



**ELEKTRONİK SİGARA KULLANAN BİREYLERDE DNA HASARININ
DNA KATIM (ADDUCT) ÜRÜNLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ**

Göksel KOÇ MORGİL

**DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2023

ETİK BEYAN

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

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

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

Göksel KOÇ MORGİL

19/01/2023

ELEKTRONİK SİGARA KULLANAN BİREYLERDE DNA HASARININ DNA KATIM (ADDUCT) ÜRÜNLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ

(Doktora Tezi)

Göksel KOÇ MORGİL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2023

ÖZET

Günümüzde elde edilen bilimsel veriler e-sigara kullanımının sağlık üzerine etkilerinin masum olmadığı yönündedir. Nitekim en az 20 insan karsinojeni ve teratojeni, e-sigara likitlerinde ve e-sigara dumanında tespit edilmiştir. Gerek e-sigara gerekse diğer kaynaklardan bu kanserojen ajanlara insan maruziyeti, DNA ile kovalent olarak bağlanmış katım ürünlerinin oluşumuna yol açabilir ki bu durum önemli bir DNA hasarı biçimidir. Bu çalışmada kartuşlu ve kartuşsuz (IQOS) e-sigara kullanıcılarında DNA hasarının değerlendirilmesi için 3 farklı DNA-katım ürünü belirlenmiştir. DNA alkilasyonunun belirlenmesinde, nikotine özgü N-nitrozaminler gibi bileşiklerden kaynaklandığı düşünülen N³-Metiladenin (N³-MeA) ve N³-Etiladenin (N³-EtA), DNA oksidasyonunun belirlenmesi için de e-sigara dumanında varlığı gösterilmiş PAHlar gibi oksidatif stres yaratan bileşiklerin neden olabileceği 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'in idrardaki miktar tayinleri yapılmıştır. Bu çalışma e-sigara kullanan bireylerde DNA katım ürünlerinin düzeylerinin saptanmasına bağlı muhtemel genotoksik hasarın değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Bu amaçla e-sigara kullanıcıları (n=48; n=28 kartuşlu; n=20 IQOS), klasik sigara içenler (n=39), pasif içiciler (n=32) ve sağlıklı olan sigara içmeyen bireylerin (n=41) idrarlarında N³-EtA, N³-MeA ve 8-OHdG DNA-katım ürünleri ve Nikotin düzeyleri Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) yardımıyla belirlenmiştir. Çalışmamızda e-sigara içen kişilerin idrarlarındaki N³-EtA (0,4±0,5 ng/g kreatinin), N³-MeA (9,62±12,13 ng/g kreatinin), 8-OHdG (4,83±3,68 ng/g kreatinin) ve Nikotin (1795±1641 ng/g kreatinin) kontrol grubu ve pasif içicilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ancak, sigara içen grup ile analizi yapılan DNA-katım ürünleri açısından istatistiki bir fark bulunmamıştır. E-sigara gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında sadece N³-EtA düzeylerinin IQOS kullanan grupta daha yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Ayrıca IQOS kullananlarda kontrol grubuna göre tüm ürünler anlamlı derecede yüksek iken, kartuşlu e-sigara kullananlarda 8-OHdG düzeyleri dışında anlamlı farklılık saptanmıştır. IQOS kullananlar ile sigara içenler arasında analizi yapılan ürünler açısından bir fark bulunmaz iken (p>0.05), kartuşlu e-sigara içenlerde sadece N³-EtA düzeylerinin sigara içenlere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (p<0.001). IQOS kullananlar ile aromalı e-sigara kullananlar arasında istatistiki bir fark bulunmaz iken aromasız e-sigara kullananlarda alkilenmiş DNA-katım ürünleri daha düşük (p<0.05) bulunmuştur. Aromalı e-sigara kullananlarda N³-EtA dışındaki (p=0.008) DNA-katım ürünlerinin sigara içenlere yakın olduğu belirlenmiştir. Çalışmamız, hem e-sigara hem de IQOS kullanımının insanlarda DNA alkilasyonuna ve oksidatif hasara neden olarak, sigara kadar genotoksik etkileri olabileceği ve e-sigarlarda aroma kullanımının genotoksik etkiye ekstra katkı sağladığı sonuçlarını çıkarmak mümkündür.

Bilim Kodu : 1021
Anahtar Kelimeler : DNA-katım, LC-MS/MS, E-sigara, N3-Metiladenin, N3-Etiladenin, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, Nikotin, İdrar
Sayfa Adedi : 174
Danışman : Prof. Dr. İsmet ÇOK

DETERMINATION OF DNA DAMAGE WITH THE HELP OF DNA ADDUCTS IN ELECTRONIC CIGARETTE USERS

(Ph. D. Thesis)

Göksel KOÇ MORGİL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2023

ABSTRACT

Recent studies show new results proving the harmful health effects of e-cigarettes on human body. Those studies prove that at least 20 human carcinogens and teratogens in the liquids and vapor of e-cigarettes. Human exposure to these compounds, either through e-cigarettes or other sources, may lead to “adduct” products covalently bonded to DNA which is one of the critical DNA damage types. In this study, three different DNA adducts have been identified to evaluate DNA damage with cartridges e-cigarette users and heated tobacco products (IQOS) e-cigarette users. To identify DNA alkylation, adduct products N³-Methyladenine (N³-MeA) and N³-Ethyladenine (N³-EtA), which are considered to be originated from nicotine-specific compounds such as N-nitrosamines and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) existence levels in urine was understood in order to identify DNA oxidation, as the same could create oxidative stress such as the PAH that was present in e-cigarette smoke. These products increase the tendency to mutation by exchanging base couples or by the apurinic regions they form. This study is the first to evaluate the genotoxic damage related to identifying DNA adduct product levels in e-cigarette-smoking individuals. In this regard, to identify the levels of N³-EtA, N³MeA, 8-OHdG, and nicotine levels, e-cigarette users (n=48; n=28 cartridge; n=20 IQOS), classical cigarette users (n=39), passive smokers (n=32) and healthy non-smoking individuals urine samples (n=41) by using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometer. Our study shows that urine e-cigarette smokers have statistically reasonably high levels of N³-EtA (0,4±0,5 ng/g creatinine), N³-MeA (9,62±12,13 ng/g creatinine), 8-OHdG (4,83±3,68 ng/g creatinine) and nicotine (1795±1641 ng/g creatinine) compared to control group and passive smokers but no statistical difference was noted related to DNA adducts analyzed with a smoking group. Comparing e-cigarette groups to one another, only N³-EtA levels are observed higher in IQOS using group (p>0.05). In addition, compared to the control group, all products were high in IQOS users; there has been no significant difference other than 8-OHdG levels in cartridge-cigarette users. Although no differences were found between IQOS users and cigarette smokers on the analyzed products (p>0.05), N³-EtA levels in e-cigarette cartridge users were identified as lower than cigarette smokers (p<0.001). While there was no statistical difference between IQOS and flavored e-cigarette users, alkylated DNA adducts were lower (p<0.05) in non-flavored e-cigarette users. It was determined that DNA adducts other than N³-EtA (p=0.008) were close to smokers in flavored e-cigarette users. In our research, it is explicit to conclude that; both e-cigarette and IQOS usages result in DNA alkylation and oxidative damage creating genotoxic effects similar to cigarettes, and usage of flavoring additives in e-cigarettes have contributed to additional genotoxic effects.

Science Code : 1021

Key Words : DNA-adduct, LC-MS/MS, E-cigarette, N³-Methyadenine, N³-Ethyladenine, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, Nicotine, Urine

Page Number : 174

Supervisor : Prof. Dr. İsmet ÇOK

TEŞEKKÜR

Ciddi bir emek ve özveri ile doktora çalışmamı tamamlamanın verdiği haklı gurur ve mutluluğu ile süreçte yanımda olan;

Bilgisi ve tecrübesi ile desteğini her zaman hissettiğim ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum, sevgili hocam Prof. Dr. İsmet ÇOK'a,

Doktora eğitimim boyunca tecrübesi ve bilgisi ile desteğini esirgemeyen sevgili hocam Prof. Dr. Sema BURGAZ'a,

Bilgi ve önerileri ile çalışmalarına katkı sağlayan değerli hocalarım, Prof. Dr. Benay CAN EKE, Prof. Dr. Bensu KARAHALİL ve Prof. Dr. Gonca ÇAKMAK'a,

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Toksikoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarım, Dr. Meşküre CANBOLAT, Dr. Neslihan BOZKURT ve Dr. Yunus YÜCE'ye,

Numune toplama aşamasında destek olan tüm arkadaşlarıma ve katılım sağlayan tüm gönüllülere,

Bu günlere gelmemde en büyük destekçilerim sevgili annem Hacer KOÇ, babam Mehmet KOÇ, kardeşlerim Atilla KOÇ, Yüksel BÜYÜKÇETİN, Bülent KOÇ, Serdar KOÇ ve Soner KOÇ'a,

Minik destekçilerim Zeynep ve Elif'e, eşim Ramazan MORGİL'e,

Tüm içtenliğimle teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Elektronik Sigara (E-sigara).....	7
2.2. Elektronik Sigara Ürünlerinin Kullanımı ve Kimyasal Madde İlişkisi.....	15
2.3. Dünyada ve Ülkemizde Elektronik Sigara Kullanım Sıklığı	21
2.4. Elektronik Sigaranın Sağlık Üzerine Etkileri.....	23
2.5. Elektronik Sigaranın Sigara Bırakma Üzerine Etkileri	29
2.6. Dünyada ve Ülkemizde E-sigara Kullanımına Yönelik Yasal Düzenlemeler	30
2.7. Nikotin.....	31
2.8. DNA Katım Ürünleri.....	32
2.9. Sigara Kullanımına Bağlı Oluşan DNA Katım Ürünleri	36
2.9.1. N ³ -MeA ve N ³ -EtA DNA katım ürünleri.....	39
2.9.2. 8-OHdG DNA katım ürünü.....	40
2.10. Dünyada ve Ülkemizde DNA Katım Ürünleri ile Yapılmış Çalışmalar.....	43
2.11. DNA Hasarı Tespit Yöntemleri	44
2.12. Kromatografik Ölçüm Teknikleri	45

	Sayfa
2.12.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sistemleri.....	46
2.12.2. Kütle spektroskopisi	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	51
3.1. Gereç	51
3.1.1. Çalışma grubu seçimi ve biyolojik örnek toplama.....	51
3.1.2. Laboratuvarda kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler	51
3.1.3. Laboratuvarda kullanılan standart ve kimyasal maddeler.....	52
3.2. Yöntem.....	52
3.2.1. Sentetik idrar çözeltisi hazırlama	54
3.2.2. N ³ -EtA ve N ³ -MeA analizleri için kalibrasyon eğrisi hazırlama	55
3.2.3. 8-OHdG analizi için kalibrasyon eğrisi hazırlama.....	55
3.2.4. Kotinin ve Kreatinin analizleri için kalibrasyon eğrisi hazırlama	55
3.2.5. Biyolojik örnek hazırlama.....	55
3.2.6. LC-MS/MS çalışma koşulları	56
3.2.7. Yöntem validasyonu.....	62
3.2.8. İstatistiksel analizler.....	63
4. BULGULAR	65
4.1. Demografik Bulgular	65
4.2. Yöntem Kalibrasyonu	66
4.2.1. N ³ -EtA için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu.....	66
4.2.2. N ³ -MeA için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu.....	69
4.2.3. 8-OHdG için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu.....	72
4.2.4. Kotinin için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu	75
4.2.5. Tespit (LOD) ve tayin limiti (LOQ)	78
4.2.6. Geri kazanım	78
4.2.7. Günler arası kesinlik ve doğrusallık.....	79

Sayfa

4.3. İdrar Numunelerinde Elde Edilen Bulgular	79
4.3.1. Gruplar arasındaki farklılığa ilişkin analiz bulguları	83
4.3.2. Analizi yapılan DNA katım ürünleri ve Kotinin için gruplar arası istatistiksel değerlendirmeler	84
4.4. Anket Sonuçları.....	94
4.5. Korelasyona İlişkin Analiz Sonuçları	103
5. TARTIŞMA	115
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	135
KAYNAKLAR	139
EKLER.....	159
EK-1. Etik Kurul Kararı.....	160
EK-2. Anket Formları	164
ÖZGEÇMİŞ	172

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Nikotin taşıma sistemleri	8
Çizelge 2.2. IARC tarafından karsinojenik olduğu belirlenen tütün dumanı kimyasalları	16
Çizelge 2.3. Elektronik sigara içeriğinin karsinojenik etkileri açısından sınıflandırılması.....	17
Çizelge 2.4. Sigara dumanı, nargile dumanı ve e-sigara buharındaki bazı toksik kimyasallar ve miktarları	18
Çizelge 2.5. Klasik tütün sigarası, 1 hafta ve 2 hafta e-sigara kullanımlarına bağlı ölçülen toksik bileşiklerin düzeyleri.....	19
Çizelge 2.6. Elektronik sigara buharında ve sigara dumanındaki toksik kimyasallar	20
Çizelge 2.7. E-sigaranın akciğer üzerindeki etkileri.....	26
Çizelge 3.1. Analizi yapılan maddeler ve kullanılan döteryumlu iç standartlar.....	53
Çizelge 3.2. N ³ -EtA ve N ³ -MeA için LC-MS/MS çalışma koşulları	57
Çizelge 3.3. N ³ -EtA ve N ³ -MeA için MRM koşulları.....	57
Çizelge 3.4. N ³ -EtA ve N ³ -MeA için kromatografik koşullar.....	58
Çizelge 3.5. 8-OHdG analizi LC/MS-MS çalışma koşulları	58
Çizelge 3.6. 8-OHdG için MRM koşulları	59
Çizelge 3.7. 8-OHdG kromatografik koşullar	59
Çizelge 3.8. Kotinin ve Kreatinin analizi için LC/MS-MS çalışma koşulları	61
Çizelge 3.9. Kotinin ve Kreatinin analizi için MRM koşulları	61
Çizelge 3.10. Kotinin ve Kreatinin analizi için kromatografik koşullar	61
Çizelge 3.11. Analizi yapılan maddelerin LC-MS/MS cihazında alıkonma zamanları .	62
Çizelge 4.1. Katılımcıların demografik bilgileri	65
Çizelge 4.2. Analizi yapılan maddelerin LC-MS/MS cihazında elde edilen tespit (LOD) ve tayin (LOQ) limitleri.....	78
Çizelge 4.3. Geri kazanım ve %RSD değerleri	79

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.4. Numunelerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin kreatinin ile düzeltilmiş değerleri	80
Çizelge 4.5. Grupların N ³ -EtA miktarlarının karşılaştırılması	83
Çizelge 4.6. Grupların N ³ -MeA miktarlarının karşılaştırması	83
Çizelge 4.7. Grupların 8-OHdG miktarlarının karşılaştırması	83
Çizelge 4.8. Grupların Kotinin miktarlarının karşılaştırması	84
Çizelge 4.9. Elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının gruplar arasında farklılıklarının karşılaştırılması	84
Çizelge 4.10. Elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin gruplar arasındaki ikili karşılaştırmaları	85
Çizelge 4.11. Çalışmada tüm gruplardan elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından karşılaştırılması	87
Çizelge 4.12. Kontrol grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması	88
Çizelge 4.13. Pasif içicilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması	88
Çizelge 4.14. Sigara içen kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması	89
Çizelge 4.15. E-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması.....	89
Çizelge 4.16. E-sigara içen kişilerin laboratuvar sonuçlarının e-sigara sistemine göre farklılığının karşılaştırılması	90
Çizelge 4.17. Kartuşlu e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubundan elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının kontrol grubunda elde edilen değerlerle karşılaştırılması.....	91
Çizelge 4.18. IQOS kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubundan elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının kontrol grubunda elde edilen değerlerle karşılaştırılması.....	91

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.19. Kartuşlu tip e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının pasif maruziyet grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması	92
Çizelge 4.20. IQOS kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının pasif maruziyet grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması	93
Çizelge 4.21. Kartuşlu tip e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının sigara içen grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması	93
Çizelge 4.22. IQOS kullanan kişilerden elde edilen N ³ -EtA, N ³ -MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının sigara içenlerin oluşturduğu grup arasındaki farklılık istatistiksel karşılaştırılması	94
Çizelge 4.23. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS kullanan kişilerde bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	95
Çizelge 4.24. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile kontrol grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	95
Çizelge 4.25. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı ve aromasız kartuşlu e-sigara içen kişilerde bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	96
Çizelge 4.26. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile sigara içen grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	97
Çizelge 4.27. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromasız kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile sigara içen grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	97
Çizelge 4.28. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromasız kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS kullanan kişilere ait değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	98
Çizelge 4.29. E-Sigara kullanan ve kısa zaman öncesi röntgen çektiren kişilerde analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi	99
Çizelge 4.30. Kartuşlu E-sigara kullanan bireylere ait DNA-katım ve kotinin sonuçlarının röntgen çektirme durumuna göre farklılığının karşılaştırılması	99

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.31. IQOS kullananlara ait DNA-katım ve kotinin sonuçlarının röntgen çekirme durumuna göre farklılığının karşılaştırılması.....	100
Çizelge 4.32. E-sigara içiminde alkol kullanımının analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin düzeylerindeki farklılığının karşılaştırılması.....	100
Çizelge 4.33. Laboratuvar sonuçlarının e-sigara içme sıklığı grupları bakımından farklılığın karşılaştırılması	101
Çizelge 4.34. DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin sigara kullanım süreleri bakımından farklılığın karşılaştırılması	102
Çizelge 4.35. Sigara içimi miktarı ve 8-OHdG için sonuçlarının gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar.....	102
Çizelge 4.36. DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin e-sigara kullanım sürelerine göre farklılıklarının değerlendirilmesi.....	103
Çizelge 4.37. Korelasyon analizi bulguları	104
Çizelge 4.38. Sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları	105
Çizelge 4.39. E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları	107
Çizelge 4.40. Kartuşlu E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları	109
Çizelge 4.41. Isıtmalı E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları.....	111
Çizelge 4.42. Kartuşlu E-sigarada aroma kullananların korelasyon analizi bulguları ..	113
Çizelge 5.1. DNA alkilasyon bölgeleri ve onarımları	122

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Nikotin metabolizması ve kantitatif olarak dağılımı	32
Şekil 2.2. DNA katım ürünlerinin mutasyonlar ve kimyasal karsinogenezdeki rolü	33
Şekil 2.3. DNA bazlarındaki potansiyel hasar bölgeleri.....	34
Şekil 2.4. Çeşitli kimyasallardan kaynaklanan DNA katım ürün örnekleri.....	35
Şekil 2.5. Tütün kaynaklı kanserde DNA katım ürünlerinin oluşumu ve değerlendirilmesi	37
Şekil 2.6. Sigara içimine bağlı insanlarda saptanan katım ürünleri.....	38
Şekil 2.7. NNK kaynaklı metillenmiş DNA-katım ürünü oluşumu.....	39
Şekil 2.8. Deoksigoanozin modifikasyonu	41
Şekil 2.9. İyonizasyon teknikleri çalışma aralıkları	49
Şekil 2.10. ESI iyonlaştırma tekniği.....	49
Şekil 2.11. MS ve MS/MS sistemlerinin detaylı gösterimi.....	50
Şekil 3.1. DNA katım ürünleri kimyasal yapıları	53
Şekil 3.2. Kolon anahtarlama sisteminde (A) saflaştırma ve zenginleştirme akış şeması, (B) analiz akış şeması	60
Şekil 4.1. N ³ -EtA için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları.....	67
Şekil 4.2. N ³ -EtA için 0,05 ng/ml, LOQ seviyesinde, (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları	68
Şekil 4.3. N ³ -EtA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi	69
Şekil 4.4. N ³ -MeA için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları.....	70
Şekil 4.5. N ³ -MeA için 0,05 ng/ml seviyesinde (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları	71
Şekil 4.6. N ³ -MeA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi.....	72
Şekil 4.7. 8-OHdG için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı.....	73

Şekil	Sayfa
Şekil 4.8. 8-OHdG için 0,1 ng/ml seviyesinde (A) kantitatif iyon (A), kalitatif iyon (B) ve IS (C) kromatogramları	74
Şekil 4.9. 8-OHdG için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi	75
Şekil 4.10. Kotinin için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı.....	76
Şekil 4.11. Kotinin için 0,1 ng/ml LOQ seviyesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı.....	77
Şekil 4.12. Kotinin kalibrasyon eğrisi	78
Şekil 5.1. (A) alkilasyon pozisyonuna göre DNA onarım mekanizması (B) alkilenmiş guanin	123

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Elektronik nikotin taşıyıcı sistemler.....	8
Resim 2.2. E-sigara bileşenleri ve görevleri.....	9
Resim 2.3. Birinci nesil e-sigaralar	10
Resim 2.4. İkinci nesil e-sigaralar	10
Resim 2.5. Üçüncü nesil e-sigaralar	11
Resim 2.6. Dördüncü nesil e-sigaralar	11
Resim 2.7. Nikotin tuzları ve serbest nikotin pH aralığı	12
Resim 2.8. E-sigara e-sıvı içerikleri	13
Resim 2.9. Pazara ilk sunulan Ploom® marka HTP	14
Resim 2.10. (A) IQOS® bileşenleri (B) tutucunun şematik gösterimi (C) tütün çubuğu şematik gösterimi.....	15
Resim 2.11. Ülkemizde ilk EVALI hastasının akciğer bilgisayarlı tomografi görüntüsü	25
Resim 2.12. IQOS® kullanan hastanın toraks bilgisayarlı tomografi görüntüsü	28
Resim 2.13. Farklı maddelerin kromatografik yöntem ile ayırımı	46
Resim 2.14. HPLC cihazının gösterimi	46
Resim 2.15. İzokratik pompa çalışma sistemi	47
Resim 2.16. Gradient pompa çalışma sistemi.....	47
Resim 2.17. Kolon partikül yapılarının değişimi	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler	Açıklamalar
µg/L	Mikrogram/litre
µl	Mikrolitre
m/z	Kütle/yük oranlarına
mg	Miligram
mg/L	Miligram/litre
mg/ml	Miligram/mililitre
ml	Mililitre
ng/g	Nanogram/gram
ng/ml	Nanogram/mililitre
TE	Tespit Edilmedi

Kısaltmalar	Açıklamalar
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ENTS	Elektronik nikotin taşıyıcı sistem
HTP	Isıtılmış Tütün Ürünü (Heated Tobacco Product)
LOD	Tespit sınırı (Limit of Detection)
LOQ	Tayin sınırı (Limit of Quantification)
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbon
PG	Propilen glükol
VG	Bitkisel gliserin (Vegetable Glycerine)
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme (Multiple Reaction Monitoring)

1. GİRİŞ

Sağlık Bakanlığı, yüksek miktarda nikotin içeriğinden dolayı e-sigara kartuşlarını ilaç, elektronik sigara (e-sigara) cihazlarını ise tıbbi cihaz gibi değerlendirdiği (T.C.Sağlık Bakanlığı, 2008) e-sigara kullanımının popülaritesi tüm Dünya ülkelerinde olduğu gibi (Chou vd., 2017) Ülkemizde de son on yılda giderek artmakta ve yeni bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Sadece Amerika Birleşik Devletleri’nde bu süre içinde 2 milyondan fazla ortaokul ve lise öğrencisinin e-sigara kullandığı belirlenmiş olup ve bu kullanımın yoğunluğu, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration, FDA) e-sigara kullanımını bir “gençlik salgını” olarak ilan etmesine neden olmuştur (Gottlieb, 2018; Wang, Leung ve Lam, 2018). Daha da endişe veren konu bu e-sigara kullanıcılarının %33’ü hiçbir zaman klasik sigara kullanmamış olmasıdır. Bu durum da e-sigara ürünlerinin nikotin bağımlılığına ilerleyebilecek yeni popülasyonları çekip, yakaladığının en önemli göstergesi durumundadır (McMillen vd., 2015). Toplum sağlığını şiddetli şekilde tehdit eden e-sigara kullanımı, nikotin kullanım bozukluğu ve nikotin bağımlılığı ile önemli ölçüde ilişkili olup, e-sigara kullanan gençlerin yaşamın ilerleyen zamanlarında klasik sigara içicisi olma olasılığını arttırmaktadır (Leventhal vd., 2015; Loukas, Marti, Cooper, Pasch ve Perry, 2018). Yurdumuzdaki kullanıcı sayısı bilinmemesine karşın, tıp fakültesi öğrencilerini kapsayan bir çalışma, klasik sigara içen öğrencilerin %43,7’sinin aynı zamanda e-sigara da kullanmakta olduğu ve klasik sigarayı bırakan öğrencilerin de %17,2’sinin e-sigarayı denedikleri tespit edilmiştir (Ogan, Baha, Coşkun ve Akpınar, 2019).

E-sigara ürün grubu her gün değiştirilerek çeşitlendirilerek piyasada yer almaktadır. Bu yeni ürünlerden bazıları tütünün ısıtma mekanizması ile kurgulanmış bazıları ise nikotin sıvılar içeren kartuşlar ile kullanılmaktadır. E-sigaralar tasarım olarak da çok çeşitlendirilmiştir. “Ploom”, “IQOS”, “Ifuse”, “Glo”, “JUUL” farklı ülkelerde e-sigara için kullanılan ticari isimlerdir (Bilir, 2018). Örneğin bu ürünler arasında yer alan IQOS® (I-Quit-Ordinary-Smoking) isimli ürünün İtalya’da pazar payı 2015 de %0,01 iken, 2016 da %0,11, 2017 de %0,67 çıktığı işaret edilmekte ve IQOS® kullanıcılarının yaklaşık %50 sini hiç sigara içmemiş kişilerden oluştuğu bildirilmektedir (Liu, Lugo, Spizzichino, Tabuchi ve Gorini 2018).

Elektronik sigaralar, sigaralara alternatif olarak pazarlanmakta ve daha güvenli ve daha az zararlı olduğu iddia edilmektedir. Ancak sınırlı sayıda yapılan çalışmalardan dolayı E-sigara kullanımının sağlığa etkilerine yönelik tıbbi veriler yetersizdir (Özdemir ve Üzümcü, 2019). Bağımlılık dışında, gerçekte sigaradan kaynaklanan toksik etkilerden sorumlu olan yüzlerce kimyasal sigara dumanında bulunmakta ve başta kanser olmak üzere istenmeyen çok sayıda hastalığa ya neden olmakta ya da zemin hazırlamaktadır. Bu ürünlerin kullanımına bağlı oluşan maruziyetine bağlı etkilere yönelik gerçekleştirilmiş çalışma sayısı yok denecek kadar azdır.

E-sigara ve geleneksel sigaranın karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda, e-sigara kullanımı ile açığa çıkan kimyasalların ve zararlı bileşiklerin sayısının, geleneksel sigara dumanındaki kimyasal ve zararlı bileşik düzeyinden daha az oranda bulunduğunu bildirmektedirler (Beauval vd., 2017; Cheng, 2014; Han, Chen, Zhang, Liu ve Fu, 2016). Bu çalışmalardan e-sigara kullanımının kimyasal veya karsinogenik maddelere maruz kalınmayacağı şeklinde yorumlanması, kullanıma bağlı oluşabilecek sağlık etkileri açısından kullanıcıları ve toplumu yanlış yönlendirmektedir. E-sigara dumanında ve e-likitlerde yapılan çalışmalar, e-sigara kullanımına bağlı olarak karbonik bileşikler, asetaldehit gibi uçucu bileşikler, tütüne özgü nitrozaminler, ağır metaller, formaldehit, benzaldehit, akrolein gibi birçok insan karsinogeni ve teratojenini tespit etmişlerdir (Goniewicz, Knysak, Gawron, Kosmider ve Sobczak, 2014). Öte yandan e-sigara kullanımına bağlı maruz kalınan ağır metal düzeyine yönelik çalışmalar özellikle Nikel düzeyinin klasik sigara içenlere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Williams, Villarreal, Bozhilov, Lin ve Talbot, 2013). Önemli karsinogenik bileşikler olan poliaromatik hidrokarbonların (PAH) e-sigara içimiyle maruz kalındığı ise insan idrarlarında PAH maruziyetinin biyogöstergesi olan 1-OH-piren analizleriyle ortaya konulmuştur.

Günümüzde insan sağlığına yönelik yapılan değerlendirmeler de risklerin erken dönemde belirlenmesini sağlayabilmek için biyogöstergeler ve bu konularda yapılan çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Nitekim idrarda tespit edilebilen 4-(Metilnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) ve bir PAH metaboliti olan r-1,t-2,3,c-4-tetrahidroksi-1,2,3,4-tetrahidrofenantren (PheT) gibi bazı tütün dumanı biyogöstergelerin akciğer kanseri riski ile ilişkisini açık olarak gösterilmiştir (Hecht, Stepanov ve Carmella, 2016; Yuan, Butler, Stepanov ve Hecht, 2014). Benzer şekilde, başka bir tütün spesifik kanserojen N'-nitrosonornikotin (NNN)'e maruz kalmaya bağlı oluşan idrar biyogösterge seviyeleri ile,

sigara içenlerde özofagus kanseri riski, bağımsız ve prospektif olarak ilişkilendirilmiştir (Yuan, Knezevich, Wang, Gao ve Hecht, 2011). Tüm bu parametreler sigara içenlerin kanserojen kimyasalları bünyelerine alımıyla ilgili olmasına karşın, karsinojenik süreçteki bir sonraki kritik adım olan DNA-katım oluşumu hakkında bilgi sağlamamaktadır.

Tütün dumanına maruz kalma ile ilişkili DNA-katım ürünleri, kanser sürecini anlamamıza önemli katkıda bulunma potansiyeline sahiptir ve muhtemelen kanser riskinin biyogöstergeleri olabilir. Şu an için, e-sigara kaynaklı toksik maddelere ve kanserojenlere maruz kalmanın biyolojik sonuçlarının araştırılması yüksek öncelikli bir araştırma alanıdır.

Reaktif yapılarından dolayı formaldehit ve asetaldehit gibi metabolik aktivasyon gerektirmeden doğrudan DNA'ya kovalant olarak bağlanan veya NNK, NNN ve PAH dahil olmak üzere diğer bazı kimyasal maddelerin metabolik aktivasyon sonucu oluşan ürünlerinin DNA ile oluşturdukları bileşikler DNA-katım ürünleri olarak adlandırılmaktadır. Bu durum sadece tütüne özgü olmayıp, genel olarak maruziyet sonucu DNA ile etkileşebilme özelliğine sahip tüm kimyasallar veya endojen bileşikler için söz konusu olabilen, önemli bir DNA hasarı biçimidir. Çoğunlukla Guaninin O6, N2, N7 ve N3, Adenin N7 ve N3, Sitosinin O2 ve Timinin O4 nükleofilik bölgeleri, özellikle karsinojenik ve mutajenik bileşikler tarafından metillenerek ve etillenerek DNA-katım ürünlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Adenin N-3 pozisyonu baskın reaksiyon bölgesi olmasına bağlı olarak, N3-Metiladenin (N^3 -MeA) ve N3-Etiladenin (N^3 -EtA) sigara dumanında bulunan N-nitrozaminler gibi kanserojen ajanların neden olduğu DNA-katım ürünleri olup, DNA'da apürinik bölgelerin oluşmasına neden olabilirler.

DNA-katım ürünleri sigara içimine bağlı oluşan DNA hasarı için potansiyel biyogöstergeler arasında yer almaktadırlar. Ayrıca sigara içimi ve sigara dumanına pasif maruziyet, genotoksik ve karsinojenik etkileri olan, Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar gibi reaktif oksijen türlerine (ROS) ve oksidatif hasarın üretimine katkıda bulunabilecek maruziyetler için önemli bir kaynaktır. Yanmanın olduğu ortamlarda PAH bileşiklerinin oluşması gerçeği ve e-sigara dumanında varlığı gösterilmiş oksidatif stres yaratan bileşiklere bağlı DNA-katım ürünlerinin oluşması nedeniyle, e-sigara kullanımının insanda kanser oluşturma potansiyeli konusunda kaygı duyulmaktadır. Çünkü oksidatif stres yaratan bu bileşikler ve üretilen reaktif oksijen türleri DNA'da oksidatif baz hasar ürünlerinin oluşmasına yol açmaktadır. Bu hasara uğrayan bazlar arasında yüksek 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-

OHdG) seviyeleri önemli rol oynamaktadır. Bu ürün, normal oksidatif metabolizma sırasında üretilen endojen ROS veya ekzojen kaynaklı ROS tarafından DNA'da şekillenen bir mutajen olup, DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır. Bu nedenle idrar gibi biyolojik materyalde 8-OHdG'nin tayini, oksidatif DNA hasarının göstergesidir. Bu nedenle oksidatif DNA hasarını belirlemede 8-OHdG ölçümü en fazla tercih edilen yöntemdir.

Son yıllarda e-sigara içimine bağlı olarak ortaya çıkan PAH bileşiklerinin varlığına dair bilgiler bilim dünyasındaki yerini almış olsa da bu bileşiklerin insanlarda oluşturduğu DNA katım ürünleri konusunda hiçbir bilgi bulunmamaktadır. Aynı şekilde N-nitrozaminlerin varlığı e-sigarada bildirilirken, insanda bu ürünlerden kaynaklı, N³-MeA, N³-EtA gibi DNA-katım ürünlerine yönelik bilimsel bilgiler literatürde yer almamaktadır. Bu tez çalışmasında hedef alınan nokta, karsinojenik bileşiklerin DNA ile oluşturdukları hasarlardan biri olan katım ürünlerinin düzeylerinin belirlenerek, bu açıdan oluşabilecek başta kanser gibi sağlık riskleri konusunda bilgi sahibi olunmasıdır.

Sunulan çalışma, Dünya Sağlık Örgütü'nün e-sigara kullanımına bağlı oluşabilecek sağlık etkilerine yönelik, eksikliği duyulan bilimsel verilere katkı sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın planlanan ana amacı, e-sigara kullanan bireylerde bu kullanım nedeniyle DNA-katım ürünlerinden kaynaklanacak olası genotoksik etkilerin belirlenmesidir. Planlanış şekli ile, e-sigara kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek N³-MeA, N³-EtA ve 8-OHdG DNA-katım ürünlerinin hepsinin bir arada ölçülmesine bağlı olası genotoksik risklerin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Elde edilen DNA-katım sonuçları giderek toplumları tehdit eden nikotin tipi bağımlılıkla savaşta önemli ve ihtiyaç duyulan bir bilimsel kaynak yaratılmasına olanak sağlayacaktır. Kazanılacak bilimsel sonuçlar, e-sigara içiminin yaratabileceği sağlık risklerinin ortaya konulmasına yardımcı olacağı gibi, e-sigara içiminin sigarayı bırakmak için alternatif metotlardan biri olup olamayacağı konusunda da yol gösterici olacaktır. Özellikle yurdumuzda halen yürütülmekte olan her türlü tütün ürününün kullanımının önlenmesine yönelik programların desteklenmesi konusunda da önemli tamamlayıcı ve destekleyicilerinden biri olarak ön plana çıkacaktır.

Sonuç itibarıyla sunulan tez önerisinde toplumların daha sağlıklı yaşamasında en önemli risk faktörlerinden olan sigara içimi konusunda üretilen alternatiflerden e-sigara kullanımına bağlı, başta kanser olmak üzere sağlık risklerinin değerlendirilmesine yönelik 3 DNA-katım ürününün beraberce değerlendirildiği insanlardaki ilk sonuçları içermesi açısından büyük öneme sahiptir. Elde edilen sonuçlar e-sigaranın kullanımının başta gençler olmak üzere giderek yaygınlaşması nedeniyle bir halk sağlığı problemi teşkil edip etmediği konusunda da oldukça önemli katkılar sağlayıp, sadece bugünün kullanıcıları için değil gelecek nesillerin korunmasında da önemli rol oynayacaktır. Ayrıca sunulan çalışmanın önemi, farklı e-sigara tiplerinden kaynaklanabilecek DNA-katım ürünlerinin bir arada belirlenmesinde ve karşılaştırılmasında da gene bilim dünyasındaki ilk çalışma olması açısından da artmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektronik Sigara (E-sigara)

Sigara, kullanıcılarının yarısının ölümüne neden olan ve satılan tek üründür. DSÖ dünya genelinde 1,1 milyar sigara içicisi olduğunu tahmin etmektedir (WHO, 2022a). Dünyada yılda 7 milyondan fazla ölümün, tütün içimine bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Sigara içme oranları 2000 yılından bu yana yatay seyretmekte ve bununla birlikte sigara kullanımında ABD gibi bazı ülkelerde azalmalar görülürken, doğu Akdeniz ve Afrika bölgelerinde artışlar görülmüştür (WHO, 2022c).

Tütünün, solunum sistemi ve kardiyovasküler hastalıkların beraberinde 20'den fazla farklı kanser türüne neden olduğu bilinmektedir. ABD'de sigara içimine bağlı oluşan akciğer kanseri oranı %80-90 seviyelerindedir. Sigara içmenin sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 225 milyar dolar sağlık harcaması ve iş kaybına neden olduğu hesaplanmaktadır. Sigara, içilen ortamlarda bulunan kişilerin de sağlığını da tehdit ederek, pasif içicilerde tütün kaynaklı sorunlar görülmesine neden olmaktadır. DSÖ, yılda 1 milyon 200 bin kişinin pasif içicilik sebebi ile hayatını kaybettiğini bildirmektedir (WHO, 2022a). Nitekim sigaraya pasif olarak maruz kalma, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından sigara içmek gibi değerlendirilerek, insanlar için karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2002).

Tütünün kanıtlanan zararları, tütün endüstrisini içinde toksik kimyasalları tütüne göre daha az olduğu düşünülen, Potansiyel Maruziyeti Azaltılmış Ürünleri (potential reduced exposure products, PREPs) geliştirmeye yönlendirmiştir. Bu ürünlerden en bilineni ise elektronik sigaradır (O'Connor vd., 2009). Tütün tipi bağımlılıkta problemin kaynağı nikotin alkaloidi olduğundan, özellikle ticari firmalar nikotin farklı alternatif yöntemlerle tüketicilerin kullanımına sunmuştur (Çizelge 2.1). Alternatif tütün ürünleri içinde en popüler olanı ise elektronik sigaradır.

Çizelge 2.1. Nikotin taşıma sistemleri (Çok, 2017)

NİKOTİN TAŞIMA SİSTEMLERİ			
Tütün İçimi (Yanıcı)	Dumansız Tütün (Yanıcı olmayan)	Tütünsüz Nikotin Aktarımı	
		Tıbbi Amaçlı	Alternatif Nikotin Preparatları
Sigara	Çiğneme tütün	Transdermal Yama	ENTS/E-sigara
Sigar	Kuru enfiye	Sakız	Nikotin jel
Pipo	Nemlendirilmiş enfiye	Nazal Sprey	Nikotin suları
Nargile	İsveç tipi Snus	İnhalatör	Nikotin gofret
Bidi	Yaprak tütün	Dilaltı tablet	Nikotin loliopop
Kretek	Ağızda çözünen tütün ürünleri	Nikotin Pastilleri	Nikotin dudak balzamları

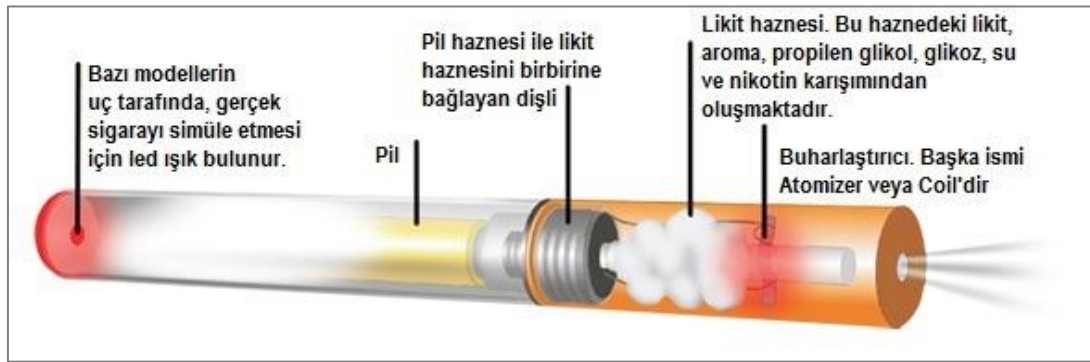
E-sigara 1963 yılında Hebert A. Gilbert tarafından “tütün içermeyen sigara” olarak geliştirilmiştir (Brożek vd., 2019). Günümüzde elektronik nikotin taşıyıcı sistemler (ENTS) diğer isimlendirmeleriyle, elektronik sigara, elektronik nargile, vape pen ve modlar gibi birçok farklı isme sahiptir. ENTS’ler, klasik tip sigaralardan farklı olarak, sigara içmeyi simüle eden, tütün içermeyen ve nikotini inhalasyon yolu ile alınmasını sağlayan, pille çalışan ve elde tutulan bir buharlaştırıcıdır (Resim 2.1) (CDC, 2021; FDA, 2022b).



Resim 2.1. Elektronik nikotin taşıyıcı sistemler

Kullanımda, şekil ve boyutları farklı birçok elektronik sigara modeli mevcuttur. E-sigaralar bazen geleneksel sigara, pipo ve puro benzeri, bazen ise kalem, flash bellek vb. günlük kullanılan eşyalara benzer tasarlanmaktadır (CDC, 2015).

Elektronik sigaralar genel anlamda üç kısımdan oluşmaktadır; enerji sağlaması için bir adet pil, enerji ile sıvı kısmı ısıtan atomizer ve atomizere likit sağlayan bir adet sıvı depolama haznesi (kartuş) birleşiminden oluşmaktadır (Resim 2.2) (Caponnetto, Campagna, Papale, Russo ve Polosa, 2012).



Resim 2.2. E-sigara bileşenleri ve görevleri

Cihaz bir buton ile manuel olarak etkinleştirilir (Kaisar, Prased, Liles ve Cucullo, 2016). Likit haznesi içerisinde, nikotin, çeşitli aromalar ve buhar oluşumunu destekleyen ve çeşitli kimyasalları içeren bir sıvı bulunur. E-sigara kullanıcıları, bu sıvıyı içeren buharı akciğerlerine çekerler (CDC, 2015). Sıvıdan aerosol haline getirilmiş bir buhar oluşturmak için cihaz yaklaşık 100–250 °C (212–482 °F) sıcaklığa ulaşır (Rowell ve Tarran, 2015). Kullanıcı, sigara dumanı yerine buhar olarak adlandırılan bir aerosolü solumaktadır.

E-sigaralar zaman içerisinde talep doğrultusunda değişim göstermiştir. Pazara sunulan birinci nesil cihazlar, bilinen klasik sigara görünümünde tasarlanmıştır (Resim 2.3) ve bu sebepten ötürü de insanlar tarafından tercih edilmiştir. Bu grup bazen de "cigalikes" olarak adlandırılmaktadır. Tek kullanımlık olan bu e-sigaralar sadece bir kez kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Birinci nesil cihazlar şarj edilemez ve yeniden doldurulamaz, bu nedenle şarjı veya e-sıvısı bittiğinde atılırlar. Bu cihazların şarj sürelerinin az olması ve buhar vermede çok verimli olmamasından dolayı tatmin edici bulunmamıştır ve yerini ikinci nesil cihazlar almıştır (CDC, 2021).



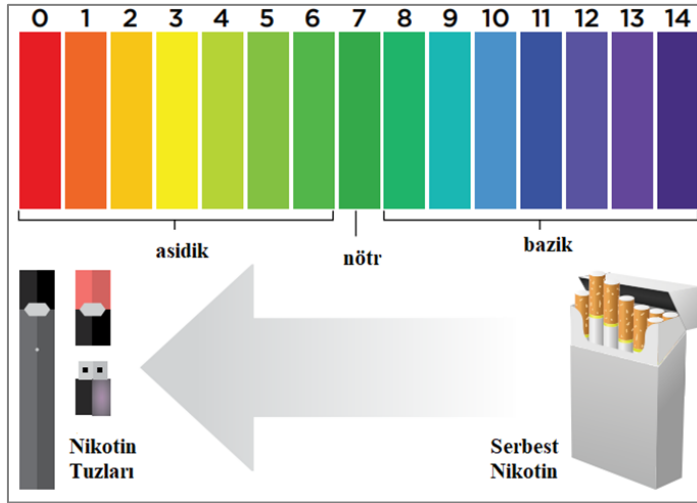
Resim 2.3. Birinci nesil e-sigaralar

İkinci nesil cihazlar, genellikle kalem görünümündedir ve “vape pen” olarak adlandırılmaktadır (Resim 2.4). Birinci nesilden daha büyüktür ve yaklaşık 3-7 kat daha büyük pil kapasitesine sahiptir. Şarj edilebilir ve e-sıvısı yeniden doldurulabilir bir kartuş formundadır. Yeniden doldurulabilen kartuş, içeriği tercihe bağlı olarak nikotin, esrar tetrahidrokanabinol (THC), Kannabidiol (CBD), tatlandırıcı ve çözücüler içermektedir. Günümüzde ikinci nesil cihazlar halen kullanılmaktadır (CDC, 2021).



Resim 2.4. İkinci nesil e-sigaralar

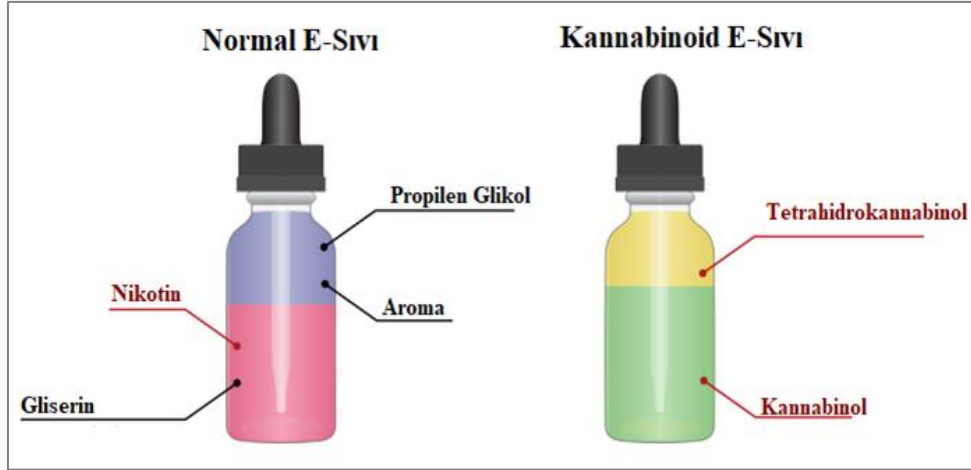
Dördüncü nesil e-sigara cihazlar, otomatik sıcaklık ayarlamayı sağlayan modlara ve direnç/güç çıkışı kontrol edilebilmesi için de dokunmatik LED ekrana sahiptir. Pod-Mod dördüncü nesil e-sigaralar birçok şekil, boyut ve renkte olabilmektedir. Bu grup e-sigaralar piyasada JUUL® ve Suorin® marka adı ile pazarlanmaktadır. Ayrıca bu cihazların, tatlandırıcılı veya aromasız nikotin ile THC veya CBD içeren önceden doldurulmuş, uyumlu pod kartuşları da bulunmaktadır. Pod-Mod cihazlar diğer e-sigara ürünlerinde farklı olarak bazik serbest nikotin yerine nikotin tuzları içermektedir. Nikotin tuzları, serbest nikotinden daha düşük pH'a sahip olduğundan bazik serbest nikotine göre boğazda daha az tahrişe neden olmaktadır (Resim 2.7) (CDC, 2021).



