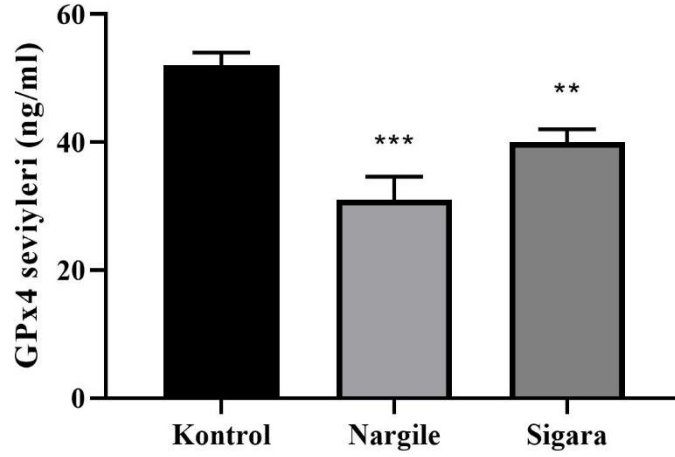
Kontrol grubu nargile ve sigara kullanan kişilerin ACSL4 sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.1’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu, nargile kullanan ve sigara kullanan bireyler arasındaki ACSL4 verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama ACSL4 değeri $1,027 \pm 0,06$ ng/ml olarak bulunmuştur. Nargile kullanan gruptaki ortalama ACSL4 değeri $1,62 \pm 0,08$ ng/ml olarak bulunmuştur. Sigara kullanan gruptaki ortalama ACSL4 değeri $1,44 \pm 0,05$ ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında nargile kullanan kişilerdeki ACSL4 seviyeleri % 57,7 bir artış görülmüştür ($p < 0,0001$). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında sigara kullanan kişilerdeki ACSL4 seviyeleri % 40,2’lik bir artış görülmüştür ($p < 0,0001$).



Şekil 3.1 Nargile ve sigara için kişilerdeki ACSL4 seviyeleri. *** $p < 0,0001$
kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

3.2. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM GPx4 SEVİYELERİ

Kontrol grubu nargile ve sigara kullanan kişilerin GPx4 sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.2’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu, nargile kullanan ve sigara kullanan bireyler arasındaki GPx4 verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama GPx4 değeri $52,11 \pm 2,76$ ng/ml olarak bulunmuştur. Nargile kullanan gruptaki ortalama GPx4 değeri $31,82 \pm 3,66$ ng/ml olarak bulunmuştur. Sigara kullanan gruptaki ortalama GPx4 değeri $40,15 \pm 2,38$ ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında nargile kullanan kişilerdeki GPx4 seviyeleri %38,8’lik bir düşüş görülmüştür ($p < 0,0001$). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında sigara kullanan kişilerdeki GPx4 seviyeleri %22,7’lik bir düşüş görülmüştür ($p < 0,0001$).

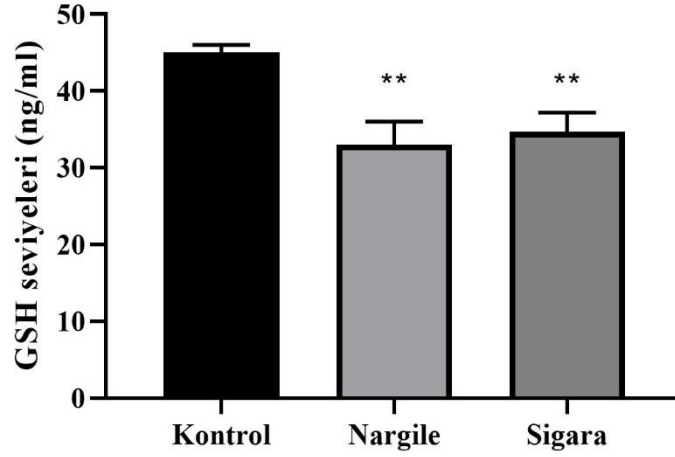


Şekil 3.2 Nargile ve sigara için kişilerdeki GPx4 seviyeleri.

*** $p < 0,0001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

3.3. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM GSH SEVİYELERİ

Kontrol grubu nargile ve sigara kullanan kişilerin GSH sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.3’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu, nargile kullanan ve sigara kullanan bireyler arasındaki GSH verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama GSH değeri $45,57 \pm 1,96$ ng/ml olarak bulunmuştur. Nargile kullanan gruptaki ortalama GSH değeri $33,73 \pm 2,48$ ng/ml olarak bulunmuştur. Sigara kullanan gruptaki ortalama GSH değeri $35,51 \pm 2,92$ ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında nargile kullanan kişilerdeki GSH seviyeleri %25,9’luk bir düşüş görülmüştür ($p = 0,0013$). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında sigara kullanan kişilerdeki GSH seviyeleri %22,07’lik bir düşüş görülmüştür ($p = 0,0029$).

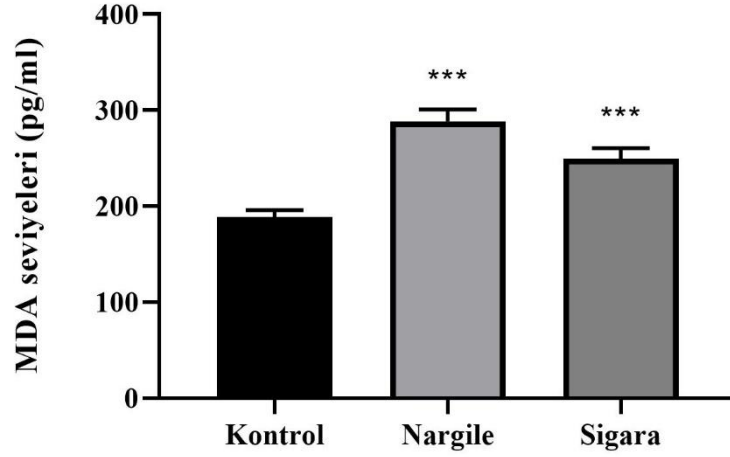


Şekil 3.3 Nargile ve sigara için kişilerdeki GSH seviyeleri.

** $p < 0,001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

3.4. NARGİLE VE SİGARA KULLANAN KİŞİLERDEKİ SERUM MDA SEVİYELERİ

Kontrol grubu nargile ve sigara kullanan kişilerin MDA sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.4’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu, nargile kullanan ve sigara kullanan bireyler arasındaki MDA verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama MDA değeri $188,3 \pm 7,63$ pg/ml olarak bulunmuştur. Nargile kullanan gruptaki ortalama MDA değeri $291,5 \pm 12,58$ pg/ml olarak bulunmuştur. Sigara kullanan gruptaki ortalama MDA değeri $249,61 \pm 10,36$ pg/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında nargile kullanan kişilerdeki MDA seviyeleri %54,7’lik bir artış görülmüştür ($p < 0,0001$). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında sigara kullanan kişilerdeki MDA seviyeleri %32,7’lik bir artış görülmüştür ($p < 0,0001$).