Resim 2.7. Nikotin tuzları ve serbest nikotin pH aralığı

Dördüncü nesil cihazların çoğu, klasik sigaralara yakın miktarda nikotin verebilmektedir. Sigara içmeyi daha iyi simüle etmek ve aerosol dağıtımını artırmak için artırılmış güçle daha yüksek sıcaklıklar üretme kabiliyetine de sahiptirler. Bu özelliklerle önceki nesillerden farklılık göstermektedir (Caponnetto, 2020).

E-sigarlarda kullanılan e-sıvılar; su, gıda sınıfı aroma, çeşitli nikotin seviyeleri, esrar (THC, CBD), propilen glikol (PG) veya bitkisel gliserin (VG) karışımlarının kullanıldığı aerosollerdir (Resim 2.8). Kullanıcı, e-sıvıdaki PG ve VG oranlarını, aromanın (daha yüksek PG seviyeleri) veya dumanın (daha yüksek VG seviyeleri) konsantrasyonunu ayarlamak için değiştirilerek kullanabilir (CDC, 2021).



Resim 2.8. E-sigara e-sıvı içerikleri

ABD ve Avrupa'da, yerel yönetim organları ve ulusal ajanslar, ENTS satışına ilişkin düzenlemeler mevcuttur. Özellikle adolesan nüfusta e-sigara kullanımı, 2016 yılında piyasaya çıkan dördüncü nesil e-sigaralar ile anlamlı derecede artışa sebep olmuştur (Caponnetto, 2020).

Tütün endüstrisinin 1960'larda “daha güvenli sigaralar” ile başlayarak geleneksel sigaralardan daha az tehlikeli olarak geliştirip pazarladıkları elektronik sigaraların son ürünü olarak “Isıtılmış Tütün Ürünleri” (Heated Tobacco Products, HTPs) karşımıza çıkmaktadır (Popova vd., 2018). Isıtılmış tütün ürünleri, sigaranın kanıtlanmış zararlarından dolayı, tütün şirketleri tarafından klasik sigaralara göre daha az zararlı alternatif bir ürün olarak sunulmuştur. Isıtılmış tütün ürünleri zararlı kimyasal içeriği yönünden geleneksel sigara ve elektronik sigara arasında kabul edilmektedir (Goniewicz vd., 2014).

HTP'ler elektronik olarak kontrol edilebilen ısıtma sistemine sahiptir ve bu şekilde tütünü yakmadan nikotini açığa çıkarabilmektedir. Geleneksel sigaralarda tütün, 600°C üzerinde ısıtılarak yanma gerçekleşmekte ve buna bağlı olarak zararlı kimyasalları içeren tütün dumanı açığa çıkmaktadır. HTP'ler de ise tütün 350°C'ye kadar ısıtılarak uçucu bileşenler ve nikotini açığa çıkmaktadır (Caraballo, Pederson ve Gupta, 2006).

İlk kez 2013 yılında Japonya'da, Ploom® marka adı ile Japan Tobacco Company (JTC) tarafından pazarlanmaya başlanmıştır (Resim 2.9).



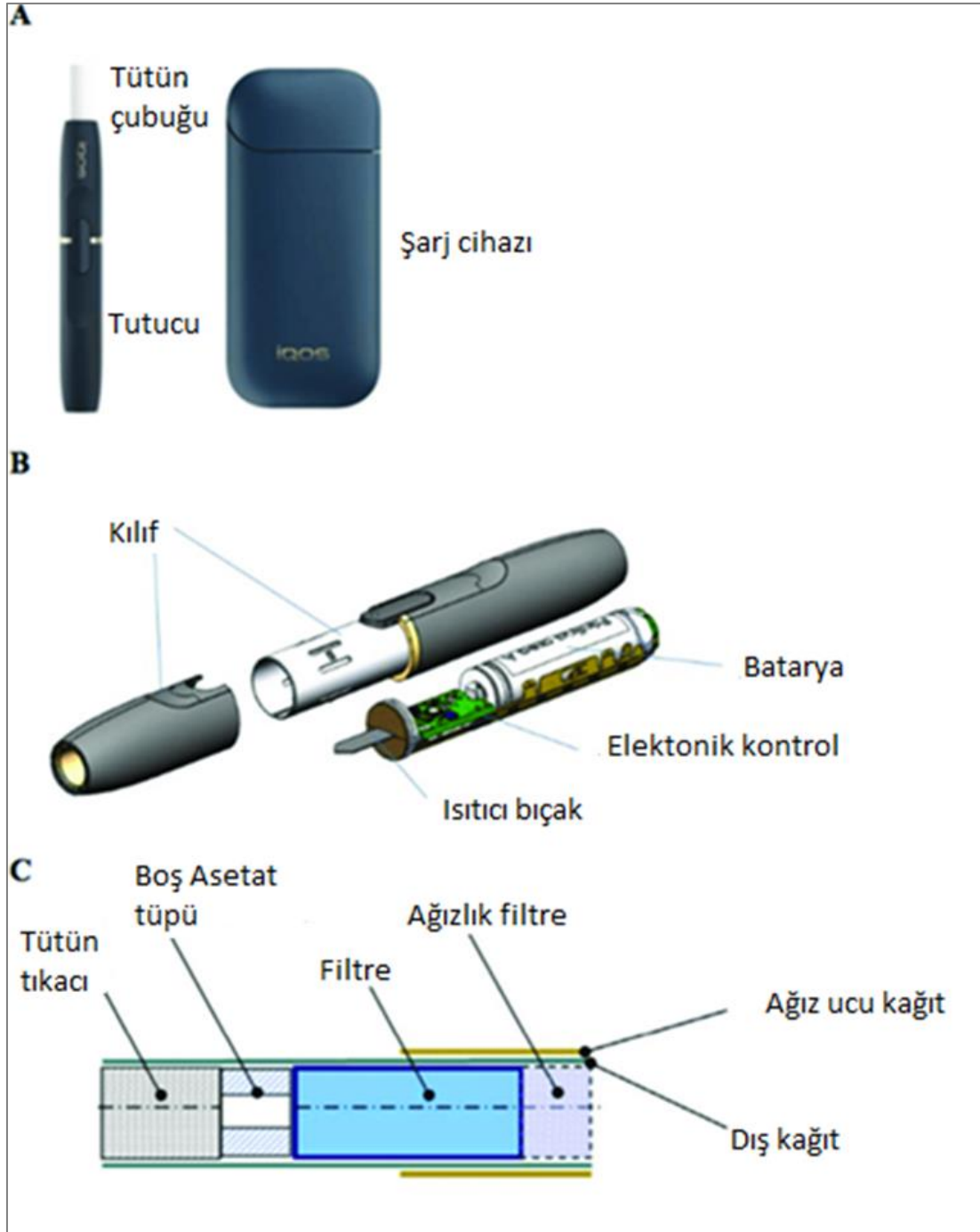
Resim 2.9. Pazara ilk sunulan Ploom® marka HTP

Yıllar içinde ürün daha da geliştirilerek Amerika Birleşik Devletleri'nde, Philip Morris (PMI) tarafından IQOS® marka adı altında geliştirilerek pazarlanmaya başlamıştır (Tabuchi vd., 2016). 2016 yılında IQOS® için “modifiye edilmiş tütün ürünü” olarak FDA’dan satış izni başvurusu yapılmış fakat onay alınamamıştır. Ancak 7 Temmuz 2020’de FDA, IQOS için satış iznini vermiştir (FDA, 2020). IQOS®, 2020 Mayıs ayı itibari ile 51 ülkenin kullanımına sunulmuştur (Leigh, Tran, O'Connor ve Goniewicz, 2018).

IQOS® tütün ürünleri; bir adet şarj cihazı, tutucu ve tütün çubuğundan oluşmaktadır (Resim 2.10).

HTP’ler, klasik sigara ve e-sigara arasında melez bir ürün olarak kabul edilmektedir. Tütünde yanma gerçekleşmediğinden, geleneksel sigaralara kıyasla zararlı bileşenlerin seviyesinde önemli derecede azalma vaat etmektedir. Isıtılmış tütün ürünlerinin, geleneksel tütün ürünlerine göre daha az toksik madde içeriğine sahip olması sebebiyle de kapalı ortamlarda kullanımına bağlı olarak, iç hava kalitesinde olumsuzluk yaratmayacağı, böylelikle de pasif maruziyette risk kaynağı oluşturmayacağı yönünde görüşler bulunmaktadır. Isıtılmış tütün ürünleri insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkileri hakkında objektif bir sonuca varmak için daha fazla bilimsel araştırma verisine ihtiyaç vardır. (Başaran, Güven ve Eke, 2019).

IQOS® gibi nikotin içeren cihazların çeşitliliği ve kullanımı her geçen gün artmaktadır.



Resim 2.10. (A) IQOS® bileşenleri (B) tutucunun şematik gösterimi (C) tütün çubuğu şematik gösterimi

2.2. Elektronik Sigara Ürünlerinin Kullanımı ve Kimyasal Madde İlişkisi

Tütünün yanı sıra, tütünün yanması sonucu açığa çıkan tütün dumanı 7000 civarında kimyasal toksik madde içermektedir ve bu maddelerin 70 tanesinin kansere sebep olduğu kanıtlanmıştır (FDA, 2022a). Tütün ve tütün ürünlerinin kullanımının insanlar için yaratabileceği toksik etkiler hakkındaki bilgilerimiz her geçen gün artmaktadır. Uluslararası

IARC tütün dumanında, laboratuvar hayvanlarında veya insanlarda kanserojenik kanıtı yeterli olarak değerlendirilen 70'ten fazla kanserojen kimyasal bulunduğu bildirilmektedir. Bu karsinojen bileşiklerin farklı kimyasal sınıfları ve her birinin temsilcileri Çizelge 2.2'de sunulmaktadır (IARC, 2004).

Çizelge 2.2. IARC tarafından karsinojenik olduğu belirlenen tütün dumanı kimyasalları

Kimyasal Sınıf	Karsinojenik Maddeler	Örnekler
Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve bunların heterosiklik analogları	15	Benzo [a]piren, Dibenz [a, h]antrasen
N-Nitrozaminler	8	NNN ve NNK
Aromatik aminler	12	4-Aminobifenil, 2-Naftilamin
Aldehitler	2	Formaldehit, Asetaldehit
Fenoller	2	Kateşol, Kafeik asit
Uçucu hidrokarbonlar	3	Benzen, 1,3-Bütadien, Isopren
Diğer organik bileşikler	12	Etilen Oksit, Akrilonitril
İnorganik bileşikler	8	Kadmiyum, Polonyum-210

Elektronik sigaralar, sigaradan daha az oranda toksik maddeleri içerdiği bildirilse de yüksek voltaj sebebiyle, formaldehit ve asetaldehit gibi kanserojen maddelerin konsantrasyonları daha fazla olabilmektedir. Çizelge 2.3'te günümüze kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, e-sigara içeriğinde bulunan maddelerin, IARC'ye göre karsinojenik etkileri açısından değerlendirilmesi sunulmaktadır. Yapılan çalışmalar, e-sıvıların içeriğinde bulunan; propilen glikol, gliserin, aroma vericiler ve aldehit grubu kimyasalların (formaldehit, akrolein vb.) ısınmaya bağlı olarak açığa çıktığını göstermektedir. E-sıvı ve e-sigara dumanında düşük konsantrasyonda ağır metaller ve yirmiden fazla insan karsinojeni ve teratojeni tespit edilmiştir.

Çizelge 2.3. Elektronik sigara içeriğinin karsinojenik etkileri açısından sınıflandırılması

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

Grup 1. İnsan kanserojeni; Grup 2A, İnsanlar için muhtemel kanserojen; Grup 2B, İnsanlar için olası kanserojen; Grup 3, İnsanlarda karsinojenik olarak sınıflandırılmamış; a: e-likit, b: Buhar ve e-likit, c: e-likit gıda katkı, d: buhar, e: e-sigara buharı, f: e-sigara buharı ve e-likit

Elektronik sigaralar da geleneksel sigaralar gibi nikotin ve diğer toksik maddeleri içermektedir. E-sigaralarda, formaldehit, asetaldehit, aseton, bütanol gibi bazı kimyasallar tespit edilmiştir. Bu kimyasallara maruziyet e-sigara kullanım şekline göre farklılıklar göstermektedir. E-sigara kullanımında, soluma hızı, likit içeriği ve kullanılan voltaj yüksekliğine bağlı olarak maruziyet düzeyi değişkenlik göstermektedir. Goniewicz ve arkadaşlarının on iki farklı marka elektronik sigaradan açığa çıkan buharda yaptığı çalışmada, kanserojen nitrozaminler, ağır metaller, aldehit ve keton grupları gibi birçok toksik madde tespit edilmiştir (Goniewicz vd., 2014).

Klasik tütün dumanı, nargile dumanı ve e-sigara buharında bulunan başlıca toksik bileşiklerin karşılaştırmalı konsantrasyon düzeyleri, Çizelge 2.4'te sunulmuştur (Münzel vd., 2020).

Çizelge 2.4. Sigara dumanı, nargile dumanı ve e-sigara buharındaki bazı toksik kimyasallar ve miktarları

Toksik Bileşik Grubu	Toksik Madde	Sigara	E-sigara	Nargile
Karboniller	Formaldehit	7-10 µg/puf	0,12-82 µg/puf	0,21-0,65 µg/puf
	Asetaldehit	50-140 µg/puf	0,2-53 µg/puf	2,0-5,5 µg/puf
	Akrolein	6-14 µg/puf	0,12-3,3 µg/puf	0,06-1,19 µg/puf
	Propionaldehit	0,4-5,9 µg/puf	0,057-1,79 µg/puf	0,05-1,06 µg/puf
	Krotonaldehit	1-2 µg/puf	ND-0,04 µg/puf	0,78-1,39 µg/puf
N-Nitrozaminler	N-nitrozonormikotin	0,5-370 ng/puf	ND-0,029 ng/puf	0,2 ng/puf
	N-Nitrozoanabazin	ND-0,15 ng/puf	ND-0,01 ng/puf	0,05 ng/puf
	4-(Metilnitrozamino)-1-(3-pridil)- 1-butanon	1,2-77 ng/puf	ND-0,019 ng/puf	0,27 ng/puf
	N-Nitrozoanatabin	0,8-16 ng/puf	ND-0,085 ng/puf	0,6 ng/puf
Uçucu Organik Bileşikler	Toluen	0,8-6,9 µg/puf	ND-1,53 µg/puf	0,058 µg/puf
	Benzen	0,6-4,5 µg/puf	ND-0,41 µg/puf	1,58 µg/puf
İnorganik Bileşikler	Nikel	ND-60 ng/puf	0,1-6,4 ng/puf	9,9 ng/puf
	Kobalt	0,013-0,02 ng/puf	0,05-0,58 ng/puf	0,7 ng/puf
	Krom	0,4-7 ng/puf	0,05-9 ng/puf	13,4 ng/puf
	Kurşun	3,4-8,5 ng/puf	0,16-3,8 ng/puf	68,7 ng/puf
	Karbon monoksit	1-2,3 mg/puf		1,15-1,67 mg/puf
Polisiklik ve heterosiklik aromatik hidrokarbonlar	Benz [a]antrasen	2-7 ng/puf	Uygulanamaz	1,3-1,6 ng/puf
	Benzo[b+k] floranthen	1-3,4 ng/puf	Uygulanamaz	0,13-2,16 ng/puf
	Benzo[a]piren	2-4 ng/puf	Uygulanamaz	0,78-1,79 ng/puf
	Dibenzo [a, h]anthrasen	0,06-0,4 ng/puf	Uygulanamaz	0,86 ng/puf
Nikotin		0,1-0,3 mg/puf	0-0,142 mg/puf	0,058 ng/puf
Partikül Madde	TPM	0,1-1,7 mg/puf	0,87-5,8 mg/puf	1,8-9,3 mg/puf

Sigara içmeye bağlı olarak maruz kalınan önemli toksik maddelerin varlığını ortaya koyan biyomarkerlar ile yapılan bir çalışmada, e-sigara içenlerin; Nikotin, Nitrozamin, PAH bileşikleri, etilenoksit, akrilamid, akrolein, benzen, 1,3-Bütadien, akrilonitrit, propilen oksit, krotonaldehit gibi toksik bileşiklere maruz kaldıklarını ortaya koymaktadır (Çizelge 2.5) (Goniewicz vd., 2017).

Çizelge 2.5. Klasik tütün sigarası, 1 hafta ve 2 hafta e-sigara kullanımlarına bağlı ölçülen toksik bileşiklerin düzeyleri

		Klasik tütün sigarası	1. Hafta (e-sigara)	2. Hafta (e-sigara)	
İdrar konsantrasyonları	Toksikan	Ortalama ± SD			P
Nikotin Metabolitleri					
3-Hidroksikotinin (µg/g)	Nikotin	4765 ± 3163 (2525–5151)	4472 ± 4315 (1590–5862)	4686 ± 4409 (1506–6576)	NS
Kotinin (µg/g)	Nikotin	2287 ± 1381 (1344–2941)	2048 ± 2102 (745–2211)	1927 ± 1728 (792–2590)	NS
Nikotin (µg/g)	Nikotin	1126 ± 821 (634–1578)	962 ± 1139 (202–1290)	584 ± 752 (112–734)	NS
Kotinin N-Oksit (µg/g)	Nikotin	92 ± 238 (280–466)	345 ± 276 (122–592)	349 ± 303 (95–543)	NS
Nikotin N-Oksit (µg/g)	Nikotin	335 ± 231 (235–415)	326 ± 399 (49–442)	223 ± 232 (36–395)	NS
Norkotinin (µg/g)	Nikotin	36 ± 91 (85–153)	101 ± 97 (30–146)	108 ± 131 (27–118)	NS
Nornikotin (µg/g)	Nikotin	73 ± 39 (47–105)	46 ± 45 (10–58)	38 ± 38 (8–50)	0,015
Nikotin eşdeğerleri (µmol/g)	Nikotin	50 ± 27 (35–66)	45 ± 43 (16–57)	43 ± 40 (27–59)	NS
Nitrozaminler					
NNAL (µg/g)	NNK	225 ± 165 (89–340)	97 ± 60 (45–147)	80 ± 69 (32–120)	<0.001
Merkaptürük Asit (MAs)					
HEMA (ng/g)	Etilen oksit	821 ± 3120 (1790–5050)	1400 ± 864 (770–1790)	1480 ± 1573 (460–1830)	0,001
MHBMA (ng/g)	1,3-Bütadien	1912 ± 1283 (830–2860)	300 ± 478 (0–430)	305 ± 887 (0–140)	0,001
HPMMA (µg/g)	Krotonaldehit	857 ± 1379 (936–2384)	632 ± 387 (312–856)	616 ± 575 (331–706)	<0,001
3HPMA (µg/g)	Akrolein	937 ± 700 (433–1118)	492 ± 455 (162–680)	410 ± 465 (127–462)	0,001
SPMA (ng/g)	Benzen	792 ± 674 (249–1203)	159 ± 193 (37–193)	188 ± 481 (33–161)	<0,001
AAMA (µg/g)	Akrilamid	254 ± 148 (119–395)	163 ± 188 (66–211)	110 ± 97 (50–132)	0,005
CNEMA (µg/g)	Akrilonitril	12 ± 178 (103–311)	51 ± 58 (20–48)	45 ± 66 (13–42)	<0,001
2 HPMA (µg/g)	Propilen oksit	45 ± 24 (23–55)	24 ± 18 (15–28)	21 ± 15 (12–23)	<0,001
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar					
1-Hidroksiflorin (ng/g)	Florin	1414 ± 864 (674–2052)	441 ± 492(44–768)	592 ± 833 (48–1074)	<0,001
3-,4- hidroksifenantren (ng/g)	Fenantren	1314 ± 669 (808–1720)	1098 ± 544 (630–1464)	1410 ± 1262 (759–1429)	NS
2-Hidroksiflorin (ng/g)	Florin	1029 ± 463 (609–1401)	738 ± 315 (417–1003)	842 ± 495 (543–1078)	0,048
1-Hidroksipiren (ng/g)	Piren	778 ± 338 (556–1000)	606 ± 279 (378–817)	746 ± 627 (430–733)	NS
3-Hidroksiflorin (ng/g)	Florin	679 ± 312 (407–878)	367 ± 192 (181–524)	451 ± 349 (211–768)	0,001
2-Hidroksifenantren (ng/g)	Fenantren	655 ± 333 (339–933)	755 ± 492 (375–947)	968 ± 800(522–1026)	NS
1-Hidroksifenantren (ng/g)	Fenantren	488 ± 211 (316–678)	407 ± 196 (235–561)	584 ± 415 (346–716)	NS
2-Naftol (µg/g)	Naftaline	24 ± 13 (12–34)	15 ± 8 (11–18)	19 ± 14 (8–30)	NS
Toksik gazlar					
Karbonmonoksit (ekshale, ppm)	Karbon monoksit	16 ± 17 (8–18)	6 ± 5 (2–8)	4 ± 4 (2–6)	0,007

2HPMA: 2-hidroksipropil merkapturik asit; 3HPMA: 3-hidroksipropil merkapturik asit; AAMA:2-karbamoiletilmerkapturik asit; CNEMA: 2-siyanoetil merkapturik asit; HEMA: 2-hidroksietilmerkapturik asit; HPMMA: 3-hidroksi-1-metilpropilmerkapturik asit; MHBMA: 2-Hidroksi-3-büten-1-ilmerkapturik asit; NNK: 4-metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon; NNAL: 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol; SPMA: S-fenilmerkapturik asit.

Tütüne özgü nitrozaminler, yanma işlemi sırasında, tütün yapraklarının endüstriyel işlenmesi ve fermantasyonu sırasında, nikotinden türetilen DNA ve hemoglobin ile katım reaksiyonları oluşturmak yoluyla kanseri indükleyen bir grup kanserojen bileşik olup tütüne özgü kimyasallardır (Çok, 2021). Bunlar arasında yer alan NNN, NAT, NAB, NNK dahil olmak üzere tütüne özgü nitrozaminler uçucu bileşikler olmayıp, yanmamış tütün yaprakları

ve tütün dumanında bulunan prokanserojenik maddeler olup, yapısal olarak tütün alkaloidlerinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle hem yanma sonucu hem de dumansız tütün ürünleri nitrozaminler içermektedir. Bunlardan NNK ve NNN en güçlü prokanserojen aktiviteye sahiptir ve IARC tarafından Grup 1 de sınıflandırılan kimyasallardır. Ayrıca, yüksek seviyelerde NNK, NNN ve NAT tütün dumanının yanı sıra ortamı kirleten çevresel tütün dumanında da yüksek düzeyde yer alırlar ve ikinci el maruziyet yoluyla gerçekleşen karsinogenezise katkıda bulunurlar.

Sigara dumanındaki NNK ve NNN seviyeleri, sigara, nargile, e-sigara, dumansız tütün ürünlerinde tespit edilmiş olup, genellikle sigara başına 50-200 ng aralığındadır. Bu karsinojenik maddelerin varlığını; tütün, sigara dumanı, katran ve izmaritte gösteren birçok çalışma mevcuttur. Ayrıca bu maddeler, Çizelge 2.3, 2.4 ve 2.5'te belirtildiği gibi, e-sigara buharında da tespit edilmiştir. Tütün ve tütün ürünlerine özgü nitrozaminlere maruziyet, DNA-katım ürünleri oluşumuna neden olduğu için oldukça önemlidir (Farsalinos, Gillman, Poulas ve Voudris, 2015).

Diğer yandan e-sigara, geleneksel sigara dumanlarında yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında e-sigara dumanındaki toksik maddelerin sigaradan 9 ile 450 kat oranda daha az tespit edilmiştir (Çizelge 2.6) (Goniewicz vd., 2014). Bu saptamalar aynı zamanda, sigara firmalarının ileri sürdüğü e-sigara ürünlerinin kimyasal madde içermediği ya da e-sigara kullanımına bağlı kimyasal madde maruziyeti olmadığı tezini ortadan kaldırmaktadır.

Çizelge 2.6. Elektronik sigara buharında ve sigara dumanındaki toksik kimyasallar

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

Isıtılmış tütün ürünleri, propilen glikol içine batırılmış tütünün haddelenmiş dökme yaprak tabakalarından yapılmaktadır. Bilimsel veriler HTP'lerin tüm tütün ürünleri gibi toksik kimyasalların yanı sıra çeşitli kanserojenleri de içerdiğini (Glantz, 2018) ve kullanımlarına

bağlı olarak istenmeyen sağlık sorunlarına yol açtığını göstermektedir (Kim ve Friedman, 2022). Isıtılmış tütün ürünleri de geleneksel sigaralara benzer şekilde tütüne özgü nitrozaminler içermektedir, bu miktar geleneksel sigaralardan düşük ancak kartuş tipi elektronik sigaralara göre de daha yüksektir (Marsden, Michalicek ve Christensen, 2019).

2.3. Dünyada ve Ülkemizde Elektronik Sigara Kullanım Sıklığı

Elektronik sigara, sigara içilmeyen ortamlarda da kullanıcıların içimine olanak sağlaması ve içerdiği aromalar (meyve, çikolata vb.) nedeniyle özellikle gençlerin ilgisini çekmekte ve bu nedenle de daha önce hiç sigara kullanmamış gençler, elektronik sigara kullanımına yönelmekte, bunun sonucunda nikotin bağımlılığı oluşabilmektedir (FDA, 2019; WHO, 2020). E-sigaralar dünya çapında yetişkinler ve gençler arasında oldukça popülerlik kazanmıştır. ABD'de yaklaşık 3 milyon lise öğrencisi ve 10 milyondan fazla yetişkin aktif e-sigara kullanıcısıdır ve bu sayı da her geçen gün artmaktadır (Madison vd., 2020). Gençler, e-sigara kullanımında en fazla artışın olduğu risk grubunu oluşturmaktadır. 2017 yılında ABD'de lise öğrencileri arasında en yaygın kullanılan tütün ürünü e-sigara (%11,7) olurken, bunu puro (%7,7), sigara (%7,6), dumansız tütün (%5,5) ve nargile (%3,3) izlemektedir (Wang vd., 2018).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yürütülen "Ulusal Gençlik Tütün Araştırması" programının 2018 yılında yayımladığı raporda; lise öğrencileri arasında yüksek bir popüleriteye sahip olan e-sigara kullanımının 2017 ile 2018 arasında %75'e kadar çıktığı göstermektedir (Tackett vd., 2020).

E-sigarayı en fazla 18-24 yaş arası gençler kullanmakta olduğu, geleneksel tütün ürünü kullanmakta olanlar ve bırakmış olanların elektronik sigarayı daha çok tercih ettiği belirtilmiştir (CDC, 2015). Nitekim, yapılmış bilimsel çalışmalar elektronik sigara kullanan bireylerin genellikle erkek olduğunu ve tütün ürünü geçmişi olduğunu göstermiştir (Etter, 2010; Etter ve Bullen, 2011; Etter ve Bullen, 2013).

2017-2018 yılları arasında, Rusya, Belarus, Litvanya, Polonya ve Slovakya'dan üniversite öğrenimi gören 1432 katılımcı ile yapılan bir çalışma, öğrencilerin e-sigara kullanımı girişiminin %43,7 olduğu göstermiştir. Bu grup içerisinde %1,1 in kullanımı sürdürdüğü,

%1,8 oranındaki katılımcının ise e-sigara yanında klasik sigara kullanıcısı da olduğu gözlemlenmiştir (Brožek vd., 2019).

2014 ve 2017 yıllarında Avrupa Birliği üyesi 28 ülkede yaklaşık 28000 kişinin katılımı ile bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışma; elektronik sigarayı en az bir kere deneyenlerin 2014 yılında %11,6, 2017 yılında ise %14,6 olduğu görülmüş, elektronik sigarayı düzenli olarak kullananların sayısı 2014 yılında %1,5 iken 2017 yılında %1,8 olarak tespit edilmiştir (Lavery, Filippidis ve Vardavans, 2018). 489 üniversite öğrencisini kapsayan diğer bir çalışmada ise %37'sinin e-sigara hakkında bilgi sahibi olduğu ve %2,7'sinin e-sigarayı en az bir defa denediğini göstermiştir (WJC. vd., 2018). Latin Amerika ülkelerinde, 6550 genç bireyde e-sigara kullanım oranının %27,8 olduğu görülmüştür (Urrutia-Pereira vd., 2018). 14 ülkeyi kapsayan bir çalışmada ise klasik sigara kullananlar ve geçmişte kullanıp bırakmış bireylerin e-sigara kullanma oranları; ABD: %72,5; Avustralya: %81,5; Bangladeş: %90,6; Kanada: %62,1; Brezilya: %84,7; Çin: %89,9; İngiltere: %68,3; Hollanda: %67,4; Yeni Zelanda: %67,6; Uruguay: %81,7; Zambiya: %79,8; Meksika: %64,5; Malezya: %88,2 ve Kore: %94,8 olarak tespit edilmiştir (Gravelly vd., 2019).

Amerika Birleşik Devletleri'nin ulusal sağlık verilerine dayanan bir araştırma sonucu, tütün ürünleri kullanıcılarının %10,5'nin e-sigara kullandıklarını, tütün ürünü geçmişi olup bırakan bireylerin %4,5'inin e-sigara kullandıklarını göstermiştir (Farsalinos ve Niaura, 2020). Çin'de e-sigara kullananların oranı %0,5 ve en az bir kere e-sigara deneyenlerin oranı ise %3,1 olduğu tespit edilmiştir (Wang, He, Feng ve Cai, 2019). Sudi Arabistan'da 401 Tıp fakültesi öğrencisi ile yapılan bir çalışmada ise %12,2'sinin e-sigara kullandığı görülmüştür (Habib vd., 2020).

Mağazalarda ve internette 400'ün üzerinde e-sigara markası ve 7000'in üzerinde aroma çeşidi bulunmaktadır (CDC; FDA, 2022b). Aromalı ürünler özellikle genç tüketicileri hedef almaktadır (Lee vd., 2021). Esrar ve konsantre THC gibi diğer bileşenler, mevcut e-sigara cihazlarında kullanılabilir olması bu maddelerin genç popülasyonunda kullanımında anlamlı bir artışa yol açmıştır. Kaliforniya'da 2018'de yapılan bir araştırma, e-sigara kullanan 3 lise öğrencisinden 1'i ve e-sigara kullanan 4 ortaokul öğrencisinden 1'inin e-sigara içeriğinde esrar kullandığını bildirmiştir (Trivers, Phillips, Gentzke, Tynan ve Neff, 2018).

Ülkemizde yasal satışı yasak olan e-sigaranın, 2007 yılından beri internet üzerinde satışı yapılmaktadır. Türkiye'deki tıp fakültesi öğrencilerini kapsayan bir çalışmada, klasik sigara içenlerin %43,7'sinin aynı zamanda e-sigara kullandığını ve klasik sigarayı bırakanların %17,2'sinin de en az bir kere e-sigara denediğini ortaya koymuştur (Ogan vd., 2019).

Türkiye'de 269 e-sigara kullanıcısı ile yapılan bir araştırma da katılımcıların %97'sinin öncesinde klasik sigara kullandığı, %68,2'nin klasik sigarayı bırakmak için e-sigara kullanmaya başladığı, %34,2'sinin e-sigara ile birlikte klasik sigara da kullandığı ve %61,7'sinin bir yıldan daha uzun süredir e-sigara kullandığı görülmüştür. Katılımcıların %51,7'si uyandıktan sonra ilk yarım saat içerisinde e-sigara kullanımına başladığı ve tüm katılımcıların elektronik sigara kullanımını tavsiye ettiği saptanmıştır (Dayı, Kahraman ve Korkut, 2019). İzmir bölgesinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise farklı ilçelerde tesadüfi örneklem metodu ile ulaşılan 353 kişi ile yüz yüze yapılan çalışmada katılımcıların %19'unun en az bir kere e-sigara kullandığı ve e-sigaranın geleneksel sigaraya göre daha az zararlı olduğunu düşündüğü görülmüştür (Atlam, Kaylı ve Yarabas, 2020).

2.4. Elektronik Sigaranın Sağlık Üzerine Etkileri

E-sigaraaların sağlık üzerine etkilerine yönelik bilimsel veriler çok kısıtlıdır. Bu sebeple e-sigar kullanan bireylerin, e-sigarayı sigaradan daha az zararlı olduğunu düşünmeleri için daha çok araştırma yapılmasına ve veri eldesine ihtiyaç vardır. Her ne kadar e-sigaranın, klasik sigara ile karşılaştırıldığında daha güvenilir bir alternatif olduğunu ileri süren çalışmalar (Burstyn, 2014) ve sistematik derlemeler bulunsa da (Farsalinos ve Polosa, 2014; Pisinger ve Døssing, 2014), bugünkü elde edilen bilimsel çalışmalar e-sigaranın sağlık üzerinde olumsuz etkilerine yönelik bilgiler sunmaktadır. Amerika Hastalık Kontrol ve İzleme Merkezi (CDC), e-sigaranın klasik sigaradan daha az zararlı olduğunu bildirmekte ancak bu ifadenin e-sigaranın güvenli olduğu anlamına gelmediğini de belirtmektedirler (CDC, 2021). DSÖ, e-sigaranın sağlık risklerine yönelik yeterli veri olmadığından klasik tütün ürünleri ile karşılaştırarak genelleme yapmanın zor olduğunu bildirmektedir. Her iki ürün kullanımının sağlık açısından zararlı olduğunu belirtmekte ve en sağlıklı olanın iki ürün grubunu da kullanmamak olduğunu bildirmektedir. E-sigaraalar çok çeşitlendirilebilen ürünler olduğu için sağlıkla ilgili riskleri de her ürün için farklılık göstermektedir. Ayrıca kullanıcının tercihleri doğrultusunda da sağlık üzerine etkilenim farklı olmaktadır (WHO, 2020, 2022b).

E-sigara kartuşlarında nikotin konsantrasyonları 36 mg/ml'ye kadar çıkabilmektedir ve bu sebeple e-sigara kullanımının olası sağlık riskleri arasında ilk sırada akut nikotin zehirlenmesi yer almaktadır (Fuoco, Buonanno, Stabile ve Vigo, 2014). Yetişkinler için 0.5-1 mg/kg/bw, çocuklar için 0.1-0,2 mg/kg/bw nikotin miktarı öldürücü olabilmektedir. Elektronik sigara kullanımına bağlı ilk zehirlenme olgusu, 2013 yılında e-sıvı içeriğindeki nikotine bağlı olarak rapor edilmiştir (Cervellin, Luci, Bellini ve Lippi, 2013).

E-sigara ların piyasaya sunulmasından itibaren, e-sigara buharındaki çeşitli toksik bileşiklerin ve mikro partiküllerin solunmasının akciğ erlere zarar verebileceği ö ne sürülmüştür. 2012 yılı başlarında e-sigaraya bağlı yaşamı tehdit edecek düzeyde ciddi akciğ er hasarlarına neden olduğu na dair ilk bilgiler ortaya çı kmıştır (McCauley, markin ve Hosmer, 2012). Gençler üzerinde yapılan bazı çalış malar e-sigara kullanım sıklığı ile bronş it semptomları (kronik ö ksürük, balgam çıkarma veya bronş it) arasında anlamlı iliş ki olduğu nu göstermiştir (McConnell vd., 2017; Wang, Ho, Leung ve Lam, 2016). Gençler arasında e-sigara kullanımına bağlı olarak astım semptomlarının prevalansında ve ş iddetinde bir artış olduğu nu bildirilmektedir. Hong Kong'da yaklaşık 45.000 genç üzerinde yapılan bir ankette, bir önceki ay e-sigara kullanımına bağlı olarak kronik ö ksürük veya balgam bildirimi arasında anlamlı iliş ki olduğu görülmüştür (M. P. Wang vd., 2016).

Güney Kaliforniya'daki 11. ve 12. sınıf lise ö ğrencilerini kapsayan ve toplam 2086 kişı ile yapılan bir araştırma, e-sigara kullanımının kronik bronş it semptomlarını yaklaşık iki kat arttırdığını göstermiştir (McConnell vd., 2017). Kore'de 35904 lise ö ğrencisiyle yapılan bir anket çalış masında ise son 12 ayda alınan astım teş hisinin, e-sigara kullanıcı larında kullanmayanlara oranla daha yüksek bulunmuştur (Cho ve Paik, 2016). Havai 'de 2016 yılında 8087 yetişkinin katılımı ile anket üzerinden kesitsel bir çalış ma yapılmış ve e-sigara kullanımı ile kronik akciğ er hastalıkları arasında anlamlı iliş ki bulunmuştur (Wills, Pagano, Willams ve Tam, 2019). Kesitsel diğ er bir çalış ma da ise rastgele bir örneklem ile 30272 İsveçli yetişkinin, e-sigara ile solunum semptomları (uzun süreli ö ksürük, tekrarlayan hırıltı vb.) incelenmiş ve anlamlı iliş ki saptanmıştır (Hedman vd., 2018).

E-sigara kullanımının neden olduğu akut eozinofilik pnömoni, lipoid pnömoni ve akut akciğ er hasarı bildirilmiştir (Itoh, Aoshiba, Herai, Nakamura ve Takemura, 2018; Kamada, Yamashita ve Tomioka, 2016). E-sigara kullanımına bağlı geliş en EVALI (e-cigarette and vaping use associated lung injury), ENTS ürünlerinin kullanımı ile iliş kilendirilmiştir.

Hastalık e-sigara ürünlerinin solunması neticesinde akciğerlerde gelişmektedir. İlk EVALI vakası 2019 yılında ABD’de saptanmıştır. EVALI, akut akciğer hasarı ile solunum yetmezliği ve ölüme yol açabilmektedir. 18 Şubat 2020 itibariyle CDC'ye toplam 2807 EVALI vakası bildirilmiş ve buna bağlı 68 ölüm gerçekleşmiştir (CDC, 2020).

Ülkemizde ilk EVALI teşhisi 2022 Ocak ayında konmuştur. 33 yaşında ki erkek hastada yaygın akciğer hasarı tespit edilmiştir (Resim 2.11) (Ersan, 2022).



Resim 2.11. Ülkemizde ilk EVALI hastasının akciğer bilgisayarlı tomografi görüntüsü

EVALI, çoğunlukla esrar bazlı ENTS ürünlerinin kullanımıyla ilişkilendirilmektedir. Son EVALI vakalarının sonuçları, bazı tetrahidrokanabinol içeren buhar ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılan E vitamini asetatı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Blount vd., 2020).

Son zamanlarda çeşitli çalışmalar elektronik sigara kullanımının solunum sistemine verdiği zararları ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmalar, e-sigara kullanımına bağlı olarak; akciğer fonksiyonun da azalma, gaz alışverişinde bozulma, bağışıklığın zayıflaması, oksidatif stres ve solunum yolu enfeksiyon riskinin artması ve pulmoner homeostazı bozabileceğini göstermiştir (Ghosh vd., 2019; McConnell vd., 2017; Miyashita ve Foley, 2020; Temas ve Meyer, 2020; Wills vd., 2019). Ayrıca nikotin ve aroma içeren e-sigara ürünlerinin oksidatif stres,

epitelyal bariyer bozukluğu, DNA hasarı ve inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir (Lee vd., 2020).

E-sigara kullanımının, insanlarda hava yollarının iltihaplanmasını indüklemeye etkisine sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu sebeple de e-sigara kullanımının tütün kullanımı gibi COVID-19'a bağlı gelişen akciğer iltihabını kötüleştirebileceği düşünülmektedir (Lee vd., 2020). E-sigara kullanımı, pnömokok bakterilerinin solunum yolları hücrelerine bağlanmasını kolaylaştırabilmekte ve buna bağlı olarak, pnömoniye karşı artan bir duyarlılığa ve akciğer epiteline hasara neden olabilmektedir (Çizelge 2.7) (Rowell ve Tarran, 2015).

Çizelge 2.7. E-sigaranın akciğer üzerindeki etkileri

Doku/hücre tipi	Etkileri
Epitel	↑ Sitotoksosite, ↓ Hücre canlılığı, ↑ İnflamasyon, ↑ Enfeksiyon
Fibroblastlar	↑ Sitotoksosite, ↓ Hücre canlılığı
İnflamatuvar hücreler	↑ Makrofajlar, ↑ Sitokin salgılanması, ↑ Enfeksiyon
Endotelial	↓ Hücre canlılığı, ↓ Elektrik direnci

Farklı kesitsel araştırmalar, ABD'deki gençlerde astım öyküsü ve astım alevlenmeleri ile e-sigara kullanımı arasındaki ilişkiler sunmaktadır (Schweitzer, Wills, Tam, Pagano ve Choi, 2017). Health eHeart'ın 40.000 kişinin katılımıyla yaptığı araştırmaya göre, e-sigara kullanımının nefes darlığı, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) vakalarını artırdığını bildirmektedir (Wang vd., 2018).

E-sigara buharı nikotinin hızlı bir şekilde alınmasına neden olmakta ve bu sebeple nikotin bağımlılığına sebebiyet vermektedir. Geleneksel sigara ve e-sigara kullanan kişilerin nikotin maruziyetine yönelik olarak Ülkemizde gerçekleştirilen bir çalışma, elektronik sigara kullanıcılarının, geleneksel sigara kullanıcılarına yakın düzeyde nikotine maruz kaldıklarını göstermiştir. Ayrıca sigaraya pasif olarak maruz kalanların nikotin düzeyleri ortalaması, e-sigara kullananlara göre istatistiksel olarak anlamlı derece düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). (Göney, Çok, Tamer, Burgaz ve Şengezer, 2016). Bu çalışma e-sigara kullanıcılarında da nikotin bağımlılığı riskini ortaya koymaktadır. Ülkemizde gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise e-sigara kullanımına bağlı DNA hasarının ölçümüne yönelik olarak, e-sigara kullanıcılarının kan örneklerinde bazı genotoksik testleri (komet, kromozomal aberasyon ve mikroçekirdek) yapılmış ve e-sigara kullanımının genotoksik hasara neden olabileceği

yönünde bulgular elde edilmiştir (Göney, 2016). Ülkemizde, sıçanlar üzerinde e-sigara buharının etkilerine yönelik yapılan bir çalışmada ise e-sigara buharının sıçanların akciğer bronşlarında ve alveol epitelinde histopatolojik etkilere neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca akciğer parankim dokusu ve serumda oksidatif stres etkilerinin, tütün sigara dumanıyla karşılaştırılmalı araştırılmasına yönelik gerçekleştirilen bu çalışma da, likit içeriğindeki nikotin, bir alveoldeki ortalama lipit yüklü makrofaj sayısında anlamlı değişikliklere yol açtığı düşünülmüştür (Çelik, 2020).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, e-sigara sıvısının in vitro olarak pek çok hücre hattında ölümlere neden olduğunu, in vivo olarak ta e-sigara kullananların serumlarında hücre ölümleri ve oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir (Teasdale, Newby, Timpson, Munafo ve White, 2016).

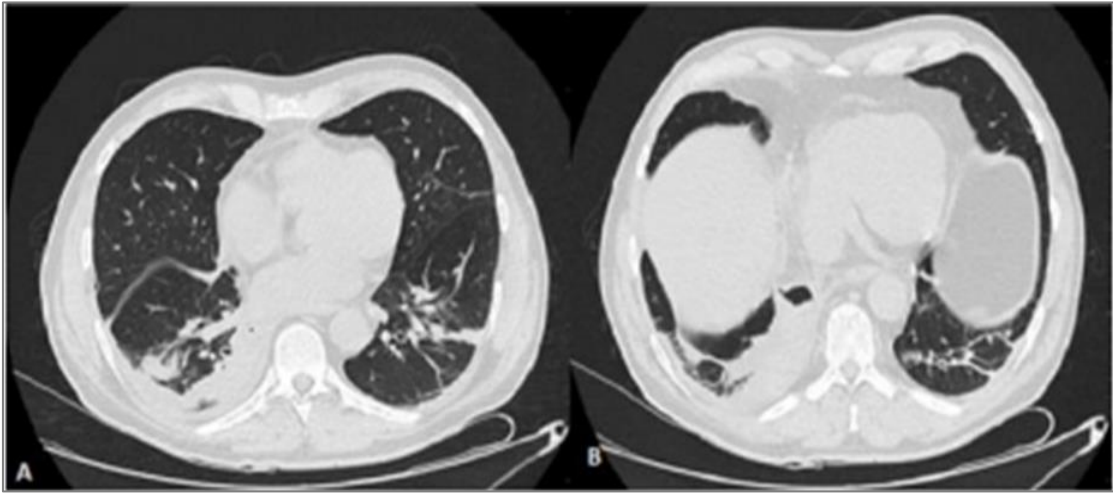
Elektronik sigara buharı akciğer makrofajlarının işlevini bozarak zarar görmesine neden olabilmektedir. Bu duruma bağlı olarak patlamış mısır ciğeri (Popcorn Lung) olarak bilinen nefes darlığı ve öksürükle kendini gösteren akciğer hastalığına yol açabilmektedir (Gaur ve Ram, 2021; Kavitha, 2021). Klinik öncesi çalışmalar, e-sigara aerosollerinin akciğer dokusuna zarar verebileceğini, iltihaplanmaya yol açabileceğini ve akciğerlerin enfeksiyona tepki verme yeteneğini azaltabileceğini göstermiştir (Volkow, 2020).

E-sigara buharına bağlı pasif içiciliğin değerlendirildiği, 16 çalışma sonucunu içeren sistematik bir derleme, e-sigara buharına bağlı pasif içiciliğin sağlığı tehdit ettiğini ancak geleneksel sigara dumanı kaynaklı pasif içiciliğe kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Hess, Lachireddy ve Capon, 2016). E-sigara kullanımının son dönemde yaşadığımız COVID-19 pandemisi içinde hastalığa katkıları ve rolü üzerine çeşitli değerlendirme çalışmaları yapılmıştır (Çok, İyigünoğlu ve Yıldırım, 2021; Marques, Piqueras ve Sanz, 2021). Özellikle nikotin veya esrar içeren e-sigara buharının, kullanıcılarında COVID-19 açısından risk olabileceği düşünülmüştür (Madison vd., 2020).

Elektronik sigara kullanımına bağlı akciğer hasarları tanımlanmış olmasına rağmen HTP'ler için bu konuda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Tütün üreticileri ısıtılmış tütün ürünlerini güvenli olarak sunsalar da araştırmalar ısıtılmış tütün ürünlerinin insan bronş epiteli üzerinde de sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Leigh, Palumbo, Marino, O'Connor ve Goniewicz, 2018)

IQOS® kullanımına bağlı ortaya çıkan mikron ve daha küçük boyutlardaki parçacıkların alveollere ulaştığı görülmüştür (Protano, Manigrasso, Avino, Sernia ve Vitali, 2016). Bu parçacıklara maruziyet sonucunda ise üst solunum yolu hastalıkları gelişebilmektedir.

Ülkemizde yayımlanan bir vaka çalışmasında 2,5 yıl IQOS® kullanan, ani başlayan nefes darlığı ve göğüs ağrısı şikayetleriyle hastaneye başvuran, 56 yaşında erkek hastada yapılan toraks bilgisayarlı tomografi tetkikinde ise Resim 2.12’de görüldüğü gibi; subakut akciğer hasarı tablosu izlenmiştir.



Resim 2.12. IQOS® kullanan hastanın toraks bilgisayarlı tomografi görüntüsü

Bu bulgular toksik madde kaynaklı kimyasal pnömoni ile uyumlu olarak değerlendirilerek ısıtılmış tütün kullanımına bağlı olduğu düşünülmüştür (Gülensoy, Yüksel, Nalan, Umudum ve Akpınar, 2021).

PMI, IQOS® için maksimum 20 tütün çubuğu kullanımından sonra temizlenmesini önermektedir. Yapılan çalışmalarda, düzenli temizliği yapılmayan cihazların ısıtıcı bölmelerinde sıcak artışı olduğu ve buna bağlı olarak fazla pirolize yol açarak toksik bileşen salınımının artmasına neden olduğunu, ayrıca aerosolün solunmadan önce soğutmak amacıyla kullanılan polimer film filtresinin erimesine bağlı olarak ta formaldehit siyanohidrin gibi bir çok kimyasalın salınımına yol açtığı görülmüştür (Davis, Williams ve Talbot, 2019). EPA, formaldehit siyanohidrin’ni "çok zehirli" olarak değerlendirmekte ve bu kimyasalın solunmasının hidrojen siyanür gibi boğulmaya neden olabileceği konusunda uyarılmaktadır (EPA, 1986).

Leigh ve arkadaşları, IQOS® kullanımı sonrasında yapılan ölçümlerde akciğer hücrelerinde inflamatuvar hücre yanıtlarının göstergesi olan 6 sitokin (interlökin (IL)-1 β , IL-6, IL-10, CXCL1, CXCL2 ve CXCL10) yükseldiğini ve HTP'lerin sitotoksikite düzeyinin e-sigara kullanıcılardan daha yüksek, ancak geleneksel sigara kullanıcılardan daha düşük olduğu tespit etmişlerdir (Leigh vd., 2018).

Geleneksel sigara ve elektronik sigara kullanımının, fizyolojik zararlarının yanı sıra psikolojik etkilerinin de olduğu görülmektedir. ABD'de yapılan bir araştırma, elektronik sigara kullanıcılarında anksiyete ve depresyona ihtimalinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Cummins, Zhu, Tedeschi, Gamst ve Myers, 2014). Hamilelik döneminde sigara kullanan annelerin çocuklarında, bireysel ve davranışsal gelişim bozuklukları tespit edilmiştir ayrıca bu çocukların adolesan dönemde, sigara ve kokain benzeri maddelere karşı bağımlılık geliştirdiği bildirilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar da ise nikotinin beyin hücrelerinde nörotoksik etkilere neden olduğu görülmüştür (Dwyer, McQuown ve Leslie, 2009; England, Bunnell, Pechacek, Tong ve McAfee, 2015).

2.5. Elektronik Sigaranın Sigara Bırakma Üzerine Etkileri

Kişilerin e-sigarayı tercih etmenlerinin nedeni olarak; sigara dumanı ile diğer insanları rahatsız etmemek, sigara içilmesinin yasaklandığı yerlerde kullanıma devam edebilmek, sigara tüketimini azaltmak, sigarayı bırakma konusunda destek almak, daha düşük toksik kimyasallara maruz kalmak ve böylece sağlık riskini azaltmak gibi nedenler bildirilmektedirler.

38 çalışmanın incelendiği bir meta-analiz çalışmasında, kontrol grubun içeren 20 çalışma değerlendirmeye alınmış ve elektronik sigara kullanımı ile sigara bırakma sıklığı arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Kalkhoran ve Glantz, 2016). 62 çalışmayı kapsayan sistematik bir derlemede ise ikinci nesil elektronik sigara kullanımının, sigara bırakma üzerinde olumlu etkileri olduğunu bildirmiş ancak bu alanda yapılacak randomize kontrollü klinik çalışmalar ve kohort çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Malas vd., 2016). Elektronik sigaranın sigara bırakma üzerinde etkilerinin anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. CDC, elektronik sigaranın, sigara bırakmaya yardımcı olmadığını, bu amaçla elektronik sigara kullanan yetişkinlerin sigarayı bırakmak yerine hem elektronik sigarayı hem de klasik sigarayı kullanmaya devam ettiğini bildirmektedir (CDC,

2015). DSÖ elektronik sigaranın bir sigara bırakma aracı olarak kullanılmasına yönelik bilimsel kanıtların tartışmalı olduğunu bildirmiş ve sigara bırakmada etkinliği kanıtlanmış yöntemlere başvurulması gerektiğini belirtmiştir (WHO, 2020).

2.6. Dünyada ve Ülkemizde E-sigara Kullanımına Yönelik Yasal Düzenlemeler

Türkiye, DSÖ'nün 2017 küresel tütün salgın raporuna göre tütün kontrolünde MPOWER (Monitor, Protect, Offer, Warn, Enforce, Rais) kriterlerinin tamamını uygulayan ilk ve tek ülke olarak raporlandırılmıştır (WHO, 2017). DSÖ'nün yeni ve gelişmekte olan ürünlere yönelik 2021 yılında yayımladığı küresel tütün salgını raporunda ise dünyada MPOWER kriterlerini uygulayan 2 ülke olarak Türkiye ve Brezilya raporlandırılmıştır (WHO, 2021).

4207 sayılı tütün mamullerinin zararlarının önlenmesine dair kanununda yer alan “Tütün içermeyen ancak tütün mamulünü taklit eder tarzda kullanılan her türlü nargile ve sigara, tütün ürünü kabul edilir” maddesi ile elektronik sigaraların da tütün ürünü kapsamında olduğu belirtilmekte, bu kapsamda 18 yaş altına satışının yapılması, reklamının yapılması ve kapalı alanlarda kullanılmasına yönelik tedbirler alınmıştır (Resmi Gazete, 1996).

Türkiye pazarına 2007 yılında giren e-sigara, çeşitli pazarlama yöntemleri ve medya kanalları aracılığı ile satışa sunulmuştur (Goktas, Onsuz, Isıklı ve Metintas, 2018). Sağlık Bakanlığı 2008 yılında e-sigaralarda kullanılan nikotin kartuşlarını tıbbi ürün olarak, e-sigara cihazlarını ise nikotinli kartuşlarla kullanılabileceğinden dolayı, tıbbi cihaz olarak değerlendirmiş ve satışına müsaade edilemeyeceğine dair bir karar almıştır (T.C.Sağlık Bakanlığı, 2008).

Elektronik sigara satışı Türkiye’de yasak olmasına rağmen, ‘elektronik sigara’ anahtar kelimesi ile web üzerinde yapılan aramalarda, 29 sitede satışının yapıldığı belirlenmiştir (Aktuna ve Hassoy, 2019).

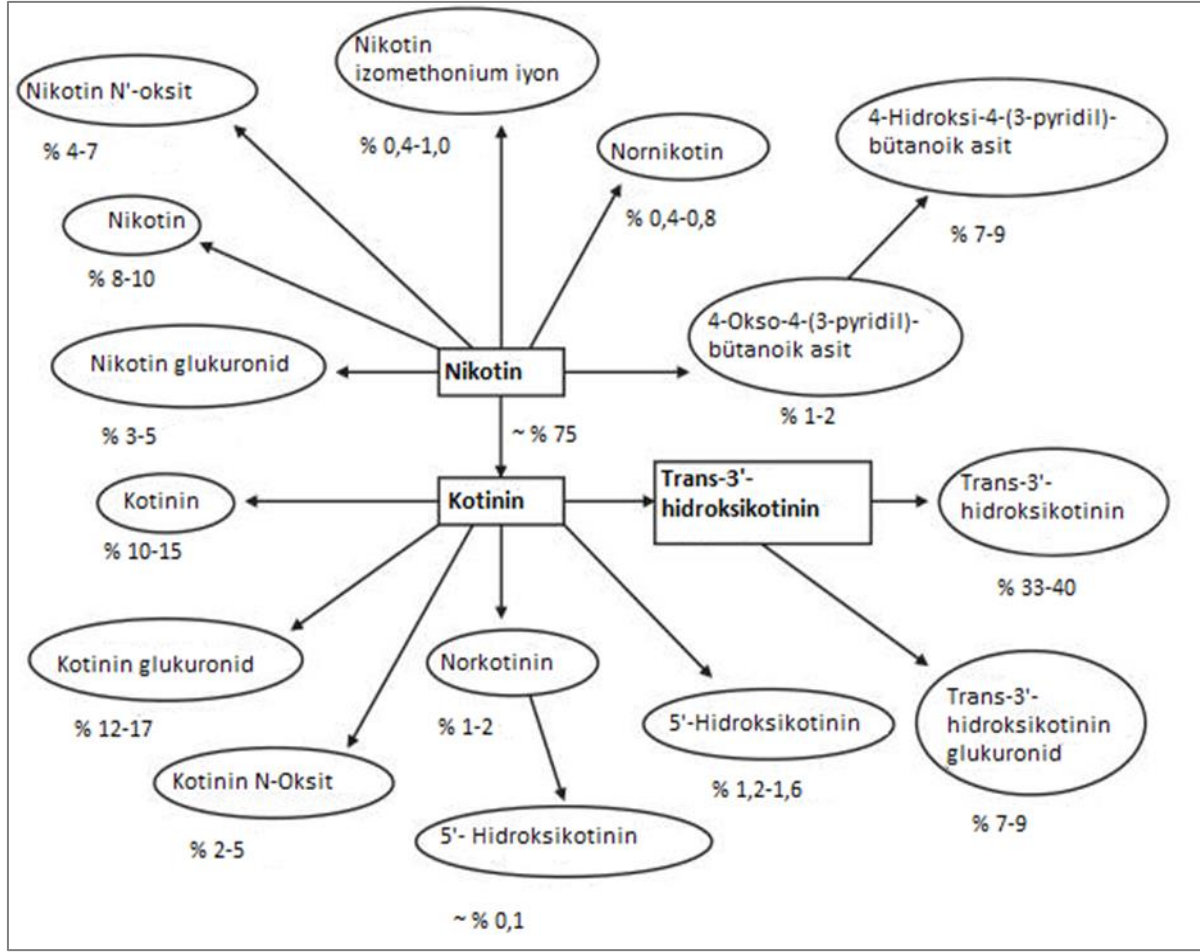
Elektronik sigara kullanımı düzenlemelerine yönelik olarak 123 ülkeyi kapsayan bir çalışmada 68 ülkenin e-sigaralara yönelik (üretim, dağıtım, satış, güvenlik vb.) düzenlemelere sahip olduğu, 55 ülkede ise herhangi bir yasal düzenlemenin bulunmadığı tespit edilmiştir (Kennedy, Awopegba, De Leon ve Cohen, 2017).

2.7. Nikotin

Nikotin; tütünün yanarak distilasyonu sonucunda oluşan renksiz ve uçucu özellikte bir alkaloiddir. Sigara içimi sonrası plazma nikotin konsantrasyonu yaklaşık 15-30 ng/ml'ye ulaşmaktadır. Nikotin vücuda girdiğinde, kan dolaşımı yoluyla hızla dağılır ve inhalasyondan 10-20 saniye sonra kan beyin bariyerini geçerek beyne ulaşır. Nikotin, plasenta ve anne sütüne de geçmektedir. Nikotini içeren katran ise akciğere çekildiğinde alveollerde depolanır (Coskun, Öztürk ve Yaman, 2010; Keten, Çelik, Ersoy, Üçer ve Işık, 2016).

Yarı ömrü 1-2 saat olan Nikotin, karaciğerde metabolitlerine dönüşmektedir. Nikotinin altı tane primer metaboliti tespit edilmiştir (Hukkanen, Jacob ve Benowitz, 2005). Nikotinin en önemli metaboliti kotinindir. Nikotin ve kotinin üzerine yapılan çalışmalar nikotinin yaklaşık %70-80'inin kotinine dönüştüğünü göstermektedir (Benowitz, Jacob, Fong ve Gupta 1994). Kotinin, nikotinin aktif bir metabolitidir ve 18-20 saatlik yarılanma ömrüyle Nikotin maruziyeti tespitinde analiz edilmesini kolaylaştırır (Etter, 2014; Göney vd., 2016; Hou vd., 2012) .

Nikotin metabolizmasının kantitatif olarak dağılımı Şekil 2.1'te sunulmaktadır (Benowitz vd., 1994; Byrd, Chang, Greene ve deBethizy vd., 1992). Nikotinin %4-7'si nikotin N'-oksit ve %3-5'i nikotin glukuronid, 8-10'u ise idrarla değişmeden atılır. Nikotinin %75'i ise Kotinine dönüşür. Kotininin %10-15'i değişmez, %33-40'ı trans-3'-hidroksikotinine, %12-17'si kotinin glukuronide ve %7-9'u da trans-3'- hidroksikotinin glukuronid metaboliti olarak idrarla atılmaktadır (Hukkanen vd., 2005).



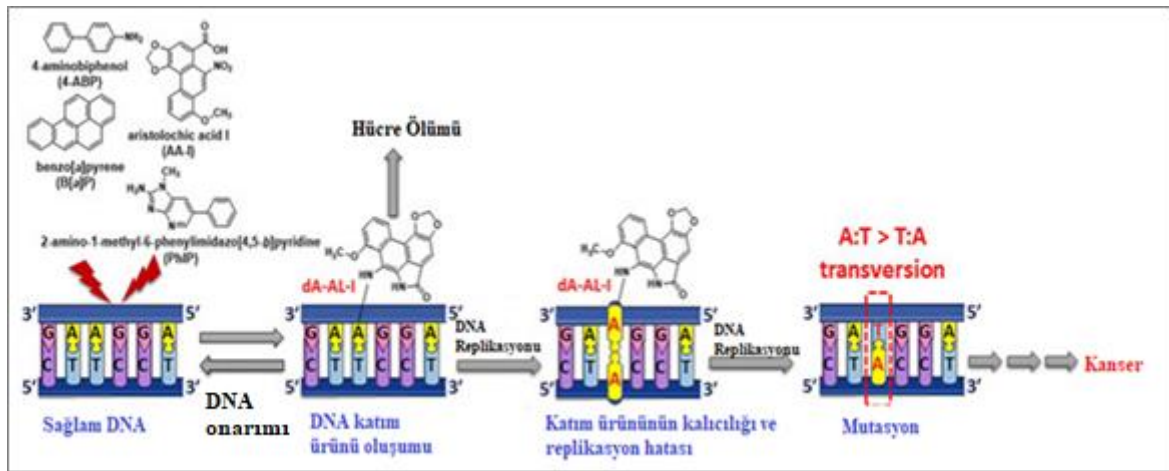
Şekil 2.1. Nikotin metabolizması ve kantitatif olarak dağılımı

Nikotin metabolizmasını, çevresel ve genetik faktörler etkilemekte, bu sebeple de etnik farklılıklar gözlemlenmektedir. Ayrıca beslenme, yaş, cinsiyet, gebelik, böbrek hastalıkları gibi etkenler de nikotin metabolizmasını etkilemektedir. Nikotin maruziyetinin en yaygın biyogöstergesi vücut sıvılarında kotinin düzeyinin ölçümüdür (Hammond, 2009).

2.8. DNA Katım Ürünleri

İnsan genomu sürekli olarak reaktif oksijen türleri, lipid peroksidasyon ara maddeleri ve alkilleyici ajanlar gibi endojen kimyasallara maruz kalır ve bu kimyasallardan zarar görür. Bu elektrofilik reaktif kimyasalların yanı sıra çevresel kanserojenlerin ve uygulanan ilaçların çeşitli DNA katım ürünleri ürettiği bilinmektedir. Karsinojenik bileşiklerin büyük bir kısmı elektrofilik bileşikler olup DNA ile etkileşme yeteneğine sahiptirler. Reaktif yapılarından dolayı formaldehit ve asetaldehit gibi metabolik aktivasyon gerektirmeden doğrudan DNA'ya kovalent olarak bağlanan veya NNK, NNN ve PAH dahil olmak üzere diğer bazı

kimyasal maddelerin metabolik aktivasyon sonucu oluşan ürünlerinin DNA ile oluşturdukları bileşikler DNA katım ürünleri olarak adlandırılmaktadır. Bu durum sadece tütüne özgü olmayıp, genel olarak maruziyet sonucu DNA ile etkileşebilme özelliğine sahip tüm kimyasallar veya endojen bileşikler için söz konusu olabilen, önemli bir DNA hasarı biçimidir. Bazı katım ürünleri, DNA replikasyonunu bloke eder veya mutasyonlara neden olur (Şekil 2.2), bunların DNA hasarının veya hastalığın ilerlemesinin seviyesini izlemek için biyobelirteçler olarak kullanılması da söz konusudur (Hwa Yun, Guo, Bellamri ve Turesky, 2020).

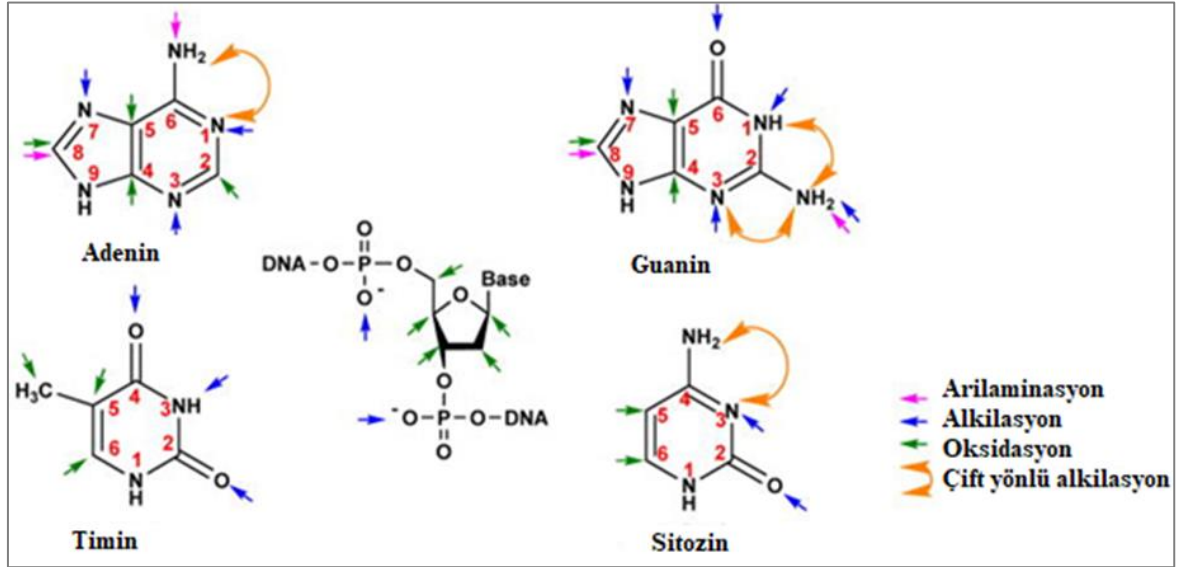


Şekil 2.2. DNA katım ürünlerinin mutasyonlar ve kimyasal karsinogenezdeki rolü (Aristolohik asit DNA katım ürünü tarafından indüklenen mutasyon, prototip olarak tasvir edilmiştir)

Geçen yüzyılda, toksik madde metabolizmasının ve DNA katım ürünlerinin oluşumunun tanımlanması, modern kimyasal toksikolojinin temellerinin atılmasına yardımcı olmuştur. DNA katım ürünleri, toksik maddeye maruz kalmanın belirteçleri olup, ayrıca mutajenez yoluyla kanser etiyojisi, ilaç tedavilerine yanıt ve hastalık geliştirme riski hakkında bilgi sağlamaktadır.

DNA katım ürünü seviyesi, kimyasal hasara karşı katım ürünü oluşumu ile tamir sistemi arasındaki dengenin bir göstergesidir. İdrarda ki DNA katım ürününün miktarı, kimyasal hasara cevaben oluşan katım ürünü ile tamir sistemi arasındaki dengenin göstergesidir. Bazı DNA katım ürünleri kanserojen maruziyeti ve kanser riskinin değerlendirilmesi için biyobelirteç görevi görmüştür. Bu karsinojenlerin DNA katım ürünleri, guaninin N7, N3, N2, N1 ve O6 pozisyonları, adenin N7, N6, N3 ve N1 pozisyonları, sitozinin N3, N4 ve O2

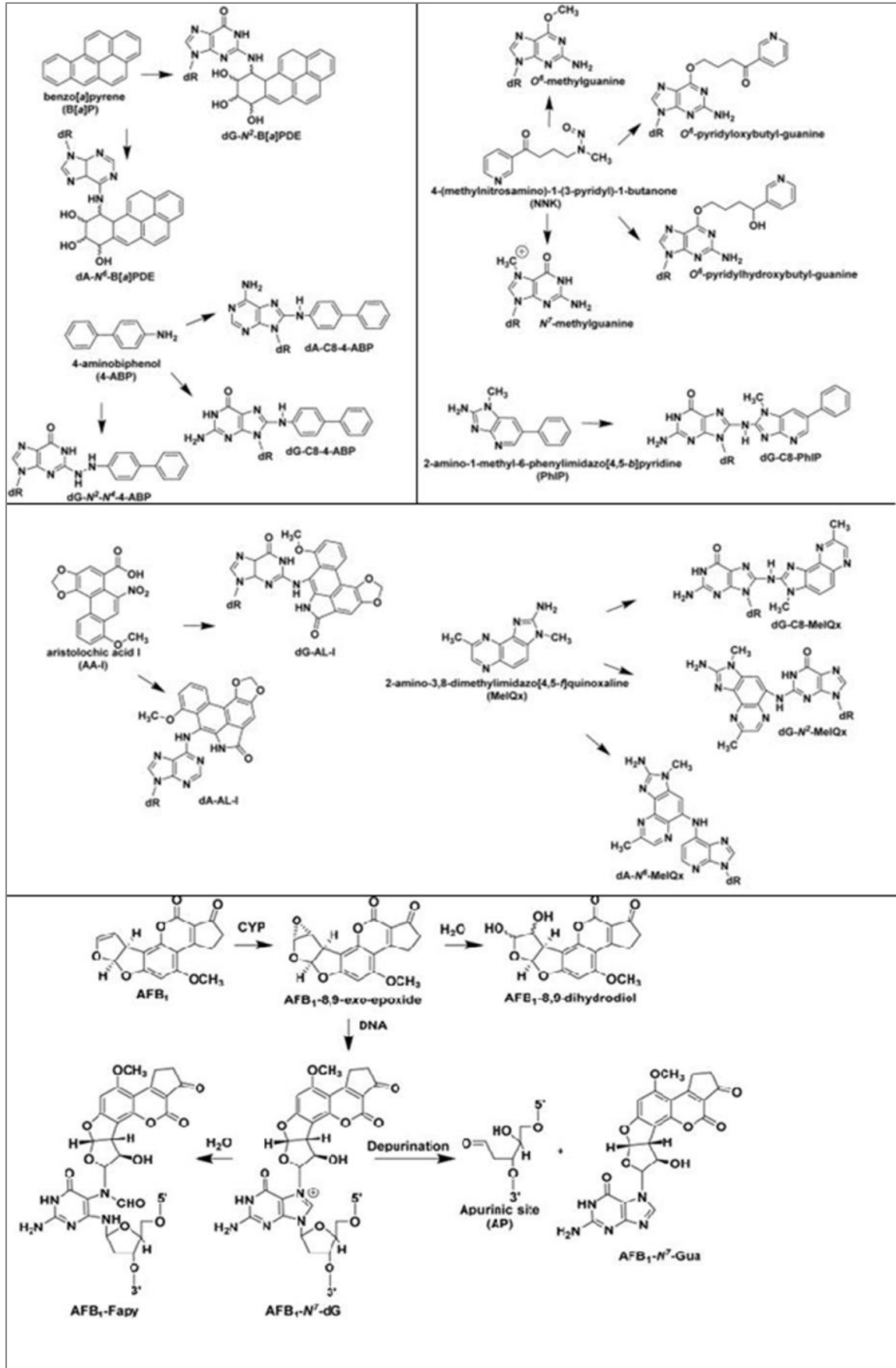
pozisyonları ve timinin N3, O2 ve O4 pozisyonları olmak üzere nükleobazların farklı halka nitrojen atomlarında ve ekzosiklik nitrojen ve oksijen atomlarında oluşabilir (Şekil 2.3) (Liu ve Wang, 2015).



Şekil 2.3. DNA bazlarındaki potansiyel hasar bölgeleri

DNA katım ürünleri reaktif kimyasalların yapıları, elektrofillerin doğası ve ayrıca bileşiklerin DNA bazlarının spesifik nükleofilik bölgelerine katım oluşturma yeteneğine göre değişkenlik göstermektedir. Çeşitli kimyasallarla etkileşime bağlı olarak farklı tarz ve yapıda DNA-katım ürünleri oluşabilmektedir. Farklı kimyasallara maruziyetten kaynaklanan bazı DNA katım ürün örnekleri Şekil 2.4’de sunulmaktadır. Arilaminlerin ve heterosiklik aromatik aminlerin DNA katım ürünleri çoğunlukla guanin ve adeninin C8 atomlarında olmakta ve daha az oranda guaninin N2 atomunda ve adenin N6 atomunda oluşmaktadır (Turesky ve Le Marchand, 2011). Guanin ve adeninin N3 ve N7 pozisyonları en nükleofilik bölgeleri olduğundan katım ürünleri sıklıkla bu bölgelerde oluşmaktadır (Lawley, 1974; Pullman ve Pullman, 1980; Saffhill, Margison ve O'Connor, 1985). Guaninin N7 pozisyonu adenin N3 pozisyonuna göre, katım ürünü oluşumunda daha fazla erişilebilirdir (La ve Swenberg, 1996).

Ayrıca, hidroksil radikali, 2-deoksiribozun C5 atomuyla kolayca reaksiyona girebildiğinden oldukça reaktif olan DNA katım ürünlerinin oluşmasına neden olabilmektedir (Dedon, 2008).



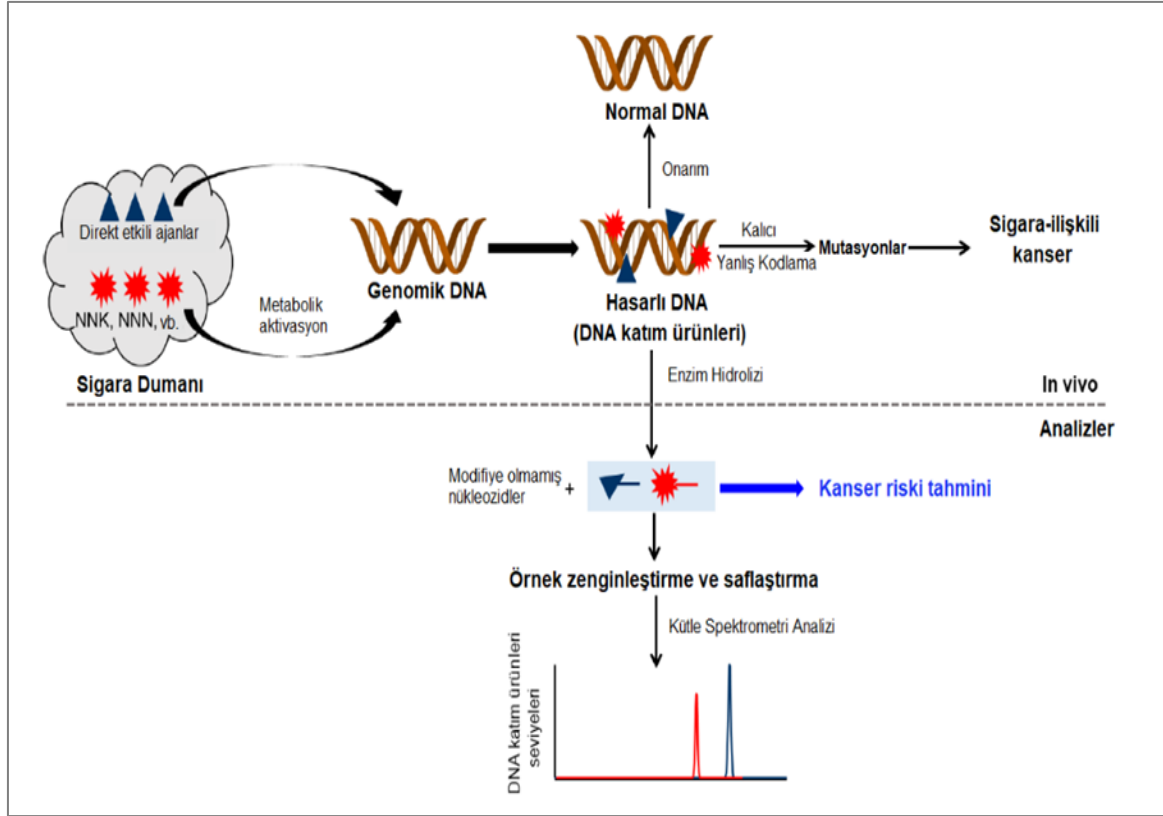
Şekil 2.4. Çeşitli kimyasallardan kaynaklanan DNA katım ürün örnekleri

Organizmalar endojen ve ekzojen elektrofilik bileşiklerce indüklenen DNA hasarını onarabilen DNA onarım mekanizmaları içerdiği için DNA katım ürünü oluşumu geri dönüşümlü bir süreç olabilmektedir. Doğrudan onarım, yanlış eşleşme onarım (mismatch repair), baz eksizyon onarım, nükleotid eksizyon onarım ve homolog rekombinasyon onarım gibi, DNA onarım mekanizmaları farklı onarım süreçlerinde yer alan 130 genle desteklenmektedir. Bununla birlikte, yüksek ve sürekli maruziyetin, onarım işleminde oluşturabileceği aksaklıklar, DNA katım ürünlerinin uzaklaştırılamamasına ve DNA replikasyonu sırasında potansiyel olarak yanlış kodlamaya neden olabilir. Yanlış kodlama olayları p53 ve RAS gibi kritik genlerde meydana gelirse, normal büyüme kontrol mekanizmalarının kaybı ve nihayetinde kanser gelişimi ile sonuçlanabilir.

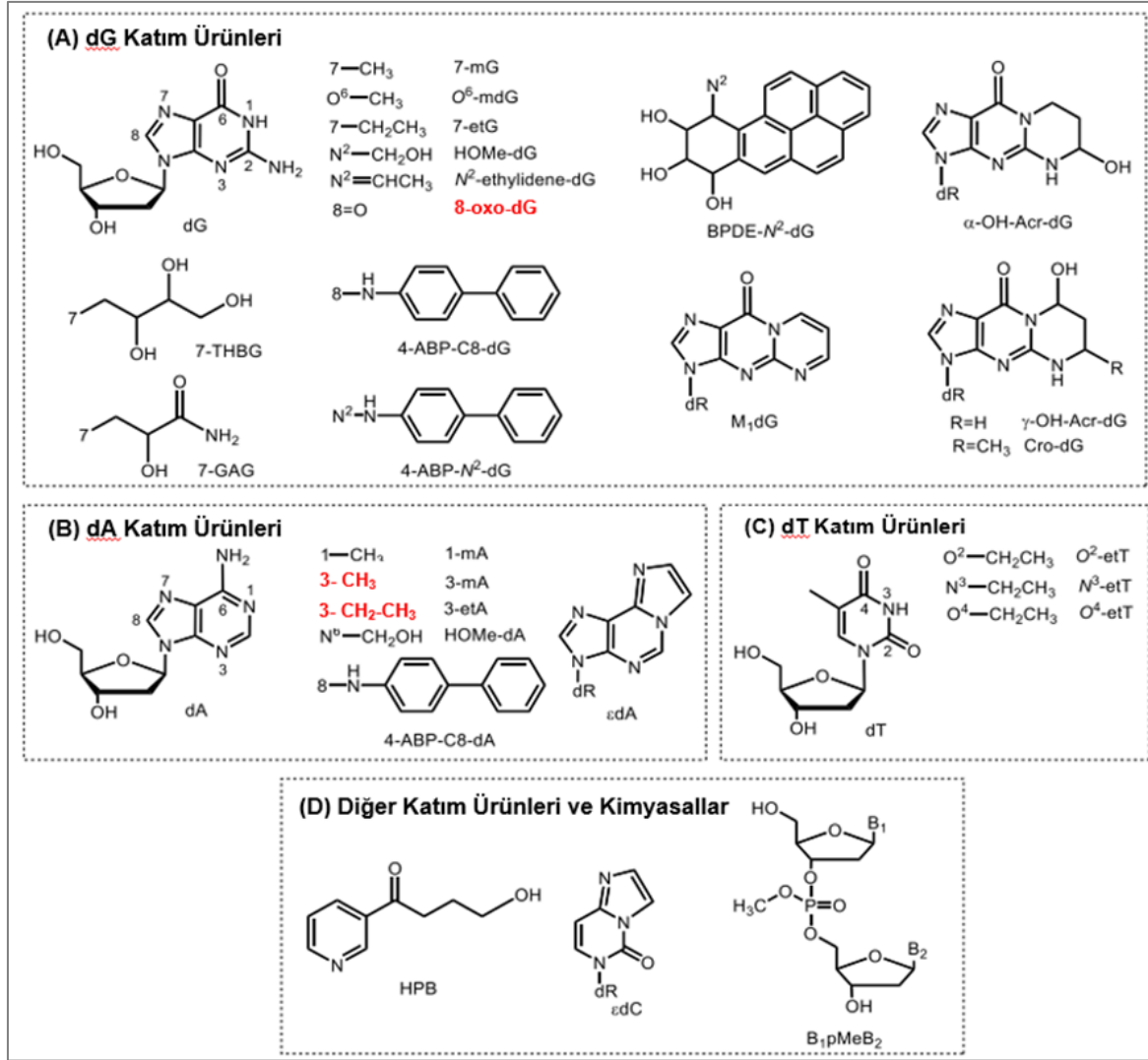
2.9. Sigara Kullanımına Bağlı Oluşan DNA Katım Ürünleri

Tütün dumanı, 7000'den fazla karakterize edilmiş kimyasal bileşiği içeren oldukça karmaşık yapıda olmasından dolayı, DNA katım reaksiyonlarının oluşmasına neden olmakta ve tütün dumanı ile ilişkili kanser gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır (Ma vd., 2019).

Şekil 2.5 tütün kaynaklı kanserlerde, DNA katım oluşumunun merkezi rolüne genel bir bakış sunmaktadır. İnsanlarda saptanan DNA katım ürünlerinin genel yapıları ise Şekil 2.6'de gösterilmektedir. Son yıllarda, çeşitli bilgisayar programları yardımıyla kimyasal yapıya dayalı hesaplama kestirimi için kullanılan in-siliko model çalışmaları ile aroma vericilerden kaynaklanan alkil benzenler ve aldehitlerden oluşabilecek DNA katım ürünlerinin oluşumu ve mutajenik aktiviteleri belirlenerek, DNA katım ürünleri konusunda ilk teorik bilgiler sunulmuştur (Kang ve Valerio, 2020).



Şekil 2.5. Tütün kaynaklı kanserde DNA katım ürünlerinin oluşumu ve değerlendirilmesi



Şekil 2.6. Sigara içimine bağlı insanlarda saptanan katım ürünleri

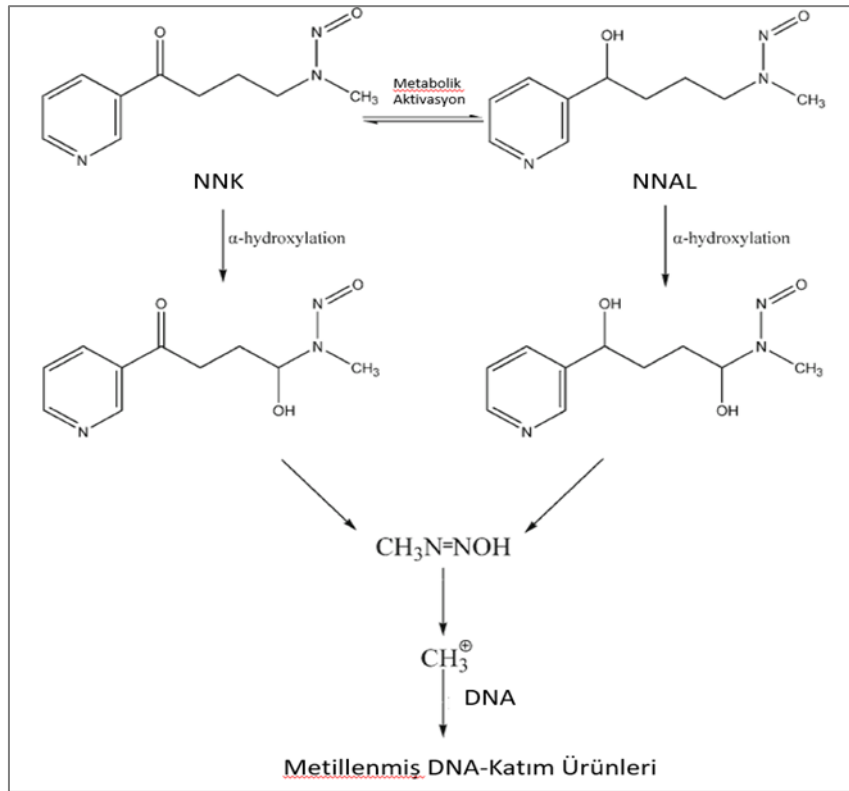
Günümüze kadar gerçekleştirilen pek çok bilimsel araştırma ile sigara içimine bağlı olarak organizmada şekillenen DNA katım ürünlerinin varlığı ve çeşitliliği ortaya konmuştur (Ewa ve Danuta, 2016; Li vd., 2017; Ma vd., 2019; David H. Phillips ve Stan Venitt, 2012; Poirier, 2016; Tian vd., 2014). Sigara içimine bağlı maruz kalınan pek çok karsinojenik bileşiğe bağlı olarak çok sayıda DNA-katım ürünü hem kanda hem de proteinlerde oluşabilmektedir. PAH ve aromatik aminlerden kaynaklanan büyük hacimli (bulky) katım ürünleri, Benzo[a]piren maruziyeti sonucu Benzo[a]piren diol-epoksit (BPDE)-DNA katım ürünü ve PAH maruziyeti sonucu, 4-Aminobifenil-dGuo (4-ABP-dGuo) katım ürünü, 4-Aminobifenil maruziyeti sonucu 8-OHdG, 1,N6-Ethenoadenin ve 3,N4-Ethenositozin katım ürünleri reaktif oksijen türlerine maruziyet sonucu Malondialdehid (MDA) DNA katım ürünü, lipid peroksidasyonu ürünleri olarak, Formaldehid maruziyeti sonucu N6-hidroksimetil-dAdo katım ürünü, Asetaldehid maruziyeti sonucu N2-etilen-dGuo katım ürünü, Akrolein

maruziyeti sonucu N2–propanodeoksiganosin katım ürünü, etilleyici ajanlara maruziyet sonucu O4–etilimidin ve O7-etilguanin katım ürünleri, açığa çıkan katım ürünlerine örneklerdir (Kang ve Valerio, 2020).

N³-MeA ve N³-EtA gibi bazı katım ürünleri ise sadece nikotin alımına bağlı olarak ortaya çıktıkları için tütüne özgüdürler.

2.9.1. N3-MeA ve N3-EtA DNA katım ürünleri

Yukarıda da konu edildiği gibi tütüne özgü N-nitrozaminlerden olan NNK kuvvetli akciğer karsinojenidir. Bu bileşik metabolik aktivasyonla NNAL'e dönüşür ki bu ürün de potent pulmoner karsinojenidir. Araştırmalar, hedef dokularda NNK ve NNAL'in metabolik aktivasyonunun metillenmiş DNA oluşumuna neden olabileceğini göstermiştir. Dolayısıyla NNAL idrardaki total miktarı ve oluşturduğu N³-Metiladenin katım ürününün saptanması karsinogenezis için bir tanımlayıcı olarak değerlendirilmektedir (Hecht, 1999) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. NNK kaynaklı metillenmiş DNA-katım ürünü oluşumu

Çeşitli kemoterapötik ajanlar da dâhil olmak üzere kimyasallarca üretilen metilasyonun çoğunluğu, guaninin 7 numaralı azotu (%80) ve adeninin 3 numaralı azotunda (%9) meydana gelmektedir. Diğer N-metilpurinler (örn., 3-metilguanin, 1-metiladenin ve 7-metiladenin) toplam baz katım ürünlerinin % 0.5 ila% 2.0'ını oluştururlar (Beranek, 1990). Çoğu baza metil ilave edilmesi hücre ölümünü teşvik etmede rol oynamaktadır (Sedgwick, Bates, Paik, Jacops ve Lindahl, 2007).

N³-MeA promutajenik bir lezyon olup, DNA minör oluşuna çıkıntı yapar ve replikasyondan sorumlu DNA polimerazların DNA sentezini bloke ettiği için oldukça sitotoksiktir. Diğer yandan N³-EtA promutajenik DNA lezyonları olduğu düşünülmemektedir. Bununla birlikte, apürinik bölgeler etkili bir şekilde onarılmazsa, imidazol halkasının açılmasına ve DNA zincirinin kopmasına yol açabilirler. Bu nedenle, N³-MeA ve N³-EtA katım ürünleri, tütün dumanındaki kanserojen ajanlar (örn., N-nitrozaminler ve etilen oksit) tarafından indüklenen DNA hasarı için potansiyel biyobelirteçlerdir. Nitekim bu biyobelirteçlerin idrardaki düzeyleri sigara içenlerde içmeyenlere göre her biri için yaklaşık 5 kata kadar daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir (Tian vd., 2014).

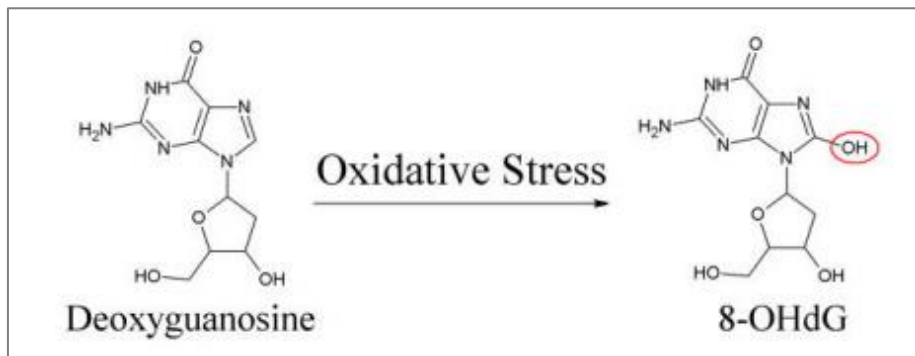
Benzer maruziyet veya kimyasalların elektronik sigara dumanında da bulunduğu araştırmalarda gösterildiği için bu DNA katım ürünlerinin elektronik sigara içen kişilerde de oluşma olasılığı tez çalışmamızın çıkış noktalarından birisidir.

2.9.2. 8-OHdG DNA katım ürünü

Reaktif oksijen türleri DNA'da 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açar (Dizdaroglu, 1998). DNA'da en düşük iyonizasyon potansiyeli ile oksidasyona en yatkın olan baz Guanin'dir (McDorman, Pachkowski, Nakamura, Wolf ve Swenberg, 2005). 8-OHdG bu bazlar içerisinde hasara karşı en duyarlı baz olduğundan, sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirticidir (De Martinis ve Bianchi, 2002). Deoksiguanozinin oksidasyonu ile yapılan DNA baz değişiminin bir ürünü olan 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının tespitinde yaygın kullanılan bir biyobelirteç olmasının yanında, karsinogenezisin başlatılması ve teşvik edilmesinde de önemli bir faktördür. 8-OHdG, tütün dumanı, asbest lifleri, ağır metaller ve PAH'lar gibi oksidatif stres faktörlerine maruz kaldıktan sonra insanlarda DNA hasarını tahmin etmek için kullanılmaktadır. Son yıllarda, 8-OHdG DNA katım ürünü, birçok çalışmada yaygın olarak sadece endojen oksidatif DNA hasarının

ölçümü için bir biyobelirteç olmasının yanı sıra, kanser de dahil olmak üzere yaşlanma, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, Parkinson, Alzheimer gibi birçok hastalık için bir risk faktörü olarak da kullanılmaktadır. Bu nedenle, 8-OHdG yalnız endojen oksidatif DNA hasarının bir göstergesi olarak değil, aynı zamanda kanser riski tahmini, erken teşhis, tedavi ve prognoz için potansiyel bir biyobelirteç olduğu bildirilmektedir (Guo vd., 2016). Gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar yardımıyla oksidatif ajanlara maruz kalan DNA'da 20'den fazla DNA katım ürünü veya oksidatif ürün belirlenmiştir. Bunlar arasında, DNA katım ürünü olarak 8-OHdG en çok çalışılanlardan biridir ve onarılmadan bırakıldığında G:C ila T: A inversiyon tipi mutasyonlara neden olduğu gösterilmiştir (Dizdaroglu, 1992; Mei, Xu ve Wu, 2001). Oksidatif DNA hasarını belirleme de, DNA'da oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilen, 8-OHdG'nin miktarsal olarak ölçümüdür (Helbock, Beckman ve Ames, 1999).

Son yıllarda, 8-OHdG vücut sıvılarında oksidatif stresin bir belirteci olarak ortaya çıkmıştır (Sosa vd., 2012). 8-OHdG, ROS'un neden olduğu oksidatif DNA hasarının en yaygın kararlı ürünüdür. Tüm pürin ve piridin bazları arasında, guanin oksidasyona en duyarlıdır. Molekülün sekizinci konumuna hidroksil radikal ilavesi, guanin ile modifiye edilmiş ürün 8-OHdG'nin oluşumuna yol açar (Şekil 2.8) (Di Minno vd., 2016). 8-OHdG formundaki oksidatif modifiye DNA, genetik materyale verilen hasarın nükleer DNA'daki en sık ve en mutajenik lezyon olduğunu ve mutajenez ve karsinogenez süreçlerinde önemli olduğunu göstermek için ölçülebilir (Evans ve Cooke, 2004).



Şekil 2.8. Deoksigoanozin modifikasyonu

Sigara içmek, DNA hasarına ve tümörle ilişkili genlerin mutasyonuna neden olduğu bilinen oksidatif stresin ana indükleyicisi olarak bilinir ve bu faktörler karsinogenezde rol oynar. Örneğin sigara dumanında bulunan karsinojenik ve mutajenik bileşikler olan PAH'ların

reaktif oksijen türlerine ve oksidatif hasarın üretimine katkıda bulunabileceğini gösteren yeterli derecede kanıt bulunmaktadır (Kamal, Cincinelli, Martellini ve Malik, 2016). Sigara içen bireylerin akciğerler ve periferik lökositleri de dahil olmak üzere insan dokularında yüksek 8-OHdG seviyeleri bildirilmiştir (Asami vd., 1996). Ayrıca, iş yerinde çevresel tütün dumanına maruz kalan pasif sigara içicilerinde 8-OHdG seviyelerinde artış bulunmuştur (Howard, Ota, Briggs, Hampton ve Pritsos, 1998). Bununla birlikte, sigarayı bırakanlar da idrar 8-OHdG seviyelerinin azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Prieme vd., 1998). 2020 yılında yayımlanan bir meta analiz çalışması sigara içme ve idrar 8-OHdG konsantrasyonları arasında anlamlı bir pozitif ilişki bulunduğunu göstermiştir (Graille vd., 2020).