Şekil 3.4 Nargile ve sigara için kişilerdeki MDA seviyeleri.

*** $p < 0,0001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında

4.TARTIŞMA

Tütün, dünyada ve ülkemizde giderek kullanım sıklığını ve kullanıcı kişisi sayısındaki artışını sürdürmektedir. Ülkemizdeki tütün kullanımı sayısal olarak oranı ise %31,3'ü bulmaktadır [133]. Tütün mamüllerinin kullanımı dünya genelinde çok önemli bir halk sorunudur. Bilim insanları tütün mamüllerinin kullanımının zararlı yanlarını insanlara anlatıyor olmasına rağmen başta sigara olmak üzeri tütün mamüllerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. WHO'ya göre 2030 yılında, sigara ve benzeri tütün ürünlerinin kullanımından kaynaklı ölümlerin yaklaşık iki katına çıkacağı öngörülmektedir [134-135].

Nargile, tütün dumanının içen kişi aracılığı ile dumanın mekanizma sayesinde sudan geçirilerek alınan bir tütün içme metodudur. Esas olarak dört bölümden (lüle, ser, şişe ve marpuç) meydana gelen nargile sipsi, tabla, rüzgârlık ve maşa da kullanılmaktadır. Kişi tarafından bir nargilenin içim süresi ortalama olarak 45-50 dakika sürebilmektedir. Sigaraya göre nargile içimi zaman olarak daha uzun olan bir tütün içme aracıdır [136]. Yapılan bazı araştırmalara göre sigara içmeyen gençler arasında bile nargile içiminin yaygınlaştığı görülmüştür. Bunun temel sebebi ise nargile içerisinde yer alan bazı aromaların yer almasıdır [137]. Hem sigara hem nargile kullanımı insan sağlığı açısından son derece zararlı olan ve birçok hastalığın tetikleyicisi kabul edilen kimyasal ürünlerdir.

Hücreler dışarıdan aldıkları maddeleri kendi ihtiyaçları doğrultusunda sentezleyip ve gerek gördüğü zaman da ise bu sentezler sonucunda bu maddeleri parçalayıp canlıya enerji sağlayabilen ve aynı zamanda da kendi kendini çoğaltabilen canlıların en basit yapı taşına denilmektedir. Tüm canlılar hücre veya hücrelerden oluşmaktadırlar. Hücrelerde solunum, beslenme, sindirim, dolaşım, boşaltım gibi temel faaliyetler gerçekleşmektedir. Hücreler hücre zarı, stoplazma ve çekirdekten oluşmaktadır. Vücudumuzda yer alan her bir organ ve dokular muazzam bir denge halinde çalışmaktadırlar. Bunları meydana getiren hücrelerde tıpkı doku ve organlar gibi belirli bir düzen içerisinde büyür, bölünür, çoğalır ve işin sonunda ölür. Hücre ölümleri otofaji, nekroz, apoptoz ve ferroptoz olarak sıralanmaktadır. Otofaji, büyük moleküllerin hücresel parçalanma yoludur. Bu yol hasarlı ve gereksiz gıdaların sindirilmesi için oldukça önem arz etmektedir. Otofaji hücrelerde sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Nörodejenarik hastalıklar, kanser gibi bazı hastalıklarda otofajinin düzensizliği birçok

hastalığın patolojisinde yer almaktadır [138-139-140]. Nekroz, canlı organizmasında yer alan hücre ölüm yolağıdır. Nekrozda bir hücrenin ilk olarak sitoplazmasında daha sonrasında ise çekirdeğinde değişiklikler ortaya çıkar. Apoptoz, organizma içerisinde yer alan embriyonik gelişimde ve yetişkin dokularda hücre ölümünün fizyolojik olarak gerçekleştiği programlanmış bir hücre ölüm yolağıdır. Canlı hücrelerinde yapım ve yıkım aşamalarında bir denge hali mevcuttur. Vücut metabolizmasının iç dengesinin korunması için hücrelerin doğru zamanda ve doğru nicelikte bu yola gitmesi gerekir. Bu denge halinin herhangi bir şekilde bozulması ise bazı hastalıkların meydana çıkmasında rol almaktadır [141-142]. Apoptozun gerçekleşmesi sayesinde tamir edilemeyecek derecede hasarlı hücreler inflamatuvar yanıtı neden olmadan genetik olarak farklılaşmış tamir mekanizması tarafından ortadan kaldırılmaktadır [143]. Ferroptoz, kontrollü bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Demire bağımlı düzenlenmiş bir mekanizmadır. Ferroptoz hücre içi metabolik yollarla yüksek oranda ilişkilidir. Ferroptozun ana elementi olan Fe, Fenton reaksiyonuna girerek çok fazla ROS üretimi olur ve ROS hücre membranında yer alan lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşmasını sağlamaktadır [144].

Sigara dumanının sürece eşlik ettiği patolojik yaralanmalara ilk olarak hücre içi toksik serbest radikallerin bulundukları ortamda birikmesine yol açtığı oksidatif strese neden olmaktadır. Bir veya birden daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olan ve oldukça reaktif kimyasal türler olan ROS ve reaktif nitrojen türleri mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizomlar gibi türlü organellerdeki normal hücrelerde aerobik metabolizma sırasında üretilebilir [145-146]. ROS ve reaktif nitrojen türleri, hücrenin doğal yapısını korumak için elverişli seviyelerde hayli önemli sinyaller olarak hareket edebilir. Bir diğer taraftan ise, üretilen oksidanlar ile antioksidan içeriği arasında mevcut sağlanan denge bozulursa, ROS ve reaktif nitrojen türleri, hücresel DNA hasarı, endoplazmik retikulum stresi ve mitokondriyal bozulma gibi zararlı etkileri tetikleyebilmektedir [147-148]. GPx4 gelişim ve büyüme sırasında organizmada çok önemli görevi mevcuttur.

Ou ve meslektaşları, çok fazla sigara içenlerin seminal plazmasında ferroptozun ilk bulguları ortaya koymuştur. Bu çalışmada çok fazla sigara içen grupta GSH düzeyinin azaldığını buldular; ancak lipid peroksitleri ve demir seviyelerinin arttığını belirlediler. Bu sonuçlar, çok fazla sigara içenlerin seminal plazmasında ferroptoz düzeyinin arttığını göstermektedir. Üstelik ferroptozun koruyucusu olan GPX4 proteininin seviyesinin de hücrelere yoğun sigara dumanı uygulandıktan sonra GC-2spd hücresinde

seviyelerinin azaldığı görülmüş oldu. Bir başka deneysel çalışmada, Zhang ve arkadaşları sigara dumanının düzensiz demir metabolizmasına neden olabileceğini ve akciğerde aşırı serbest demir birikmesine yol açabileceğini ispatlayan önemli kanıtların olduğunu gösterdi. Serbest demirin birikmesi, Fenton reaksiyonu yoluyla lipid peroksidasyonunu ve hücre hasarına neden olur ve sonuçta ferroptoz oluşumunu hızlandırır. Yapılan çalışmalara benzer şekilde Liu ve arkadaşları, GPx4 ve SLC7A11 seviyeleri sigara dumanına maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde azaldığını belirlemişler ve bunun da sigara dumanının hem in vivo hem de in vitro şartlarda ferroptozu desteklediğini ortaya koymuşlardır [149-150-151].