Son zamanlarda elektronik sigara içenlerde, sigara içenlere benzer şekilde, sigara ile ilişkili kanser için ana hedef organ olan oral epitelinde, farklı gen ekspresyonu sergilediği gösterilmiştir (Tommasi vd., 2019). Bu durum da kansere neden olan hem elektronik sigara buharında hem de sigara dumanında bulunan birçok kanserojen kimyasalın yaratacağı etkileri, genetik ve / veya epigenetik değişiklikleri indüklemeye yeteneklerine dayandırılabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, elektronik sigara sıvısında ve buharında yapılan analizlerin, genel olarak daha düşük konsantrasyonlarda da olsa, tütün dumanında bulunanlarla aynı toksik kimyasalları ve kanserojenlerin çoğunun varlığını gösterdiğinden, benzer oksidatif stres faktörlerinin elektronik sigara içenler için de geçerli olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle e-sigara içen bireylerin idrarlarında bir DNA katım ürünü olan 8-OHdG tayinlerinin yapılması bu ürünün kullanımından kaynaklanan oksidatif DNA hasarının ve kanser riski tahmini gibi çeşitli sağlık risklerinin önceden belirlenebilmesi açısından önem taşımaktadır. Nitekim elektronik sigara buharının sıçan akciğer modelinde mutajenik ve kanser başlatıcı etkileri üzerine yapılan bir çalışma, elektronik sigaranın PAH aktivatörleri de dahil olmak üzere Faz-I karsinojen biyoaktif edici enzimler üzerinde güçlü bir indükleyici etkiye sahip olduğunu ve DNA oksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Canistro vd., 2017). E-sigara aerosolünün insanlarda ağız ve akciğer epitel hücreleri üzerine genotoksik etkilerine yönelik yapılan bir hücre kültürü çalışmasında, hücreler elektronik sigara aerosolüne veya ana akım duman ekstrelerine maruz bırakılarak, 8-OHdG düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Dumana maruz kalmayan hücrelerdeki 8-OHdG düzeyleri elektronik sigara dumanına maruz kalanlardan daha düşük bulunarak elektronik sigaranın oksidatif DNA hasarını arttırdığı araştırmacılarla bildirilmiştir (Ganapathy vd., 2017). Elektronik sigara içen (n=26) bireylerin plazma, idrar ve tükürük örneklerinde 8-OHdG düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada,

idrar 8-OHdG düzeyi sigara içmeyen bireylere göre daha yüksek tespit edilmiştir (Singh vd., 2019).

2.10. Dünyada ve Ülkemizde DNA Katım Ürünleri ile Yapılmış Çalışmalar

2020 yılında elektronik sigara kullanıcılarında (n=18) potansiyel zarar ve etkinin biyobelirteçlerini araştıran ve metal maruziyetiyle bağlantılarını gösteren ilk çalışma 8-OHdG seviyelerinin e-sigara içenlerde ($442.8 \pm 300.7 \text{ ng/mg}$) ve sigara içenlerle ($388 \pm 235 \text{ ng/mg}$) benzer bulunmuştur. Ayrıca e-sigara içenlerde çinko ve selenyum miktarı diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Ching vd., 2020)

2014 yılında yayımlanan bir çalışmada geleneksel sigara kullanıcılarında (n=193); N³-MeA, N³-EtA ve N³-HOEtA (N3-2-hidroksietil adenin) düzeyleri çalışılmış ve N³-EtA; 2,2 kat, N³-MeA; 1,8 kat ve N³-HOEtA; 2,3 kat oranda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir (Tian vd., 2014). 2010 yılında yayımlanan bir çalışmada ise sigara içen kişilerde (n=41) N3MeA ve Kotinin düzeyleri çalışılmış ve N³-MeA düzeyi sigara içenlerde 2,7 kat daha yüksek tespit edilmiştir (Hu, Lin ve Chao, 2010). 2011 yılında yayımlanan bir çalışmada ise sigara içen kişilerin (n=30) idrar ve plazmasında 8-OHdG düzeyi çalışılmış ve sigara içenlerde plazma sonuçları anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Chiang vd., 2011). 2015 yılında ise farklı katran oranı içeren sigara kullanıcılarında 1,3-bütadien maruziyetine bağlı olarak 8-OHdG düzey ölçümü yapılmıştır ve 8 mg katran içeren sigaralar ile anlamlı derecede sonuçlar yüksek bulunmuştur (Zhang vd., 2015). 2021 yılında yayımlanan bir çalışmada ise KOAH hastası sigara içen (n=60) kişilerin idrar örneklerinde; 8-oxoGuo, N3-MeA, N⁷-MeG, NNK ve NNAL düzeyleri çalışılmış ve sigara içenlerde N³-MeA, N⁷-MeG düzeyi içmeyenlere göre yüksek bulunmuştur (Shih vd., 2021). 2018 yılında yayımlanan bir çalışmada ise rastgele seçilen 15 kişinin, 6-sulfatoxymelatonin ve 8-OHdG düzeyleri, sabah ve gün içi idrar örneklerinde çalışılmış ve ikisi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (He vd., 2018). 2012 yılında yayımlanan bir çalışmada idrar, meni, tükürük, peritonel sıvı, plazma, serum, amniyotik sıvı, anne sütü gibi farklı biyolojik matrislerde 8-OHdG düzeyleri çalışılmış ve 8-OHdG düzeyine yönelik en yüksekten en düşüğe doğru sıralama; idrar, meni, amniyotik sıvı, plazma serum, periton sıvısı olmuş, tükürük örneğinde 8-OHdG saptanmamıştır (Lam vd., 2012). 2009 yılında yayımlanan bir çalışmada ise sigara içen kişilerin (n=112) idrar örneklerinde N7-metil guanin düzeyi çalışılmış ve anlamlı ilişki görülmüştür (Lin vd., 2009). 2016 yılında sigara içen (n=92) kişilerin plazma ve idrarlarında

8-OHdG düzeyleri ölçülmüş ve her iki matris ile anlamlı ilişkilendirilmiştir (Wang vd., 2016). 2011 yılında sağlıklı bireylerin (n=55) plazma ve idrarlarında on-line spe yöntemi ile LC-MSMS cihazında 8-OHdG düzeyleri ölçülmüştür (Wang vd., 2011). 2013 yılında yayımlanan bir çalışmada ise sigara içen kişilerin (n=15) tükürük örneklerinde N⁷-EtG ve N³-EtA düzeyleri çalışılmış, N7-EtG için anlamlı ilişki görülmüş olup N³-EtA ile anlamlı ilişki görülmemiştir (Chen ve Liu, 2013). 2013 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise sigara içen kişilerin (n=21) idrar örneklerinde N7-EtG ve N3-EtA düzeyleri çalışılmış, N3-EtA düzeyi 19 kat N⁷-EtG düzeyi ise 8 kat daha yüksek bulunmuştur (Chen ve Liu, 2013).

Ülkemizde DNA katım ürünlerine yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. 2020 yılında yayımlanan bir çalışmada, sigara içen (n=15) kişilerde 8-OHdG düzeyinin ölçümüne yönelik gerçekleştirilen bir çalışma; sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre 8-OHdG düzeyleri yaklaşık olarak 3 kat daha yüksek bulunmuştur (Morgil ve Çok, 2020). Piyoderma deri hastalığı geçiren köpeklerde oksidatif hasarın boyutunun ölçülmesi üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise hasta köpeklerin 8-OHdG düzeyi sağlıklı köpeklere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Ercan, 2012).

2.11. DNA Hasarı Tespit Yöntemleri

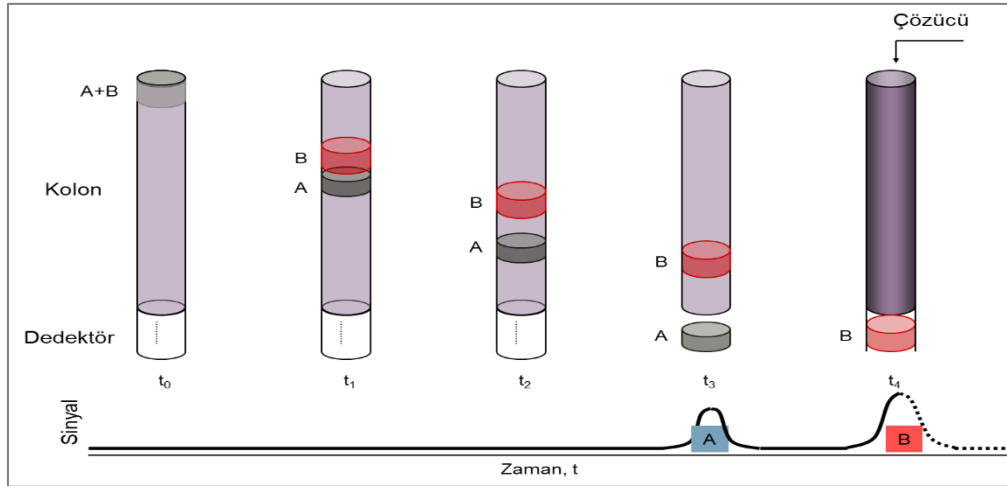
DNA katım ürünlerinin analizleri, kanser etiyolojisine katkıda bulunan kimyasallar hakkında ipuçları sunmaktadır. İnsanlarda mikrogram seviyelerinde bulunan DNA katım ürünlerinin analitik ölçümü ancak hassas tekniklerle mümkün olmaktadır. Son 20 yılda DNA hasarını tanımlamak amacıyla çok sayıda analiz teknikleri geliştirilmiştir ve bu süreçte en fazla 32P-postlabeling olarak adlandırılan, radyoaktif izotop etiketleme ile gerçekleştirilen ölçümler kullanılmıştır (Phillips, 2005, 2013; Randerath, Reddy ve Gupta, 1981). DNA hasarının tespitine yönelik olarak sık kullanılan diğer teknik ise; bir antikoron belirli bir makromolekülü tanıma ve bağlama yeteneğine dayanan İmmünohistokimya (IHC) yöntemidir. Hücre ve doku içinde bulunan bazı enzimlerin ya da makromoleküllerin lokalizasyonlarını incelemeye yardımcı olur. Dokuda saptanmaya çalışılan protein antijen, bu proteinin saptanması için yararlanılan protein ise antikordur. İşaretlenmeye çalışılan proteinin tam olarak dokunun neresinde olduğunu gösterebilen avantajlı bir yöntemdir. Bu yöntemde temel amaç hücre tipini gösteren antijenlerin hücrede tespit edilmesidir. DNA katım ürünlerinin miktarı yarı nicel olarak ölçülebildiğinden, bu yöntemde hasar tespitine yönelik elde edilen bilgi sınırlı düzeydedir (Pratt vd., 2011; Santella, 1999). Son zamanlarda

DNA katım ürünleri analizlerinde kütle spektrometre (MS) cihazları kullanılmaya başlanmıştır ve bu cihazlar DNA katım ürünlerinin taranması için en hassas ve spesifik yöntemler olmuştur. MS teknolojileri yapı kimliğini doğrulayarak veri sağlamaktadır. Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GC-MS) ve Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) bu amaçla en fazla kullanılan MS teknikleridir. GC-MS ile ölçüm yapabilmek için DNA katım ürünlerinin uçuculuklarını artırmak için kimyasal türevlendirme yapılması ve GC-MS'de kullanılan yüksek sıcaklıklarda bu katım ürünlerinin stabil kalmaları gerekmektedir. GC-MS tekniğinde tüm modifiye bazların pikleri gözlenememektedir. LC-MS/MS tekniği ise birçok DNA katım ürünlerinin, özellikle termal olarak kararsız olanların ve GC/MS tarafından termal ayrışmaya uğrayacak olan birçok polar DNA katım ürününün ölçümünde en fazla tercih edilen yöntemdir. LC-MS/MS, seçiciliği ve duyarlılığı büyük ölçüde artırdığından aynı zamanda geniş dinamik aralığı olması nedeniyle son yirmi yılda DNA katım ürünlerinin analizlerinde baskın rol oynamıştır (Brown, 2012; Gavina, Yao ve Feng, 2014; Klaene, Sharma, Glick ve Vouros, 2013; Liu ve Wang, 2015; Tretyakova, Villalta ve Kotapati, 2013).

2.12. Kromatografik Ölçüm Teknikleri

Kromatografi, karışım halindeki maddeleri ayırtmak için kullanılan ve sabit faz üzerinde hareketli (mobil) fazın hareketine bağlı olarak fizikokimyasal etkileşimle alıkonma zamanları ile birbirinden ayrıştırılması prensibine dayanmaktadır (Guiochon, Felinger ve Shirazi, 2006). Hareketli faz, gaz ise gaz kromatografi, sıvı ise sıvı kromatografi tekniği olarak adlandırılmaktadır.

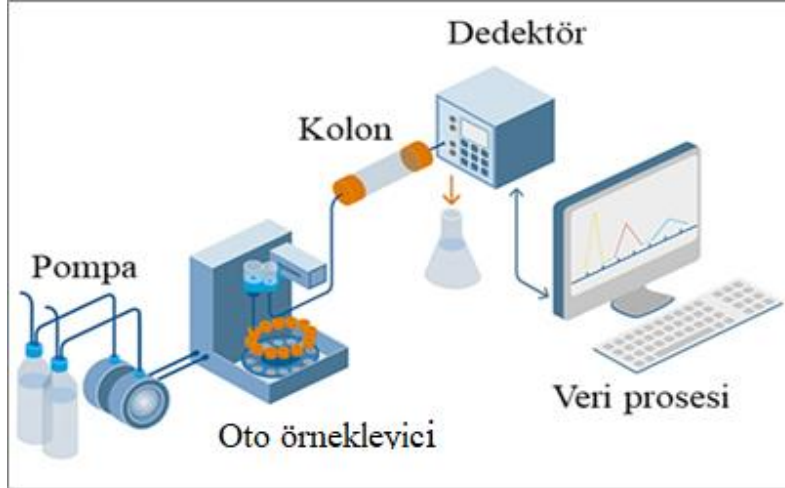
Mikhail Tswet, 1900 yılında bitki pigmentleri üzerine yaptığı araştırmalar ile kromatografiyi icat etmiştir. Maddeler fizikokimyasal özelliklerine göre etkileşime geçerek birbirlerinden ayrılırlar (Resim 2.13) (Tsvet, 1903).



Resim 2.13. Farklı maddelerin kromatografik yöntem ile ayrımı

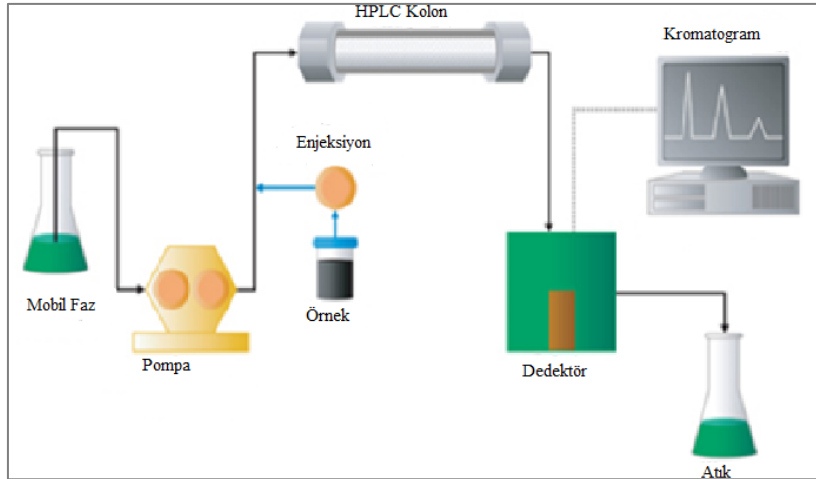
2.12.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sistemleri

Günümüzde kromatografik yöntemler içerisinde en fazla kullanılan cihazlar HPLC cihazlarıdır. Cihazının bölümleri Resim 2.14’te detaylandırılmıştır.

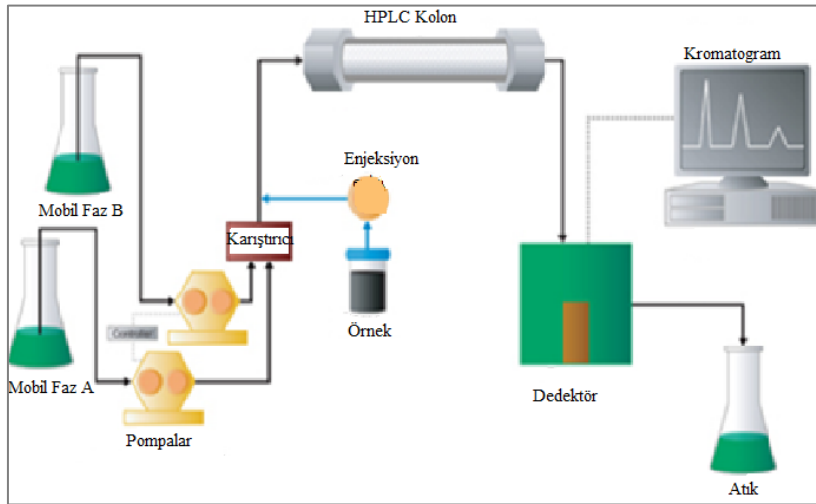


Resim 2.14. HPLC cihazının gösterimi

Pompa; kolondan akışı sağlamak için kullanılan ve mobil fazları farklı oranlarda alarak analitlerin kolonda ilerlemesini sağlamaktadır. Günümüzde, ultra performanslı sıvı kromatografi (UPLC) cihazları 1200 bar basınca kadar çıkabilmektedir. Pompalar Resim 2.15’te gösterildiği gibi İzokratik olarak yani değişen kompozisyonda tek bir mobil faz kullanılarak yapılabildiği gibi Resim 2.16’da gösterildiği gibi gradient olarak, yani değiştirilebilir kompozisyonda birden fazla mobil faz kullanılarak ta yapılabilmektedir.



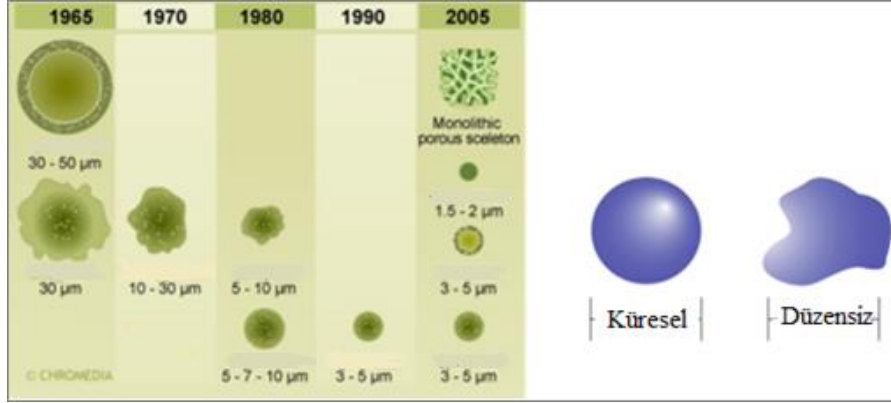
Resim 2.15. İzokratik pompa çalışma sistemi



Resim 2.16. Gradient pompa çalışma sistemi

Oto Örnekleyici (Autosampler); Analitin enjeksiyon sistemi yardımıyla örneklem bloğundan alınarak HPLC sistemine aktarılmasını sağlar.

Kolon; Kromatografik ayırımın gerçekleştiği kısımdır. Kullanılan metoda göre farklı dolgu maddeleri içeren ve farklı partikül yapılarında kolonlar bulunmaktadır. Kolon partikül yapılarının yıllar boyu değişimi Resim 2.17’de gösterilmiştir. Küresel partiküller daha iyi ayırım ve uzun kolon ömrü sağlamaktadır.



Resim 2.17. Kolon partikül yapılarının değişimi

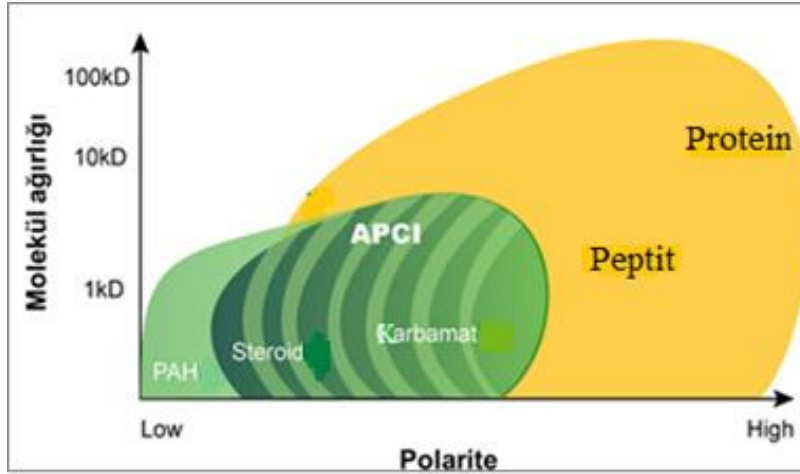
Dedeksiyon Sistemi; Kolondaki kromatografik ayırımdan gelen analit dedektöre ulaştığında, konsantrasyonuna bağlı olarak sinyallerin kromatogram üzerinde pik olarak gösterimini sağlayan bölümdür.

Dedektörler kullanılacak yönteme göre değişkenlik göstermektedir. Termal iletkenlik, Alev iyonizasyon, Nitrojen fosfor, Elektron yakalama, Atomik emisyon, Foto iyonizasyon ve Kütle spektrometre dedektörleri sıklıkla kullanılan dedektör çeşitleri arasında yer almaktadır.

2.12.2. Kütle spektroskopisi

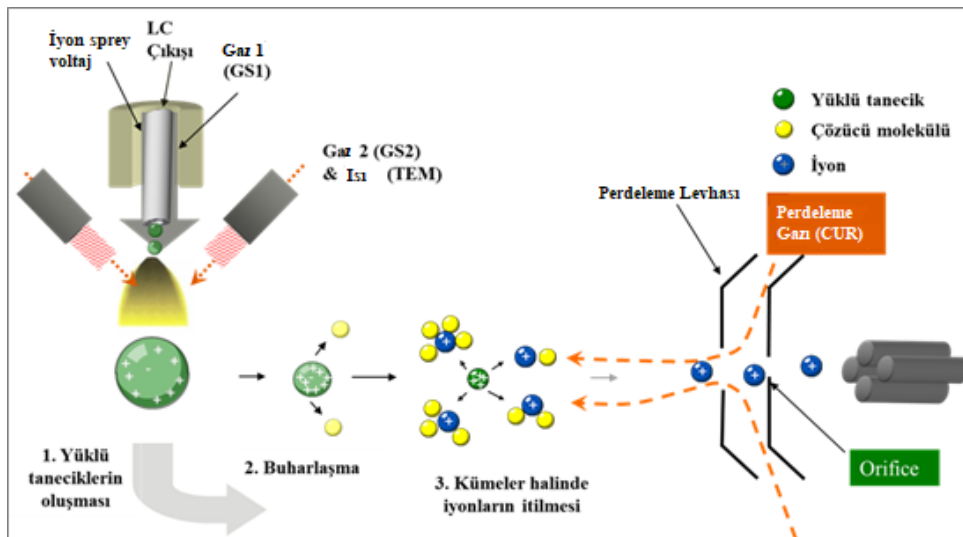
Kütle spektrometresi, iyon halindeki maddelerin kütle/yük oranı prensibi ile çalışan analitik bir ölçüm tekniğidir. MS cihazları, kromatografik cihazlarda dedektör olarak kullanılmaktadır (Dettmer, Aronov ve Hammock, 2007).

Çalışılan maddenin polaritesi ve molekül ağırlığına bağlı olarak MS ve MS/MS kütle spektroskopisi cihazlarında farklı iyon kaynakları kullanılmaktadır. İyon kaynağı, molekülleri iyonlaştırarak elektron yüklü hale getirir ve elektriksel alanda ilerlemesini sağlar. İyon kaynağı olarak; Elektrosprey, Atmosferik basınç kimyasal ve Atmosferik basınç foto iyonlaştırma teknikleri kullanılabilir. İyonizasyon teknikleri çalışılmak istenen maddenin, molekül ağırlığı ve polaritesine göre çalışma olanağı sağlamaktadır (Şekil 2.9)



Şekil 2.9. İyonizasyon teknikleri çalışma aralıkları

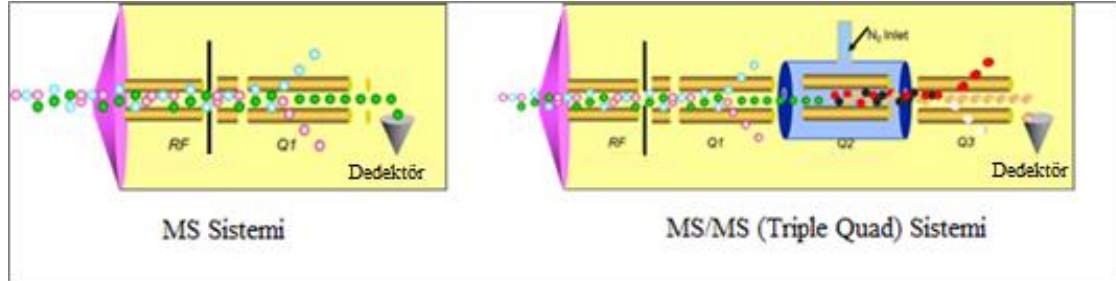
Elektro spre y iyonizasyon (ESI) en geniş uygulama alanı ile en fazla kullanılan iyonlaştırma tekniğidir (Villas-Bôas, Mas, Akesson, Smedsgaard ve Nielsen, 2005). Polar bir çözücünde çözülmüş analitin, kapiller bir spre yden püskürtülerek iyonlaştırılması esasına dayanır (El-Aneed, Cohen ve Banoub, 2009). Püskürtme işleminde, yüksek sıcaklıkta azot gazı ile analitin içinde bulunduğu çözücü ortamdan uzaklaştırılır. Özellikle polarlarda çok iyi sonuçlar vermektedir. ESI başlığının çalışma prensibi Şekil 2.10'da detaylı olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.18. ESI iyonlaştırma tekniği

Kütle spektrometreleri Şekil 2.11'de gösterildiği gibi tek kütle (Single MS) ya da çift kütle (Triple Quad Tandem MS) olarak çalışma yapabilmektedir. Kromatografik ayırmadan gelen

analit, iyon kaynağında iyonlaştırılarak gaz fazına geçirilir ve kapiller aracılığıyla kütle analizörüne taşınır, son olarak dedektöre ulaşan analitin tanımlanması bu bölümde gerçekleştirilir. MS cihazları azot gazı altında yüksek vakum altında çalışmaktadır.



Şekil 2.11. MS ve MS/MS sistemlerinin detaylı gösterimi

MS/MS kütle spektrometreleri ile Q1’de seçilmiş olan iyonlar Q2’de azot gazı ile parçalanır ve parçalanma sonucu oluşan iyonlar (daughter veya product ion) Q3’te seçilerek dedektöre ulaşır. Doğada aynı m/z oranına sahip birçok molekül bulunmaktadır ancak aynı parçalanma iyonlarına sahip molekül sayısı 1/10000’dir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma grubu seçimi ve biyolojik örnek toplama

Sunulan çalışmada amaç olarak; elektronik sigara kullanan bireylerde DNA-katım ürünlerinden kaynaklanacak olası genotoksik etkilerin belirlenmesine yönelik DNA'da kovalent olarak bağlanmış 3 farklı DNA katım ürünü ve kotinin düzeyleri değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışma grubu; sigara kullanmayan bireylerden oluşan kontrol grubu, sigara dumanına pasif maruz kalan bireyler, aktif sigara kullanan bireyler ve aktif e-sigara kullanan bireylerden oluşturulmuştur. Çalışmamızda, kontrol grubu için 41, pasif grubu için 32, sigara grubu için 39 ve e-sigara grubu için 48 olmak üzere toplam 160 bireyden spot (anlık) idrar örnekleri alınmıştır. Steril idrar kapları ile toplanan idrar örnekleri soğuk zincir altında laboratuvarda -20°C'de analiz süresine kadar saklanmıştır. Çalışma için etik kurul izni 18/12/2019 tarih ve 552 sayı ile Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (EK-1). Bilgilendirilmiş Gönüllü Oluru için form hazırlanarak katılımcıların yazılı onayları alınmıştır. Çalışmamıza katılım sağlayan gönüllülere anket uygulanarak (EK-2), e-sigara ve sigara kullanım sıklığı, sigara dumanına maruziyet yolları, alkol tüketimi ile ilgili sorularla DNA katım ürünleri miktarı ile sigara maruziyet düzeylerinin ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceği konusu aydınlatılmaya çalışılmıştır.

3.1.2. Laboratuvarda kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

LC-MS/MS; SCIEX Triple Quad 5500+ System- QTRAP (Singapur)

8-OHdG SPE kolon; Inertsil ODS-3 (33 × 2,1mm, 5 Micron)

8-OHdG analitik kolon; Inertsil, ODS-3 C18 column (150 mm×2,1 mm, 5 Mikron)

N³-Eta, N³-MeA analitik kolon; XBridge BEH Hilic (150 × 2,1 mm, 2,5 Micron)

Kotinin, Kreatinin analitik kolon; Poroshell 120 SB C18 (100 × 3,0 mm, 2,7 Mikron)

Derin Dondurucu; Meling -40 °C

Santrifüj; Sigma 1-14K 15000 rpm

Vorteks; Velp Scientifica

Elektronik Hassas Terazî; Shimadzu AY220

2ml amber renk vial ve kapağı; Agilent

Balonjoje (100cc); Isolab

Otomatik pipet (0,2-200ul, 100-1000ul) ve Pipet ucu (200ul, 1000ul); Eppendorf

3.1.3. Laboratuvarda kullanılan standart ve kimyasal maddeler

N³- Etil Adenin, 97%; Squarix Biotechnology

d₅-N³-Etil Adenin (2% d₀); TRC Canada

N³- Metil Adenin; TRC Canada

d₃-N³-Metil Adenin; TRC Canada

8-Hidroksi-2'- Deoksiguanozin; Sigma Aldrich

8-Hidroksi-2'- Deoksiguanozin (¹⁵N₅, 98%) 95%; Cambtidge Isotope Laboratories

Kreatinin; Sigma-Aldrich

Kotinin; Lipomed

d₃-Kotinin; Cerilliant

Asetonitril; Merck

Metanol; Merck

Ultra Saf Su; Merck

Amonyum Asetat; Sigma

Amonyum Format; Sigma

Formik Asit; Merck

Potasyum Klorür; Isolab

Sodyum Klorür; Loba Chemie

Üre; Isolab

Sitrik Asit; Merck

Askorbik Asit; Sigma Aldrich

Potasyum Fosfat; Isolab

Sodyum Hidroksit; Isolab

Sodyum Bikarbonat; Isolab

Sülfirik Asit; Merck

3.2. Yöntem

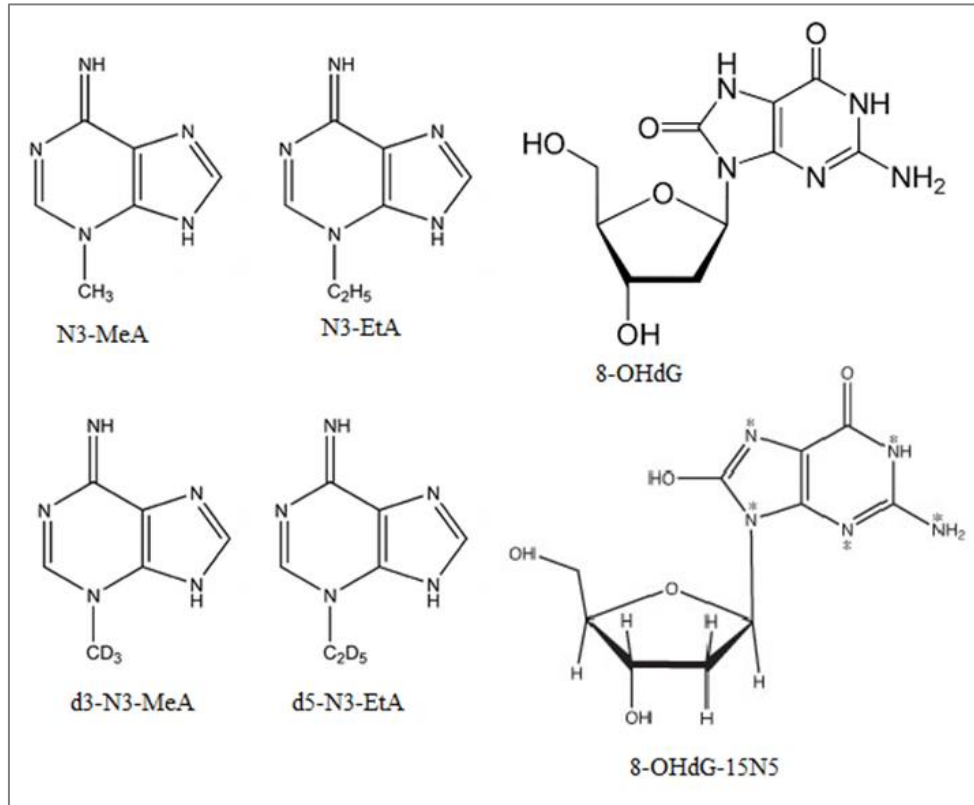
Bireylerden alınan idrar numunelerinde, sigara maruziyetinin biyogöstergesi olarak N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin ve Kreatinin miktar analizleri Sciex TripQuad 5500+ QTRAP

LC-MS/MS cihazı ile yapılmıştır. Analizi yapılan maddeler ve bu maddelerin döteryumlu iç standartları (İS) Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Analizi yapılan maddeler ve kullanılan döteryumlu iç standartlar

Maruziyetin biyobelirteçleri	Kısaltma	İç standart
N ³ -Etil Adenin	N ³ -EtA	d ₅ -N ³ -Etil Adenin
N ³ -Metil Adenin	N ³ -MeA	d ₃ -N ³ -Metil Adenin
8-hidroksi-2'- deoksiguanozin	8-OHdG	¹⁵ N ₅ -8-OHdG
Kotinin		d ₃ -Kotinin

Analizi yapılan DNA katım ürünlerinin ve bu maddeler için kullanılan iç standartların kimyasal yapıları Şekil 3.1’de sunulmuştur.



Şekil 3.1. DNA katım ürünleri kimyasal yapıları

İdrar numunelerinde DNA katım ürünlerinin tayini için hızlı, yüksek duyarlılıkta, tek enjeksiyonla kalitatif ve kantitatif tayini aynı anda ve düşük tayin limitlerinde gerçekleştirebileceğimiz LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır.

Çalışmamızda N³-EtA ve N³-MeA için Tian ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Tang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan yararlanılarak (Tang, Wang, Li, Zhang ve Zhang, 2019; Tian vd., 2014) en iyi sinyallerin elde edildiği modifiye yeni bir metot oluşturulmuştur.

8-OHdG çalışmamızda Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Chen ve arkadaşlarının (Chen, Jhou, Lee ve Lin, 2016; Hu, Chao ve Sie, 2010) yaptığı çalışmalardan yararlanılmıştır. 8-OHdG maddesi için diğer maddelerden farklı olarak online SPE sistemi kullanılmıştır. Sistem 8-OHdG analizleri için LC-MS/MS çalışma koşullarında detaylı anlatılmıştır.

Kotinin ve Kreatinin çalışmamızda Hou ve arkadaşlarının (Hou vd., 2012) yaptığı çalışmadan yararlanılmıştır. Çalışmamızda spot idrar örnekleri toplandığından sonuçlar kreatinin miktarları ölçülerek hesaplanmıştır.

3.2.1. Sentetik idrar çözeltisi hazırlama

Çalışmada matrizen kaynaklanabilecek kirliliği elimine etmek için Hu ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandıkları gibi sentetik idrar çözeltisi hazırlanmıştır (Hu vd., 2010).

Sentetik idrar çözeltisi

500 ml Ultra Saf Su

3,8 g Potasyum Klorür

8,5 g Sodyum Klorür

24,5 g Üre

1,03 g Sitrik Asit

0,34 g Askorbik Asit

1,18 g Potasyum Fosfat

1,4 g Kreatinin

0,64 g Sodyum Hidroksit

0,47 g Sodyum Bikarbonat

0,28 ml Sülfirik asit karışımının, ultra saf su ile 1 L'ye tamamlanması hazırlanmıştır.

3.2.2. N³-EtA ve N³-MeA analizleri için kalibrasyon eğrisi hazırlama

N³-EtA ve N³-MeA standartları ve iç standartları için stok çözeltiler asetonitril içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Kalibrasyon ara stok standartları karışımında halinde 0,5; 1,0; 5; 10; 25; 50; 100; 200 konsantrasyonlarda %0,1 Formik Asit (FA) içeren Asetonitril (ACN) içerisinde hazırlanmıştır. Sentetik idrar çözeltisi içerisinde son hacimde toplam IS konsantrasyonları d₅-N³-EtA için 2 ng/ml ve d₃-N³-MeA için 5 ng/ml olacak şekilde hesaplanarak eklenmiştir. Matris uyumlu kalibrasyon standartları, ara stok çözeltilerinden sentetik idrar çözeltisi içerisinde kör (blank); 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5; 10; 20 ng/ml konsantrasyonlarda on kat seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.3. 8-OHdG analizi için kalibrasyon eğrisi hazırlama

8-OHdG standardı ve ¹⁵N₅-8-OHdG için stok çözeltiler su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Kalibrasyon ara stok standartları 1; 5; 10; 25; 50; 100; 200 ng/ml konsantrasyon içerecek şekilde saf su içerisinde hazırlanmıştır. Kalibrasyon standartları son hacimde 5 ng/ml ¹⁵N₅-8-OHdG (IS) içerecek şekilde %5 Metanol (MeOH) ve %0,1 Formik Asit içeren sentetik idrar çözeltisi ile seyreltilerek kör; 0,1; 0,5; 10; 2,5; 5; 10; 20 ng/ml konsantrasyonlarda on kat seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.4. Kotinin ve Kreatinin analizleri için kalibrasyon eğrisi hazırlama

Kotinin ve Kreatinin standartları ve iç standartları için stok çözeltiler su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Kotinin için ara stok standartları 1; 5; 10; 50; 100; 500; 1000; 5000 ng/ml konsantrasyonlarda saf su içerisinde hazırlanmıştır. Kreatinin için ara stok standartları 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 500 µg/ml konsantrasyonlarda saf su içerisinde hazırlanmıştır. Kalibrasyon standartları son hacimde toplam 10 ng/ml d₃-N³-MeA ve 5 ng/ml d₃-Kotinin içerecek şekilde saf suda kör; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 500 ng/ml Kotinin ve kör; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50 µg/ml Kreatinin içerecek şekilde ara stoklardan 10 kat seyreltilerek karışım halinde hazırlanmıştır.

3.2.5. Biyolojik örnek hazırlama

Çalışmamızda 160 gönüllüden alınan spot idrar örnekleri analiz yapılincaya kadar -20° C’de saklanmıştır. Örnekler analiz öncesinde oda sıcaklığına getirilmiştir.

N³-EtA ve N³-MeA analizi için biyolojik örnek hazırlama

Örnekler iki paralel olacak şekilde 1'er ml mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine toplam hacimde 2 ng/ml d₅-N³-EtA, 5 ng/ml d₃-N³-MeA ve %0,1 Formik Asit içeren Asetonitril' den 1 ml eklenerek 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan fazdan 1 ml alınarak vialerle aktararak LC-MS/MS cihazında analize alınmıştır.

8-OHdG analizi için biyolojik örnek hazırlama

Örnekler iki paralel olacak şekilde 1'er ml mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 5 ng/ml ¹⁵N₅-8-OHdG IS ve %0,1 Formik Asit içeren Metanol'den 1 ml eklenerek 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan fazdan 1ml vialerle aktararak LC-MS/MS cihazında analize alınmıştır.

Kotinin ve Kreatinin analizi için biyolojik örnek hazırlama

Örneklerden iki paralel olacak şekilde 1'er ml mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine toplam hacimde 10 ng/ml d₃-N₃-MeA, 5 ng/ml d₅ Kotinin ve %0,1 Formik Asit içeren Asetonitril' den 1 ml eklenerek 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan fazdan 100 µl vialerle aktarılmıştır üzerine 900 µl saf su eklenerek LC-MS/MS cihazında analize alınmıştır.

3.2.6. LC-MS/MS çalışma koşulları

Enstrümental analizler için Sciex Triple Quad 5500+ LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır. Tüm maddelerin analitik saflıkta ana standartları ve döteryumlu iç standartları ile metot optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon için öncelikle her maddenin ana iyonlarının (precursor iyon) geçişleri, Q1 tarama ile pozitif ve negatif modda iyonlaştırılarak en yüksek sinyalin elde edildiği iyon modu seçilmiştir. Daha sonra Q3 sim modu ile ana iyon farklı enerjilerde parçalanarak en iyi sinyali veren iki ürün (product) iyon belirlenmiştir. Product iyonlar için farklı enerjiler kullanılarak en yüksek sinyalin elde edildiği enerji düzeyleri belirlenmiştir. Her ürün iyonu için farklı kümelenme potansiyeli (DP), çarpışma enerjisi (CE), giriş potansiyeli (EP) ve çarpışma çıkış potansiyeli (CXP) uygulanarak en yüksek sinyalin elde edildiği değerler için metot oluşturulmuştur. Ana iyon ve parçalanma iyonları için optimize ölçüm süreleri (dwell time) ve son olarak her madde için farklı

tamponlar içeren mobil fazlar ve analitik kolonlar denenmiştir. Analiz metodu için kromatografik ayırımın en iyi yapıldığı ve düşük konsantrasyonda en yüksek sinyalin elde edildiği analitik kolonlar ve mobil fazlar belirlenmiştir.

N³-EtA ve N³-MeA analizleri için LC-MS/MS çalışma koşulları

N³-EtA ve N³-MeA için LC-MS/MS şartları, Çoklu Reaksiyon İzleme (Multiple Reaction Monitoring, MRM) koşulları ve analiz için kullanılan kromatografik koşullar sırası ile Çizelge 3.2, Çizelge 3.3, Çizelge 3.4’ te sunulmuştur.

Çizelge 3.2. N³-EtA ve N³-MeA için LC-MS/MS çalışma koşulları

Kolon	XBridge BEH Hilic (150 × 2,1 mm; 2,5 Mikron)
Mobil Faz A	10 mM Amonyum Asetat %0,1 FA
Mobil Faz B	%95 ACN (v/v) %0,1 FA
Akış Hızı	0,4 µL/dk
Enjeksiyon hacmi	5 µl
Source sıcaklığı	550 °C
İyon Spreyleme voltajı	4000 V
Kolon sıcaklığı	40 °C
Numune yeri sıcaklığı	4 °C
İç standartlar	d ₅ -N ³ -EtA d ₃ -N ³ -MeA

Çizelge 3.3. N³-EtA ve N³-MeA için MRM koşulları

Madde	Öncü İyon	Ürün İyon	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	Ölçüm süresi [ms]
N ³ -EtA	164,1	136,0	85	10	85	25	75
	164,1	119,0	85	10	85	39	75
d ₅ -N ³ -EtA	169,2	137,1	85	10	85	27	75
N ³ -MeA	150,1	123,0	100	10	30	12	100
	150,1	108,0	100	10	30	44	100
d ₃ -N ³ -MeA	153,1	126,1	100	10	30	12	100

Çizelge 3.4. N³-EtA ve N³-MeA için kromatografik koşullar

Zaman (dk)	Akış (ml/dk)	Mobil Faz A	Mobil faz B
0,0	0,4	0	100
1,0	0,4	0	100
6,0	0,4	20	80
7,0	0,4	30	70
8,0	0,4	45	55
11,0	0,4	45	55
11,1	0,4	0	100
13,0	0,4	0	100

Analiz süresi 14 dakika pik alıkonma zamanı N³-EtA için 5,02 dakika ve N³-MeA için 5,70 dakikadır.

8-OHdG analizleri için LC-MS/MS çalışma koşulları

8-OHdG için optimizasyon parametrelerini içeren LC-MS/MS şartları ve MRM koşulları sırası ile Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. 8-OHdG analizi LC/MS-MS çalışma koşulları

On-line SPE Kolon	Inertsil ODS-3 (33 × 2,1mm, 5 Mikron)
Analitik Kolon	Inertsil, ODS-3 C18 kolon (150 mm×2,1 mm, 5 Mikron)
Mobil Faz SPE I A	%5 MeOH %0,1 FA
Mobil Faz SPE I B	%90 ACN %0,1 FA
Mobil Faz Analitik II A	%5 ACN %0,1 FA
Mobil Faz Analitik II B	%95 ACN %0,1 FA
Akış Hızı	0,2 µL/dk
Enjeksiyon hacmi	20 ul
Source sıcaklığı	600 °C
İyon Spreyleme voltajı	5500 V
Kolon sıcaklığı	40 °C
Numune yeri sıcaklığı	4 °C
İç standartlar	¹⁵ N ₅ -8-OHdG

Çizelge 3.6. 8-OHdG için MRM koşulları

Madde	Öncü İyon	Ürün İyon	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	Ölçüm süresi [ms]
8-OHdG	284,2	168,0	50	10	19	11	100
	284,2	140,0	50	10	46	11	100
¹⁵ N ₅ -8-OHdG	289,1	173	50	10	19	11	100

8-OHdG analizinde online SPE sistemi kullanılmıştır. İki konumlu anahtarlı vana sistemine sahip sistem üzerinde, bir adet C18 (33 mm × 2.1 mm, 5 mikron, Inertsil, ODS-3) On-line SPE kolonu ve bir adet C18 (150 mm x 2.1 mm, 5 mikron, Inertsil, ODS-3) analitik kolonu yer almaktadır. Kolon geçişleri AB SCIEX kontrol yazılımı (Analyst; Applied Biosystems) kullanılarak sağlanmıştır. LC gradientini içeren kromatografik koşullar Çizelge 3.7’de, kolon değişim işlem sırası ise Şekil 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.7. 8-OHdG kromatografik koşullar

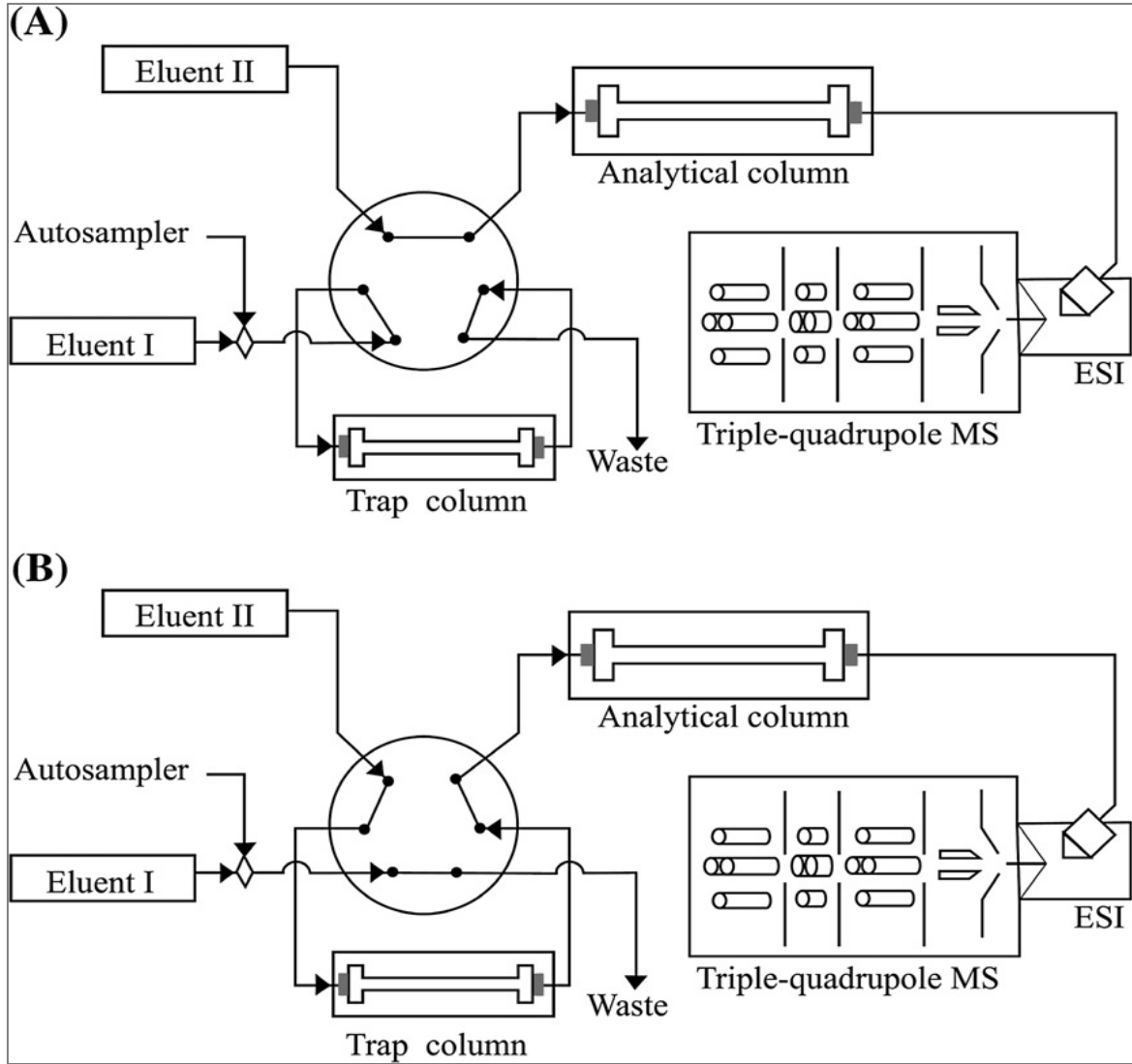
Zaman (dk)	Akış (ml/dk)	Mobil Faz On-line SPE		Akış (ml/dk)	Mobil Faz Analiz		Zaman (dk)	Valf Pozisyonu
		A	B		A	B		
0,0	0,2	100	0	0,2	100	0	0,0	A
5,5	0,2	100	0	0,2	100	0	1,0	B
8,0	0,2	0	100	0,2	0	100	3,5	A
8,1	0,2	100	0	0,2	100	0	12,0	A
12,0	0,2	100	0	0,2	100	0		

Mobil Faz, On-line SPE; A: 5 % MeOH 0,1 % FA; B: 90 % ACN 0,1 % FA

Mobil Faz, Analiz; A: 5 % ACN 0,1 % FA; B: 95 % ACN 0,1 % FA

Anahtarlama vanası Şekil 3.2 A konumunda iken, 20 µl idrar örneği, %5 MeOH %0,1 FA (On-line SPE A) mobil fazı ile SPE kolonuna yüklenmiştir. SPA kolonunda 1 dakikalık zenginleştirme süresinden sonra enjeksiyon için anahtarlama vanası B konuma getirilmiştir. Enjeksiyondan 2,5 dakika sonra sistem vanası tekrar A konumuna getirilerek SPE kolonu %90 ACN %0,1 FA (On-line SPE B) mobil fazı ile 3 dakika yıkanmıştır. Kolonun şartlanması ve sistemin sonraki analiz için dengeye gelebilmesi için 4 dakika On-line SPA A mobil fazı ile istem hazırlanmıştır.

8-OHdG için analiz süresi 12 dakika ve pik alıkonma zamanı 7,65 dakikadır.



Şekil 3.2. Kolon anahtarlama sisteminde (A) saflaştırma ve zenginleştirme akış şeması, (B) analiz akış şeması

Kotinin ve Kreatinin analizi için LC/MS-MS çalışma koşulları

Kotinin ve Kreatinin için optimizasyon parametrelerini içeren LC-MS/MS cihazı, MRM koşulları ve analiz için kullanılan gradient koşulları sırası ile Çizelge 3.8, Çizelge 3.9 ve Çizelge 3.10'da verilmiştir.

Çizelge 3.8. Kotinin ve Kreatinin analizi için LC/MS-MS çalışma koşulları

Kolon	Poroshell 120 SB C18 (100 × 3,0 mm, 2,7 Mikron)
Mobil Faz A	5 mM Amonyum Format
Mobil Faz B	%5 MeOH ile %0,1 FA
Akış Hızı	0,2 µL/dk
Enjeksiyon hacmi	2 ul
İyon Kaynağı sıcaklığı	500 °C
İyon Spreyleme voltajı	4500 V
Kolon sıcaklığı	30 °C
Numune yeri sıcaklığı	4 °C
İç standartlar	d ₃ -Kotinin d ₃ -N ³ -MeA

Çizelge 3.9. Kotinin ve Kreatinin analizi için MRM koşulları

Madde	Öncü İyon	Ürün İyon	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]	Ölçüm süresi [ms]
Kotinin	177,2	98,2	41	10	31	4	150
	177,2	80,1	41	10	33	4	150
d ₃ -Kotinin (İS)	180,2	101,2	21	10	30	12	150
Kreatinin	114,0	44,0	50	10	25	20	150
	114,0	86,2	50	10	25	20	150
d ₃ -N ³ -MeA	153,1	126,1	100	10	30	12	150

Çizelge 3.10. Kotinin ve Kreatinin analizi için kromatografik koşullar

Zaman (dk)	Akış (ml/dk)	MPA	MPB
	0,25	20	80

Analiz izokratik olarak %20 MPA ve %80 MPB ile yapılmıştır.

Analiz süresi 6 dakika ve pik alıkonma zamanı Kotinin için 2,42 dakika Kreatinin için 2,05 dakikadır.

Analizi yapılan tüm maddelerimizin için analiz süreleri ve alıkonma zamanları Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Analizi yapılan maddelerin LC-MS/MS cihazında alıkonma zamanları

Madde	Analiz Süresi (dk)	RT (dk)
N ³ -EtA	14	5,02
N ³ -MeA	14	5,70
8-OHdG	12	7,65
Kotinin	6	2,42
Kreatinin	6	2,05

3.2.7. Yöntem validasyonu

Metot validasyonu FDA Biyoanalitik Metot Geçerli Kılma Rehberi'ne göre gerçekleştirilmiştir. Özgünlük, doğrusalılık, doğruluk ve geri kazanım, gün içi ve günler arası kesinlik, teşhis sınırı ve miktar tayini alt sınırı çalışmaları bu rehbere göre doğrulanmıştır (FDA, 2018).

Kalibrasyon ve doğruluk

Doğrusallık çalışması için Bölüm 3.2.2, 3.2.3 ve 3.2.4'te belirtilen konsantrasyonlarda standartlar hazırlanmış ve matris uyumlu kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Çalışma için 3 farklı konsantrasyon seviyesi belirlenerek 2 tekrarlı çalışma yapılmıştır ve madde konsantrasyonuna bağlı cihazdan alınan sinyal ile her bir analit için yüksek korelasyon katsayısı ($r^2 > 0,999$) sağlanmıştır.

Tespit (dedeksiyon) limiti (LOD), tayin (kantitasyon) limiti (LOQ)

N³-EtA ve N³-MeA için 0,01 ng/ml, 8-OHdG için 0,05 ng/ml, Kotinin için 0,100 ng/ml, Kreatinin için 0,001 µg/ml seviyeleri için 10'ar adet paralel çalışma yapılmıştır. Çalışma sonucunda standart sapma (S) değeri hesaplanmıştır. Standart sapma değerinin 3 katı LOD, 10 katı ise LOQ değeri olarak hesaplanmıştır.

Kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik)

Tekrarlanabilirlik için Kör numuneye düşük (LOD), orta ve yüksek seviye konsantrasyonlarda standart eklenerek (spike) her seviye için iki paralel olarak cihazda

ardışık on ölçüm kayıt altına alındı. Bu ölçümlerden % rölatif standart sapma (%RSD_r) değeri hesaplandı.

Tekrar üretilebilirlik için üç farklı seviyede iki paralel olarak 2 ay içerisinde yedi farklı günde ölçümler gerçekleştirildi. Bu ölçümlerden tekrarlanabilirlik için % rölatif standart sapma (%RSD_R) değeri hesaplandı.

Geri kazanım

Geri kazanım, Kör numuneye standart eklenerek elde edilen deneysel miktarın teorik miktara oranına göre hesaplanmıştır.

3.2.8. İstatistiksel analizler

N³EtA, N³MeA, 8-OHDg ve Kotinin sonuçlarının cinsiyet, e-sigara sistemi, röntgen durumu ve alkol kullanma durumu bakımından farklılık olup olmadığı “Mann-Whitney U Testi” ile incelenmiştir. Normal dağılıma uygun olmayan değişkenlere ait tanımlayıcı istatistik olarak; ortanca, minimum ve maksimum değerleri kullanılmıştır.

Cinsiyete göre N³-EtA, N³-MeA, 8-OHDg ve Kotinin sonuçlarının normal dağılıma uygunluğu grupların gözlem sayılarının 50’den büyük olması nedeniyle Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiş ve normal dağılıma uygun olmadığı görülmüştür.

N³-EtA, N³-MeA, 8-OHDg ve Kotinin sonuçlarının, e-sigara tipi, sigara içme sıklığı, sigara içme süresi, e-sigara içme sıklığı ve e-sigara içme süresi bakımından farklılık olup olmadığı “Kruskal Wallis Testi” ile incelenmiştir. Normal dağılıma uygun olmayan değişkenlere ait tanımlayıcı istatistik olarak ortanca, minimum ve maksimum değerleri kullanılmıştır.

Gruplara göre N³-EtA, N³-MeA, 8-OHDg ve Kotinin sonuçlarının normal dağılıma uygunluğu grupların gözlem sayılarının 50’den küçük olması nedeniyle Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiş ve normal dağılıma uygun olmadığı görülmüştür.

Bütün analizler için I. Tip hata (α) değeri 0,05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışma gruplarımıza katılan gönüllü sayısı 160 kişi olup, katılımcıların cinsiyet, grup, kullandığı e-sigaranın sistemi, kullanılan e-sigara türü, sigara içme sıklığı, e-sigara içme sıklığı, sigara içme süresi ve e-sigarayı içme süresi verilerini içeren bulgular Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Katılımcıların demografik bilgileri

N= 160	n	%
Cinsiyet		
Erkek	66	41,3
Kadın	94	58,8
Toplam	160	100,0
Grup		
Kontrol	41	25,6
Pasif içici	32	20,0
Sigara içen	39	24,4
E-sigara içen	48	30,0
Toplam	160	100,0
E- Sigara Sistemi		
Kartuşlu	28	58,3
Isıtmalı	20	41,7
Toplam	48	100,0
Sigara İçme Sıklığı		
1- 10 Adet Sigara / Gün	15	38,5
11- 20 Adet Sigara / Gün	13	33,3
20+ Adet Sigara / Gün	11	28,2
Toplam	39	100,0
E-Sigara İçme Sıklığı		
Yarım saatten az sürede bir kez	15	31,3
Yarım saat ile 1 saat arası bir kez	14	29,2
1 saat ile 1,5 saat arası bir kez	9	18,8
2 saat ile 3 saat arası bir kez	10	20,8
Toplam	48	100,0
Sigara İçme Süresi		
15 yıldan az	9	23,1
15 – 20 yıl arası	8	20,5
20 yıldan daha fazla	22	56,4
Toplam	39	100,0
E-Sigara İçme Süresi		
1 yıldan az	10	20,8
1 – 2 yıl arası	12	25,0
2 yıldan daha fazla	26	54,2
Toplam	48	100,0

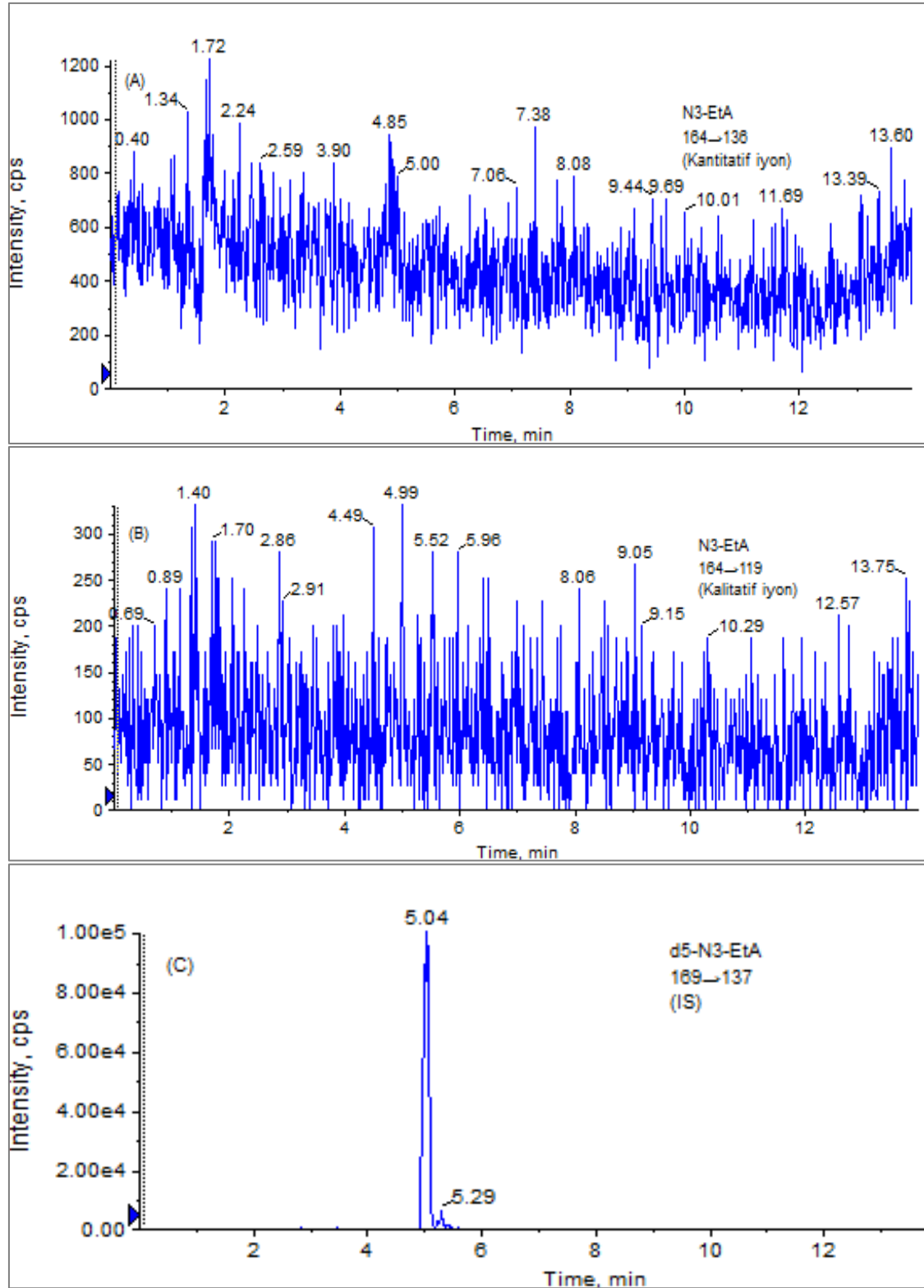
4.2. Yöntem Kalibrasyonu

Sunulan çalışmada analizi yapılan N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin ve Kreatinin maddelerinin analitik saflıkta standartları ile döteryumlu iç standartlarından hazırlanan çözeltiler cihazda optimizasyonları yapıldıktan sonra Bölüm 3'te belirtilen cihaz parametreleri, MRM ve gradient koşulları altında, matris içinde hazırlanan kalibrasyon standart çözeltileri LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir.

Ölçümler sonucu elde edilen, kör (blank) ve LOQ seviyesi için N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin için kantitatif iyon (Q1), kalitatif iyon (Q2) ve IS kromatogram örnekleri aşağıdaki sırası ile 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3 ve 4.1.4 bölümlerinde sunulmuştur.

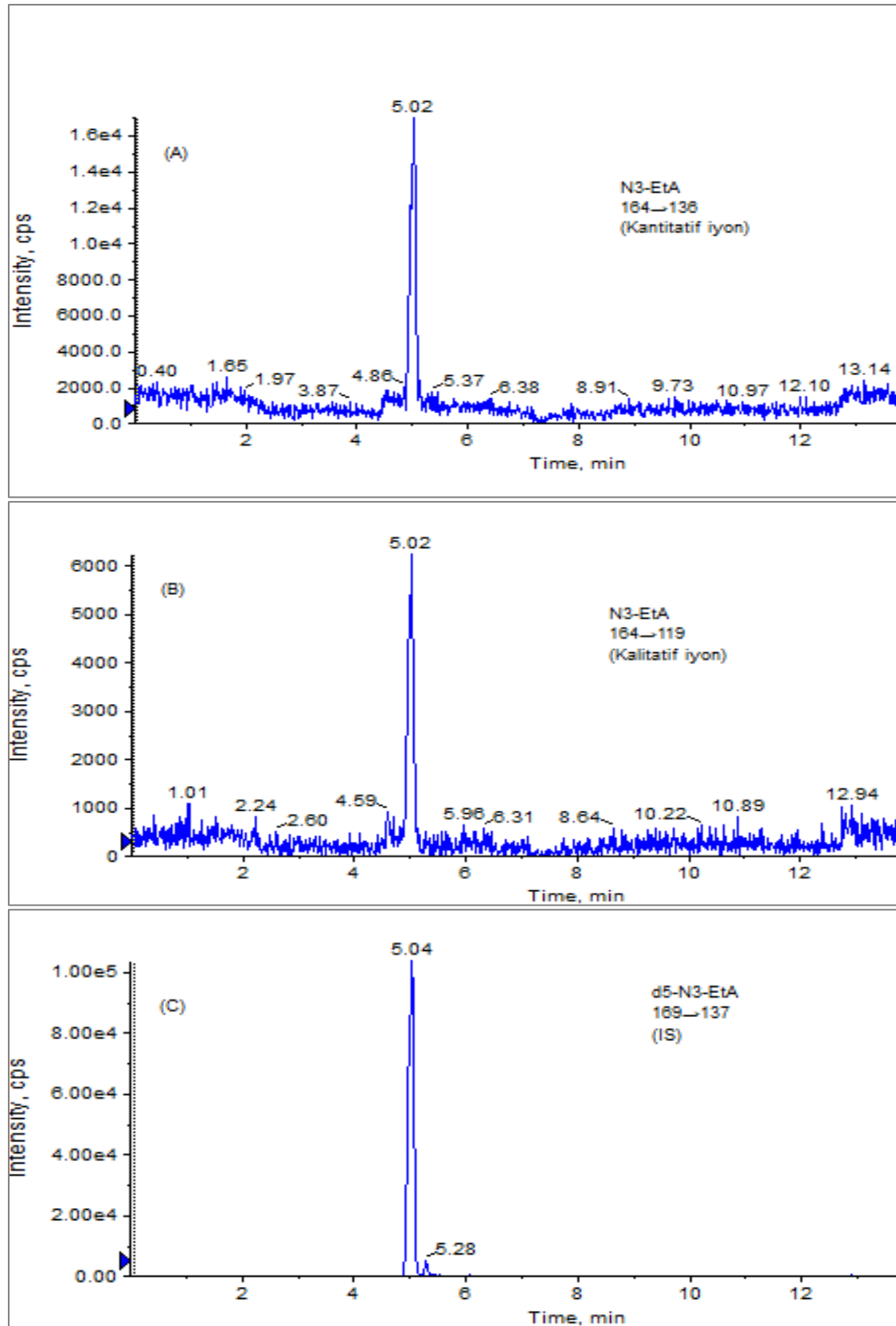
4.2.1. N³-EtA için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu

N³-EtA için blank seviyesi için kantitatif iyon (Q1 169→137), kalitatif iyon (Q2 164→119) ve d₅-N³-EtA (IS 169→137) kromatogram örnekleri Şekil 4.1'de sunulmaktadır.



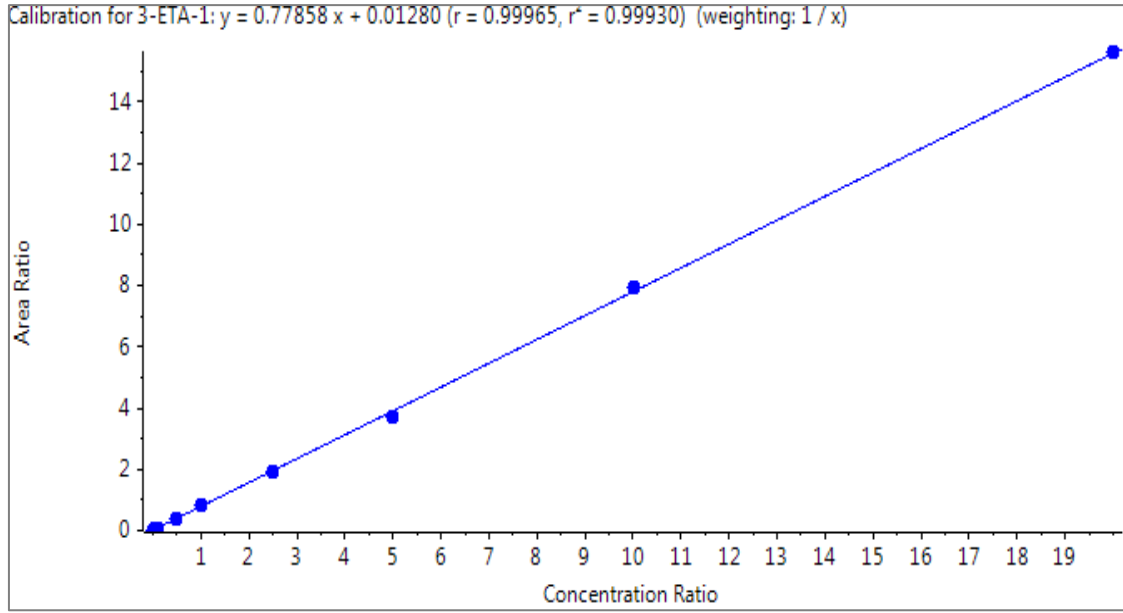
Şekil 4.1. N³-EtA için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları

N³-EtA için 0,05 ng/ml, LOQ seviyesi için kantitatif iyon, kalitatif iyon ve IS kromatogram örnekleri Şekil 4.2’de sunulmaktadır.



Şekil 4.2. N³-EtA için 0,05 ng/ml, LOQ seviyesinde, (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları

N³-EtA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi Şekil 4.3'te sunulmuştur.

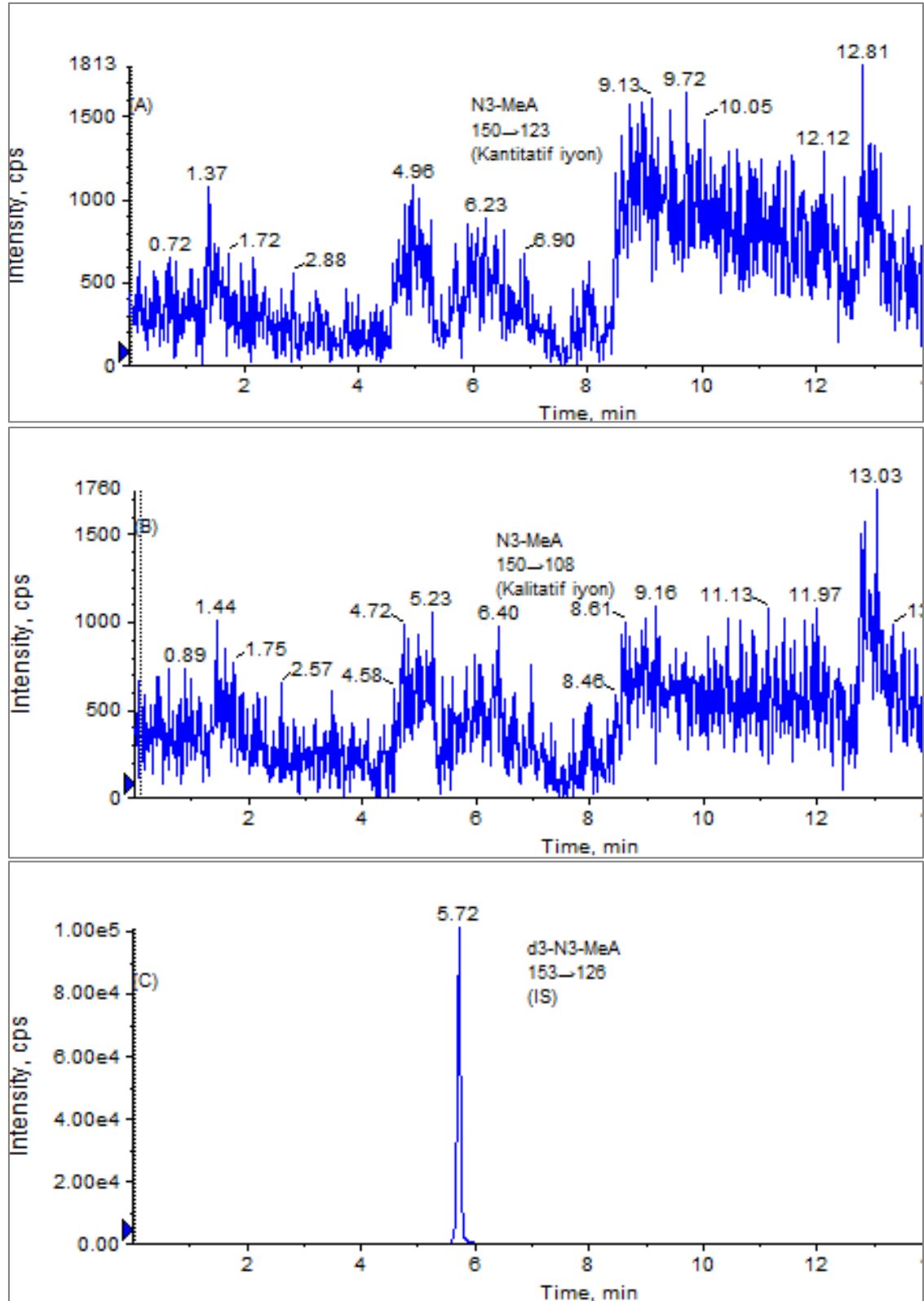


Şekil 4.3. N³-EtA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi

N³-EtA için kalibrasyon eğrisi için $r^2 = 0.999$ olarak hesaplanmıştır.

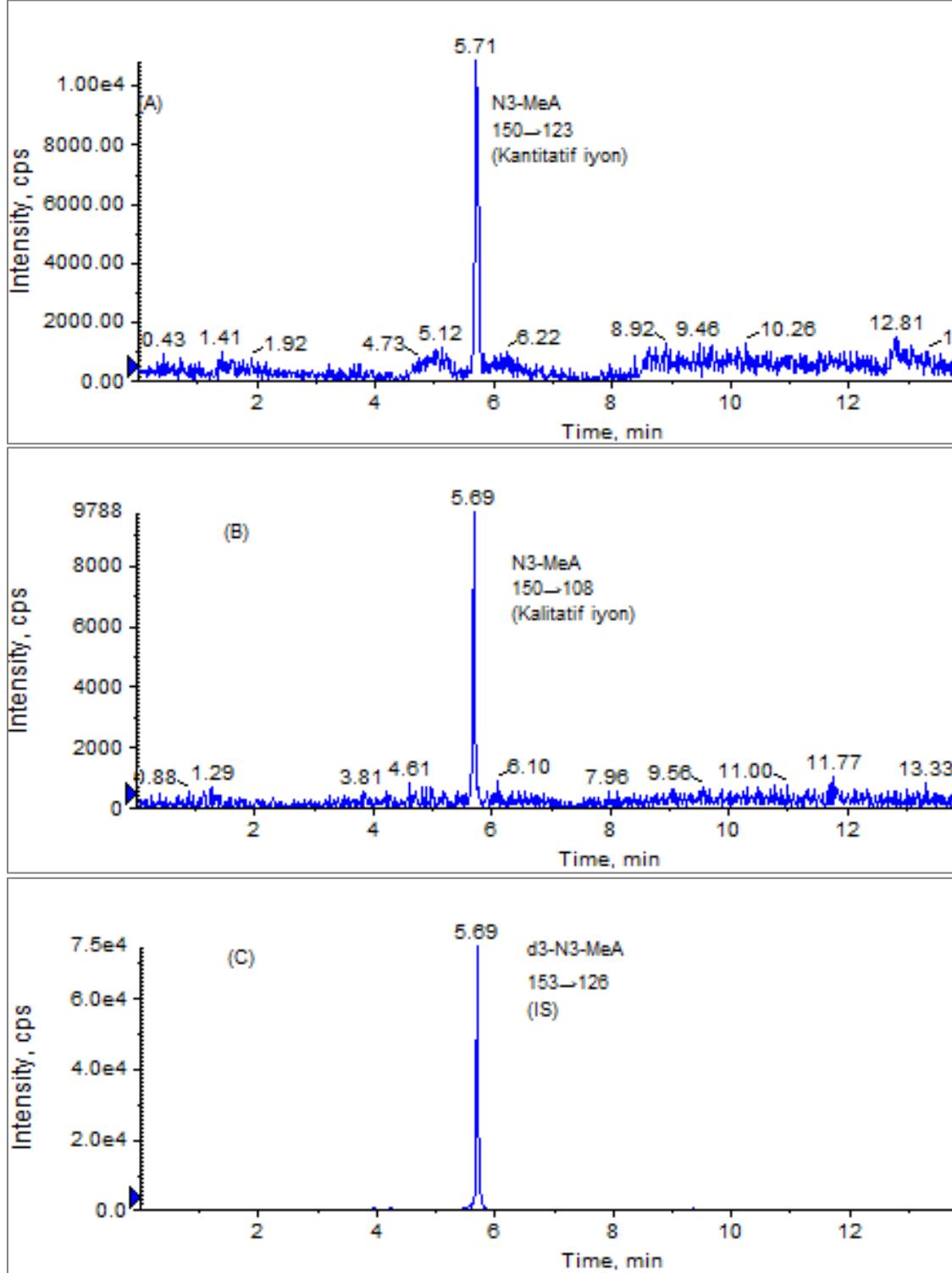
4.2.2. N₃-MeA için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu

N³-MeA blank seviyesi için kantitatif iyon (Q1 150→123), kalitatif iyon (Q2 150→108) ve d₅-N³-EtA (IS 153→126) kromatogram örnekleri Şekil 4.4'te sunulmaktadır.



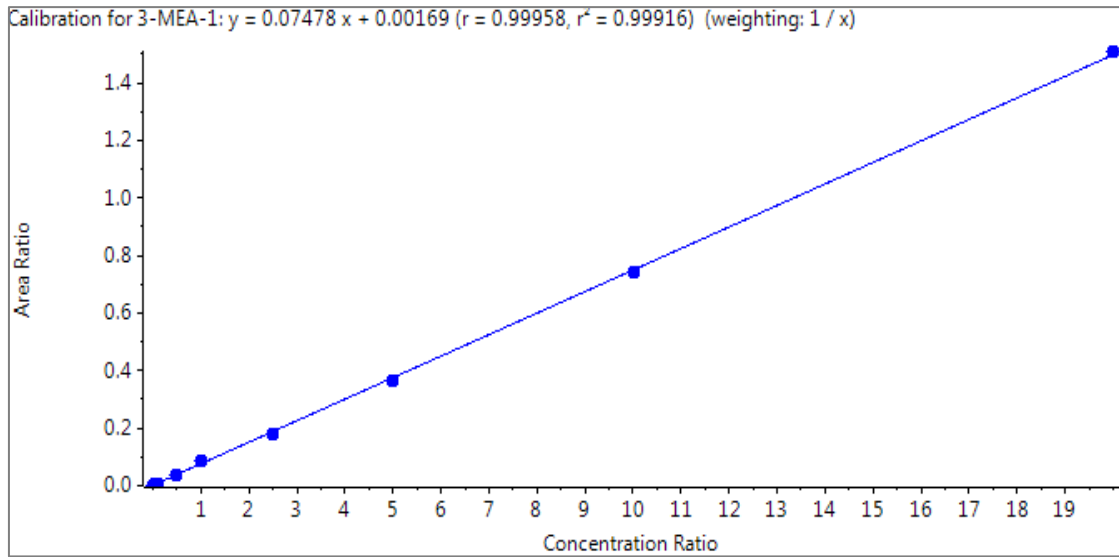
Şekil 4.4. N³-MeA için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları

N³-MeA için 0,05 ng/ml, LOQ seviyesi kantitatif iyon, kalitatif iyon ve IS kromatogram örnekleri Şekil 4.5'te sunulmaktadır.



Şekil 4.5. N³-MeA için 0,05 ng/ml seviyesinde (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramları

N³-MeA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi Şekil 4.6’da sunulmuştur.

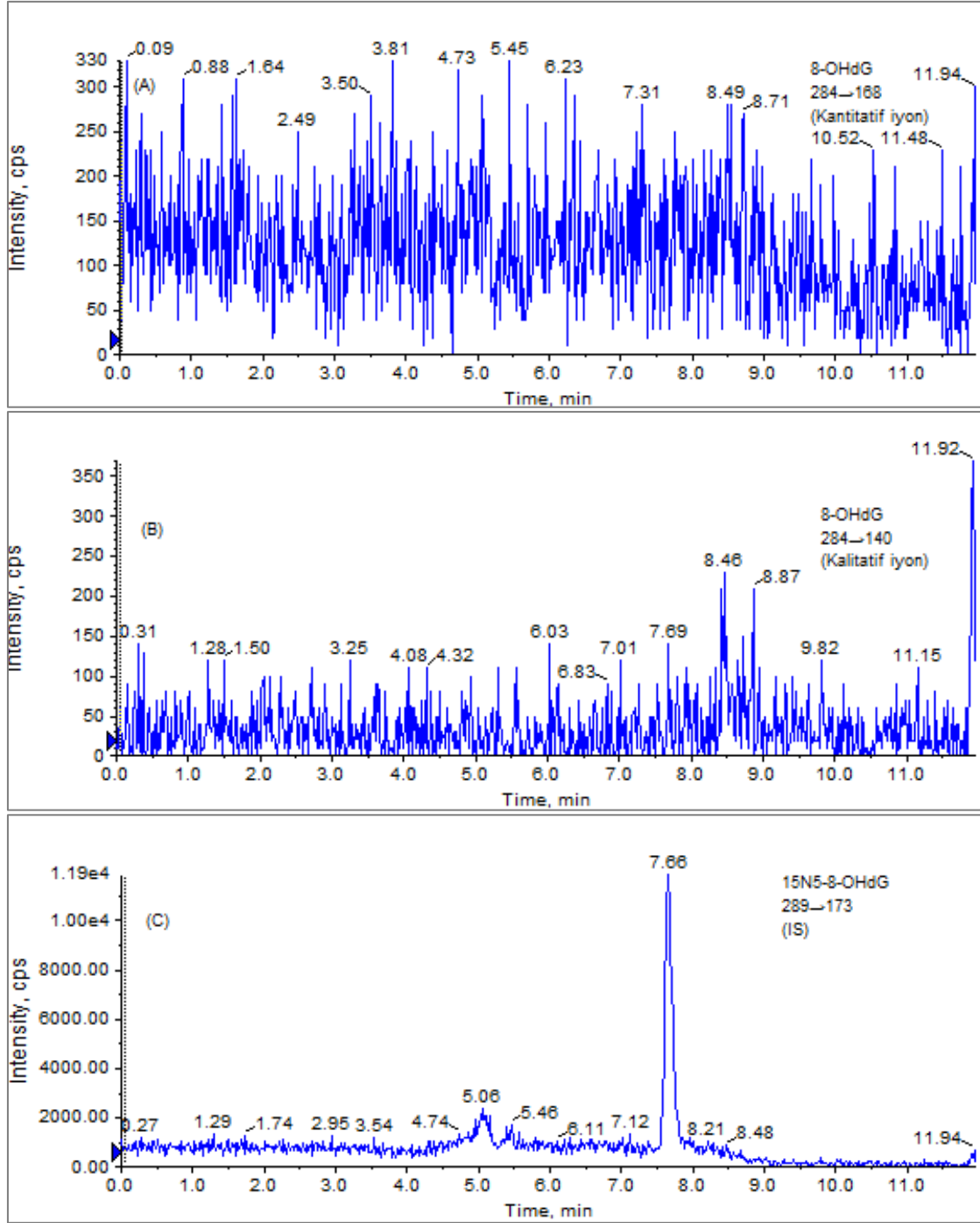


Şekil 4.6. N³-MeA için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi

N³-MeA için kalibrasyon eğrisi için $r^2 = 0.999$ olarak hesaplanmıştır.

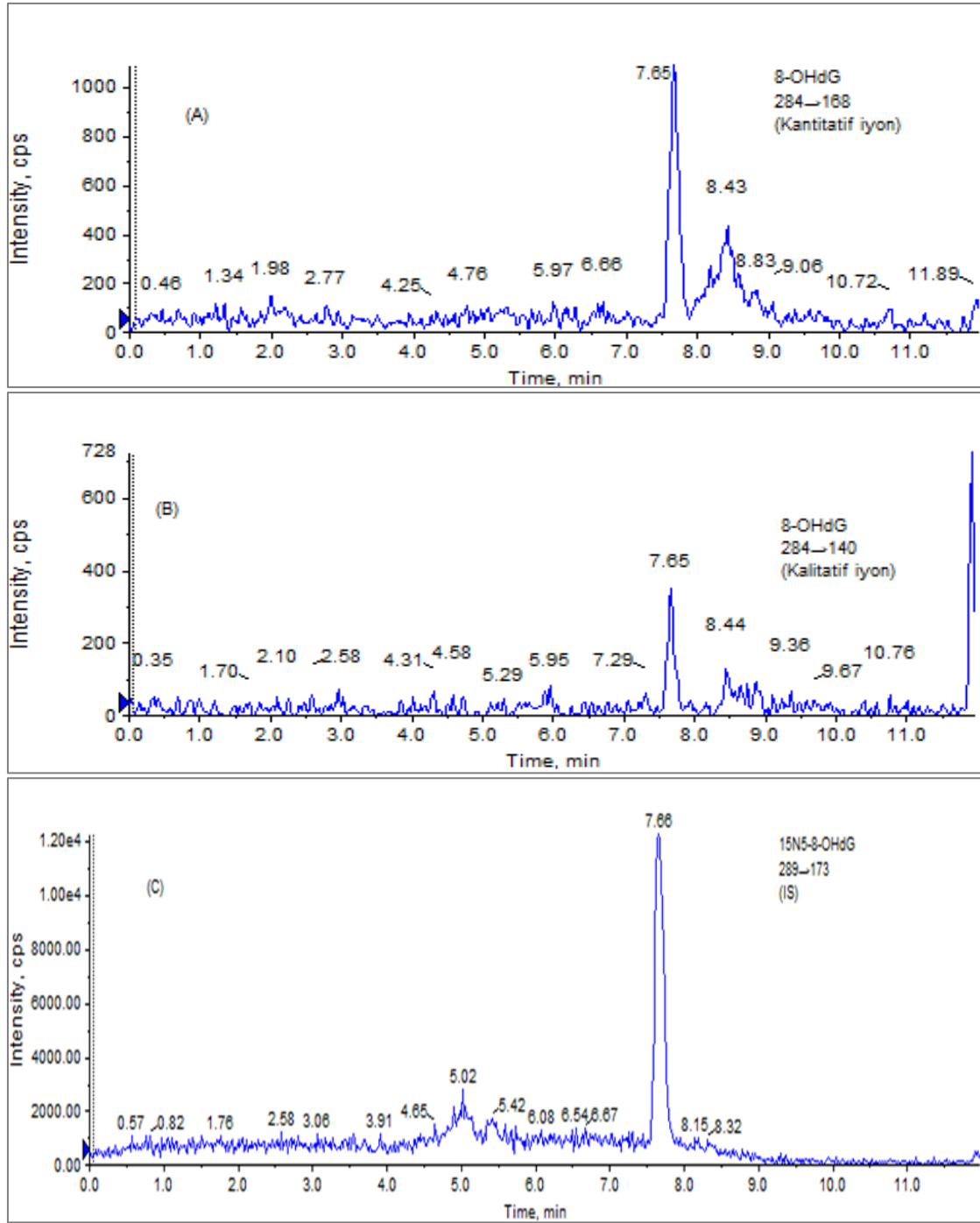
4.2.3. 8-OHdG için LC-MS/MS cihazında yöntem kalibrasyonu

8-OHdG blank seviyesi için kantitatif iyon (Q1 284→168), kalitatif iyon (Q2 284→140) ve 15N5-8-OHdG (IS 289→173) kromatogram örnekleri Şekil 4.7’de sunulmaktadır.



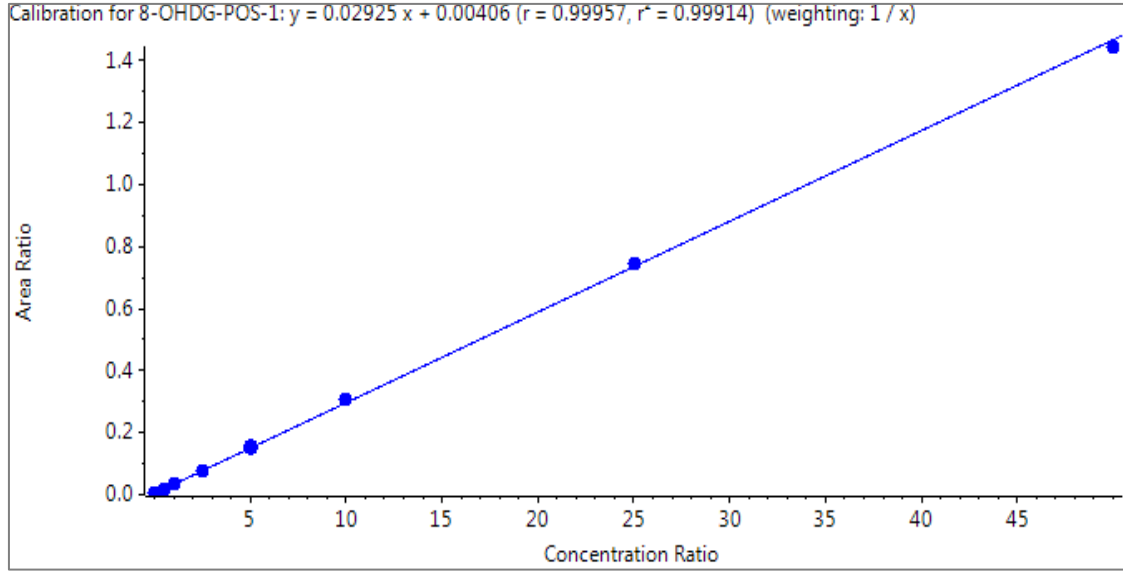
Şekil 4.7. 8-OHdG için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı

8-OHdG için LOQ seviyesi 0,1 ng/ml için kantitatif iyon, kalitatif iyon ve IS kromatogram örnekleri Şekil 4.8’de sunulmaktadır.



Şekil 4.8. 8-OHdG için 0,1 ng/ml seviyesinde (A) kantitatif iyon (A), kalitatif iyon (B) ve IS (C) kromatogramları

8-OHdG için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi Şekil 4.9’da sunulmuştur.

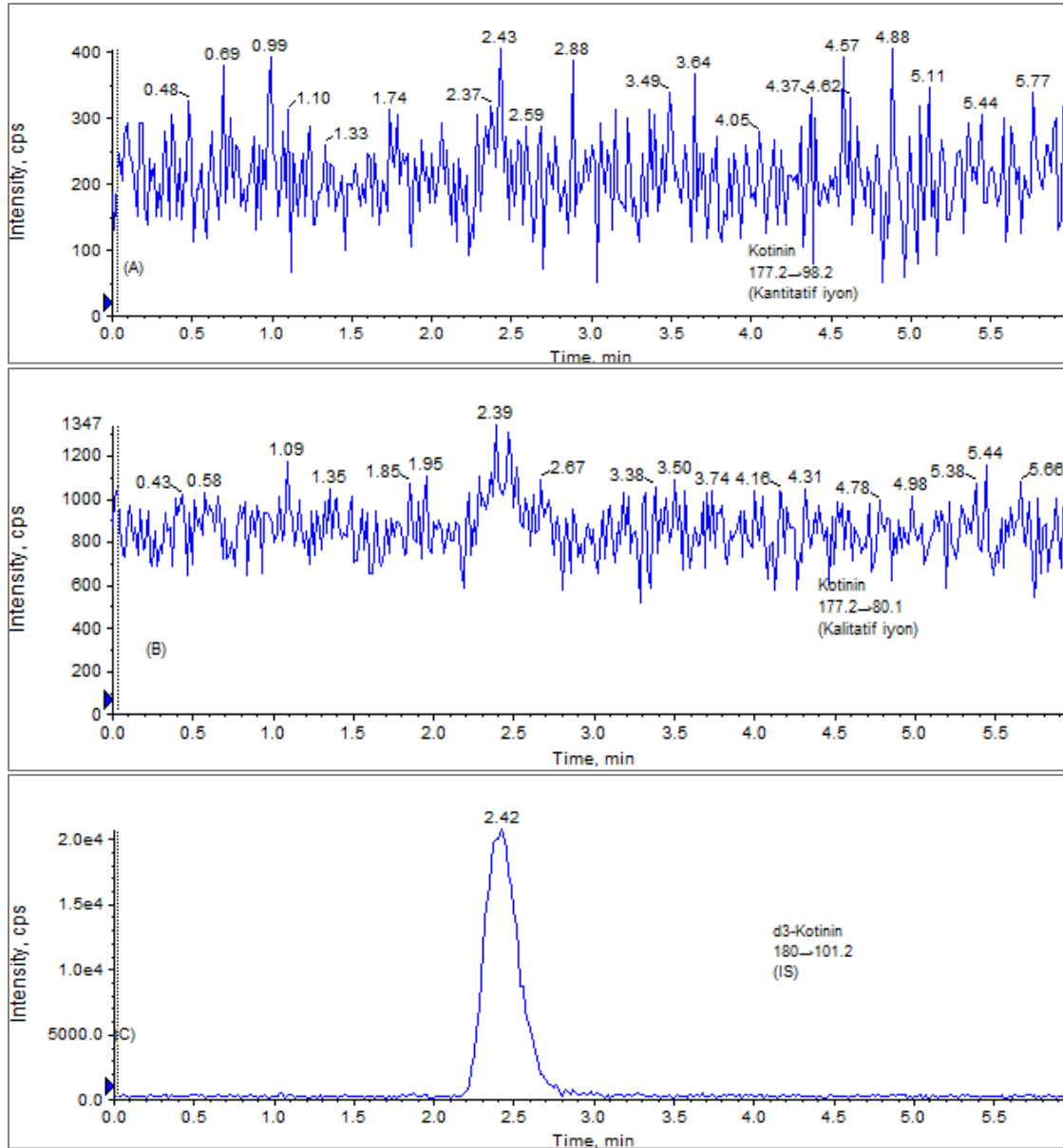


Şekil 4.9. 8-OHDG için matris uyumlu kalibrasyon eğrisi

8-OHDG için kalibrasyon eğrisi için $r^2 = 0.999$ olarak hesaplanmıştır.