GPx4, redoks homeostazisi için hücre zarlarındaki peroksitlenmiş fosfolipitleri aracısız azaltan, glutatyon hasarını önlemeye çalışmakta olan bir glutatyon peroksidazdır [152]. Yapılan bazı deneysel çalışmalar sonucunda ferroptozun, anti-kanser ilacı Erastin aracılı xCT sistein taşıyıcısının inhibisyonu vasıtası ile hücre içi glutatyonun tükenmesine bağlı olarak GPx4 aktivitesinin yitirmesi ile indüklendiğini göstermektedir. Bu sebep ile eksilen GSH seviyelerinin zayıf GPx4 aktivitesiyle bağlantılı olabileceği görülmüş olmuştur [153].

Sigara içmeyenlerin akciğerleriyle ile sigara içen bireylerin akciğerleri karşılaştırıldığında, sigara içenlerin akciğerlerinden elde edilen verilerde daha yüksek konsantrasyonlarda demir ve ferritin içerdiği açık bir şekilde görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalar, sigara dumanının ferritinden demir salınımının sigara içimi esnasındaki demir durumunu etkilediğini meydana çıkarmıştır [154]. Sigara kullanımının çok yoğun olduğu bireylerde yapılan bazı deneysel çalışmalar ışığında görülen o ki GSH düzeyinin azaldığı, ancak lipid ROS ve demir düzeyi arttığı, seminal plazmasında ferroptoz düzeyinin ise arttığı gözlemlerine ulaşılmıştır [155]. Ferroptozu düzenleyen lipid peroksidasyonu ve demir metabolizması sinyalleridir.

ACSL ailesinin, yağ asidi metabolizmasında ilgili işlevlerini yerine getiren beş alt tipi (ACSL1, ACSL3, ACSL4, ACSL5 ve ACSL6) vardır. Bunlar içerisinde, ACSL4 ferroptoz mekanizmasının önemli bir düzenleyicisidir. Genellikle PUFA'ları karboksilleyerek mekanizmaya ferroptozu sürükler. Yapılan birçok deneysel çalışmalar neticesinde ACSL4'ün ferroptoz üzerinde destekleyici bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir [156-157].

Serum ACSL4 seviyelerinin ölçüldüğü çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla nargile içen hasta popülasyonumuz içerisinde %57,7'lik bir artışın olduğunu gözlemledik ve

çalışmamızda bir diğer verimiz olan sigara için ise kontrol grubuna kıyasla %40,2'lik bir artış gözlemledik. Elde edilen deneysel veriler ışığında hastalarında gözlemlenen klinik kötüleşmeden kaynaklı patofizyolojileri yönünde bazı sonuçlara varılabileceği görüldü. Sigara ve nargile kullanan hastaların klinik kötüleşmesinin temelinde yer alabilecek patofizyolojik sebeplerden biri hücresel düzeyde ferroptozun tetiklenmesi olabilir.

Serum GPx4 seviyelerinin ölçüldüğü çalışmamızda kontrol grubuna kıyas ile nargile içen hasta popülasyonumuz içerisinde %38,8'lik bir düşüş gözlemlenmiştir. Çalışmamızda yer alan bir diğer verimiz olan sigara için ise kontrol grubu ile mukayese yapıldığında hasta popülasyonumuz içerisinde %22,7'lik bir düşüş gözlemledik.

Serum GSH seviyelerinin ölçüldüğü çalışmamızda kontrol grubuna kıyas ile nargile içen hasta popülasyonumuz içerisinde %25,9'lik bir düşüş gözlemlenmiştir. Ve çalışmamızda yer alan bir diğer verimiz olan sigara için ise kontrol grubu ile mukayese yapıldığında hasta popülasyonumuz içerisinde %22,7'lik bir düşüş gözlemledik.

Serum MDA seviyelerinin ölçüldüğü çalışmamızda kontrol grubuna kıyas ile nargile içen hasta popülasyonumuz içerisinde %54,7'lik bir artış olduğunu gözlemledik. Ve çalışmamızda yer alan bir diğer verimiz olan sigara için ise kontrol grubu ile mukayese yapıldığında hasta popülasyonumuz içerisinde %32,7'lik bir artış olduğunu gözlemlemiş olduk.

Elde ettiğimiz deneysel verilerimiz ışığında 45 kontrol grubu olmak üzere toplamda 135 hastamızın kanındaki ferroptoz biyobelirteçlerinin ölçülmesiyle ACSL4, GPX4, GSH, MDA değerlerinin incelenmesinin önemli bir rolü olduğunu elde ettiğimiz sayısal veriler sonucunda ortaya koymuş olduk.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız boyunca, sigara ve nargile kullanan kişilerdeki ferroptoz sinyal yollarını inceledik. Bu çalışma sürecinde elde ettiğimiz verilere dayanarak, ferroptozun sigara ve nargile kullanımıyla ilişkili rolünü anlamak için mekanizmaları ve ilgili yolları araştırdık. Ferroptozun sigara ve nargile kullanan kişilerde yoğun bir şekilde indüklediğini tespit etmiş olduk. Dahası verilerimiz, sigara ve nargile kullanan kişilerde biyokimyasal süreçleri etkileyerek potansiyel patofizyolojik anormallikleri indükleyebileceği ve prognozu da etkileyebileceğini düşündürmüştür. Ferroptozun hücre ölüm yolları arasındaki yeni keşfedilmiş bir yolak olduğunu ayrıyeten popüleritesi çok yüksek olan bu konunun daha çok araştırılması ve daha fazla deneysel çalışmalara yer verilemesi görüşüne varılmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Beydağ K. D. , Sonakın E. U. C. , “Yürüyen B. Sağlık Ve Yaşam Dersinin Üniversite Öğrencilerinin Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışlarına Etkisi”. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2014; 3(1): 599-609.
- [2] Shibuya, K., et al., “WHO Framework Convention on Tobacco Control: “development of an evidence based global public health treaty”. *Bmj*, 2003. 327(7407): p. 154-157.
- [3] WHO global report on trends in tobacco smoking 2000-2025.[Online].
Erişim. “<https://www.who.int/tobacco/publications/surveillance/trends-tobacco-smoking-second-edition/en/>”.
- [4] Bilir, N., “Türkiye Tütün Kontrolünde Dünyanın Neresinde?” *Türk Toraks Dergisi/Turkish Thoracic Journal*, 2009. 10(1).
- [5] United States Department of Health and Human Services. “The health consequences of smoking”: A report of the Surgeon General. 2004.
- [6] Edwards R. “The problem of tobacco smoking.” *BMJ* 2004; 328: 217-9.
- [7] Lim BL, Lim GH, Seow E. “Case of carbon monoxide poisoning after smoking shisha”. *Int J Emerg Med* 2009;2(2):121-2.
- [8] Özcebe, H., Doğan, B.G., İnal, E., Haznedaroğlu, D., Bertan, M. (2014). “Üniversite Öğrencilerinin Nargile İçme Davranışları ve İlişkili Sosyodemografik Özellikleri”, *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 13(1): 19-28.
- [9] Knishkowsky, B. and Y. Amitai, “Water-pipe (narghile) smoking: an emerging health risk behavior”. *Pediatrics*, 2005. 116(1): p. e113-e119.
- [10] Heinz, A.J., et al., “A comprehensive examination of hookah smoking in college students: use patterns and contexts, social norms and attitudes, harm perception, psychological correlates and co-occurring substance use.” *Addictive behaviors*, 2013. 38(11): p. 2751-2760.
- [11] Chaouachi K. A critique of the WHO TobReg’s “Advisory Note” report entitled: “Waterpipe tobacco smoking: health effects, research needs and recommended actions by regulators”. *J Negat Results Biomed* 2006;5:1.

- [12] La Fauci G, Weiser G, Steiner IP, Shavit I. “Carbon monoxide poisoning in narghile (water pipe) tobacco smokers”. *CJEM* 2012;14(1):57-9.
- [13] Li J, Cao F, Yin HL, Huang ZJ, Lin ZT, Mao N, Sun B, Wang G. “Ferroptosis: past, present and future”. *Cell Death Dis.* 2020 Feb 3;11(2):88. PMID: 32015325; PMCID: PMC6997353.
- [14] Li J, Cao F, Yin HL, Huang ZJ, Lin ZT, Mao N, Sun B, Wang G. *Cell Death Dis.* 2020 Feb 3;11(2):88-9.
- [15] Gately I. Tobacco: “A cultural history of how an exotic plant seduced civilization”: Open Road+ Grove/Atlantic; 2007.
- [16] Hanafin J, Clancy L. “History of tobacco production and use. The Tobacco Epidemic”. 42: *Karger Publishers*; 2015. p. 1-18.
- [17] Atsız Sezik H. , Can H. , Kılınç E. A. , Çulha G. , Polat S. “Tütün ve Tütün Ürünleriyle Mücadele”. *Klinik Tıp Aile Hekimliği.* 2016; 8(6): 42-47.
- [18] Gümüş M, Erkan S, Serpil T. “Bazı kabakgil türlerinin tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması üzerinde araştırmalar”. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2004;41(1).
- [19] Şahin G, Taşlıgil N, ‘Türkiye’de Tütün Yetiştiriciliğinin Tarihsel Gelişimi ve Coğrafi Dağılımı”. *Doğu Coğrafya Dergisi,* 2013;30: s.75-6.
- [20] Karabacak K. ‘Türkiye’de Tütün Tarımı ve Coğrafi Dağılımı”, *Coğrafi Bilimler Dergisi,* Ankara 2017;15(1):27-47.
- [21] Goodman J. Tobacco in history: “The cultures of dependence”: *Routledge*; 2005.
- [22] YEŞİLAY. “Tütün Bağımlılığı”[Online]. Erişim tarihi 03.05.2022 [Available from: <https://yedam.org.tr/tutun-bagimlilik>].
- [23] Sivük U, Ataseven Y, Gül U, ARISOY H, Sivük H, Ataseven Y. “Alternatif ürün projesi kapsamında tütün ve bazı ürünler arasında kârlılık karşılaştırmaları”. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi.* 2009;6(3):215-26.

- [24] Uneri O, Tural U, Cakin Memik N. “Sizofreni ve Sigara İçimi: Biyolojik Bağlantı Nerede? [Smoking and schizophrenia: where is the biological connection?]”. *Türk Psikiyatri Derg.* 2006 Spring;17(1):55-64. Turkish. PMID: 16528636.
- [25] M. Borgerding ve H. Klus, “Analysis of complex mixtures- Cigarette smoke”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, c. 57, sayı 1, ss. 43–73, 2005.
- [26] Şuben M. *Tütün fabrikasyonu*. (1 inci baskı). İstanbul: TEYO yayını, 1989: 9-33
- [27] Yaman, F. ve Göçkan, İ. (2015). “Kamu spotu reklamlarının sigara kullanıcıları Üzerindeki etkisi: Afyonkarahisar ilinde bir uygulama”. *Kafkas Üniversitesi İktisadi İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 6(11), 53-66.
- [28] Organization, W.H., ‘WHO report on the global tobacco epidemic: the MPOWER package’ 2008 [Online] Erişim: World Health Organization.
- [29] Organization, W.H., “Quantifying selected major risks to health.”[Online]. Erişim: The world health report, 2002. 2002: p. 47-97.
- [30] AFŞİN DE. “Gebelerde Sigara İçme Durumunun Değerlendirilmesi ve Sigaranın Zararları Konusunda Bilgi Düzeylerinin Tespiti”: *Atatürk Üniversitesi dergisi*; 2018.
- [31] Bilir, N., “Dünyada ve Türkiye’de tütün kullanımı epidemiyolojisi”. *Tütün ve Tütün Kontrolü* (Eds AZ Aytemur, Ş Akçay, O Elbek), 2011: p. 21-23.
- [32] Mackay J, Amos A. “Women and tobacco”. *Respirology*. 2003;8(2):123-30.
- [33] Health UDo, Services H. Women and smoking: “A report of the Surgeon General”. Washington, DC: Public Health Service, Office of the Surgeon General. 2001.
- [34] Karlıkaya C, Öztuna F, Solak ZA, Özkan M, Örsel O. “Tütün kontrolü”. *Toraks dergisi*. 2006;7(1):51-64.
- [35] Pişkinpaşa, N. and M.E. Pişkinpaşa, “POLİS HASTALARDA SİĞARA İÇME ALIŞKANLIĞI İLE İRRİTABL BARSAK SENDROMU İLİŞKİSİ”. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2015. 4(1): p. 24-26.
- [36] WHO report on the global tobacco epidemic, 2019: “Monitoring tobacco use

and prevention policies''. Geneva: *World Health Organization*; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

[37] WHO. WHO report on the global tobacco epidemic, 2008: the MPOWER package. Geneva, *World Health Organization*, 2008.

[38] Kaşıkçı M, Ünsal A, Çoban G, Avşar G. ‘‘Atatürk Üniversitesi Son Sınıf Öğrencilerinin Sigara Kullanma Alışkanlıkları’’ *Toraks Dergisi*, 2008, 3(9):938.

[39] Kurumu, T.H.S., ‘‘Küresel Yetişkin Tütün Araştırması’’ [Online] Türkiye 2012. 2014, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu: Ankara.