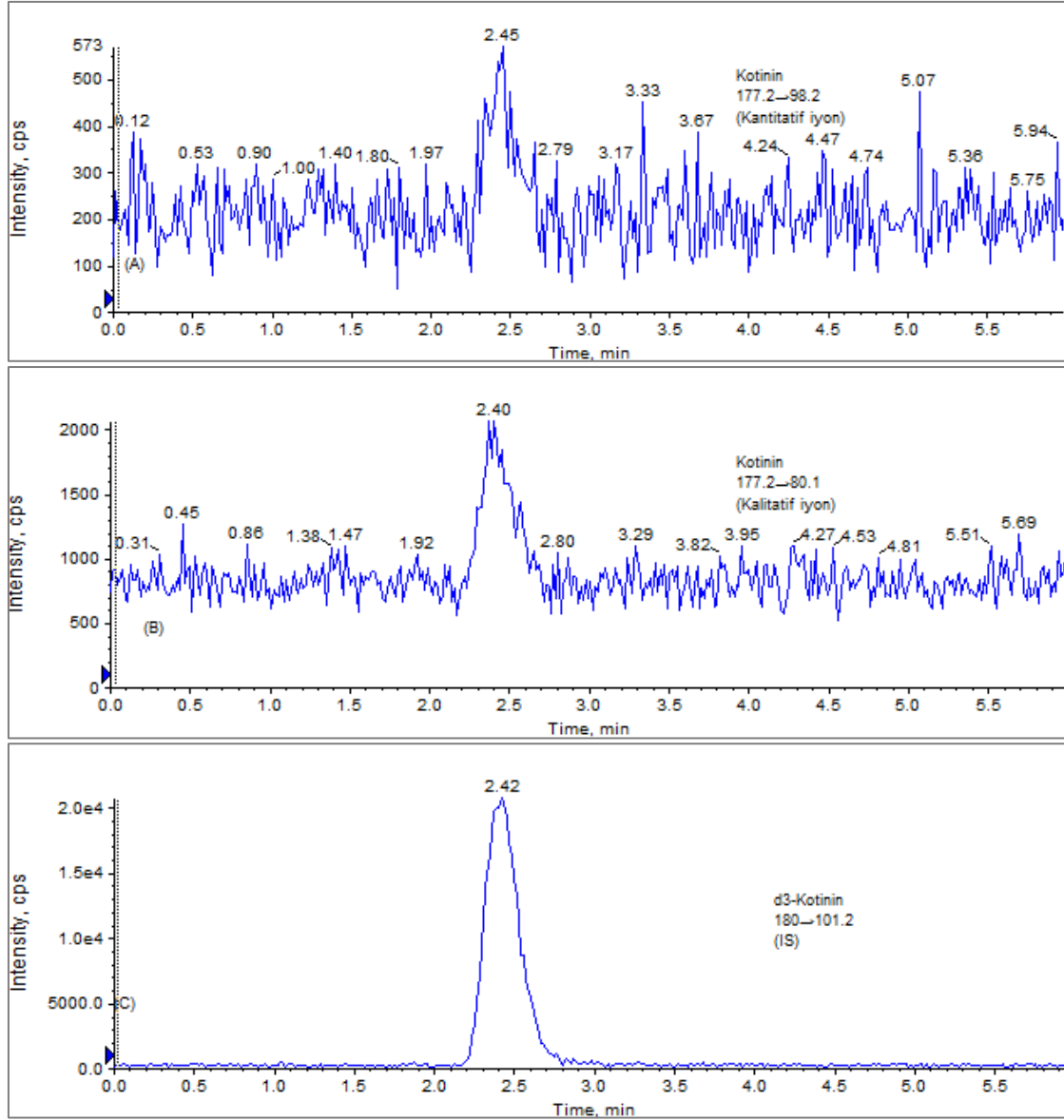
4.2.4. Kotinin için LC-MSMS cihazında yöntem kalibrasyonu

Kotinin blank seviyesi için kantitatif iyon, Q1 (177,2→98,2), kalitatif iyon, Q2 (177,2→80,1) ve d_3 -Kotinin, IS (180→101.2) kromatogram örnekleri Şekil 4.10'da sunulmaktadır.



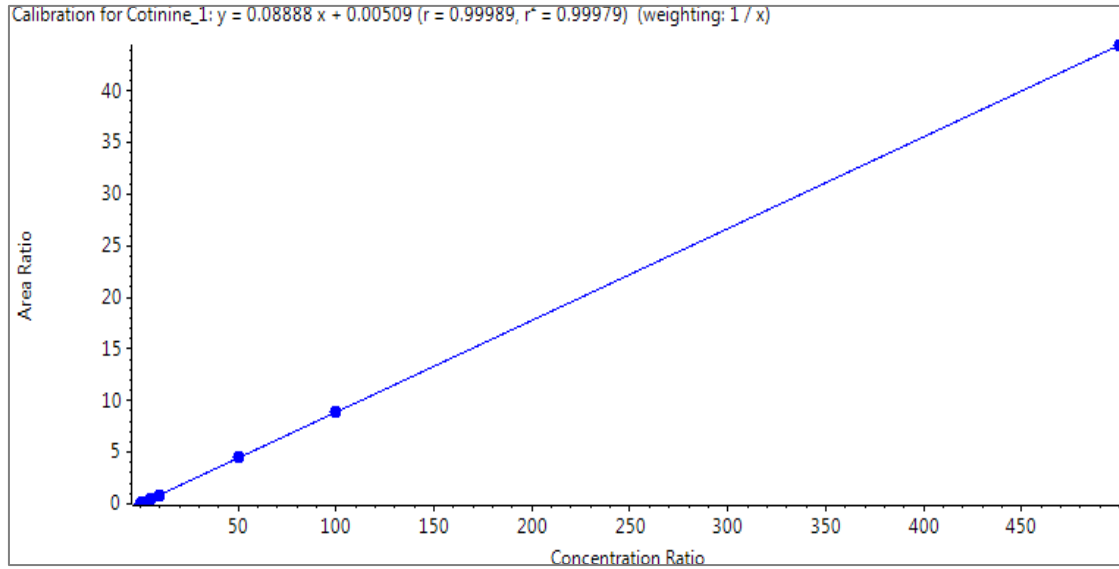
Şekil 4.10. Kotinin için Blank numunesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı

Kotinin için 0,1 ng/ml LOQ seviyesi kantitatif iyon, Q1 (177,2→98,2), kalitatif iyon, Q2 (177,2→80,1) ve d₃-Kotinin, IS (180→101,2) kromatogram örnekleri Şekil 4.11’de sunulmaktadır.



Şekil 4.11. Kotinin için 0,1 ng/ml LOQ seviyesi kromatogram örnekleri; (A) kantitatif iyon, (B) kalitatif iyon, (C) IS kromatogramı

Kotinin için kalibrasyon eğrisi Şekil 4.12.'de sunulmuştur.



Şekil 4.12. Kotinin kalibrasyon eğrisi

Kotinin için kalibrasyon eğrisi için $r^2 = 0,999$ olarak hesaplanmıştır.

4.2.5. Tespit (LOD) ve tayin limiti (LOQ)

Gün içinde ardışık on ölçüm gerçekleştirilerek tespit edilen en küçük konsantrasyonun standart sapması kullanılarak hesaplanan LOD ve LOQ değerleri Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Analizi yapılan maddelerin LC-MS/MS cihazında elde edilen tespit (LOD) ve tayin (LOQ) limitleri

Madde	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
N ³ -EtA	0,01	0,05
N ³ -MeA	0,01	0,05
8-OHdG	0,03	0,1
Kotinin	0,03	0,1

4.2.6. Geri kazanım

Geri kazanım kör örnek üzerine standart eklenerek yapılmıştır. Yüzde geri kazanım hesabı; deneysel olarak saptanan miktarın, teorik değere oranlanarak sonucun yüz ile çarpılması ile hesaplanmıştır. N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin için geri kazanımlar hesaplanarak sonuçlar Çizelge 4.3’te sunulmuştur.

4.2.7. Günler arası kesinlik ve doğrusalılık

Günler arası tekrar üretilebilirlik çalışmaları kapsamında; N³-EtA, N³-MeA ve 8-OHdG için 0,05; 1,00; 20,00 ng/ml; kotinin için 1; 100; 500 ng/ml konsantrasyon seviyelerinde iki ay içerisinde farklı günlerde paralel örneklerde 8'er ölçüm alınmıştır. Elde edilen sonuçlardan %RSD değerleri hesaplanarak Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Geri kazanım ve %RSD değerleri

Madde	% Geri Kazanım	Tekrar Üretilebilirlik (%RSD _R)
N ³ -EtA	100,8	1,91
N ³ -MeA	102,6	2,06
8-OHdG	98,8	2,60
Kotinin	101,9	2,10

4.3. İdrar Numunelerinde Elde Edilen Bulgular

Çalışmada yer alan 160 idrar örneğinin 48 tanesi iki farklı mekanizmaya sahip elektronik sigara içen bireylerden, 39 tanesi normal sigara içen bireylerden, 32 tanesi sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerden ve 41 tanesi ise kontrol grubu olarak sigara içmeyen bireylerden oluşmaktadır. Örneklerde tespit edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin kreatinin ile düzeltilmiş değerleri Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Numunelerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin kreatinin ile düzeltilmiş değerleri

Numune No	Grup	Yaş	Cinsiyet	Kreatinin (mg/ml)	N3-EtA (ng/g kreatinin)	N3-MeA (ng/g kreatinin)	8-OHdG (ng/g kreatinin)	Kotinin (ng/g kreatinin)
1	Kontrol	20	Erkek	1,19	TE	0,08	0,57	TE
2	Kontrol	48	Kadın	1,56	TE	0,26	0,37	TE
3	Kontrol	70	Kadın	0,17	TE	0,58	3,92	TE
4	Kontrol	19	Erkek	0,85	TE	0,12	0,87	TE
5	Kontrol	50	Erkek	2,77	TE	0,17	0,34	TE
6	Kontrol	75	Erkek	1,55	TE	0,39	0,66	TE
7	Kontrol	35	Kadın	0,60	TE	0,96	1,13	TE
8	Kontrol	36	Kadın	0,46	TE	0,18	1,10	TE
9	Kontrol	60	Kadın	0,98	TE	1,12	0,39	TE
10	Kontrol	55	Kadın	0,47	TE	1,79	1,35	TE
11	Kontrol	48	Erkek	1,14	TE	0,18	3,51	TE
12	Kontrol	48	Kadın	0,60	TE	1,65	0,94	TE
13	Kontrol	55	Kadın	0,66	TE	0,97	3,78	TE
14	Kontrol	47	Erkek	0,58	TE	0,94	6,54	TE
15	Kontrol	43	Kadın	0,93	TE	1,10	3,76	TE
16	Kontrol	49	Kadın	0,28	TE	1,56	8,65	TE
17	Kontrol	42	Kadın	1,03	TE	0,91	2,09	TE
18	Kontrol	54	Erkek	0,74	TE	1,17	4,18	TE
19	Kontrol	55	Erkek	0,77	TE	0,46	4,26	TE
20	Kontrol	53	Erkek	0,96	TE	1,32	3,24	TE
21	Kontrol	54	Erkek	1,02	TE	0,67	3,29	TE
22	Kontrol	52	Kadın	2,17	TE	2,38	1,66	TE
23	Kontrol	50	Erkek	2,45	TE	0,50	1,96	TE
24	Kontrol	44	Kadın	0,98	TE	6,07	2,77	TE
25	Kontrol	49	Erkek	0,56	TE	5,20	4,18	TE
26	Kontrol	54	Erkek	1,64	TE	4,52	3,48	TE
27	Kontrol	51	Kadın	0,92	TE	7,26	6,09	TE
28	Kontrol	35	Kadın	1,16	TE	3,66	5,28	TE
29	Kontrol	25	Kadın	2,67	0,30	0,61	1,00	TE
30	Kontrol	60	Erkek	0,61	TE	3,01	6,68	TE
31	Kontrol	49	Erkek	1,51	TE	3,21	2,51	TE
32	Kontrol	54	Erkek	1,23	TE	1,27	3,41	TE
33	Kontrol	46	Kadın	0,63	TE	9,49	3,87	TE
34	Kontrol	46	Kadın	0,35	TE	1,83	6,63	TE
35	Kontrol	48	Erkek	1,60	TE	0,45	1,00	TE
36	Kontrol	44	Kadın	0,44	TE	4,41	1,84	TE
37	Kontrol	52	Kadın	0,68	TE	2,78	1,36	TE
38	Kontrol	55	Kadın	2,62	TE	5,54	1,56	TE
39	Kontrol	73	Erkek	0,51	TE	4,18	3,55	TE
40	Kontrol	64	Kadın	0,62	TE	2,58	0,78	TE
41	Kontrol	53	Kadın	0,25	TE	4,34	2,19	TE
42	Pasif	24	Kadın	2,02	0,38	0,17	1,58	3,71
43	Pasif	30	Erkek	1,53	0,73	1,97	2,35	7,53
44	Pasif	29	Erkek	TE	TE	1,95	8,30	TE
45	Pasif	36	Kadın	1,28	0,12	0,77	3,12	0,00
46	Pasif	47	Kadın	2,67	0,18	0,30	1,20	1,94
47	Pasif	19	Kadın	1,08	TE	0,66	1,59	18,07
48	Pasif	23	Kadın	0,60	TE	TE	5,04	TE
49	Pasif	25	Kadın	0,60	TE	TE	4,20	TE
50	Pasif	32	Erkek	1,02	0,08	4,08	1,96	7,22
51	Pasif	35	Kadın	1,44	0,33	0,84	1,81	2,16
52	Pasif	36	Kadın	1,13	0,53	2,48	2,66	7,35
53	Pasif	52	Kadın	1,51	0,63	2,78	2,51	1,44
54	Pasif	20	Erkek	0,68	0,53	0,96	2,60	8,51
55	Pasif	45	Erkek	0,29	0,28	0,90	5,44	61,93

Çizelge 4.4. (devam) Numunelerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin kreatinin ile düzeltilmiş değerleri

Numune No	Grup	Yaş	Cinsiyet	Kreatinin (mg/ml)	N ³ -EtA (ng/g kreatinin)	N ³ -MeA (ng/g kreatinin)	8-OHdG (ng/g kreatinin)	Kotinin (ng/g kreatinin)
56	Pasif	36	Erkek	1,12	0,05	5,39	4,73	TE
57	Pasif	33	Erkek	0,77	0,10	7,74	4,93	TE
58	Pasif	32	Kadın	0,84	TE	4,12	5,73	TE
59	Pasif	32	Kadın	1,16	0,17	0,39	1,52	2,18
60	Pasif	36	Erkek	1,08	0,67	0,58	3,90	1,47
61	Pasif	54	Erkek	1,51	0,32	0,17	1,19	TE
62	Pasif	45	Erkek	0,67	0,42	0,33	6,69	7,96
63	Pasif	58	Erkek	1,06	0,53	0,71	4,14	1,89
64	Pasif	36	Erkek	2,21	TE	0,72	2,99	2,31
65	Pasif	31	Erkek	0,67	TE	3,52	4,65	TE
66	Pasif	44	Kadın	0,16	TE	TE	5,94	TE
67	Pasif	50	Erkek	0,70	TE	4,73	2,81	9,65
68	Pasif	56	Erkek	0,49	TE	5,54	7,19	TE
69	Pasif	43	Kadın	1,03	TE	2,91	1,55	TE
70	Pasif	25	Erkek	0,22	TE	2,27	5,45	TE
71	Pasif	26	Kadın	0,44	TE	6,13	1,35	18,60
72	Pasif	25	Erkek	0,56	TE	3,42	2,64	23,59
73	Pasif	35	Kadın	1,57	TE	1,72	3,59	1,48
74	Sigara içen	49	Kadın	0,26	0,31	0,39	9,29	3405,41
75	Sigara içen	51	Kadın	1,08	0,82	1,21	4,09	1785,43
76	Sigara içen	58	Kadın	1,56	0,36	1,95	3,33	1486,84
77	Sigara içen	55	Kadın	1,54	0,86	1,31	2,93	1613,16
78	Sigara içen	52	Kadın	0,22	0,92	12,43	19,33	8100,32
79	Sigara içen	49	Kadın	2,38	11,44	19,52	2,02	1043,48
80	Sigara içen	64	Erkek	0,45	0,04	64,89	28,90	3221,64
81	Sigara içen	52	Erkek	0,18	0,45	9,20	38,63	5227,02
82	Sigara içen	50	Erkek	1,13	0,28	9,58	5,66	3646,75
83	Sigara içen	33	Erkek	0,31	0,26	6,13	17,24	1915,13
84	Sigara içen	42	Erkek	0,36	0,34	4,75	8,38	2123,62
85	Sigara içen	40	Erkek	0,99	1,05	8,73	4,44	1693,92
86	Sigara içen	56	Erkek	0,91	0,26	2,85	4,71	1357,60
87	Sigara içen	55	Erkek	0,85	0,66	7,92	5,91	3452,39
88	Sigara içen	50	Kadın	0,23	0,35	8,63	22,00	6513,08
89	Sigara içen	50	Kadın	1,14	0,88	13,07	TE	1759,38
90	Sigara içen	22	Kadın	3,04	1,15	3,44	1,42	1014,19
91	Sigara içen	38	Erkek	1,79	0,20	6,47	1,51	2662,69
92	Sigara içen	59	Erkek	0,83	0,39	8,56	8,44	1972,93
93	Sigara içen	46	Erkek	1,40	0,20	3,08	2,83	416,53
94	Sigara içen	48	Erkek	3,15	0,14	10,37	1,23	54,75
95	Sigara içen	33	Erkek	3,78	0,21	8,86	0,95	1544,00
96	Sigara içen	35	Erkek	0,50	0,24	4,59	9,57	3096,93
97	Sigara içen	48	Erkek	1,06	0,57	12,54	2,04	829,18
98	Sigara içen	45	Kadın	1,24	0,81	4,61	2,20	1467,46
99	Sigara içen	22	Erkek	1,81	0,28	3,31	3,26	740,30
100	Sigara içen	47	Kadın	2,26	10,58	0,88	1,15	384,52
101	Sigara içen	38	Erkek	0,24	TE	12,73	5,75	1726,64
102	Sigara içen	23	Erkek	2,28	9,84	5,63	1,44	1142,71
103	Sigara içen	52	Kadın	0,33	2,73	39,70	4,55	1010,98
104	Sigara içen	45	Erkek	2,13	18,08	1,92	2,81	1068,41
105	Sigara içen	48	Kadın	0,19	TE	25,90	31,49	6639,72
106	Sigara içen	52	Kadın	0,22	76,63	9,41	1,97	137,48
107	Sigara içen	51	Erkek	2,19	20,78	5,48	1,47	1587,48
108	Sigara içen	53	Erkek	1,50	0,53	14,17	5,48	3599,68
109	Sigara içen	49	Kadın	0,62	22,01	16,06	5,46	7678,62
110	Sigara içen	55	Kadın	2,85	4,49	1,16	2,58	767,84

Çizelge 4.4. (devam) Numunelerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin kreatinin ile düzeltilmiş değerleri

Numune No	Grup	Yaş	Cinsiyet	Kreatinin (mg/ml)	N ³ -EtA (ng/g kreatinin)	N ³ -MeA (ng/g kreatinin)	8-OHdG (ng/g kreatinin)	Kotinin (ng/g kreatinin)
111	Sigara içen	22	Kadın	0,98	0,51	6,81	3,66	649,24
112	Sigara içen	52	Kadın	2,11	0,24	1,04	2,51	263,90
113	E-sigara içen	51	Kadın	2,22	0,04	0,95	0,49	633,10
114	E-sigara içen	42	Erkek	2,17	0,11	1,75	1,06	912,15
115	E-sigara içen	49	Erkek	0,29	0,97	20,05	11,75	2157,38
116	E-sigara içen	41	Erkek	0,55	0,51	13,22	11,02	4597,04
117	E-sigara içen	30	Erkek	0,16	0,12	3,73	7,46	3562,45
118	E-sigara içen	28	Erkek	2,29	0,07	0,37	1,70	925,42
119	E-sigara içen	35	Kadın	1,12	0,02	1,18	2,68	393,50
120	E-sigara içen	42	Erkek	2,40	0,22	2,71	1,75	1164,19
121	E-sigara içen	44	Erkek	1,95	0,18	2,18	2,47	1046,01
122	E-sigara içen	29	Erkek	1,18	0,75	0,92	3,23	611,91
123	E-sigara içen	43	Erkek	3,65	0,37	6,12	0,85	816,42
124	E-sigara içen	47	Erkek	0,83	0,15	2,91	2,78	1649,90
125	E-sigara içen	35	Kadın	0,48	0,59	29,36	5,86	6319,44
126	E-sigara içen	45	Kadın	0,50	0,32	5,40	5,64	1670,34
127	E-sigara içen	44	Erkek	0,88	0,41	5,35	6,17	1269,33
128	E-sigara içen	38	Erkek	0,34	0,24	31,38	2,97	3374,48
129	E-sigara içen	41	Erkek	1,39	0,32	11,97	5,84	1669,73
130	E-sigara içen	42	Erkek	1,29	0,34	10,47	6,35	2483,98
131	E-sigara içen	21	Erkek	0,57	0,84	4,11	7,49	3743,89
132	E-sigara içen	42	Erkek	1,28	0,13	1,19	3,99	549,50
133	E-sigara içen	35	Erkek	0,50	0,24	4,91	4,82	1917,49
134	E-sigara içen	35	Erkek	1,14	0,45	1,99	2,62	1282,59
135	E-sigara içen	25	Erkek	0,63	0,13	0,50	3,16	518,01
136	E-sigara içen	48	Erkek	1,85	0,17	3,57	5,56	332,65
137	E-sigara içen	20	Erkek	0,68	0,30	8,29	1,42	1161,85
138	E-sigara içen	22	Erkek	3,05	0,16	1,01	0,30	535,04
139	E-sigara içen	35	Erkek	1,98	0,04	4,69	1,49	665,06
140	E-sigara içen	24	Erkek	0,90	0,09	6,26	3,40	163,08
141	E-sigara içen	62	Erkek	1,20	0,13	5,33	2,75	2669,06
142	E-sigara içen	42	Kadın	0,67	0,24	7,72	8,68	3150,76
143	E-sigara içen	45	Kadın	3,23	0,06	17,66	2,17	500,37
144	E-sigara içen	41	Erkek	0,33	0,49	37,53	12,26	4077,28
145	E-sigara içen	32	Erkek	2,56	0,25	1,45	1,33	968,54
146	E-sigara içen	50	Erkek	2,22	0,13	5,07	1,81	965,30
147	E-sigara içen	43	Erkek	0,84	0,24	1,52	10,22	3281,20
148	E-sigara içen	38	Erkek	0,54	0,29	13,96	9,00	14,38
149	E-sigara içen	33	Kadın	0,41	0,29	9,67	10,75	944,25
150	E-sigara içen	35	Erkek	0,64	1,07	7,36	6,29	3988,28
151	E-sigara içen	44	Erkek	1,79	0,38	21,28	3,24	1207,96
152	E-sigara içen	43	Kadın	0,69	0,17	2,90	7,25	1495,27
153	E-sigara içen	41	Kadın	0,32	3,10	28,51	15,80	5223,72
154	E-sigara içen	38	Kadın	0,40	0,89	29,74	10,13	5248,32
155	E-sigara içen	52	Erkek	1,36	0,35	2,47	2,65	393,90
156	E-sigara içen	45	Erkek	0,88	0,77	61,95	3,85	5013,52
157	E-sigara içen	44	Erkek	0,35	0,34	2,71	4,91	6,21
158	E-sigara içen	38	Erkek	2,18	0,11	1,62	0,11	14,83
159	E-sigara içen	40	Erkek	0,19	1,44	11,69	3,08	658,49
160	E-sigara içen	40	Erkek	0,80	0,15	5,03	1,29	229,04

4.3.1. Gruplar arasındaki farklılığa ilişkin analiz bulguları

E-sigara kullanan, normal sigara kullanan, sigara dumanına pasif maruz kalan ve kontrol grubunun, gruplar arası N³-EtA miktarlarının karşılaştırması Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Grupların N³-EtA miktarlarının karşılaştırılması

Gruplar	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kontrol	0,01	0,05	0,00	0,00	0,30
Pasif	0,19	0,24	0,07	0,00	0,73
Sigara içen	4,87	13,15	0,51	0,00	76,63
E-sigara	0,40	0,50	0,25	0,02	3,10

Gruplar arası N³-MeA miktarlarının karşılaştırması Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Grupların N³-MeA miktarlarının karşılaştırması

Gruplar	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kontrol	2,19	2,20	1,22	0,08	9,49
Pasif	2,13	2,09	1,34	0,00	7,74
Sigara içen	9,73	11,81	7,37	0,39	64,89
E-sigara	9,62	12,13	5,05	0,37	61,95

Gruplar arası 8-OHdG miktarlarının karşılaştırması Çizelge 4.7'de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Grupların 8-OHdG miktarlarının karşılaştırması

Gruplar	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kontrol	2,87	2,05	2,35	0,34	8,65
Pasif	3,60	1,92	3,06	1,19	8,30
Sigara içen	7,20	9,05	3,88	0,00	38,63
E-sigara	4,83	3,68	3,32	0,11	15,80

Gruplar arası Kotinin miktarlarının karşılaştırması Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Grupların Kotinin miktarlarının karşılaştırması

Gruplar	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kontrol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pasif	5,91	11,89	1,69	0,00	61,93
Sigara içen	2276,96	2046,84	1653,54	54,75	8100,32
E-sigara	1795,35	1641,80	1163,02	6,21	6319,44

4.3.2. Analizi yapılan DNA katım ürünleri ve Kotinin için gruplar arası istatistiksel değerlendirmeler

Çalışmamızda değerlendirilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde, öncelikle olarak çalışma gruplarımızın grup içi sonuçları ile gruplar arası elde edilen sonuçların farklılıklarının karşılaştırılmasına yönelik gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının gruplar arasında farklılıklarının karşılaştırılması

Değişken	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	χ^2	P*
N3-EtA	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,30)	88,020	<0,001
	Pasif	32	0,07 (0,00; 0,73)		
	Sigara içen	39	0,51 (0,00; 76,63)		
	E-sigara içen	48	0,25 (0,02; 3,10)		
N3-MeA	Kontrol	41	1,27 (0,08; 9,49)	46,595	<0,001
	Pasif	32	1,34 (0,00; 7,74)		
	Sigara içen	39	6,81 (0,39; 64,89)		
	E-sigara içen	48	5,05 (0,37; 61,95)		
8-OHdG	Kontrol	41	2,51 (0,34; 8,65)	9,157	0,027
	Pasif	32	3,05 (1,19; 8,30)		
	Sigara içen	39	3,66 (0,00; 38,64)		
	E-sigara içen	48	3,32 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,00)	126,590	<0,001
	Pasif	32	1,69 (0,00; 61,93)		
	Sigara içen	39	1613,16 (54,75; 8100,32)		
	E-sigara içen	48	1163,02 (6,21; 6319,44)		

* Bonferonni düzeltilmeli ikili karşılaştırmalar

N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu (p <0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). Bu farklılıkların belirlenmesi amacıyla

gruplar arası ikili karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu farklılıklara ait sonuçlar Çizelge 4.10’da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin gruplar arasındaki ikili karşılaştırmaları

	Grup	Grup	Test İstatistiği	P
N3-EtA	Kontrol	Pasif	-3,560	0,002
		Sigara içen	-8,702	<0,001
		E-sigara içen	-7,128	<0,001
	Pasif	Sigara içen	-4,640	<0,001
		E-sigara içen	-2,963	0,018
	Sigara içen	E-sigara içen	-1,997	0,275
N3-MeA	Kontrol	Pasif	-0,154	0,878
		Sigara içen	-5,174	<0,001
		E-sigara içen	-4,607	<0,001
	Pasif	Sigara içen	-5,004	<0,001
		E-sigara içen	-4,452	<0,001
	Sigara içen	E-sigara içen	-0,824	0,410
8-OHdG	Kontrol	Pasif	-1,572	0,116
		Sigara içen	-2,661	0,008
		E-sigara içen	-2,599	0,009
	Pasif	Sigara içen	-0,940	0,425
		E-sigara içen	-0,797	0,347
	Sigara içen	E-sigara içen	-0,196	0,844
Kotinin	Kontrol	Pasif	-2,078	0,226
		Sigara içen	-9,221	<0,001
		E-sigara içen	-8,869	<0,001
	Pasif	Sigara içen	-6,592	<0,001
		E-sigara içen	-6,117	<0,001
	Sigara içen	E-sigara içen	-0,819	0,413

* Kruskal Wallis Test

Yapılan istatistiki değerlendirmeler sonucunda N³-EtA değerlerinde kontrol grubunun pasif, sigara içen ve e-sigara içenler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu (p <0,05) ve N³-EtA değerlerinin sırasıyla en yüksek sigara içenlerde en düşük kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde pasif içici grubun hem sigara içen hem de e-sigara içen gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu (p <0,05) tespit edilmiştir. Sigara içen grup ile e-sigara içen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p = 0,275 > 0,05) sonucuna ulaşılmıştır. N³-MeA

değerlerinde kontrol grubunun, sigara içen ve e-sigara içenler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu ($p < 0,05$) ve N^3 -MeA değerlerinin en yüksek sigara içenlerde en düşük kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde pasif içici grubun hem sigara içen hem de e-sigara içen gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. Kontrol grubu ile pasif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ($p = 0,878 > 0,05$); benzer şekilde sigara içen grup ile e-sigara içen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ($p = 0,410 > 0,05$) sonucuna ulaşılmıştır. 8-OHdG değerlerinde kontrol grubunun, sigara içen ve e-sigara içenler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu ($p < 0,05$) ve 8-OHdG değerlerinin en yüksek sigara içenlerde en düşük kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile pasif grup arasında ($p = 0,116 > 0,05$); pasif grubun hem sigara içen hem de e-sigara içen grupla arasında ($p > 0,05$); sigara içen grup ile e-sigara içen grup arasında ($p > 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farkların olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Kotinin değerlerinde kontrol grubunun, sigara içen ve e-sigara içenler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p < 0,05$) ve kotinin değerlerinin en yüksek sigara içenlerde en düşük kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde pasif içici grubun hem sigara içen hem de e-sigara içen gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. Kontrol grubu ile pasif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ($p = 0,226 > 0,05$); benzer şekilde sigara içen grup ile e-sigara içen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ($p = 0,413 > 0,05$) sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.10).

Çalışmamızda tüm gruplardan elde edilen N^3 -EtA, N^3 -MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin çalışma grubunu oluşturan kişilerin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması çizelge 4.11’de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Çalışmada tüm gruplardan elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından karşılaştırılması

	Cinsiyet	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N3-EtA	Erkek	94	0,20 (0,00; 20,78)	-0,908	0,364
	Kadın	66	0,05 (0,00; 76,63)		
N3-MeA	Erkek	94	3,65 (0,08; 64,89)	-1,244	0,213
	Kadın	66	2,43 (0,00; 39,70)		
8-OHdG	Erkek	94	3,40 (0,11; 38,64)	-1,307	0,191
	Kadın	66	2,67 (0,00; 31,49)		
Kotinin	Erkek	94	580,71 (0,00; 5227,02)	-2,101	<0,036
	Kadın	66	2,17 (0,00; 8100,32)		

* Mann-Whitney U Testi

160 kişilik gruptan elde edilen N³-EtA ($p = 0,364 > 0,05$), N³-MeA ($p = 0,213 > 0,05$) ve 8-OHdG ($p = 0,191 > 0,05$) değerleri göz önüne alındığında, erkek ile kadın arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Sadece kotinin değerleri göz önüne alındığında tüm grubu oluşturan erkek ve kadınlar arasında anlamlı bir fark saptanmış olup ($p = 0,036 < 0,05$), kotinin değerlerinin kadınlarda erkeklere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Diğer yandan çalışma gruplarımızı oluşturan 4 grubun kendi içinde, analizi yapılan DNA katım ürünleri ve kotinin değerlerinin cinsiyetlere göre istatistiksel farklılık gösterip göstermediği çalışılmıştır.

Buna göre Kontrol grubundan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12’de, Pasif grubumuzdan elde edilen sonuçlar çizelge 4.13’te, Sigara içen grubumuzdan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.14’te ve e-sigara kullanan kişilerden oluşan grubumuzdan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.15’te sunulmuştur.

Çizelge 4.12. Kontrol grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması

	Cinsiyet	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Erkek	18	0,00 (0,00; 0,00)	-0,885	0,376
	Kadın	23	0,00 (0,00; 0,30)		
N ³ -MeA	Erkek	18	0,80 (0,08; 5,21)	-1,970	0,049
	Kadın	23	1,79 (0,18; 9,49)		
8-OHdG	Erkek	18	3,35 (0,34; 6,68)	-0,525	0,599
	Kadın	23	1,84 (0,37; 8,65)		
Kotinin	Erkek	18	0,00 (0,00; 0,00)	-0,001	0,999
	Kadın	23	0,00 (0,00; 0,00)		

* Mann-Whitney U Testi

Kontrol grubunda elde edilen N³-EtA ($p = 0,376 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,599 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,999 > 0,05$) değerlerinin erkek ile kadın arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptanırken, N³-MeA değerlerinin erkek ile kadın arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p = 0,049 < 0,05$) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.13. Pasif içicilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması

	Cinsiyet	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Erkek	17	0,08 (0,00; 0,73)	-0,618	0,537
	Kadın	15	0,00 (0,00; 0,64)		
N ³ -MeA	Erkek	17	1,97 (0,17; 7,74)	-1,719	0,086
	Kadın	15	0,77 (0,00; 6,13)		
8-OHdG	Erkek	17	4,14 (1,19; 8,30)	-1,869	0,062
	Kadın	15	2,51 (1,20; 5,94)		
Kotinin	Erkek	17	1,89 (0,00; 61,93)	-0,528	0,598
	Kadın	15	1,48 (0,00; 18,60)		

* Mann-Whitney U Testi

Pasif içiciler grubunda elde edilen N³-EtA ($p = 0,537 > 0,05$), N³-MeA ($p = 0,086 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,062 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,598 > 0,05$) değerleri açısından erkek ile kadın arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.14. Sigara içen kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması

	Cinsiyet	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Erkek	21	0,28 (0,00; 20,78)	-2,409	0,016
	Kadın	18	0,87 (0,00; 76,63)		
N ³ -MeA	Erkek	21	7,92 (1,93; 64,89)	-0,732	0,464
	Kadın	18	5,71 (0,39; 39,70)		
8-OHdG	Erkek	21	4,71 (0,95; 38,4)	-0,761	0,447
	Kadın	18	3,13 (0,00; 31,49)		
Kotinin	Erkek	21	1726,64 (54,75; 5227,02)	-0,648	0,517
	Kadın	18	1477,15 (137,48; 8100,32)		

* Mann-Whitney U Testi

Sigara içen kişilerden N³-MeA ($p = 0,464 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,447 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,517 > 0,05$) değerleri açısından erkek ile kadın arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Diğer yandan bu grupta N³-EtA değerlerinin kadınlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p = 0,016 < 0,05$) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.15. E-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerinin cinsiyet bakımından farklılığın karşılaştırılması

	Cinsiyet	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Erkek	38	0,25 (0,04; 1,44)	-0,228	0,819
	Kadın	10	0,27 (0,02; 3,10)		
N ³ -MeA	Erkek	38	4,80 (0,37; 61,95)	-1,219	0,223
	Kadın	10	8,70 (0,96; 29,74)		
8-OHdG	Erkek	38	3,19 (0,11; 12,26)	-1,599	0,110
	Kadın	10	6,56 (0,49; 15,80)		
Kotinin	Erkek	38	1103,93 (6,21; 5013,52)	-1,117	0,264
	Kadın	10	1582,80 (393,50; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

E-sigara kullananlardan elde edilen N³-EtA ($p = 0,819 > 0,05$), N³-MeA ($p = 0,223 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,110 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,264 > 0,05$) değerleri açısından erkek ile kadın arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanamamıştır (Çizelge 4.15).

E-sigara içen kişilerin e-sigara sistemine göre farklılığının incelenmesine yönelik olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16’da sunulmuştur.

Çizelge 4.16. E-sigara içen kişilerin laboratuvar sonuçlarının e-sigara sistemine göre farklılığının karşılaştırılması

	E-sigara Sistemi	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Kartuş	28	0,23 (0,02; 0,97)	-1,359	0,174
	Isıtma	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Kartuş	28	3,92 (0,37; 31,38)	-1,987	0,047
	Isıtma	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Kartuş	28	3,19 (0,30; 11,75)	-1,255	0,210
	Isıtma	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Kartuş	28	1163,02 (163,08; 6319,44)	-0,105	0,917
	Isıtma	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA değerlerinin kartuşlu ve ısıtılmalı e-sigaralar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p = 0,174 > 0,05$). N³-MeA değerlerinin kartuşlu ve ısıtılmalı e-sigaralar arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p = 0,047 < 0,05$). N³-MeA değerlerinin ısıtılmalı e-sigaralarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 8-OHdG ($p = 0,210 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,917 > 0,05$) değerlerinin kartuşlu ile ısıtılmalı e-sigaralar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

Kartuşlu e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.17’de sunulmuştur.

Çizelge 4.17. Kartuşlu e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubundan elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının kontrol grubunda elde edilen değerler ile karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,30)	-7.585	<0,001
	Kartuşlu	28	0,23 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Kontrol	41	1,27 (0,08; 9,49)	-3,251	0,001
	Kartuşlu	28	3,92 (0,37; 31,38)		
8-OHdG	Kontrol	41	2,51 (0,34; 8,65)	-1,540	0,124
	Kartuşlu	28	3,19 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,00)	-7.890	<0,001
	Kartuşlu	28	1163,02 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA (p <0,001), N³-MeA (p = 0,001 <0,05) ve Kotinin (p <0,001) değerlerinin kartuşlu e-sigara kullanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin kartuşlu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (p = 0,124 > 0,05) (Çizelge 4.17)

IQOS (ısıtılmalı sistem e-sigara) kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.18’de sunulmuştur.

Çizelge 4.18. IQOS kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubundan elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının kontrol grubunda elde edilen değerler ile karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,30)	-7.234	<0,001
	IQOS	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Kontrol	41	1,27 (0,08; 9,49)	-4,594	<0,001
	IQOS	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Kontrol	41	2,51 (0,34; 8,65)	-2,520	0,012
	IQOS	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,00)	-7,548	<0,001
	IQOS	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

IQOS kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA ($p < 0,001$), N³-MeA ($p = 0,001 < 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,012 < 0,05$) ve Kotinin ($p < 0,001$) değerleri ile kontrol grubundan elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.18).

Kartuşlu e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının sigaraya pasif maruz kalan grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.19'da de gösterilmektedir.

Çizelge 4.19. Kartuşlu tip e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının pasif maruziyet grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Pasif	32	0,07 (0,00; 0,73)	-2,434	0,015
	Kartuşlu	28	0,23 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Pasif	32	1,34 (0,00; 7,74)	-3,201	0,001
	Kartuşlu	28	3,92 (0,37; 31,38)		
8-OHdG	Pasif	32	3,05 (1,19; 8,30)	-0,356	0,722
	Kartuşlu	28	3,19 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Pasif	32	1,69 (0,00; 61,93)	-6,672	<0,001
	Kartuşlu	28	1163,02 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

Kartuşlu e-sigara sistemini kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA ($p = 0,015 < 0,05$), N³-MeA ($p = 0,001 < 0,05$) ve Kotinin ($p < 0,001$) değerleri ile pasif gruptan elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık olduğu, 8-OHdG değerlerinin kartuşlu ile pasif grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p = 0,722 > 0,05$) (Çizelge 4.19).

IQOS kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının sigaraya pasif maruz kalan grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.20 sunulmuştur.

Çizelge 4.20. IQOS kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının pasif maruziyet grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Pasif	32	0,07 (0,00; 0,73)	-2,989	0,003
	IQOS	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Pasif	32	1,34 (0,00; 7,74)	-4,232	<0,001
	IQOS	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Pasif	32	3,05 (1,19; 8,30)	-1,599	0,110
	IQOS	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Pasif	32	1,69 (0,00; 61,93)	-5,725	<0,001
	IQOS	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

IQOS kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA ($p = 0,003 < 0,05$), N³-MeA ($p < 0,001$) ve Kotinin değerleri ($p < 0,001$) ile pasif gruptan elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık olduğu, 8-OHdG değerlerinin IQOS kullanan kişilerle pasif grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p = 0,110 > 0,05$) (Çizelge 4.20).

Kartuşlu e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının sigara içenlerin oluşturduğu grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.21’de sunulmuştur.

Çizelge 4.21. Kartuşlu tip e-sigara kullanan kişilerin oluşturduğu çalışma grubunu oluşturan bireylerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının sigara içen grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Sigara	39	0,51 (0,00; 76,63)	-3,242	0,001
	Kartuşlu	28	0,23 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Sigara	39	6,81 (0,39; 64,89)	-1,780	0,075
	Kartuşlu	28	3,92 (0,37; 31,38)		
8-OHdG	Sigara	39	3,66 (0,00; 38,64)	-0,699	0,484
	Kartuşlu	28	3,19 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Sigara	39	1613,16 (54,75; 8100,32)	-1,373	0,170
	Kartuşlu	28	1163,02 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

Kartuşlu e-sigara sistemini kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA ($p = 0,001 < 0,05$) değerlerinin sigara içen gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. N³-MeA ($p = 0,075 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,484 > 0,05$) ve Kotinin ($p = 0,170 > 0,05$) değerleri ile sigara içen grubundan elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.21).

IQOS kullanan kişilerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin sonuçlarının sigara içenlerin oluşturduğu grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmesi Çizelge 4.22’de sunulmuştur.

Çizelge 4.22. IQOS kullanan kişilerden elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin sonuçlarının sigara içenlerin oluşturduğu grup arasındaki farklılık istatistiksel karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Sigara	39	0,51 (0,00; 76,63)	-1,777	0,075
	IQOS	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Sigara	39	6,81 (0,39; 64,89)	-0,769	0,442
	IQOS	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Sigara	39	3,66 (0,00; 38,64)	-0,464	0,642
	IQOS	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Sigara	39	1613,16 (54,75; 8100,32)	-0,913	0,361
	IQOS	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

IQOS kullanan bireylerden elde edilen N³-EtA ($p = 0,075 > 0,05$), N³-MeA ($p = 0,442 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,642 > 0,05$) ve Kotinin ($p = 0,361 > 0,05$) değerleri göz önüne alındığında IQOS içen ile sigara grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.22).

4.4. Anket Sonuçları

Sunuluna çalışmada katılım sağlayan tüm gönüllülere anket uygulanmıştır (EK-2). Uygulanan anketlerde, e-sigara kullanıcılarının, kullanım alışkanlıkları ve kullanım sıklıkları, e-sıvı içeriğinde aroma tercihleri gibi spesifik sorular yer almaktadır.

E-sigara içiminde nikotin kartuşu içine katılan aromaların çalışmamızda analizi yapılan DNA-katım ürünleri üzerine olası etkileri de değerlendirilmiştir. Çalışma grubumuzda 24

kişi aromalı e-sigara kullandığını bildirmiştir. Buna göre analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS kullanan kişilerde bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.23'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.23. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS kullanan kişilerde bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Değişken	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Aromalı	24	0,27 (0,02; 0,97)	-0,731	0,465
	Isıtmalı	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Aromalı	24	4,51 (0,51; 31,38)	-1,579	0,114
	Isıtmalı	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Aromalı	24	3,31 (0,30; 11,75)	-0,896	0,370
	Isıtmalı	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Aromalı	24	1275,96 (163,08; 6319,44)	-0,259	0,795
	Isıtmalı	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA (p = 0,465 > 0,05), N³-MeA (p = 0,114 > 0,05), 8-OHdG (p = 0,370 > 0,05) ve Kotinin değerlerinin IQOS ile aroma kartuşlu e-sigara kullananlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p = 0,795 > 0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.23).

Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile kontrol grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.24'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.24. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile kontrol grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,30)	-7,434	<0,001
	Aromalı	24	0,27 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Kontrol	41	1,27 (0,08; 9,49)	-3,534	<0,001
	Aromalı	24	4,51 (0,51; 31,38)		
8-OHdG	Kontrol	41	2,51 (0,34; 8,65)	-1,889	0,059
	Aromalı	24	3,31 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Kontrol	41	0,00 (0,00; 0,00)	-7,727	<0,001
	Aromalı	24	1275,96 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA ($p = 0,001 < 0,05$) ve N³-MeA ($p = 0,001 < 0,05$), kotinin ($p = 0,001 > 0,05$) değerlerinde aroma kullananlar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olduğu fakat bu farkın 8-OHdG için anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p = 0,059 > 0,05$) (Çizelge 4.24).

Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı ve aromasız kartuşlu e-sigara içen kişilerde bulunan değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.25'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.25. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı ve aromasız kartuşlu e-sigara içen kişilerde bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Değişken	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P
N ³ -EtA	Aromasız	4	0.06 (0,04; 0,17)	-2,429	0,015
	Aromalı	24	0.27 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Aromasız	4	2.27 (0,37; 4,69)	-1,576	0,115
	Aromalı	24	4.51 (0,51; 31,38)		
8-OHdG	Aromasız	4	1.60 (0,49; 5,56)	-1,576	0,115
	Aromalı	24	3.31 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Aromasız	4	649,08 (332,65; 925,42)	-1,773	0,076
	Aromalı	24	1275,96 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA ($p = 0,015 < 0,05$) değerinde aromalı kartuşlu e-sigara kullananlar ile aromasız kartuşlu e-sigara kullananlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu bu farkın N³-MeA ($p = 0,115 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,115 > 0,05$) ve kotinin ($p = 0,076 > 0,05$) için anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Çalışmada değerlendirilen DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile sigara içen grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.26'da kartuşlu fakat aromasız e-sigara içenlerle sigara içen grubun değerlendirilmesi de Çizelge 4.27'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.26. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromalı kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile sigara içen grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Sigara	39	0,51 (0,00; 76,63)	-2,661	0,008
	Aromalı	24	0,27 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Sigara	39	6,81 (0,39; 64,89)	-1,274	0,203
	Aromalı	24	4,51 (0,51; 31,38)		
8-OHdG	Sigara	39	3,66 (0,00; 38,64)	-0,269	0,788
	Aromalı	24	3,31 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Sigara	39	1613,16 (54,75; 8100,32)	-0,750	0,453
	Aromalı	24	1275,96 (163,08; 6319,44)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA değerlerinin aroma kullananlar ile sigara grubu arasında anlamlı bir farklılık olduğu ve N³-EtA değerlerinin sigara içen grupta daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p = 0,008 < 0,05). N³-MeA (p = 0,203 > 0,05), 8-OHdG (p = 0,788 > 0,05) ve Kotinin değerlerinin aroma kullananlar ile sigara grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p = 0,453 > 0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.27. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromasız kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile sigara içen grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Sigara	39	0,51 (0,00; 76,63)	-2,802	0,005
	Aromasız	4	0,06 (0,04; 0,17)		
N ³ -MeA	Sigara	39	6,81 (0,39; 64,89)	-2,091	0,037
	Aromasız	4	2,27 (0,37; 4,69)		
8-OHdG	Sigara	39	3,66 (0,00; 38,64)	-1,505	0,132
	Aromasız	4	1,60 (0,49; 5,56)		
Kotinin	Sigara	39	1613,16 (54,75; 8100,32)	-2,300	0,021
	Aromasız	4	649,08 (332,65; 925,42)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA (p = 0,005 < 0,05) ve N³-MeA (p = 0,037 < 0,05), kotinin (p = 0,021 > 0,05) değerlerinde aroma kullanmayanlar ile sigara grubu arasında anlamlı bir farklılık olduğu fakat bu farkın 8-OHdG için anlamlı olmadığı belirlenmiştir (p = 0,132 > 0,05) (Çizelge 4.27).

Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromasız kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS grubunda bulunan değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.28’ de sunulmaktadır.

Çizelge 4.28. Analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin aromasız kartuşlu E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile IQOS kullanan kişilere ait değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Aromasız	4	0,06 (0,04; 0,17)	-2,634	0,008
	IQOS	20	0,29 (0,06; 3,10)		
N ³ -MeA	Aromasız	4	2,27 (0,37; 4,69)	-2,169	0,030
	IQOS	20	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Aromasız	4	1,60 (0,49; 5,56)	-1,704	0,088
	IQOS	20	4,38 (0,11; 15,80)		
Kotinin	Aromasız	4	649,08 (332,65; 925,42)	-1,239	0,215
	IQOS	20	1088,25 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

N³-EtA değerlerinin ısıtmalı ile aroma kullanmayanlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu ($p = 0,008 < 0,05$) ve N³-EtA değerlerinin ısıtmalı E-sigara içen grupta daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, N³-MeA değerlerinin ısıtmalı ile aroma kullanmayanlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu ($p = 0,030 < 0,05$) ve N³-MeA değerlerinin ısıtmalı E-sigara içen grupta daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. (Çizelge 4.28).

Röntgen çekiminin çalışmamızda analizi yapılan DNA-katım ürünleri üzerine olası etkileri de değerlendirilmiştir. Çalışma grubumuzda 12 kişi yakın zamanda röntgen çektiğini bildirmiştir. Buna göre analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin e-sigara içen ve röntgen çektiren ve çekmeyen kişilerde bulunan değerlerin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.29’da sunulmaktadır.

Çizelge 4.29. E-Sigara kullanan ve kısa zaman öncesi röntgen çektiren kişilerde analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi

	Röntgen Durumu	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Evet	12	0,16 (0,04; 3,10)	-1,810	0,070
	Hayır	36	0,30 (0,02; 1,44)		
N ³ -MeA	Evet	12	2,90 (0,37; 29,36)	-0,905	0,366
	Hayır	36	5,34 (0,51; 61,95)		
8-OHdG	Evet	12	2,70 (0,49; 15,80)	-0,667	0,505
	Hayır	36	3,92 (0,11; 12,26)		
Kotinin	Evet	12	1223,39 (163,08; 6319,44)	-0,286	0,775
	Hayır	36	1103,93 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

Hem e-sigara kullanan hem de kısa süre önce röntgen çektiren kişilerde N³-EtA ($p = 0,070 > 0,05$), N³-MeA ($p = 0,366 > 0,05$), 8-OHdG ($p = 0,505 > 0,05$) ve kotinin değerlerinin röntgen çektirenler ile röntgen çekmeyen e-sigara kullanan kişiler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p = 0,775 > 0,05$) (Çizelge 4.29).

Bu durum kartuşlu ve IQOS kullanan bireyler için de genişletildiğinde (Çizelge 4.30, Çizelge 4.31) benzer sonuçlar elde edilmiş olup, röntgen çekiminin analizi yapılan madde düzeyine kartuşlu veya IQOS kullanımda bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. Kartuşlu E-sigara kullanan bireylere ait DNA-katım ve kotinin sonuçlarının röntgen çekirme durumuna göre farklılığının karşılaştırılması

	Röntgen Durumu	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Evet	8	0,12 (0,04; 0,59)	-1,526	0,127
	Hayır	20	0,27 (0,02; 0,97)		
N ³ -MeA	Evet	8	2,81 (0,37; 29,36)	-0,763	0,446
	Hayır	20	4,51 (0,51; 31,38)		
8-OHdG	Evet	8	2,19 (0,49; 5,86)	-1,678	0,093
	Hayır	20	4,41 (0,30; 11,75)		
Kotinin	Evet	8	1044,80 (163,08; 6319,44)	-0,407	0,684
	Hayır	20	1215,59 (332,65; 4597,04)		

* Mann-Whitney U Testi

Çizelge 4.31. IQOS kullananlara ait DNA-katım ve kotinin sonuçlarının röntgen çekirme durumuna göre farklılığının karşılaştırılması

	Röntgen Durumu	n	Ortanca (Min.; Maks.)	z	P*
N ³ -EtA	Evet	4	0,21 (0,06; 3,10)	-0,756	0,450
	Hayır	16	0,32 (0,11; 1,44)		
N ³ -MeA	Evet	4	10,28 (1,52; 28,51)	-0,189	0,850
	Hayır	16	7,54 (1,45; 61,95)		
8-OHdG	Evet	4	8,74 (2,17; 15,80)	-1,228	0,219
	Hayır	16	3,54 (0,11; 12,26)		
Kotinin	Evet	4	2388,23 (500,37; 5223,72)	-0,945	0,345
	Hayır	16	966,92 (6,21; 5248,32)		

* Mann-Whitney U Testi

Çalışmada anket sorularından elde edilen e-sigara içiminde alkol kullanımının analizi yapılan DNA-katım ürünleri üzerine olası etkileri de değerlendirilmiştir. Çalışma grubumuzda 34 kişi alkol kullandığını bildirmiştir. Buna göre analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin alkol kullanıp E-sigara içen kişilerde bulunan değerleri ile alkol kullanmayan ve e-sigara içen kişilerde bulunan değerlerin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 4.32’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.32. E-sigara içiminde alkol kullanımının analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin düzeylerindeki farklılığının karşılaştırılması

Değişken	Alkol Kullanma	n	Ortanca (Min.; Maks.)	Z	P*
N ³ -EtA	Evet	34	0,27 (0,02; 3,10)	-0,023	0,982
	Hayır	14	0,25 (0,06; 1,44)		
N ³ -MeA	Evet	34	5,36 (0,37; 61,95)	-0,567	0,571
	Hayır	14	4,97 (0,51; 17,66)		
8-OHdG	Evet	34	3,23 (0,11; 15,80)	-0,476	0,634
	Hayır	14	4,87 (1,30; 10,75)		
Kotinin	Evet	34	1245,27 (14,38; 6319,44)	-1,361	0,174
	Hayır	14	954,77 (6,21; 3743,89)		

* Mann-Whitney U Testi

E-sigara kullanan kişilerde N³-EtA (p=0,982> 0,05), N³-MeA (p=0,571> 0,05), 8-OHdG (p=0,634> 0,05) ve kotinin değerlerinin alkol kullananlar ile alkol kullanmayanlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (p=0,174> 0,05) (Çizelge 4.32).

Çalışmamızda e-sigara içme sıklığı ile elde edilen DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması Çizelge 4.33'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.33. Laboratuvar sonuçlarının e-sigara içme sıklığı grupları bakımından farklılığın karşılaştırılması

Değişken	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	χ^2	P*
N ³ -EtA	½ saatten az	15	0,32 (0,06; 0,97)	1,954	0,582
	½ -1 saat	14	0,21 (0,04; 3,10)		
	1 saat – 3/2 saat	9	0,22 (0,02; 0,49)		
	3/2 + saat	10	0,27 (0,04; 1,44)		
N ³ -MeA	½ saatten az	15	6,12 (0,92; 29,36)	1,517	0,678
	½ -1 saat	14	3,92 (0,37; 31,38)		
	1 saat – 3/2 saat	9	2,90 (0,51; 37,53)		
	3/2 + saat	10	5,05 (0,96; 61,95)		
8-OHdG	½ saatten az	15	5,64 (0,85; 11,75)	4,674	0,197
	½ -1 saat	14	4,45 (0,30; 15,80)		
	1 saat – 3/2 saat	9	3,16 (1,42; 12,26)		
	3/2 + saat	10	2,23 (0,11; 10,75)		
Kotinin	½ saatten az	15	1669,73 (500,37; 6319,44)	3,647	0,302
	½ -1 saat	14	1104,01 (6,21; 5248,32)		
	1 saat – 3/2 saat	9	1164,19 (14,38; 4077,29)		
	3/2 + saat	10	801,37 (14,83; 5013,52)		

*Kruskal Wallis

N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin bakımından E-sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p> 0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.33).

Sunulan çalışmada elde edilen DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin sigara kullanım süreleri ile farklılık gösterip göstermediği de araştırılmış olup, elde edilen istatistiki sonuçlar Çizelge 4.34'te sunulmaktadır.

Çizelge 4.34. DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin sigara kullanım süreleri bakımından farklılığın karşılaştırılması

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	χ^2	P*
N ³ -EtA	1-10 Sigara/Gün	15	0,39 (0,14; 10,58)	3,151	0,207
	11-20 Sigara/Gün	13	0,92 (0,00; 76,63)		
	20+ Sigara/Gün	11	0,46 (0,00; 11,45)		
N ³ -MeA	1-10 Sigara/Gün	15	4,62 (0,89; 13,07)	3,639	0,162
	11-20 Sigara/Gün	13	5,63 (0,39; 39,70)		
	20+ Sigara/Gün	11	9,20 (1,16; 64,89)		
8-OHdG	1-10 Sigara/Gün	15	2,20 (0,00; 9,57)	9.715	0,008
	11-20 Sigara/Gün	13	4,55 (1,44; 22,00)		
	20+ Sigara/Gün	11	5,67 (2,02; 38,64)		
Kotinin	1-10 Sigara/Gün	15	1467,46 (54,75; 3096,94)	5,960	0,051
	11-20 Sigara/Gün	13	1613,16 (137,48; 8100,32)		
	20+ Sigara/Gün	11	3221,64 (767,84; 6639,72)		

*Kruskal Wallis

N³-EtA, N³-MeA ve Kotinin bakımından sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p> 0,05); 8-OHdG bakımından ise sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğu (p <0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.34).

8-OHdG sonuçları bakımından farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığı Bonferonni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar ile incelenmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Sigara içimi miktarı ve 8-OHdG için sonuçlarının gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar

	Grup	Grup	Test İstatistiği	P*
8-OHdG	1-10 Sigara/Gün	11-20 Sigara/Gün	-1,866	0,186
		20+ Sigara/Gün	-3,065	0,007
	11-20 Sigara/Gün	20+ Sigara/Gün	-1,244	0,640

*Bonferonni düzeltmeli ikili karşılaştırma testi

Yapılan analiz sonucunda 8-OHdG değerlerinde günde 1-10 sigara içen grubun 20 üzeri sigara içenler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu (p <0,05) ve 8-OHdG değerlerinin sırasıyla en yüksek 20 üzeri sigara içenlerde en düşük 1-10 arası sigara içenlerde olduğu elde edilmiştir (Çizelge 4.35).

Sunulan çalışmada elde edilen DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin e-sigara kullanım süreleri ile farklılık gösterip göstermediği de araştırılmış olup, elde edilen istatistiki sonuçlar Çizelge 4.36’da sunulmaktadır.

Çizelge 4.36. DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin e-sigara kullanım sürelerine göre farklılıklarının değerlendirilmesi

	Grup	n	Ortanca (Min.; Maks.)	χ^2	P*
N ³ -EtA	1 yıldan az	10	0,21 (0,02; 0,97)	5.348	0,069
	1-2 yıl	12	0,37 (0,13; 3,10)		
	2+ yıl	26	0,23 (0,04; 1,44)		
N ³ -MeA	1 yıldan az	10	8,01 (1,18; 31,38)	3,880	0,144
	1-2 yıl	12	7,50 (0,92; 61,95)		
	2+ yıl	26	4,40 (0,37; 29,36)		
8-OHdG	1 yıldan az	10	5,11 (1,06; 11,75)	1,899	0,387
	1-2 yıl	12	3,54 (1,33; 15,80)		
	2+ yıl	26	3,28 (0,11; 10,22)		
Kotinin	1 yıldan az	10	1826,33 (393,50; 4597,04)	2,114	0,347
	1-2 yıl	12	1088,25 (6,21; 5248,32)		
	2+ yıl	26	985,71 (14,38; 6319,44)		

*Kruskal Wallis

N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin bakımından e-sigara içme süreleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p> 0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.36).

4.5. Korelasyona İlişkin Analiz Sonuçları

Çalışmamızda elde edilen N3-EtA, N3-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerleri ve yaşa ilişkin korelasyon analiz bulguları da incelenmiştir. Korelasyon analizlerinin anlamlı olabilmesi için değerin p<0,05 olması gerekmektedir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda katılımcıların yaş ve laboratuvar değerlerinin ilişkisi analiz edilmeye çalışılmıştır. N3-MeA değerlerinin; 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,01) görülmüştür. Benzer şekilde 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde bir ilişkinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (p <0,01) (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.37. Korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin
Yaş	1,000				
N³-EtA	0,081	1,000			
N³-MeA	0,108	0,067	1,000		
8-OHdG	0,123	-0,057	0,432*	1,000	
Kotinin	0,056	0,064	0,555*	0,624*	1,000

* Korelasyon 0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur.

Sigara içen grupta; Yaş ile N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin, sigara içme sıklığı ve sigara içme süresi değerlerine ilişkin korelasyon analizi bulguları incelenmiştir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda; yaştan hem sigara içme sıklığı hem de sigara içme süresi ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. N³-EtA değerlerinin, 8-OHdG ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. N³-MeA değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ve sigara içme sıklığı ile pozitif yönde bir ilişkinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,01$). Kotinin değerlerinin; sigara içme sıklığı ve sigara içme süresi ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir.

Benzer şekilde sigara içme sıklığı ile sigara içme süresi arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki mevcuttur (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. Sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin	Sigara İçme Sıklığı	Sigara İçme Süresi
Yaş	1,000						
N³-EtA	0,125	1,000					
N³-MeA	0,086	-0,055	1,000				
8-OHdG	0,272	-0,354*	0,211	1,000			
Kotinin	0,208	-0,173	0,339*	0,712**	1,000		
Sigara içme sıklığı	0,332*	0,053	0,304	0,505**	0,395*	1,000	
Sigara içme süresi	0,457**	-0,167	0,252	0,166	0,340*	0,330*	1,000

* Korelasyon 0,05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

** Korelasyon 0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur.

E-Sigara içen grupta; Yaş, N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin, E-sigara içme sıklığı ve E-sigara içme süresine ilişkin korelasyon analizi bulguları incelenmiştir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$) elde edilmiştir. N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$); benzer şekilde 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde bir ilişkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,01$) (Çizelge 4.39).

Çizelge 4.39. E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin	Sigara İçme Sıklığı	Sigara İçme Süresi
Yaş	1,000						
N³-EtA	-0,004	1,000					
N³-MeA	0,142	0,546*	1,000				
8-OHdG	0,022	0,541*	0,509*	1,000			
Kotinin	0,023	0,532*	0,521*	0,561*	1,000		
E-Sigara içme sıklığı	-0,023	-0,141	-0,117	-0,229	-0,268	1,000	
E-Sigara içme Süresi	-0,104	-0,042	-0,268	-0,182	-0,207	-0,045	1,000

** Korelasyon 0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur.

Kartuşlu E-Sigara içen grupta; N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde, E-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,01) elde edilmiştir. N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,01); E- sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05) tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkinin olduğu (p <0,01), E- sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05) elde edilmiştir. Kotinin değerlerinin E-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05) sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.40. Kartuşlu E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin	Sigara İçme Sıklığı	Sigara İçme Süresi
Yaş	1,000						
N³-EtA	0,055	1,000					
N³-MeA	0,140	0,518**	1,000				
8-OHdG	0,092	0,537**	0,515**	1,000			
Kotinin	0,069	0,598**	0,628**	0,580**	1,000		
E-Sigara içme sıklığı	-0,363	-0,547**	-0,426*	-0,409*	-0,445*	1,000	
E-Sigara içme Süresi	0,121	-0,049	-0,193	-0,119	-0,192	-0,023	1,000

* Korelasyon 0,05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

** Korelasyon 0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur.

Isıtmalı E-Sigara içen grupta; N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu elde edilmiştir (p <0,05). N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG, Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05) tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05), E-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,05) sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41. Isıtmalı E-sigara içen grubun korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin	Sigara İçme Sıklığı	Sigara İçme Süresi
Yaş	1,000						
N³-EtA	-0,257	1,000					
N³-MeA	0,030	0,520*	1,000				
8-OHdG	-0,199	0,532*	0,471*	1,000			
Kotinin	-0,005	0,454*	0,480*	0,549*	1,000		
E-Sigara içme sıklığı	-0,045	-0,075	-0,235	-0,473*	-0,307	1,000	
E-Sigara içme Süresi	-0,422	0,179	-0,205	-0,120	-0,234	0,356	1,000

* Korelasyon 0,05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

Kartuşlu E-Sigara içenlerin aroma kullananlarında; N³-EtA değerlerinin; N³-MeA (p <0,05), 8-OHdG (p <0,05) ve Kotinin (p <0,01) ile pozitif yönde, E-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu (p <0,01) elde edilmiştir. N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG (p <0,05) ve Kotinin (p <0,01) ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkinin olduğu (p <0,01) elde edilmiştir (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.42. Kartuşlu E-sigarada aroma kullananların korelasyon analizi bulguları

Değişken	Yaş	N ³ -EtA	N ³ -MeA	8-OHdG	Kotinin	Sigara İçme Sıklığı	Sigara İçme Süresi
Yaş	1,000						
N ³ -EtA	0,114	1,000					
N ³ -MeA	0,208	0,442*	1,000				
8-OHdG	0,106	0,453*	0,475*	1,000			
Kotinin	0,159	0,565**	0,665**	0,656**	1,000		
E-Sigara içme sıklığı	-0,595**	-0,448**	-0,351	-0,324	-0,373	1,000	
E-Sigara içme Süresi	0,112	0,066	-0,150	-0,068	-0,133	-0,128	1,000

* Korelasyon 0,05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

** Korelasyon 0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Sunulan tez çalışması, Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere sağlık otoritelerinin e-sigara kullanımına bağlı oluşa bilecek sağlık etkileri konusunda eksikliği duyulan bilimsel verilere katkı sağlamaya yönelik olarak planlanmış ve yürütülmüştür. Planlanış şekli ile, e-sigara kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek N³-MeA, N³-EtA, 8-OHdG DNA-katım ürünlerinin hepsinin bir arada ölçülmesine bağlı olası genotoksik risklerin değerlendirilmesine yönelik bilim dünyasındaki ilk çalışma olma özelliği nedeniyle ve konuya yönelik bilimsel verilere katkı sağlaması açısından önem taşımaktadır. Üretici firmaların ileri e-sigarayı kullanmak için ileri sürdükleri temel nedenlerden biri sigaraya göre çok az sayıda kimyasala maruziyetin gerçekleşmesi argümanıydı. Oysa artan sayıdaki literatür e-sigara kullanımına bağlı olarak çok sayıda kimyasala maruziyeti ortaya koymaktadır. Bu tez çalışmasında hedef alınan nokta, mutajenik/karsinojenik bileşiklerin DNA ile oluşturdukları hasarlardan biri olan katım ürünlerinin düzeylerinin belirlenerek, bu açıdan oluşabilecek başta kanser gibi sağlık riskleri konusunda bilgi sahibi olunmasıdır. Ayrıca bağımlılığın önemli bir bileşeni olan nikotine e-sigara kullanımı ile maruz kalınması, nikotin tipi bağımlılığın devamı açısından saptanması da bu çalışmanın en önemli çıktılarından biridir. Mevcut çalışmadan elde edilen DNA katım ürünü ve nikotin maruziyeti değerleri ayrıca bu değerlerin birbirleriyle ilişkili olup olmadığının araştırılması da çalışmamıza ayrı bir özgünlük katmaktadır. Diğer bir değişle sunulan çalışma e-sigara kullanan bireylerden elde edilen DNA katım ürünü değerleri ve nikotin bağımlılığına yönelik değerleri içermesi açısından bir ilk olup, DSÖ'nün "e-sigara güvenliği" konusunda eksikliğini duyduğu pek çok veriye bilgi eklemesi açısından son derece önemlidir.

Son on yılda, analitik yöntemlerin gelişmesiyle birlikte, biyolojik örneklerdeki DNA Katım Ürünlerinin belirlenmesine yönelik çeşitli analitik metotlar geliştirilmiş ve özellikle LC-MS-MS sistemleri düşük konsantrasyonlarda bile duyarlı ve seçici olması nedeni ile DNA katım ürünleri miktar tespiti için yaygın olarak kullanılan kromatografi tekniklerinin en gelişmişidir. Bu tez çalışması, DNA katım ürünü alanında bilim dünyasında en fazla kabul gören, LC-MS/MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Chen vd., 2016; Hu vd., 2010; Hu, Liu, Li ve Chao, 2012; Rackowska, Bobrowska ve Giebultowicz, 2019; Tang vd., 2019; Tian vd., 2014).

Çalışmamızda biyolojik numune olarak spot idrar numunelerinden yararlanılmıştır. İdrar, alım kolaylığı nedeniyle pek çok kimyasala maruziyetin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir örnektir. Ayrıca, suda çözünürlüğü yüksek olan kimyasal maddelerin ve metabolitlerinin araştırılmasında, DNA katım ürünleri gibi biyobelirteçlerin tayininde yaygın kullanılan biyolojik numune örneğidir (Carmella, Akerkar, Richie ve Hecht, 1995; Chen vd., 2016; Chen ve Lin, 2013; Hosozumi vd., 2012; Hu, Hsu, Chen, Tam ve Chao, 2014; Hu vd., 2012; Kawasaki vd., 2020; Morgil ve Çok, 2020; Prevost vd., 1993; Sakamaki-Ching vd., 2020; Sharma, Sane, Anand, Marimuthu ve Benagal, 2019; Takahashi, Boysen, Li, Li ve Swenberg, 2007; Tian vd., 2014; Tsuboi vd., 1998). Ancak, spot idrarda, örneği veren kişinin 24 saatlik idrarındaki biyogösterge düzeyinin ölçümünün sağlana bilmesi için, kreatinin ölçümü yapılması ve kreatinin değerinin düzeltme faktörü olarak kullanılması daha anlamlı olmaktadır. Bundan dolayı, çalışmamızda elde edilen N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin değerlerini, kreatinin düzeylerini de LC-MS/MS yöntemiyle ölçülerek, düzeltme faktörü ile hesaplanarak sunulmuştur.

Kromatografik tayinlerde doğru sonuca olabildiğince yaklaşmak, olası kayıpların önüne geçmek amacıyla iç standart kullanılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda maddeye özgü uygun iç standart seçilirse olası sistematik hatalar giderilebilir. İç standart olarak çok az rastlanan ve numunede bulunmadığı bilinen maddeler seçilmelidir. Bu tür analizlerde ya tek bir iç standart ya da analizi yapılacak her bir madde için ayrı iç standart kullanımı söz konusudur. Son yıllarda her maddeye ait kendi işaretlenmiş iç standart kullanımı giderek gelişen analiz tekniklerindendir. İşaretlenmiş iç standartlar analiz edilen maddeye özgü olması açısından tam bir özgünlük sağlamakla birlikte, radyoaktif işaretleme gerçeştirilmesine de bağlı olarak pahalı ürünlerdir. Çalışmamızda yer alan tüm DNA katım ürünleri ve Kotinin için Çizelge 3.1’de sunulduğu gibi kendi döteryumlu iç standartları kullanılmıştır.

Çalışmamızda analizi yapılan N³-MeA, N³-EtA ve 8-OHdG için metot optimizasyonu gerçekleştirirken, düşük konsantrasyonda yüksek sinyal elde edebilmek için metot optimizasyonunda farklı çözücü (ACN, MeOH, Su) ve tampon (Amonyum asetat, amonyum format, formik asit) karışımlar ile mobil fazlar hazırlanarak, farklı çap ve boyutlarda çeşitli analitik kolonlar kullanılarak düşük konsantrasyonda yüksek sinyal için gerekli şartlar sağlanmıştır. Tang ve arkadaşlarının (Tang vd., 2019) 14 DNA katım ürünü çalışmalarında N³-MeA için en iyi sinyali %0,1 asetik asit içeren ACN’li mobil faz ile sağladıkları

bildirilmiştir. Tarafımızca yapılan bu çalışmada en iyi sinyali N³-MeA ve N³-EtA'nın eş zamanlı analizinde %0,1 FA ACN ile sağladık. Çalışmamızda N³-MeA ve N³-EtA için en iyi ayırım ise HILIC (hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisi) yapıdaki analitik kolon ile sağladığı belirlendiğinden, bu katım ürünlerinin analizinde son derece verimli bir şekilde HILIC kolondan yararlanılmıştır.

Çalışmamızda, eş zamanlı N³-MeA ve N³-EtA analizlerinde LOD değerleri her ikisi içinde 0.01 ng/ml olarak ölçülmüştür. 2014 yılında Tian ve arkadaşlarının sigara içenlerde N³-MeA ve N³-EtA miktar ölçümü LC-MS/MS cihazında gerçekleştirmiştir ve LOD değerleri sırası ile 0,13 ng/ml ve 0,02 ng/ml olarak ölçmüştür (Tian vd., 2014). Hu ve arkadaşları N³-MeA için online SPE ile çalışma yapmış ve LOD değerini 0,035 ng/ml olarak ölçmüştür (C.-W. Hu vd., 2010). Feng ve arkadaşları N³-MeA ve N³-EtA miktar ölçümü LC-MS/MS cihazında gerçekleştirmiştir ve LOD değerini her iki madde için 0,02 ng/ml olarak ölçmüştür (Feng vd., 2006). Tian ve Ark, Feng ve arkadaşları N³-MeA ve N³-EtA çalışmalarında örneklerde zenginleştirmeye ihtiyaç duymuş ve SPE tekniğinden yararlanmıştır (Feng vd., 2006; Tian vd., 2014). Dolayısıyla belirtilen DNA-katım ürünlerinin analizinde en duyarlı yöntemlerden biri olarak dikkat çekmektedir.

DNA Katım ürünü alanında yapılan çalışmalarda çoğunlukla klasik SPE yöntemleri ile zenginleştirmeye ihtiyaç duyulmuştur. SPE gerektiren geleneksel LC-MS/MS yöntemleri zaman alıcı ve yoğun emek gerektirir. Bu yöntem ayrıca metabolitlerin kaybı veya düşük geri kazanım riski taşımaktadır. Klinik toksikoloji, son zamanlarda doğrudan enjeksiyon ile dilüsyon metodu (dilute and shoot) yöntemlerini kullanmaya başlamıştır (Deventer vd., 2014). Doğrudan enjeksiyon tekniğinde numuneler seyreltilerek doğrudan LC-MS/MS sistemine enjekte edilmektedir. Çalışmamızda metod hassasiyetimizin yüksek olması ve teşhis limitlerimizin düşük olması sebebiyle, SPE gibi ek bir zenginleştirmeye ihtiyaç duyulmadan, idrar örnekleri seyreltilerek LC-MS/MS cihazına doğrudan enjekte ederek analizler gerçekleştirilmiştir. Böylece daha kısa sürede ve daha az miktarda kimyasal madde, sarf malzeme ve örnek kullanımı ile çalışma olanağı sağlamıştır.

8-OHdG çalışmamızda, Şekil 3.2'de sunulduğu gibi LC-MS/MS cihazına on-line SPE sistemi ile entegre edilerek bir yöntem geliştirilmiştir. On-line SPE'li LC-MS/MS metodunda, 8-OHdG analizleri, 0,03 ng/ml LOD değeri ile yüksek seçicilikte ve hassasiyette gerçekleştirilmiştir. 2010 yılında Hu ve arkadaşlarının sigara içenlerin idrar örneklerinde,

N³-MeA ve 8-OHdG çalışmalarını (Hu vd., 2010), 2011 yılında ise Wang ve arkadaşları, plazma ve serum örneklerinde 8-OHdG çalışmalarını on-line SPE sistemli LC-MS/MS metodunu kullanmışlardır ve yaptıkları çalışmada on-line SPE sistemini açık ve kapalı olarak karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışmada daha az numune kullanımı, daha düşük LOD değeri ve daha düşük matris etkisi tespit etmişlerdir (Wang vd., 2011).

Sigara içen, sigara dumanına pasif olarak maruz kalan insanların nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için kan, idrar, tükürük gibi vücut sıvılarında kotinin düzeyinin tayini sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Hammond, 2009; Miller ve Cocores, 1993). Kotinin, nikotin ana metabolitlerinden biridir. Kotininin eliminasyon yarı ömrü daha uzun olduğundan (yaklaşık 20 saat), aktif sigara içme davranışını tahmin etmek için biyolojik örneklerde kotinin ölçümü, güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır ve bu nedenlerle epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda nikotin maruziyetinin belirlenebilmesi için hassas ve spesifik bir biyogösterge olarak kotinin kullanılmaktadır (Benowitz vd., 1994). E-sigara, klasik sigarayla karşılaştırıldığında daha az miktarda olsa da formaldehit, asetaldehit, akrolein (Goniewicz vd., 2013) ve tütüne özgü nitrozaminler (NNN ve NNK) gibi toksik kimyasal maddeleri içermektedir (Fischer vd., 1991). Çalışmamızda yaptığımız idrar kotinin düzeyi ölçümü ile e-sigara kullanan kişilerdeki potansiyel NNN ve NNK maruziyet düzeyinin anlaşılabilmesine yardım edecektir. Kotinin tayini içinde literatürde en fazla kabul gören LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır (Chen vd., 2016; Göney vd., 2016; Hou vd., 2012; Sharma vd., 2019).

İdrarda alkilenmiş DNA katım ürünlerinin analizi, oldukça hassas, spesifik ve kantitatif bir yöntem gerektirir. İnsan idrar örneklerinde 8-OHdG, N⁷-MeG gibi DNA katım ürünlerinin belirlenmesi, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), Sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS), Gaz kromatografisi kütle spektrometrisi (GC-MS), ELISA ve P³² ile işaretleme yöntemi gibi yöntemler yardımıyla gerçekleştirilmektedir (Ma vd., 2019; Phillips ve Venitt, 2012). Ölçümünün tekrarlanabilirliği ve doğruluğu, ELISA yöntemine göre HPLC ve LC-MS/MS yöntemlerinde çok daha yüksektir (Yoshida, Ogawa ve Kasai, 2002). Boyama yoğunluğu, çapraz reaktivite, özellikle benzo (a) piren (B(a)P) DNA katım ürünlerine karşı oluşan antikorlar nedeniyle ELISA spesifiklikten yoksunluğu fazladır (Pratt vd., 2011). P³²-etiketleme, yüksek hassasiyete sahip olmasının yanı sıra, zaman alıcı ve büyük miktarlarda radyoaktivite gerektiren yöntem olmanın dezavantajlarını barındırmaktadır (Lin vd., 2009). Kütle spektrometrisi tabanlı yöntemlerde

İmmünokimyasal yöntemlerde karşılaştırıldığında, önemli ölçüde daha yüksek seviyelerde (~ 1.000 kat) DNA-katım ürünü saptanmıştır (Ma vd., 2019). Özellikle izotopik iç standartların ve katı faz ekstraksiyon sisteminin kullanılmasıyla LC-MS/MS yöntemi yardımıyla 4,8 fmol'luk karşılaştırılabilir bir LOD'ye kadar oldukça spesifik ve hassas ölçümler yapılabilir hale gelmiştir. Ayrıca saflaştırma metodları gereksiz LC-MS/MS analizlerinde kompleks idrar matrisindeki iz DNA-katım ürünleri (N7-MeG gibi), konsantrasyonları etkilenmeden rahatlıkla doğrudan ölçülebilmektedir (Chao, Wang, Chang ve Hu, 2005; Kawasaki vd., 2020; Lin vd., 2009). Bu nedenler göz önünde bulundurularak çalışmamızda en hassas düzeylere inebilmek ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek amacıyla LC-MS/MS ile DNA-katım ürünlerinin düzeylerinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir.

Çalışma gruplarımızın oluşturulmasında bazı parametreler göz önünde tutulmuştur. Örneğin e-sigara kullanan bireylerin daha önceden sigara içtikleri daha önce tamamlanan çalışmamızda ve dünya literatüründe bildirilmektedir. Bireylerin büyük kısmı da sigarayı bırakmak amacıyla veya daha az kimyasal maddeye maruz kalmak amacıyla e-sigara başlamaktadır. Bu durum da biyolojik numune toplanmasını etkilemektedir. Bu durumların başında sigara dumanının içinde yer alan sigaraya özgü kimyasallar ve oluşan DNA-katım ürünlerinin yarı ömürleri gelmektedir. Örneğin NNAL tütüne özgü bir nitrozamin ve insanlarda kanserojen NNK bir metabolitidir. Birçok çalışma tarafından sigara içenlerde ve sigaraya pasif olarak maruz kalanlarda idrar NNAL seviyelerini araştırılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda idrar NNAL, 10-40 günlük bir eliminasyon yarı ömrü ile idrarda yavaşça elimine edildiğini ortaya koymuştur. Bu durum da bu nitrozaminin ve metabolitin sigarayı bıraktıktan sonra dahi birkaç ay boyunca idrarda saptanabileceğini göstermektedir (Benowitz vd.,2020). Bu durum sigarayı bırakanların ya da sigarayı birkaç ay önce bırakanların idrarlarında özellikle sigaraya özgü kimyasallar ve ROS kaynaklanan DNA-katım ürünlerinin idrardaki mikarlarının birkaç ay daha saptanabilmesine neden olmaktadır. (Kawasaki vd.,2020). Bu gibi etkileşimlerden kurtulmak mümkün olduğu kadar kesin ve girişimsiz sonuçlara ulaşmak için çalışmamızda sigarayı bırakanlar ve bırakıp da e-sigaraya başlayanlardan numune almak için en az 3 aylık bir ara verilmesi çalışmamızda istenmektedir. Ayrıca bu çalışma daha önce Anabilim Dalımızda e-sigaranın oluşturduğu genotoksik etkilerinin araştırıldığı ve tamamlanan doktora tez çalışmasındaki şartlar göz önüne alınarak hazırlandığından, genotoksisiteyi etkileyen faktörler göz önüne alınarak planlanmış olan numune alım şartlarının aynıları bu tez çalışmasında da yerine getirilmektedir.

Çalışma grubunun düzenlenmesinde pasif maruziyet grubunu oluşturan bireyler için sadece sigara dumanına maruz kalanlar çalışma grubuna alınmıştır. Pasif maruziyet için sigara dumanına en az 1 saat maruz kalma şartı aranmıştır. Günümüzün pandemi koşulları da göz önüne alındığında numune toplamanın en güç olduğu dönemi yaşadığımızdan özellikle sigara dumanına pasif maruz kalan kişiler için daha da zorlayıcı şartları oluşturma şansına sahip olamamakla beraber uyguladığımız anket formlarında maruziyetler hakkında yeterli bilgiler edinilmesi söz konusu olmuştur.

Sunulan tez çalışmasında e-sigara içimine bağlı olarak DNA da oluşan hasarın belirlenmesinde DNA-oksidasyonu ve alkilasyonuna bağlı 3 farklı DNA-katım ürünü değerlendirilmeye çalışılmıştır. Bunlardan 2 tanesi DNA'nın farklı alkilasyonlarını, metilasyon (N^3 -MeA) ve etilasyonun (N^3 -EtA) belirlenmesi diğeri ise DNA oksidasyonun (8-OHdG) belirlenmesine yönelik olarak yürütülmüştür. Bu iki mekanizmaya ait DNA-katım örneklerinin ölçülmesi çok anlamlı olabilir, çünkü DNA oksidasyonu ve alkilasyonuna bağlı mutagenез ve karsinojenez mekanizmaları farklıdır.

Bu amaçla bu tez çalışması daha önce anabilim dalımızda tamamlanmış “Elektronik Sigara (e-sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi” (Göney, 2016) isimli proje ve doktora tez çalışmasında elde edilen sonuçların nedenlerinin araştırılmasına yönelik ilk önemli çalışmalardan biri olarak planlanmıştır. Nitekim daha önce tamamlanan bu çalışmada e-sigara kullanımının olası genotoksik etkisi komet, kromozomal aberasyon ve bukkal mikroçekirdek deneyleri yapılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çalışmada Kuyruk momenti sonuçları göz önüne alındığında; kontrol grubu ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark ($p<0,001$) anlamlı bulunmuştur. Benzer sonuçlar Kuyruk yoğunluğu sonuçları için de bulunmuştur ($p<0,001$). Çalışmada MÇ sayısı bakımından gruplar arasında kıyaslama e-sigara kullanan grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunmuştur. Çalışmada yanak epiteli hücrelerindeki diğer çekirdek anomalileri sıklıklarına ait veriler sitom analizi ile de değerlendirilmeye alınıp e-sigara kullananların Karyohektik ve piknotik hücre sayıları kontrol grubundan farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Tamamlanan projede genotoksisiteye yönelik çalışılan testlerinden biri olan kromozomal aberasyon deneyi ile de kromozomlarda meydana gelmiş olan hasarlar değerlendirilmeye çalışılmıştır. Kromatit tipi aberasyonlardan olan kromatit kırığı verileri sigara içen grup ile e-sigara kullanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) olarak bulunmuştur. Çok geniş kapsamlı olarak

gerçekleştirilen ve tamamlanan, e-sigara kullanımına bağlı olarak ortaya çıktığı saptanan genotoksik etkilere yönelik, e-sigaradan kaynaklanabilecek çeşitli faktörlerin değerlendirilmesinde, DNA-katım ürünlerinin varlığının ve düzeylerinin araştırılması ilk akla gelen nedenlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Dolayısıyla bu tez çalışması ile e-sigara içimine bağlı oluşan genotoksositeye neden olabilecek faktörlerden DNA-katım ürünlerinin araştırılmasına yönelik ilk çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Tütün ürünü kullanımıyla ilişkili toksik kimyasallara maruziyet çeşitli biyogöstergeler ile ortaya konulabilmektedir. DNA katım ürünleri toksikolojik risk analizlerinde biyogösterge görev yapmaktadır. DNA katım ürünleri etkinin değil, maruz kalmanın biyobelirteçleridir. DNA katım ürünleri mutasyon değildir, onarılabilir. DNA veya protein katım ürünleri moleküler dozu, metabolizma, detoksikasyon ve DNA onarımı hakkındaki bilgilerimizi bütünleştirir. Böylece tür farklılıkları hakkında önemli bilgiler sağlar. DNA katım ürünlerinin düşük dozda doğrusal olması beklenir.

Deoksiguanozinin oksidasyonu ile yapılan DNA baz değişikliğinin bir ürünü olan 8-OHdG, C-8 pozisyonu reaktiflere karşı savunmasız olduğundan, oksidatif DNA hasarının biyobelirteçleri için yaygın olarak kullanımı söz konusudur (Turesky ve Le Marchand, 2011). 8-OHdG, DNA replikasyonu sırasında G:C baz çiftinden A: T baz çiftine dönüşüme neden olur. Son yıllarda üriner 8-OHdG, yaşlanma, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, parkinson, alzheimer ve farklı kanser türlerinin erken belirteci dahil olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde oksidatif DNA hasarının mükemmel bir biyobelirteci olarak hizmet etmektedir (Guo vd., 2016).

DNA-alkilasyon lezyonları, hücrelerde en yaygın DNA hasarı türleri arasındadır. DNAda oluşan alkilasyon hasarı, genetik bütünlük ve hücresel hayatta kalma için ciddi bir tehdit oluşturabilmektedir. Çalışmamızda analizi yapılan N3-MeA, N3-EtA, tütün dumanındaki kanserojen ajanların (örn. N-nitrosaminler ve etilen oksit) neden olduğu DNA hasarı için potansiyel biyobelirteçlerdir. N3-MeA, DNA küçük oluğuna çıkıntı yapan pro-mutajenik bir lezyondur. N3-MeA, replikasyondan sorumlu DNA polimerazların DNA sentezini bloke ettiği için oldukça sitotoksiktir. N3-EtA pro-mutajenik DNA lezyonları olarak kabul edilmez. Fakat oluşan N3-EtA spontan depurinasyon veya glikosilazların apürinik bölgeler oluşturması ve ardından idrarla atılması yoluyla DNA'dan uzaklaştırılır. Oluşan bu apürinik bölgeler verimli bir şekilde onarılmazsa, imidazol halkasının açılmasına ve DNA sarmalının

kırılmasına neden olabilirler. Bu nedenle, N³-MeA ve N³-EtA, tütün dumanındaki kanserojen ajanların (örn. N-nitrosaminler ve etilen oksit) neden olduğu DNA hasarı için potansiyel biyobelirteçlerdir (Tian vd., 2014). DNA oluşan alkilasyonların değerlendirilmesi Çizelge 5.1’de sunulmaktadır.

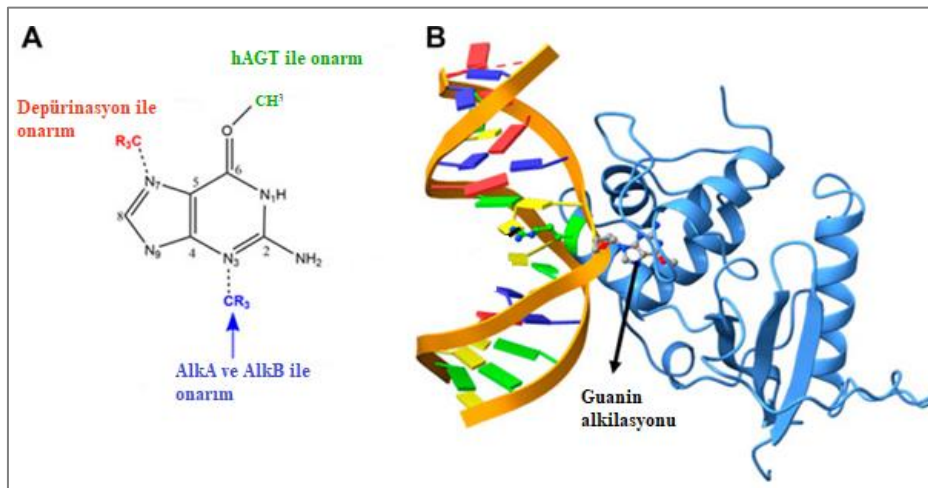
Çizelge 5.1. DNA alkilasyon bölgeleri ve onarımları (Tubbs ve Tainer, 2013)

Hasar	Biyolojik etki	DNA tamir mekanizması
Adenin		
N1-Metiladenin	Sitotoksik	DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
N3-Metiladenin	Sitotoksik	Baz eksizyon onarımı (BER)
N7-Metiladenin	Hızlı depürinasyon	BER
1, N6-Etanoadenin	Sitotoksik	BER, DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
Guanin		
N1-Metilguanin	Mutajenik, sitotoksik	BER, DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
N3-Metilguanin	Sitotoksik	BER
O6-Metilguanin	Mutajenik, sitotoksik	DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi, Nükleotid eksizyon tamiri (NER), DNA hatalı eşleşme onarımı (MMR: Mismatch Repair)
N7-Metilguanin	Zararsız depürinasyon	BER
8-Metilguanin		BER
Timin		
O2-Metiltimin	Sitotoksik	BER
N3-Metiltimin	Sitotoksik	BER, DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
O4-metiltimin	Mutajenik, sitotoksik	DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
Sitozin		
O2-Metilsitozin	Sitotoksik	BER
N3-Metilsitozin	Sitotoksik	BER, DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
3, N4-Etanositozin	Mutajenik, sitotoksik	DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi
DNA omurgası		
Sp-Metilfosfotriester		DNA hasarının doğrudan tersine çevrilmesi

Bir hücrenin genomik bütünlüğü, bir alkil grubunu kovalent olarak bağlayarak bir DNA'nın nükleotid bazına zarar verebilen bazı hücre dışı ve hücre içi kimyasallar tarafından sürekli olarak tehdit edilir. Bu tür hasarlı DNA, hücrelerde zararlı mutasyonlara ve sitotoksisteye neden olabilir; bu nedenle hücre, bu tür DNA hasarını onarmak için nihai mekanizmaya sahiptir. Bu onarım mekanizması, özellikle bu amaç için gelişmiş bazı proteinler ve/veya enzimler tarafından, esas olarak üç farklı mekanizma yoluyla gerçekleştirilir: 1) UV indüksiyonu ile fotolizazlar yoluyla fotolezyonlar, 2) O6-alkilguanin-DNA alkiltransferaz (AGT) ile tersine çevirme ve 3) AlkB familyası dioksijenazlar tarafından tersine çevrilmesi.

Bununla birlikte, son iki mekanizma, yani AGT ve AlkB enzimleri tarafından hasarın tersine çevrilmesi, hasarlı bazın alkilasyonu yoluyla doğrudan bir DNA onarım mekanizmasıdır ve bu nedenle DNA lezyonlarını onarmanın en etkili yolu olduğuna inanılmaktadır. Onarım mekanizmasının, alkilasyon saldırısının konumu ile yüksek oranda ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Örneğin, guanin bazının N7 konumunda alkilasyon meydana gelirse, çoğunlukla depürinasyon yoluyla onarılan zararsız bir lezyonla sonuçlanır. Benzer şekilde, nükleotit bazının N³ konumunda alkilasyon meydana geldiğinde, ortaya çıkan lezyon, DNA replikasyonunu bloke eder ve AlkA veya AlkB proteinleri tarafından onarılır. Alkilasyon için üçüncü savunmasız bölge, O6-metilguanin üretmek için DNA bazının oksijen atomudur (O6). Bu lezyonun oldukça mutajenik olduğuna inanılmaktadır ve DNA replikasyonu sırasında bir G:C→T: A geçiş mutasyonu üretmek için timin ile yanlış eşleşir (Şekil 5.1) (TG, Siddiqui ve Dubey, 2022).

Bunun bir örneği, mikotoksinin reaktif bir ara maddesi olan aflatoksin B1'de (AFB1) görülür. AFB1–8,9-epoksit, katım ürünleri oluşturmak için hepatosit DNA'sındaki guanin bazları ile etkileşime girer. AFB1 tarafından indüklenen replikasyon hatalarının yaygın bir sonucu, TP53'te ekzon 7'deki kodon 249'da guanin'in timin ile ikame edildiği bir transversiyon mutasyonudur.



Şekil 5.1. (A) alkilasyon pozisyonuna göre DNA onarım mekanizması (B) alkillenmiş guanin

Genel olarak e-sigara ve ısıtılmış tütün ürünü kullanan (kartuşlu + kartuşsuz) toplam 48 kişiden elde edilen N³-EtA değerleri sigara içen, sigara dumanına pasif maruz kalan kişiler ve kontrol grubundaki kişilerden elde edilen N³-EtA değerleri ile karşılaştırıldığında; e-

sigara kullanan bireylerde (n=48) N³-EtA konsantrasyonu 0,4±0,5 ng/g kreatinin, sigara içen bireylerde (n=39) 1,48±13,15 ng/g kreatinin, sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerde (n=32) 0,19±0,24 ng/g kreatinin ve sigara kullanmayan kontrol grubunda (n=41) 0,01±0,05 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5). Bu sonuçlar çerçevesinde e-sigara içen grubumuzdan elde edilen N³-EtA düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu (p<0.001) yine e-sigara içen grubumuzdan elde edilen N³-EtA düzeylerinin pasif maruziyet grubundan daha yüksek olduğu (p<0.018) anlamlılık düzeyinde istatistiksel farklılık bulunurken sigara içen grup ile istatistiksel bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (p=0.275) (Çizelge 4.10). Diğer yandan 48 kişilik e-sigara kullanan grubumuzdan elde edilen N³-MeA değerleri sigara içen, sigara dumanına pasif maruz kalan kişiler ve kontrol grubundaki kişilerden elde edilen N³-MeA değerleri ile karşılaştırıldığında, e-sigara kullanan gruptaki N³-MeA konsantrasyonu 9,62±12,13 ng/g kreatinin, sigara içen bireylerde 9,72±11,82 ng/g kreatinin, sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerde 2,13±2,09 ng/g kreatinin ve sigara kullanmayan kontrol grubunda 2,19±2,10 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Bu sonuçlar çerçevesinde e-sigara içen grubumuzdan elde edilen N³-MeA düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu (p<0.001) yine e-sigara içen grubumuzdan elde edilen N³-MeA düzeylerinin pasif maruziyet grubundan daha yüksek olduğu (p<0.001) anlamlılık düzeyinde istatistiksel farklılık bulunurken sigara içen grup ile istatistiksel bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (p=0.410) (Çizelge 4.10).