[40] Benowitz NL. ‘‘Neurobiology of nicotine addiction: implications for smoking cessation treatment’’. *Am J Med* 2008; 121(4): 3-10.

[41] De Biasi, M., & Dani, J. A. (2011). *Reward, addiction, withdrawal to nicotine. Annual Review of Neuroscience*, 34, 105–130.[Online]. Erişim // <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113734>.

[42] What’s In a Cigarette? *American Lung Association* [Online] Erişim Tarihi: 20.09.2021.

[43] Özcan, S. , Taş, H. & Çetin, Y. (2013). SİĞARA İLE MÜCADELEDE TOPLUMSAL BİLİNÇ . ‘‘*Hak İş Uluslararası Emek ve Toplum Dergisi*’’, 2 (4), 152-175. [Online] Erişim//<https://dergipark.org.tr/tr/pub/hakisderg/issue/7576/99458>.

[44] Hajdu, S. I., & Vadmal, M. S. (2010). ‘‘The use of tobacco’’. *Ann Clin Lab Sci*, 40(2), 178-81.

[45] Albrecht, A. E., Marcus, B. H., Roberts, M., Forman, D. E., & Parisi, A. F. Effect ‘‘Of smoking cessation on exercise performance in female smokers participating in exercise training’’. *The American journal of cardiology*, 1998; 82(8): 950-5.

[46] Albuquerque EC, Pereira EFR, Alkondon M, Rogers SW (2009). ‘‘Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: From structure to function’’. *Physiological Reviews*, 89, 73–120. DOI.org/10.1152/physrev.00015.2008.

[47] Pekşen Y (1995). Sigara İçiminin Nedenleri, Epidemiyolojisi, Pasif İçicilik. A. Tür (Editör). ‘‘Sigaranın sağlığa etkileri ve bırakma yöntemleri’’(ss: 1-28). Logos Yayınları.

- [48] Dağlı E (1994). *Sigara Bağımlılığı ve Nedenleri*. Yİ. Barış (Editör). Sigara ve Sağlık (ss: 63-64). İstanbul: Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları.
- [49] Benowitz NL. Neurobiology of nicotine addiction: “Implications for smoking cessation treatment”. *Am J Med* 2008; 121(4): 3-10.
- [50] Wickham R. Focus: Addiction: “How Menthol Alters Tobacco-Smoking Behavior: A Biological Perspective”. *The Yale journal of biology and medicine*. 2015;88(3):279.
- [51] E. Egecioglu, P. Steensland, I. Fredriksson, K. Feltmann, J. A. Engel, ve E. Jerlhag, “The glucagon-like peptide 1 analogue Exendin-4 attenuates alcohol mediated behaviors in rodents”, *Psychoneuroendocrinology*, c. 38, sayı 8, ss. 1259–1270, 2013.
- [52] What’s in a cigarette? *Irish Cancer Society*. [Online]. 2019. Erişim // <https://www.cancer.ie/reduce-your-risk/smoking/health-risks/whats-in-cigarettes#sthash.zxFYg65e.VZueliwv.dpbs>.
- [53] Qasim H, Alarabi AB, Alzoubi KH, Karim ZA, Alshbool FZ, Khasawneh FT. “The effects of hookah/waterpipe smoking on general health and the cardiovascular system”. *Environ Health Prev Med*. 2019 Sep 14;24(1):58. doi: 10.1186/s12199-019-0811-y. PMID: 31521105; PMCID: PMC6745078.
- [54] Maziak W, Ward, KD, Afifi Soweid RA, and Eissenberg T. “Tobacco smoking using a waterpipe: a re-emerging strain in a global epidemic”. *Tobacco Control*. 2004.
- [55] Wikipedia. (13 Eylül 2010). *Hookah Lounge*. [Online]. Erişim//http://en.wikipedia.org/wiki/Hookah_Lounge.
- [56] Subaşı N, Bilir N, İlhan E, Avluk A, Bavlı G. ve ark. “Nargile İçenlerin Nargile İçme Konusundaki Bilgi, Tutum ve Davranışları”. *Türk Toraks Dergisi*, 2005, s. 6 (2): 137-143.
- [57] Akter E. (2011). “Adana İl Merkezindeki Lise Öğrencilerinde Tütün ve Tütün Mamullerinin Kullanımı”. Ç.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Adana, (Danışman: Prof. Dr. N Bozdemir).
- [58] Omaye ST. “Metabolic modulation of carbon monoxide toxicity”. *Toxicology* 2002;180: 139-150.

- [59] Hassoy, H., Ergin, I., Davas, A., Durusoy, R., Karababa, A.O. (2011). “Sağlık Meslek Yüksek Okulu Öğrencilerinde Sigara, Nargile, Sarma Tütün Kullanımını Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi ve Öğrencilerin Sigara, Nargile, Sarma Tütüne Başlama ve Sürdürme Konusundaki Görüşleri”, *Solunum Dergisi*, 13(2): 91-99.
- [60] Regulation, W.S.G.o.T.P., *Advisory note: waterpipe tobacco smoking: health effects, research needs and recommended actions by regulators*. 2005.
- [61] Davaji, R.B.O., et al., “Patterns, beliefs, norms and perceived harms of hookah smoking in north Iran”. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 2017. 18(3): p. 823.
- [62] Bilir, N., et al., 2010. *Türkiye’de tütün kontrolü politikaları*. World Health Organization Report. Available from:[Online] Erişim/<http://www.euro.who.int/document/E>.
- [63] Çakmak V. (2014). *Adolesanların Nargilenin Sağlığa Etkileri Algıları*. Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, (Danışman: Prof. Dr. N. Çınar).
- [64] Aktaş, A., Hıdıroğlu, S., Karavuş, M.(2018). “Üniversite Öğrencilerinin Nargile İçme Konusundaki Bilgi, Tutum ve Davranışları”. *Fırat Tıp Dergisi*, 23(2): 68-72.
- [65] Badran M, Laher I. “Waterpipe (shisha, hookah) smoking, oxidative stress and hidden disease potential”. *Redox Biol.* 2020 Jul;34:101455. doi: 10.1016/j.redox.2020.101455. Epub 2020 Feb 11. PMID: 32086009; PMCID: PMC7327957.
- [66] Okdemir, S. (2013). *Nargile İçimine Bağlı Karboksihemoglobin Seviyelerinin Değerlendirilmesi*, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.
- [67] Hadidi, K.A., Mohammed, F.I.(2004). “Nicotine content in tobacco used in hubble-bubble smoking”, *Saudi Medical Journal*, 25: 912-917.
- [68] Buice ME. *Smoke Signals: An Analysis of Policies to Reduce Hookah Use Among Adolescents in Washington State* 2014.

[69] Santra TS, Tseng FG. Single-Cell Analysis 2.0. *Cells*. 2022 Dec 30;12(1):154. doi: 10.3390/cells12010154. PMID: 36611946; PMCID: PMC9818738.

[70] Gül, Ş. & Özay Köse, E. Smoke Signals: An Analysis of Policies to Reduce Hookah Use Among Adolescents in Washington State (2021). “LİSE ÖĞRENCİLERİNİN HÜCRE VE ORGANELLERİ KONUSUNDAKİ TEMEL KAVRAMLARA YÖNELİK BİLGİ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ” . *Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Dergisi* , (42) , 367-390 . DOI: 10.33418/ataunikkefd.734585.

[71] Önel A., Yüce Z. , Yeşilyurt D. “FEN BİLGİSİ ÖĞRETMEN ADAYLARININ HÜCRE KONUSUNDAKİ KAVRAMSAL BİLGİ DÜZEYLERİNİN ÇİZİMLER YOLUYLA BELİRLENMESİ”. *Caucasian Journal of Science*. 2015; 2(1): 32-43.

[72] Dağdeviren T. “Programlı Hücre Ölümü; Apoptoz”. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2021; 13(3): 120-135.

[73] Diniz G. , Karakayalı EM , Aycan İ. , Ertürk G. , Uysal G. “Mikroorganizmaların Keşfi ve Mikrobiyolojinin Tarihçesi”. *İzmir Tıp Fakültesi Dergisi*. 2022; 1(2): 49-55.

[74] Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., ve Jackson, R.B.. Çeviri Editörü: Ertunç Gündüz, İsmail Türkan. “*Campbell*” 9. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara, 2015.

[75] Öztaş, H., (2000). *Hücre Biyolojisi (Sitoloji)*. Erzurum: Elif Kırtasiye.

[76] Güleş Ö. , Eren Ü. “Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler”. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2008; 19(2): 73-78.

[77] Vardar F. , Yanık F. , Çetinbaş Genç A. “Bitkilerde Programlı Hücre Ölümü”. *MFBD*. 2018; 30(1): 61-70.

[78] Karadağ A. “Otofaji: Programlı Hücre Ölümü”. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*. 2016; 15(2): 19-26.

[79] Mukhtar, M. S., McCormack M. E., Argueso C. T., Mukhtar-Pajerowska K. M., 2016, “Pathogen tactics to manipulate plant cell death”, *Current Biology*, 26: 608-618 pp.

- [80] Doorn, W. G. , Beers, EP., Dangl, J. L., Franklin Tong, V.E., Gallois, P., Hara Nishimura, I., Jones, A.M., Kawai Yamada, M., Lam, E., Mundy, J., Mur, L.A.J., Petersen, M., Smertenko, A., Taliansky, M., Van Breusegem, F., Wolpert, T., Woltering, E., Zhivotovsky, B., Bozhkov, PV., 2011, “Morphological classification of plant cell deaths”, *Cell Death and Differentiation*,18 (8): 1241-1246 pp.
- [81] Song D, Xu C, Holck AL, Liu R. “Acrylamide inhibits autophagy, induces apoptosis and alters cellular metabolic profiles”. *Ecotoxicol Environ Saf* 2021;208:111543.
- [82] Allaire M, Rautou PE, Codogno P, Lotersztajn S. “Autophagy in liver diseases: Time for translation?”. *J Hepatol* 2019;70(5):985-98.
- [83] Kuma A, Komatsu M, Mizushima N. “Autophagy-monitoring and autophagy-deficient mice”. *Autophagy* 2017;13(10):1619-28.
- [84] Li S, Huang Y. “Ferroptosis: an iron-dependent cell death form linking metabolism, diseases, immune cell and targeted therapy”. *Clin Transl Oncol*. 2022 Jan;24(1):1-12. doi: 10.1007/s12094-021-02669-8. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34160772; PMCID: PMC8220428.
- [85] Dinçel G. Ç. , Kul O. “Patolojik Apoptozis Ve Tanı Yöntemleri”. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2016; 5(1): 86-108.
- [86] Coşkun G, Özgür H. “Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması”. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2011;20(3):145-58.
- [87] Schweichel JU, Merker HJ. “The morphology of various types of cell death in prenatal tissues”. *Teratology*. 1973 Jun;7(3):253–66.
- [88] Singh V, Khurana A, Navik U, Allawadhi P, Bharani KK, Weiskirchen R. “Apoptosis and Pharmacological Therapies for Targeting Thereof for Cancer” *Therapeutics*. 2022.
- [89] Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, Ohba Y, Sakuragi N. “Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer”. *Biomed Res Int*. 2014;2014:15084.
- [90] Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, Garufi A, D’Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*. 2016 Apr;8(4):603–19.

- [91] Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y. Regulators of Iron Homeostasis: “New Players in Metabolism, Cell Death, and Disease”. *Trends Biochem Sci.* 2016 Mar;41(3):274-286. doi: 10.1016/j.tibs.2015.11.012. Epub 2015 Dec 23. PMID: 26725301; PMCID: PMC4783254.
- [92] Şekeroğlu Z. A. , Şekeroğlu V. “Oksidatif Mitokondrial Hasar ve Yaşlanmadaki Önemi”. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi.* 2009; (2): 69-74.
- [93] Ilbert M, Bonnefoy V. Insight into the evolution of the iron oxidation pathways. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Feb;1827(2):161-75. doi: 10.1016/j.bbabbio.2012.10.001. Epub 2012 Oct 6. PMID: 23044392.(18).
- [94] Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. “Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling”. *Cell Signal.* 2012 May;24(5):981-90. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008. Epub 2012 Jan 20. PMID: 22286106; PMCID: PMC3454471.
- [95] Mou Y, Wang J, Wu J, He D, Zhang C, Duan C, Li B. “Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer”. *J Hematol Oncol.* 2019 Mar 29;12(1):34. doi: 10.1186/s13045-019-0720-y. PMID: 30925886; PMCID: PMC6441206.
- [96] Čepelak I, Dodig S, Dodig DČ. “Ferroptosis: regulated cell death”. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2020 Jun 29;71(2):99-109. doi: 10.2478/aiht-2020-71-3366. PMID: 32975106; PMCID: PMC7968485.
- [97] Hunt, J. R. (2003) “Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets”. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3):633–639.
- [98] Kartal T. (2016) “Eskişehir İl Merkezinde Yaşayan Gebelerde Anemi Prevelansının ve Yaşam Kalitesi ile İlişkinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Doç. Dr. Fatma Deniz Sayiner). Türkiye.
- [99] Wang P, Lu YQ. “Ferroptosis: A Critical Moderator in the Life Cycle of Immune Cells”. *Front Immunol.* 2022 May 10;13:877634. doi: 10.3389/fimmu.2022.877634. PMID: 35619718; PMCID: PMC9127082.
- [100] Tang D, Chen X, Kang R, Kroemer G. “Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications”. *Cell Res.* 2021 Feb;31(2):107-125. doi: 10.1038/s41422-020-00441-1. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33268902; PMCID: PMC8026611.
- [101] Liu J, Kang R, Tang D. “Signaling pathways and defense mechanisms of

ferroptosis''. *FEBS J.* 2022 Nov;289(22):7038-7050. doi: 10.1111/febs.16059. Epub 2021 Jun 17. PMID: 34092035.

[102] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. "Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease''. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22(4):266–82. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00324-8>.

[103] Yan H-F, Zou T, Tuo Q-Z, Xu S, Li H, Belaidi AA, et al. "Ferroptosis: mechanisms and links with diseases''. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):1– 16. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00428-9>.

[104] ORTEGA AL, MENA S, ESTRELA JM (2011). "Glutathione in Cancer Cell Death''. *Cancers (Basel)* 3: 1285–1310.

[105] Chen X, Yu C, Kang R, Tang D. *Iron metabolism in ferroptosis*. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:590226. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.590226>.

[106] Fang X, Ardehali H, Min J, Wang F. "The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease''. *Nat Rev Cardiol.* 2023;20(1):7–23. <https://doi.org/10.1038/s41569-022-00735-4>.

[107] Stadtman ER, Berlett BS. "Fenton chemistry. Amino acid oxidation" *J Biol Chem.* 1991;266(26):17201–11.

[108] Prousek J. Fenton chemistry in biology and medicine. *Pure Appl Chem.* 2007;79(12):2325–38.[Online]. Erişim// <https://doi.org/10.1351/pac200779122325>.

[109] Gan B. "ACSL4, PUFA, and ferroptosis: new arsenal in anti-tumor immunity''. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):128. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01004-z>.

[110] Winterbourn, C. C. (1995). "Toxicity of iron and hydrogen peroxide: The Fenton reaction''. *Toxicology letters*, 82, 969-974.

[111] Toyokuni, S. (1996). Iron-induced carcinogenesis: "The role of redox regulation''. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(4), 553-566.

[112] Nigam S, Schewe T. Phospholipase A(2)s and lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1488(1–2):167–81. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00119-0](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00119-0).

- [113] Niki E. Lipid peroxidation: *Physiological levels and dual biological effects*. *Free Radic Biol Med*. 2009;47(5):469–84. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032>.
- [114] H Y, L X, Na P. *Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis*. *Chem Rev*. 2011;111(10). <https://doi.org/10.1021/cr200084z>.
- [115] Kanner J, German JB, Kinsella JE. “Initiation of lipid peroxidation in biological systems”. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1987;25(4):317–64. <https://doi.org/10.1080/10408398709527457>.
- [116] Gan B. *ACSL4, PUFA, and ferroptosis: new arsenal in anti-tumor immunity*. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):128. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01004-z>.
- [117] Kagan VE, Mao G, Qu F, Angeli JPF, Doll S, Croix CS, et al. “Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis”. *Nat Chem Biol*. 2017;13(1):81–90. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2238>.
- [118] Doll S, Proneth B, Tyurina YY, Panzilius E, Kobayashi S, Ingold I, et al. “ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition”. *Nat Chem Biol*. 2017;13(1):91–8. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2239>.
- [119] Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, Patel M, Shchepinov MS, Stockwell BR. “Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis”. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(34):E4966–75. <https://doi.org/10.1073/pnas.1603244113>.
- [120] Kagan VE, Mao G, Qu F, Angeli JPF, Doll S, Croix CS, et al. “Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis”. *Nat Chem Biol*. 2017;13(1):81–90. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2238>.
- [121] Hishikawa D, Shindou H, Kobayashi S, Nakanishi H, Taguchi R, Shimizu T. “Discovery of a lysophospholipid acyltransferase family essential for membrane asymmetry and diversity”. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(8):2830–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712245105>.
- [122] Dixon SJ, Winter GE, Musavi LS, Lee ED, Snijder B, Rebsamen M, et al. Human ‘ ‘Haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death’ ’ *ACS Chem Biol*. 2015;10(7):1604–9. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00245.8>.

- [123] Lee JY, Kim WK, Bae KH, Lee SC, Lee EW. “Lipid metabolism and ferroptosis”. *Biology (Basel)*. 2021;10(3). <https://doi.org/10.3390/biology10030184>.
- [124] Reed A, Ichu T-A, Milosevich N, Melillo B, Schafrroth MA, Otsuka Y, et al. “LPCAT3 inhibitors remodel the polyunsaturated phospholipid content of human cells and protect from ferroptosis”. *ACS Chem Biol*. 2022;17(6):1607–18. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.2c00317>.
- [125] Mbah NE, Lyssiotis CA. “Metabolic regulation of ferroptosis in the tumor microenvironment”. *J Biol Chem*. 2022;298(3). <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101617>.
- [126] Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: “Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis”. *Mol Aspects Med*. 2009;30(1–2):1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>.
- [127] Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. “The importance of glutathione in human disease”. *Biomed Pharmacother*. 2003;57(3–4):145–55. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(03\)00043-x](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(03)00043-x).
- [128] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. “Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death”. *Cell*. 2012;149(5):1060–72. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>.
- [129] Angeli JPF, Proneth B, Hammond VJ, Tyurina YY, Tyurin VA, O'Donnell VB et al. “Inactivation of the Ferroptosis Regulator Gpx4 Triggers Acute Renal Failure in a Therapeutically Relevant Mechanism”. *Nat Cell Biol*. 2014;Supplement 1(76):S77–S8. <https://doi.org/10.1038/ncb3064>.
- [130] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. “Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4”. *Cell*. 2014;156(1–2):317–31. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>.
- [131] Cardoso BR, Hare DJ, Bush AI, Roberts BR. “Glutathione peroxidase 4: a new player in neurodegeneration?” *Mol Psychiatry*. 2017;22(3):328–35. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.196>.
- [132] Xu C, Sun S, Johnson T, Qi R, Zhang S, Zhang J, et al. “The glutathione peroxidase Gpx4 prevents lipid peroxidation and ferroptosis to sustain Treg cell activation and suppression of antitumor immunity”. *Cell Rep*. 2021;35(11):109235. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109235>.

[133] WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000-2025, third edition [Online]. [cited 2023 Apr 4]. Available from: Erişim//<https://www.who.int/publications/i/item/who-global-report-on-trends-in-prevalence-of-tobacco-use-2000-2025-third-edition>.

[134] WHO: Health Topics: Tobacco. https://www.who.int/health-topics/tobacco#tab=tab_1 erişim tarihi: 12/07/2022.

[135] World Health Organization. WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000- 2025. Geneva. 2019.

[136] SEYDİÖĞULLARI M (2010). “Dünyada ve Türkiye’de Tütünün Tarihçesi, Üretimi, Ticareti ve Temel Politikaları”. *Türk Toraks Derneği*: 3-20.

[137] 11. Organization WH. “Toolkit for delivering the 5A’s and 5R’s brief tobacco interventions to TB patients in primary care”. *World Health Organization*. 2014.

[138] Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a. “The machinery of macroautophagy”. *Cell Res*. 2014 Jan;24(1):24-41.

[139] Yang Z, Klionsky DJ. “Eaten alive: a history of macroautophagy”. *Nat Cell Biol*. 2010 Sep;12(9):814-22.

[140] Parzych KR, Klionsky DJ. “An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation”. *Antioxid Redox Signal*. 2014 Jan 20;20(3):460-73.

[141] Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE. 2009. Cell Death, *N Engl J Med*. 361:1570-1583.

[142] Nagata S, Nakana H. *In Apoptotic and Non-apoptotic Cell Death*. Springer, Inc 2017.

[143] Doktora, A. M. ve Huerta, S., 2009. “Apoptosis inducing, factor and colon cancer”, *Journal of surgical research*, 151, 1, 165.

[144] Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., Patel, D. N., Bauer, A. J., Cantley, A. M., & Yang, W. S. (2012).

- [145] R. Özgür, B. Uzilday, AH Sekmen, İ. Türkan, “Organellerde reaktif oksijen türlerinin uyarılmış üretiminin, arabidopsis'te endoplazmik retikulum stresi ve katlanmamış protein tepkisi üzerine etkileri”, *Ann. Bot.* 116 (2015) 541–553.
- [146] A. Salek-Maghsoudi, S. Hassani, S. Momtaz, A. Shadboorestan, MR Ganjali, M. H. Ghahremani, R. Hosseini, P. Norouzi, M. Abdollahi, “Yüksek yağlı diyet ve diazinon kullanan bir sıçan modelinde insülin direncinin erken tespitinde vaspinin rolüne ilişkin biyokimyasal ve moleküler kanıtlar” *Toksikoloji* 411 (2019)) 1–14.
- [147] M. Ott, V. Gogvadze, S. Orrenius, B. Zhivotovsky, “Mitokondri, oksidatif stres ve hücre ölümü”, *Apoptoz* 12 (2007) 913–922.
- [148] S. Rahmani, NP Khalili, F. Khan, S. Hassani, E. Ghafour-Boroujerdi, M. Abdollahi, Bisfenol a: “İndüklenen diyabetin ve epigenetik modülasyonun altında ne yatıyor?” *Hayat Bilimi*. 214 (2018) 136–144.
- [149] Ou Z, Wen Q, Deng Y, Yu Y, Chen Z, Sun L. “Cigarette smoking is associated with high level of ferroptosis in seminal plasma and affects semen quality”. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):55. Published 2020 May 27. doi:10.1186/s12958-020-00615-x.
- [150] Liu X, Ma Y, Luo L, Zong D, Li H, Zeng Z, Cui Y, Meng W, Chen Y. (2022). “Dihydroquercetin suppresses cigarette smoke induced ferroptosis in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease by activating Nrf2-mediated pathway”. *Phytomedicine*, 96, 153894.
- [151] Zhang WZ, Butler JJ, Cloonan SM. “Smoking-induced iron dysregulation in the lung”. *Free Radic Biol Med.* 2019 Mar;133:238-247. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.024.
- [152] Imai, H., Matsuoka, M., Kumagai, T., Sakamoto, T. & Koumura, T. “GPx4 ve ferroptoz tarafından düzenlenen lipit peroksidasyonuna bağlı hücre ölümü”. *Curr. Tepe. Mikrobiyol İmmünol.* 403,143–170 (2017).
- [153] Sakai, O. ve diğerleri. “Retinada glutamat kaynaklı oksitozda glutatyon peroksidaz 4'ün rolü”. *PLoS BİR*10,e0130467 (2015).
- [154] Gao, M. ve diğerleri. “Ferroptoz otofajik bir hücre ölümü sürecidir”. *Hücre Arş.* 26, 1021–1032 (2016).

[155] Martin-Sanchez D, Ruiz-Andres O, Poveda J, Carrasco S, Cannata-Ortiz P, Sanchez-Niño MD, Ruiz Ortega M, Egido J, Linkermann A, Ortiz A, Sanz AB. “Nefrotoksik folik asit kaynaklı AKI'de Nekroptoz değil, Ferroptoz önemlidir”. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28:218–29.

[156] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. “Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease”. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021;22(4):266–282. doi:10.1038/ s41580-020-00324-8.

[157] Chen X, Kang R, Tang D. “Ferroptosis by lipid peroxidation: the tip of the iceberg?” *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:646890. doi:10.3389/ fcell.2021.646890.



7.EKLER

7.1. EK 1: ETİK KURUL BELGESİ

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nargile ve Sigara Kullanıcılarında Ferropitoz Yoluyla İncelenmesi						
TITLE OF STUDY	Investigation of Ferropitosis Pathway In Hookah and Cigarette Users						

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 ☐		
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama			
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☐				
KARAR BELGELERİ	Karar No:2022/149	Tarih: 17.10.2022				
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekeceği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Girişimsel Olmayan Sağlık Araştırmaları Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. İsmail MALKOÇ				

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkisi	Katılım *	İmza
Prof.Dr. Ender GÜÇLÜ	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Mehmet ARICAN	Ortopedi	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Atilla ÖNMEZ	İç Hastalıkları	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Nuri Cenk COŞKUN	Farmakoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Dr. Öğr. Üyesi Şükriye ÖZDE	Çocuk Sağlığı	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Ali SUNGUR	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEYAZÇİÇEK	Fizyoloji	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Abdullah BELADA	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Öğr. Gör. Şerife YILMAZ	Hemşirelik Tarihi ve Etik	Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Metin POLAT	Avukat	Düzce Üniversitesi Hukuk Müşavirliği	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Kenan VAROL	Sivil Üye	Vareoller Demir Çelik Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: **Prof. Dr. İsmail MALKOÇ**
İmza

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nargile ve Sigara Kullanıcılarında Ferropitoz Yolağının İncelenmesi
TITLE OF STUDY	Investigation of Ferrophytosis Pathway In Hookah and Cigarette Users

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Düzce Üniversitesi Girişimsel Olmayan Sağlık Araştırmaları Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Düzce Üniversitesi Tıp Fak. Morfoloji Binası 4. Kat Konuralp-Düzce
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	duzceetik@duzce.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADİ/SOYADI	Dr.Öğr.Üyesi Fatih DAVRAN			
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR UNVANI/ADİ/SOYADI	Doç.Dr.Ceyhan HACIOĞLU, Dr.Öğr.Üyesi Abdulkadir KAYA, Yüksek Lisans Öğrencisi Ece YAKUPOĞLU			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADİ/SOYADI				
DESTEKLEYİCİ				
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADİ/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alınız için)				
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
	Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
	Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
	İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
	İlaç dışı klinik araştırma	☐		
Diğer ise belirtiniz ****				
	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurulu/Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. İsmail MALKOÇ
İmza

Not: Etik kurulu başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ece YAKUPOĞLU

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Tıbbi Biyokimya	Düzce Üniversitesi	2024
Lisans	Kimya	Atatürk Üniversitesi	2015
Lise	Sayısal	Arhavi Anadolu Lisesi	2009