Çalışmamızda e-sigara ve ısıtılmış tütün ürünü kullanan kişilerden elde edilen 8-OHdG değerleri sigara içen, sigara dumanına pasif maruz kalan kişiler ve kontrol grubundaki kişilerden elde edilen 8-OHdG değerleri ile karşılaştırıldığında ise e-sigara kullanan bireylerde 8-OHdG konsantrasyonu 4,83±3,68 ng/g kreatinin, sigara içen bireylerde 7,20±9,05 ng/g kreatinin, sigara dumanına pasif maruz kalan bireylerde 3,67±1,92 ng/g kreatinin ve sigara kullanmayan kontrol grubunda 2,87±2,05 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar çerçevesinde e-sigara içen grubumuzdan elde edilen 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu (p<0.009) belirlenirken, e-sigara içen grubumuzdan elde edilen 8-OHdG düzeylerinin pasif maruziyet grubundan (p=0.347) ve sigara içen grup ile istatistiksel bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (p=0.844) (çizelge 4.10).

Çalışmamız iki farklı elektronik tütün ürününün kullanımına bağlı oluşturdukları DNA-katım ürünlerinin belirlenmesi ve karşılaştırması açısından da bir ilki oluşturmaktadır. Bu

amaçla e-sigaranın yanı sıra ısıtılmış tütün ürünü özelliğindeki ürünlerden biri olan IQOS kullanan bireylerde de DNA-katım ürünleri belirlenmiştir. Isıtılmış tütün ürünlerinde (bu çalışmada kartuşsuz olarak da adı geçmektedir) tütün 350°C'nin altında ısıtılarak nikotin üretilir. Kartuşlu e-sigaralar ise nikotin içeren veya içermeyen e-sıvıyı ısıtır. Bu ürünlerden çeşitli pazarlarda farklı şirketlerin ürettiği çok sayıda ürün mevcut olup; Philip Morris International'dan IQOS, Japan Tobacco International'dan Ploom TECH, British American Tobacco'dan Glo ve Korean Tobacco & Ginseng'den LiL bazılarıdır (Miller vd., 2022)

Bu ürünler içerisinde IQOS şu anda yaklaşık 60 ülkede satılan ve en fazla tercih edilenidir. Bu nedenle de çalışmamızda bu ürün kullanıcılarından yararlanılmış ve çalışmamızda kartuşsuz kullanıcılar olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda kartuşlu ve ısıtılmalı (IQOS) e-sigaralar arasında farklılıklar incelendiğinde N³-EtA değerleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığı ($p = 0,174 > 0,05$) ancak N³-MeA değerlerinin ($p = 0,047 < 0,05$) ısıtılmalı e-sigarlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 8-OHdG ($p = 0,210 > 0,05$) ve kotinin $p = 0,917 > 0,05$ değerlerinin kartuşlu ile ısıtılmalı e-sigaralar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.16). Elde edilen bu sonuçları: e-sigara ve IQOS kullanımı nedeniyle oksidatif DNA hasarı olduğu, e-sigara ve IQOS kullanımı nedeniyle DNA alkilasyonu ve bunun sonucunda alkillenmiş DNA katım ürünleri olduğu ve IQOS kullanımı, genotoksik N³-MeA katım ürünü oluşumunda e-sigarlardan daha büyük bir role sahip olabileceği yönünde değerlendirmek mümkündür. Bu konuda yapılmış başka çalışmalar bulunmadığından ve sonuçlar ilk kez elde edilen sonuçlar olduğundan, başka çalışmalarla karşılaştırma olanağı sağlanamamıştır.

Çalışmamızda yer alan kartuşlu ve ısıtılmalı (IQOS) e-sigara grubu kendi içinde kullanım şekline göre iki gruba ayrılarak yeniden istatistiksel değerlendirmeye alınmıştır. Buna göre kartuşlu tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA ve N³-EtA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 0.001 düzeyinde bir anlamlılık elde edilirken, bu anlamlılık 8-OHdG düzeylerinde belirlenememiştir ($p=0.124$) (Çizelge 4.17). Aynı şekilde kartuşsuz (IQOS) tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA ve N³-EtA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 0.001 düzeyinde bir anlamlılık elde edilirken, bu anlamlılık 8-OHdG düzeylerinde 0.012 düzeyinde belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Bu sonuçlara göre e-sigara ve IQOS kullanan kişiler, herhangi bir tütün ürünü kullanmayan ve maruz kalmayanlara göre daha yüksek genotoksisite riski altında olabilir. Ayrıca IQOS kullanımı

genotoksik etkiler açısından daha riskli bir ürün olabilir şeklinde yorum yaratmak mümkündür

Ayrıca kartuşlu tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA ve N³-EtA düzeyleri sigara içen gruptan elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında sigara içenlerin daha yüksek N³-EtA düzeylerine sahip oldukları ($p < 0.001$) belirlenirken, N³-MeA için de aynı durum söz konusu olmasına karşın iki grup arasındaki istatistiksel farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.075$) (Çizelge 4.21). Aynı şekilde kartuşsuz (IQOS) tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA, N³-EtA ve 8-OHdG düzeyleri sigara içen grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4.22). Bu değerler, a) sigara içimi, e-sigara ve IQOS kullanımı, oksidatif DNA hasarına ve alkilenmiş DNA katım ürünlerinin oluşumuna neden olmaktadır, b) e-sigara kullananlarda oksidatif DNA hasarı ve N³-EtA, N³-MeA DNA-katım ürün seviyeleri daha düşük bulunsun da, N³-EtA dışında farklar anlamlı değildi, c) Oksidatif DNA hasarı ve toksik N³-MeA katım ürünü IQOS kullananlarda sigara içenlere göre daha yüksek saptandı, sonuçlarını doğrurken; e-sigara ve IQOS kullanımı, sigara içmek kadar DNA hasarına neden olabilir yorumunun da yapılmasına neden olabilir.

Benzer şekilde kartuşlu tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA (3.92 ng/g kreatinin) ve N³-EtA (0.23 ng/g kreatinin) düzeyleri sigaraya pasif olarak maruz kalan gruptan elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında N³-MeA (1.34 ng/g kreatinin) ve N³-EtA (0.07 ng/g kreatinin) istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.015$, $p < 0.001$) yüksek değerler elde edilmiştir, bu anlamlılık 8-OHdG düzeylerinde (pasif=3.05ng/g kreatinin; kartuşlu tip=3.19 ng/g kreatinin) belirlenememiştir ($p = 0.722$) (Çizelge 4.19). Aynı şekilde kartuşsuz (IQOS) tip e-sigara kullanan bireylerden elde edilen N³-MeA (7.54 ng/g kreatinin) ve N³-EtA (0.29 ng/g kreatinin) düzeyleri sigaraya pasif maruz kalan gruptan elde edilen N³-MeA (1.34 ng/g kreatinin, $p < 0.001$) ve N³-EtA (0.07 ng/g kreatinin, $p < 0.03$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilirken, bu anlamlılık 8-OHdG düzeylerinde (pasif=3.05 ng/g kreatinin; kartuşlu tip=4.38 ng/g kreatinin) belirlenememiştir ($p = 0.110$) (Çizelge 4.20). Elde edilen bu sonuçların ışığında maruz kalma nedeniyle oluşan alkilenmiş DNA katım ürünleri göz önüne alındığında; e-sigara ve IQOS kullanımı, pasif sigara maruziyetinden daha fazla DNA hasarına neden olabileceği sonucu çıkartılabilir.

Literatürde e-sigara kullanan kişilerde N³-EtA ve N³-MeA düzeyi için yapılmış çalışma olmadığı için elde ettiğimiz değerler önceki çalışmalarla karşılaştırılamamıştır. Bazı bilgiler sigara içen kişilerden gelen bilgilerdir. Örneğin Kawasaki ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı bir çalışmada sigarayı bırakma programına katılan hastalarda, sigarayı bırakma süresinde, DNA hasarı belirlemek için 7-metilguanin ve 8-OHdG seviyeleri ve aynı zamanda maruziyet belirteci olarak, kotinin ve NNAL seviyeleri ölçülmüştür. İdrar 8-OHdG seviyeleri sürece bağlı azalma göstermiş ancak anlamlı bir fark görülmemiştir. 7-metilguanin DNA katım ürünü ile kotinin ve NNAL seviyeleri arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir (Kawasaki vd., 2020).

Feng ve arkadaşlarının sigara içen kişilerde N³-EtA, N³-MeA ve 8-OHdG seviyelerine yönelik çalışma gerçekleştirmişler ve N³-MeA sonuçlarını sigara içmeyenlere göre yüksek bulmuşlardır. Ancak N³-EtA ve 8-OHdG için çelişkili sonuçlar elde etmişlerdir (Feng vd., 2006). Tian ve arkadaşlarının sigara içenlerde yaptığı çalışmada, idrar N³-EtA düzeyi sigara içmeyenlere göre 2,2 kat daha yüksek ve idrar N³-MeA düzeyi sigara içmeyenlere göre 1,8 kat daha yüksek tespit etmişlerdir (Tian vd., 2014). Daha önceki çalışmalarda ise sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre 2.7 kat daha yüksek N³-MeA seviyeleri (C.-W. Hu vd., 2010) ve 5.0 kat daha yüksek N³-EtA seviyeleri (Kopplin vd., 1995) tespit edilmiştir. Prevost ve arkadaşlarının GC-MS ile sigara içenlerde DNA katım ürünlerine yönelik yaptıkları çalışmada; 24 saatlik idrarda N³-MeA 16,69–35,46 µg olarak ve N³-EtA için 16,69–195,60 ng olarak tespit etmişlerdir (Prevost vd., 1993). Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızdaki sigara içen bireylerden sağlamış olduğumuz değerler ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz N³-EtA ve N³-MeA değerleri, alkilasyon yoluyla DNA hasarının tespitine yönelik klasik sigara içenlere yönelik yayınlanmış çalışma sonuçları ile tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Sigara ve e-sigara içenlerin, idrar N³-EtA, N³-MeA ve 8-OHdG seviyeleri sigara içmeyenlere göre daha yüksek bulunmuştur.

2020 yılında elektronik sigara kullanıcılarında (n=18) potansiyel zarar ve etkinin biyobelirteçlerini araştıran ve metal maruziyetiyle bağlantılarını gösteren ilk çalışma 8-OHdG seviyelerinin e-sigara içenlerde (442.8±300.7ng/mg), kontrol grubuna göre (221.6±157.8 ng/mg) anlamlı derecede daha yüksek bulmuşlardır. Ayrıca e-sigara içenlerde

çinko ve selenyum miktarı diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Sakamaki-Ching vd., 2020).

Çalışmalar arasında farklılıklar sigara içme alışkanlıkları, beslenme alışkanlıkları ve etnik köken farklılıkları ile açıklanabilir. Fay ve arkadaşları yüksek düzeyde dimetilamin içeren balıkların tüketilmesi ile N3-MeA'nın idrarla atılımının etkilenip etkilenmemesi üzerine gerçekleştirdikleri bir çalışmanın sonucuna göre, diyetin insan idrarında önemli bir N3-MeA kaynağı olduğunu belirlemişlerdir (Fay vd., 1997). Diğer yandan Hu ve arkadaşları, sigara içen bireylerde NNAL ile nikotin, kotinin, N3-MeA arasında anlamlı bir korelasyon belirleyip, NNAL'nin idrar konsantrasyonlarının, sigara içenlerde idrar nikotin, kotinin, N3-MeA konsantrasyonları ile önemli ölçüde korele olduğunu göstermişlerdir ($P < 0.001$). Bu çalışma ile ilk olarak insanlarda tütün dumanına maruz kalma, idrarda tütüne özgü nitrozamin metabolitinin (NNAL) seviyelerinin, sigara dumanına maruz kalmaktan kaynaklanan metillenmiş DNA lezyonlarının seviyeleri ile yüksek oranda korele olduğunu gösterilmiştir (Hu vd., 2014).

Morgil ve Çok tarafından 2020 yılında gerçekleştirilen bir çalışma da sigara içen bireyler ile sigara içmeyen bireylerin idrar 8-OHdG miktarları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada sigara içen kişilerin ortalama idrar 8-OHdG konsantrasyonları ($24,08 \pm 8,38$ ng/g kreatinin), sigara içmeyen kişilerin ortalama idrar 8-OHdG konsantrasyonlarından ($7,46 \pm 7,77$ ng/g kreatinin) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$) (Morgil ve Çok, 2020). Lu ve arkadaşları tarafından 2014 yılında sigara içen bireylerin ($n=20$) idrarlarında 8-OHdG düzeyine yönelik yapılan diğer bir çalışmada ise sigara içen kişilerin ortalama idrar 8-OHdG konsantrasyonları ($10.9 \pm 3,96$ µg/g kreatinin), sigara içmeyen kişilerin ortalama idrar 8-OHdG konsantrasyonlarından ($5,08 \pm 2,84$ µg/g kreatinin) yüksek tespit edilmiştir (Lu, Ma, Chen, Wu ve Chen, 2014). 8-OHdG düzeyini belirlemeye yönelik sigara içenlerde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar gözlemlenmiştir (Campos, Guzman, Lopez ve Casado, 2011; Kanaya vd., 2004; Kataoka, Mizuno, Oda ve Saito, 2016).

Sigara içmek 8-OHdG seviyelerinin yükselmesindeki ana faktörlerden biri olmasına rağmen, iyonlaştırıcı radyasyon (Li, Song, Kasai ve Kawai, 2013), çevresel kirleticiler, alkol kullanımı gibi yaşam tarzı seçimleri (Kawasaki vd., 2020; Li vd., 2013) gibi diğer birçok faktör de bunları artırmaktadır. Bu nedenle, sigara içmenin sağlık üzerindeki etkilerinin daha

iyi aydınlatılması için çalışmamızda 8-OHdG'den farklı bir mekanizma ile “alkillenme ile” oluşan N3-MeA ve N3-EtA biyobelirteçleri ile kombine bir çalışma gerçekleştirilmiştir.

Son araştırmalar, mevcut kullanıcıların sigara içenlere benzer nikotin seviyelerine ulaşabildiklerini göstermektedir. (Caponnetto vd., 2013; Dawkins ve Corcoran, 2014; Vansickel ve Eissenberg, 2013; Wall, Johnson, Jacob ve Benowitz, 1988). Bu araştırmalar ayrıca kullanım davranışının nikotin maruziyeti için önemli bir faktör olduğunu vurgulamaktadır.

Önceki çalışmalar, sigara içmeyenlerde kotinin düzeylerinin 30 ng/mg kreatinin altında olduğunu, pasif/hafif içicilerde (<5 sigara/gün) ve düzenli içicilerde düzeylerinin sırasıyla 30-100 ve 100-7000 ng/mg kreatinin olduğunu bildirmiştir (De Weerd, Thomas, Cikot ve Steegers, 2002; Hansen vd., 2001). Göney ve arkadaşlarının e-sigara ve sigara içenlerde yapmış oldukları çalışmada ise sigara içenler ve içmeyenlerde idrar kotinin düzeyleri sırasıyla 946 ng/mg kreatinin (42 ila 2128 aralığında) ve 3,8 ng/mg kreatinin (0 ila 18.8 aralığında) olarak ölçülmüştür (Göney vd., 2016).

McRobbie ve arkadaşlarının e-sigara kullanıcılarında (n=16) yaptıkları çalışmada idrar kotinin düzeyleri 889 ng/mg Cr olarak tespit edilmiştir (McRobbie vd., 2015). E-sigara kullananlar ile e-sigara ve normal sigarayı birlikte kullananlar üzerine yapılan bir çalışma çift kullanımın (1174,44 ng/mg Cr) yalnız e-sigara kullananlara (733,67 ng/mg Cr) göre idrar kotinin seviyesini arttırdığını göstermiştir (Czoli, Fong, Goniewicz ve Hammond, 2019). E-sigara kullanıcılarında (n=20) yapılan diğer bir çalışmada ise idrar kotinin seviyesi 1927 µg/g olarak tespit edilmiştir (Goniewicz vd., 2017).

E-sigara kullanıcılarında plazma veya tükürükte kotinin seviyeleri ölçüldüğünde benzer sonuçlar elde edilmiştir (Machacek ve Jiang, 1986; Wall vd., 1988). E-sigara kullanıcılarında yapılan çalışmalar e-sigara içmenin plazma veya tükürük kotinin seviyeleri üzerindeki etkisinin, tütün sigarasına benzer olduğu sonucuna varmıştır benzer sonuçlar bulunmuştur (Etter ve Bullen, 2011; Etter, 2014; Flouris vd., 2013)

E-sigara kullanan bireylerde kotinin düzeyine yönelik yapılan diğer bir çalışmada farklı nikotin kartuşu kullanan bireylerde (1. Grup; 12 hafta boyunca 7,2 mg nikotin/kartuş e-sigara, 2.Grup; 6 hafta 7,2 mg nikotin/kartuş e-sigara ve sonraki 6 hafta 5,4 mg nikotin/kartuş

e-sigara ve 3. Grup; kontrol) nikotin maruziyetini değerlendirmek için tükürük kotinin seviyeleri ölçüldü. 12. haftada, tükürükteki ortalama kotinin konsantrasyonları, 1. ve 2. Grup için sırasıyla 91 ve 69,8 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise kotinin tespit edilmemiştir (Schroeder ve Hoffman, 2014). Bu çalışma, daha önce bildirildiği gibi, tek başına e-sigara içenlerin geleneksel sigara içenlere benzer tükürük kotinin seviyeleri üretebildiğini göstermektedir (Wall vd., 1988).

Flouris ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, e-sigara buharına ve klasik sigara dumanına pasif olarak maruz kalan bireylerin serum kotinin düzeylerinin birbirlerine benzer olduğunu (sigara da 0,8 ng/ml, e-sigara da 0,5 ng/ ml) tespit etmişlerdir (Flouris vd., 2013).

Yapılan birçok çalışma e-sigara içenlerin klasik sigaralara yakın miktarlarda nikotin sağlayabildiğini ve kullanıcıların isterlerse bu miktarı arttırabileceğini göstermiştir (Bullen vd., 2010; Dawkins ve Corcoran, 2014; Etter ve Bullen, 2011; Vansickel ve Eissenberg, 2013). Bullen ve arkadaşlarının e-sigara cihazlarının çalışma sistemi üzerine yaptıkları çalışma ise kullanılan her üç cihazdan birinin hatalı çalıştığını göstermiştir (Bullen vd., 2010). Bu bilgiler e-sigara dozu güvenliğinin olmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada e-sigara içenler ve sigara içenler için idrar N^3 -EtA, N^3 -MeA ve 8-OHdG düzeyleri ve kotinin arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Nitekim Kotinin miktarı e-sigara kullananlarda ($n=48$) 1795 ± 1641 ng/g kreatinin, sigara kullananlarda ($n=39$) ise 2276 ± 2046 ng/g kreatinin olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8). E-sigara ve sigara kullanan bireylerde kotinin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen kotinin verileri e-sigara kullananların sigara kullanan bireylere yakın miktarda nikotine maruz kaldıklarını göstermektedir. Nikotin maruziyetinin biyogöstergesi olarak Kotinin değerleri aynı zamanda, nikotin bağımlılığını düşündürmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz kotinin sonuçları göstermektedir ki, e-sigara kullanan kişiler de en az sigara kullananlar kadar nikotine maruz kalmakta ve buna bağlı olarak da nikotin bağımlılığı riskiyle karşı karşıya kama ihtimalleri ortaya çıkmaktadır.

N-Nitrozaminlerin alkillenmiş DNA katım ürünlerinin birincil nedenlerden biri olduğu düşünülmektedir. NNK, nikotinin nitrozasyonu yoluyla oluşturulan tütüne özgü nitrozaminlerden biridir. Çin'de yapılan bir çalışmada; sigara dumanında sigara başına 3,22 ila 246,67 ng arasında değişen NNK miktarları tespit edilmiştir. (Xiong vd., 2010). NNK,

deney hayvanlarında güçlü bir akciğer karsinojenidir. İn vivo olarak, NNK metabolik olarak güçlü bir pulmoner olan NNAL'ye dönüştürülür. Üriner total NNAL (serbest NNAL ve glukuronidleri) ile N3-MeA arasındaki ilişki, NNK tarafından karsinogenez mekanizmalarının gerekçesi olarak incelenmiştir (Hu vd., 2014). Daha önceki yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar, hedef dokularda NNK ve NNAL'ın metabolik aktivasyonunun, metillenmiş DNA-katım ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanabileceğini göstermişlerdir. (Carmella vd., 1995; Hecht, 1999). Buradan hareketle çalışmamızda kotinin tayini ve analiz edilen DNA-katım ürünleri ile arasında bulunan pozitif korelasyon bize kartuşlu e-sigara ve IQOS kullanımı nedeniyle, genotoksik etkilere neden olabilecek bazı kimyasallar hakkında ön fikir sahibi olma şansı vermiştir. Elde edilen bu fikir nikotinden kaynaklanan nitrozaminler olduğunu ve bunların DNA-katım ürünü oluşturduğudur. Böylelikle daha önce tamamlanan “Elektronik Sigara (e-sigara) Kullanan Kişilerde Olası Genotoksik Hasarın ve Nikotin Maruziyetinin Belirlenmesi” isimli çalışmada elde edilen genotoksositeye ait sonuçların değerlendirilmesinde e-sigara içimine bağlı olarak oluşan nitrozaminler nedenlerden biri olarak rahatlıkla gösterilebilir. Böylelikle her iki çalışma birbirini tamamlayan çalışmalar olarak bir bütünlük oluşturmaktadırlar.

Bu tez çalışmasının önemli çıktılarından biri de da e-sigara içiminde nikotin kartuşu içine katılan aromaların analizi yapılan DNA-katım ürünleri üzerine olası etkileri de değerlendirilmesidir. Bu yönü ile de çalışmamızdan elde edilen sonuçlar Bilim dünyasındaki ilk sonuçları oluşturmaktadır. Bilindiği gibi aromalar çok farklı kimyasalların oluşturduğu ve çoğunlukla gençler tarafından tercih edilen e-sigaraya koku ve tat vermek amacıyla kullanılan kimyasal veya karışımlarıdır. Bunların kullanımına bağlı olarak fazladan çeşitli kimyasalların yakılarak veya ısıtılarak vücuda alınmasına sebebiyet verilmektedir. Bu durumda da artmış bir kimyasal madde maruziyeti ve buna bağlı artmış bir toksik etki riski doğmaktadır. Nitekim aromalı kartuşlu e-sigara kullananlar; IQOS kullananlar ile karşılaştırıldığında N³-EtA (p = 0,465 > 0,05), N³-MeA (p = 0,114 > 0,05), 8-OHdG (p = 0,370 > 0,05) ve Kotinin (p = 0,795 > 0,05) için anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.23). Fakat aromalı e-sigara kullanmayan (n=4) kişiden elde edilen DNA-alkilasyonu sonuçlarına baktığımızda IQOS kullananlarla aralarında istatistiksel bir fark olduğu belirlenmiştir N3-EtA (p = 0.008), N3-MeA (p = 0,03). Bir diğer değişle aromasız e-sigara kullanımı maruz kalınan kimyasal madde sayısını azaltmıştır. Bunun anlamı aromasız e-sigara kullanımına bağlı olarak oluşan kimyasal madde sayısının azalması ve buna bağlı olarak da toksikolojik risklerin daha az olabileceğidir. Gerçekte bu azalma 8-OHdG yönünde

de oldukça fazla olmasına rağmen (aromalı e-sigara kullananlarda 3.31 ng/g kreatinin iken aromasız e-sigara kullananlarda 1.60 ng/g kreatinin) istatistiksel fark saptanamamıştır.

Benzer sonuçlar e-sigara kullananların kendi içinde ayırdığımızda da karşımıza çıkmaktadır. Aromalı ve aromasız e-sigara içenleri analiz edilen DNA-katım ürünleri açısından değerlendirdiğimiz de N³-EtA (p=0.015) dışında bir istatistiksel farklılık elde edilmemiştir. Fakat sonuçlar dikkatli incelendiğinde her ne kadar sayısı çalışmamızda az ise de aromasız e-sigara kullanan kişilerde oluşan DNA-katım ürünlerinin aromalı e-sigara kullanan kişilere oranla ciddi şekilde azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.25). Ayrıca aromalı e-sigara içen kişilerin değerlerini kontrol grubunu oluşturan kişilerden elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında ise N³-EtA (p = 0,001 <0,05) ve N³-MeA (p = 0,001 <0,05), kotinin (p = 0,001 > 0,05) değerlerinde aroma kullananlar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olduğu fakat bu farkın 8-OHdG (p = 0,059 > 0,05) için anlamlı olmadığı görülmektedir. (Çizelge 4.28). Sigara içen grup ile karşılaştırıldığında N³-EtA değerlerinin sigara içen grupta daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p = 0,008 <0,05). N³-MeA (p = 0,203 > 0,05), 8-OHdG (p = 0,788 > 0,05) ve Kotinin değerlerinin aroma kullananlar ile sigara grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı (p = 0,453 > 0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 4.26). Elde edilen bu sonuçların ışığında, a) E-sigaralarda aroma maddelerinin kullanımı, oksidatif DNA hasarına ve alkilenmiş DNA katım ürünlerinin oluşumuna neden olduğu, b) E-sigaralarda aroma maddelerinin kullanımı, oksidatif DNA hasarına ve alkilenmiş DNA katım ürünlerinin artmasına neden olacak ekstra kimyasalların üretimine/maruziyetine neden olduğu, c) aroma verici ajanların kullanılması genotoksik riski artıran önemli faktörlerden biri olabileceği, d) aromalı e-sigara kullanıcıları, sigara içenler kadar genotoksik riske sahip olabileceği, e) e-sigara kullanımında aromalı maddelerin kullanılmamasının, sigara içenlere kıyasla DNA'nın daha az alkilasyonuna neden olabileceği şeklinde çeşitli yorumların oluşmasına neden olmaktadır. Fakat gözden kaçırılmaması gereken unsurların başında, çalışmamızda yer alan denek sayısının istatistiksel olarak sonuç alabilecek sayı olmasına karşın, bu elde edilen sonuçların çok daha geniş topluluklardan elde edilecek sonuçlarla desteklenmeye ihtiyaç duyması gelmektedir.

Sunulan çalışmada yapılan ileri istatistik araştırmalarında e-sigara kullanım süresi, sıklığı, yaş ve analizi yapılan DNA-katım ürünleri ve kotinin için korelasyon analizi çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda kartuşlu ve IQOS grubunun beraber değerlendirildiği e-sigara içen grupta; Yaş, N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG, Kotinin, E-sigara içme sıklığı ve E-sigara içme süresine ilişkin korelasyon analizi bulguları incelendiğinde N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$) elde edilmiştir. N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG ve kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$); benzer şekilde 8-OHdG değerlerinin kotinin ile pozitif yönde bir ilişkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,01$) (Çizelge 4.39). Ayrıca e-sigara içme sıklığı ile elde edilen DNA-katım ürünleri ve kotinin değerlerinin karşılaştırıldığında N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve kotinin bakımından E-sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.33).

Kartuşlu e-sigara içen grupta; N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde, e-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$) görülmüştür. N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$); e- sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$), e-sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. Kotinin değerlerinin e- sigara içme sıklığı ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.40).

Isıtmalı tütün içen grupta (IQOS); N³-EtA değerlerinin; N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu elde edilmiştir ($p < 0,05$). N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG, Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur.

Yukarda belirtilenler dışında çalışma grubumuz olan sigara içen grubumuza da bazı istatistiki değerlendirmeler uygulanarak, sigara içmenin analizini yaptığımız DNA-katım ürünleri üzerine olan etkileri hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Sunulan çalışmada elde edilen N³-EtA, N³-Me, 8-OHdG ve kotinin değerlerinin sigara kullanım süreleri ile farklılık gösterip göstermediği değerlendirilmiş ve N³-EtA, N³-MeA ve Kotinin bakımından sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ($p > 0,05$); 8-OHdG bakımından ise sigara içme sıklığı grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğu ($p < 0,05$) (Çizelge 4.38), yaşa ilişkin korelasyon analizleri bulguları da incelendiğinde N³-MeA değerlerinin; 8-OHdG

ve Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,01$), benzer şekilde 8-OHdG değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde bir ilişkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,01$) (Çizelge 4.37). Sigara içme sıklığı ve sigara içme süresi değerlerine ilişkin korelasyon analizi incelendiğinde; yaşın hem sigara içme sıklığı hem de sigara içme süresi ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. Çalışmamızda N^3 -EtA değerlerinin, 8-OHdG ile negatif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. N^3 -MeA değerlerinin Kotinin ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. 8-OHdG değerlerinin Kotinin ve sigara içme sıklığı ile pozitif yönde bir ilişkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p < 0,01$). Kotinin değerlerinin; sigara içme sıklığı ve sigara içme süresi ile pozitif yönde anlamlı bir ilişkisinin olduğu ($p < 0,05$) elde edilmiştir. Benzer şekilde sigara içme sıklığı ile sigara içme süresi arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki mevcuttur (Çizelge 4.38).

Literatür özellikle 8-OHdG oluşumu ve idrar ile atılımının, başta radyasyon ve alkol olmak üzere, çeşitli yaşam sitili faktörlerinden etkilediğini bildirdiğinden (Kawasaki vd., 2020; Li vd., 2013), çalışmamıza katılan bireylere uyguladığımız anket formlarında özellikle radyasyon ve alkol ile analizini yaptığımız DNA-katım ürünlerinin oluşumuna etkisinin de araştırılması çalışmamızda gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla anketlerden alınan cevaplar doğrultusunda, röntgen çekiminin çalışmamızda analizi yapılan N^3 -EtA, N^3 -MeA, 8-OHdG, Kotinin üzerine olası etkileri de değerlendirilmiştir ancak röntgen çekiminin analizi yapılan madde düzeyine etkisinin olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.29, 4.30, 4.31). Benzer şekilde alkol kullanımının analizi yapılan N^3 -EtA, N^3 -MeA, 8-OHdG, Kotinin üzerine olası etkileri de değerlendirilmiştir ancak alkol kullanımının analizi yapılan madde düzeyine etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Çizelge 4.32).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Madde bağımlılığı bir hastalık ve yanı sıra sosyal bir sorundur. Tütün tipi bağımlılık tüm dünyada her yıl 7 milyondan fazla kişinin ölümüne (WHO, 2018) ve bu sayıdan çok daha fazla insanın çeşitli sayıda sağlık riskleriyle boğuşmasına neden olmaktadır. Neredeyse tüm toplumlarda e-sigara kullanımı sigara içmeyenleri ve gençleri de içine alan bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Dünya çapında gelişen e-sigara tüketimine rağmen, bu ürünlerin güvenlikleri büyük ölçüde kanıtlanmamıştır ve bu kullanım çeşidinin özellikle kansere katkıda bulunabilecek in vivo toksikolojik etkilere neden olup olmadığı halen neredeyse bilinmemektedir. Başta Dünya Sağlık Örgütü olmak üzere sağlık otoriteleri, e-sigaranın sağlık üzerine etkilerine yönelik bilimsel verilerin yetersiz olduğunu ve bu alanda çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirilmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, e-sigaranın güvenliği konusunda ihtiyaç duyulan bilgilere e-sigara kullanımına bağlı ortaya çıkabilecek DNA hasarları açısından katkı sağlamak olup, çalışmada kimyasal bir parçanın DNA'ya kovalent olarak bağlanması neden olduğu bir DNA hasarı biçimi olan DNA-katım ürünlerinin, e-sigara kullanımına bağlı olarak oluşup oluşmadığının ortaya konulması olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada insan idrarında N³-EtA, N³-MeA, 8-OHdG ve Kotinin düzeyinin belirlenmesi için LC-MS/MS ile birleştirilmiş SPE kullanan bir analitik yöntem geliştirilmiş ve doğrulanmıştır.

Yöntem, 41 sigara içmeyen ve 32 Pasif 39 sigara 48 e-sigara içen kişiden alınan idrar örneklerine başarıyla uygulanmıştır. E-sigara içenlerin idrarında alkil DNA katım ürünleri olan N³-EtA, N³-MeA ve oksitlenmiş DNA-katım ürünü olan 8-OHdG düzeyleri içmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. E-sigara içenlerde kotinin düzeyi ve DNA katım ürünleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Ayrıca tamamlanan çalışma sonucunda insanlarda kartuşlu e-sigara ve IQOS kullanımına bağlı olarak DNA katım ürünlerinin oluştuğu belirlenmiş olup, bu durum konuya yönelik bilim dünyasındaki ilk sonuçlardır. Elde edilen analiz sonuçları hem kartuşlu e-sigaranın hem de IQOS kullanımının insanlarda DNA alkilasyonuna ve oksidatif hasara neden olabileceğini göstermektedir. Elde edilen DNA katım ürünleri miktarı göz önüne alındığında, e-sigara ve IQOS kullanımının sigara kadar genotoksik etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca e-sigarlarda aroma kullanımı DNA-katım ürünlerinin seviyesinin artmasına neden olarak genotoksik etkiye ekstra katkı sağlayabilmektedir.

Ayrıca; bu tez çalışmasının sonuçları toplumların daha sağlıklı yaşam şartları sunulmasına yönelik bilgiler sağlamanın yanı sıra;

- Veri tabanı oluşturma, medyada yer alma, tez çalışma sonuçlarının özellikle sağlık alanındaki gerek kamu (Tütün ve Madde Bağımlılığı ile Mücadele Dairesi gibi) gerekse özel sektörün (Sigara Üretici Firmalar) kullanmasına yönelik sonuçlarının olması kaçınılmazdır.
- Bu çalışmanın sonuçları özellikle tütün tipi bağımlılıkla mücadele eden sağlık kuruluşlarının bu kullanıma yönelik yasal düzenlemeler getirmesine yardımcı olacaktır.
- Sigara içmeye başlamamış gençlerin sigara içmeye başlamalarına e-sigaranın bir araç olması konusunda önemli bir bariyer oluşturacaktır.
- Özellikle e-sigara içimi ve kanser ilişkisi konusunda eksikliği duyulan bilgilerin oluşmasında en önemli zemini oluşturacaktır.
- Bu çalışma ayrıca toplumların daha sağlıklı yaşamada önemli rolü olan sigaraya karşı üretilen alternatiflerden birinin oluşturduğu kanser gibi önemli bir sağlık probleminin olası risklerinin değerlendirilmesine yönelik ilk sonuçları içermesi açısından tüm dünyayı ilgilendirmektedir.
- Ülkemizde halen yürütölmekte olan sigara içiminin önlenmesine yönelik programlara, kullanımın güvenliiliği yönünden önemli katkıları sağlayacaktır.

Yukarıda sayılan katkıların ışığında ön bilgilerin sağlandığı bu çalışma sonrasında bu konuda yapılacak olan çalışmaların çok daha geniş kapsamlı ve kapsamsız e-sigara kullanan gruplarda yapılması ihtiyacı vardır. Gelecekteki çalışmaların bu tez çalışmasında analizi yapılan DNA-katım ürünleri dışında N⁷-Metil guanin gibi diğer bazı DNA-katım ürünlerinin de analizlerinin yapıldığı çalışmalar ile genişletilmesi konunun çok daha aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca e-sigara kullanımı-hastalık ilişkili çalışmalarda DNA-katım ürünlerinin olası rollerinin araştırıldığı çalışmalar, bu tür kullanımda oluşan sağlık risklerinin belirlenmesi açısından da önemli olacağı düşünülmektedir.

E-sigaraya maruz kalmanın sağlık üzerindeki etkilerine ilişkin bilgimiz henüz emekleme aşamasındadır. Bu çalışma, belirtilmemiş kronik maruz kalma sonuçları için bir basamak taşı olabilir. Konuya yönelik önerilen çalışmalarla zenginleştirmeye bağlı alınan sonuçlar e-sigaranın kullanımının başta gençler olmak üzere giderek yaygınlaşması nedeniyle bir halk

sağlığı problemi teşkil edip etmediği konusunda da oldukça önemli katkılar sağlayıp, sadece bugünün kullanıcıları için değil gelecek nesillerin korunmasında da önemli rol oynayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aktuna, A. ve Hassoy, H. (2019). E-Sigara ile İlgili Web Sayfalarının ve E-sigara Satışı Yapılan Web Sitelerinin Değerlendirilmesi. 3. *International 21. National Public Health Congress*,
- Asami, S., Hirano, T., Yamaguchi, R., Tomioka, Y., Itoh, H. and Kasai, H. (1996). "Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking". *Cancer research (Chicago, Ill.)*, 56(11), 2546.
- Atlam, D., Kaylı, D. S. ve Yarabas, G. (2020). "Elektronik Sigara Kullanımına Yönelik Tutum ve Kullanım Özellikleri: İzmir Örnekleme". *Bağımlılık Dergisi*, 21(4), 297-307.
- Başaran, R., Güven, N. M. and Eke, B. C. (2019). "An overview of iQOS® as a new heat-not-burn tobacco product and its potential effects on human health and the environment". *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 371.
- Beauval, N., Antherieu, S., Soye, M., Gengler, N., Grova, N., Howsam, M., Hardy, E. M., Fischer, M., Appenzeller, B. M. and Goossens, J.-F. (2017). "Chemical evaluation of electronic cigarettes: multicomponent analysis of liquid refills and their corresponding aerosols". *Journal of analytical toxicology*, 41(8), 670-678.
- Benowitz, N. L., Jacob, r. P., Fong, I. and Gupta, S. (1994). "Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine". *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 268(1), 296.
- Beranek, D. T. (1990). "Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents". *Mutation research*, 231(1), 11.
- Bilir, N. (2018). "Tütün Kontrolü ve Yeni Tütün Ürünleri". (ISBN:978-605-82656-1-5).
- Blount, B. C., Karwowski, M. P., Shields, P. G., Morel-Espinosa, M., Valentin-Blasini, L., Gardner, M., Braselton, M., Brosius, C. R., Caron, K. T. and Chambers, D. (2020). "Vitamin E acetate in bronchoalveolar-lavage fluid associated with EVALI". *New England journal of medicine*, 382(8), 697-705.
- Brown, K. (2012). Methods for the detection of DNA adducts. In *Genetic Toxicology* (pp. 207-230). Springer.
- Brożek, G. M., Jankowski, M., Lawson, J. A., Shpakou, A., Poznański, M., Zielonka, T. M., Klimatckaia, L., Loginovich, Y., Rachel, M., Gereová, J., Golonko, J., Naumau, I., Kornicki, K., Pełowska, P., Kovalevskiy, V., Raskiliene, A., Bielewicz, K., Křišťůvková, Z., Mróz, R., Majek, P., Lubanski J., Kaleta, D., Pinkas, J. and Zejda, J. E. (2019). "The Prevalence of Cigarette and E-cigarette Smoking Among Students in Central and Eastern Europe-Results of the YUPESS Study". *International journal of environmental research and public health*, 16(13), 2297.

- Bullen, C., McRobbie, H., Thornley, S., Glover, M., Lin, R. and Laugesen, M. (2010). "Effect of an electronic nicotine delivery device (e cigarette) on desire to smoke and withdrawal, user preferences and nicotine delivery: randomised cross-over trial". *Tobacco control*, 19(2), 98-103.
- Burstyn, I. (2014). "Peering through the mist: systematic review of what the chemistry of contaminants in electronic cigarettes tells us about health risks". *BMC public health*, 14(1), 18-18.
- Byrd, G. D., Chang, K. M., Greene, J. M and deBethizy, J. D. (1992). "Evidence for urinary excretion of glucuronide conjugates of nicotine, cotinine, and trans-3'-hydroxycotinine in smokers". *Drug metabolism and disposition*, 20(2), 192.
- Campos, C., Guzmán, R., López-Fernández, E and Casado, Á. (2011). "Urinary biomarkers of oxidative/nitrosative stress in healthy smokers". *Inhalation toxicology*, 23(3), 148-156.
- Canistro, D., Vivarelli, F., Cirillo, S., Babot Marquillas, C., Buschini, A., Lazzaretti, M., Marchi, L., Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Lodovici, M., Cipriani, C., Lorenzini, A., Croco, E., Marchionni, S., Franchi, P., Lucarini, M., Longo, V., Della Croce, C. M., Vornoli, A., . . . Paolini, M. (2017). "E-cigarettes induce toxicological effects that can raise the cancer risk". *Scientific reports*, 7(1), 2028-2029.
- Caponnetto, P. (2020). "Well-being and harm reduction, the consolidated reality of electronic cigarettes ten years later from this emerging phenomenon: A narrative review". *Health Psychology Research*, 8(3).
- Caponnetto, P., Campagna, D., Cibella, F., Morjaria, J. B., Caruso, M., Russo, C and Polosa, R. (2013). "Efficiency and Safety of an eElectronic cigAreTte (ECLAT) as tobacco cigarettes substitute: a prospective 12-month randomized control design study". *PloS one*, 8(6), e66317.
- Caponnetto, P., Campagna, D., Papale, G., Russo, C and Polosa, R. (2012). "The emerging phenomenon of electronic cigarettes". *Expert review of respiratory medicine*, 6(1), 63-74.
- Caraballo, R. S., Pederson, L. L. and Gupta, N. (2006). "New tobacco products: do smokers like them?". *Tobacco control*, 15(1), 39-44.
- Carmella, S. G., Akerkar, S. A., Richie, J. J. P. and Hecht, S. S. (1995). "Intraindividual and interindividual differences in metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in smokers' urine". *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 4(6), 635.
- Cervellin, G., Luci, M., Bellini, C. and Lippi, G. (2013). "Bad news about an old poison. A case of nicotine poisoning due to both ingestion and injection of the content of an electronic cigarette refill". *Emergency care journal*, 9(2), e18-e18.
- Chao, M. R., Wang, C. J., Chang, L. W. and Hu, C. W. (2005). "Quantitative determination of urinary N7-ethylguanine in smokers and non-smokers using an isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry with on-line analyte enrichment". *Carcinogenesis*, 27(1), 146-151.

- Chen, C.Y., Jhou, Y.T., Lee, H.L. and Lin, Y.W. (2016). "Simultaneous, rapid, and sensitive quantification of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and cotinine in human urine by on-line solid-phase extraction LC-MS/MS: correlation with tobacco exposure biomarkers NNAL". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(23), 6295-6306.
- Chen, H.-J. C. and Lin, C.-R. (2013). "Simultaneous quantification of ethylpurine adducts in human urine by stable isotope dilution nanoflow liquid chromatography nanospray ionization tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 1322, 69-73.
- Chen, H. J. and Liu, Y. F. (2013). "Simultaneous quantitative analysis of N3-ethyladenine and N7-ethylguanine in human leukocyte deoxyribonucleic acid by stable isotope dilution capillary liquid chromatography-nanospray ionization tandem mass spectrometry". *J Chromatogr A*, 1271(1), 86-94.
- Cheng, T. (2014). "Chemical evaluation of electronic cigarettes". *Tobacco control*, 23(suppl 2), ii11-ii17.
- Chiang, H.-C., Huang, Y.K., Chen, P.F., Chang, C.C., Wang, C.J., Lin, P. and Lee, H.L. (2011). "4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is correlated with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in humans after exposure to environmental tobacco smoke". *The Science of the total environment*, 414, 134-139.
- Cho, J. H. and Paik, S. Y. (2016). "Association between electronic cigarette use and asthma among high school students in South Korea". *PloS one*, 11(3), e0151022.
- Chou, S. P., Saha, T. D., Zhang, H., Ruan, W. J., Huang, B., Grant, B. F., Blanco, C. and Compton, W. (2017). "Prevalence, correlates, comorbidity and treatment of electronic nicotine delivery system use in the United States". *Drug and alcohol dependence*, 178, 296-301.
- Coskun, U., Öztürk, B. and Yaman, E. (2010). "Akciğer metastazlarında metastazektominin rolü". *Uluslararası hematoloji-onkoloji dergisi*, 20(2), 125-134.
- Cummins, S. E., Zhu, S.H., Tedeschi, G. J., Gamst, A. C. and Myers, M. G. (2014). "Use of e-cigarettes by individuals with mental health conditions". *Tobacco control*, 23(suppl 3), iii48-iii53.
- Czoli, C. D., Fong, G. T., Goniewicz, M. L. and Hammond, D. (2019). "Biomarkers of exposure among "dual users" of tobacco cigarettes and electronic cigarettes in Canada". *Nicotine and Tobacco Research*, 21(9), 1259-1266.
- Çelik, H. (2020). *Hayvan modelinde elektronik sigara buharı ve sigara dumanının pulmoner toksik etkilerinin değerlendirilmesi*. (Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, 2020)
- Çok, İ. (2017, 28 Nisan-01 Mayıs). *Elektronik Sigara (e-sigara) ve Sağlığımız Üzerine Etkileri* 3.Ulusal Reçete Dışı Farmasötik Ürünler Ve Medikal Malzemeler Kongresi, Girne, Kıbrıs (KKTC)
- Çok, İ. (2021). Tütün ve Tütün Ürünlerine Toksikolojik Yaklaşım. Sayfa 129-149. Tütün ve Tütün Ürünlerinin Kullanımının Önlenmesi, Kontrolü ve Tedavisi, 2021Sağlık Bilimleri Üniversitesi Yayınları, Gülhane, Ankara, ISBN: 978-605-74468-0-0).

- Çok, İ., İyigündoğdu, İ. and Yildirim, M. (2021). "COVID-19 and the role of e-cigarette use: An evidence-based review". *Journal of Research in Pharmacy*, 25(6)(25(6)), 815-822.
- Davis, B., Williams, M. and Talbot, P. (2019). "iQOS: evidence of pyrolysis and release of a toxicant from plastic". *Tobacco control*, 28(1), 34-41.
- Dawkins, L. and Corcoran, O. (2014). "Acute electronic cigarette use: nicotine delivery and subjective effects in regular users". *Psychopharmacology*, 231(2), 401-407.
- Dayı, A., Kahraman, S. and Korkut, S. E. (2019). "Elektronik sigara kullanıcılarının elektronik sigaraya yönelik tutumları ve günlük kullanım alışkanlıkları". *Bağımlılık Dergisi*, 20(1), 32-39.
- De Martinis, B. S. and Bianchi, M. d. L. P. (2002). "Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection". *Pharmacological research*, 46(2), 129-131.
- De Weerd, S., Thomas, C. M., Cikot, J. K. R. J. and Steegers, E. A. (2002). "Variation of serum and urine cotinine in passive and active smokers and applicability in preconceptional smoking cessation intervention". *preconception counseling*, 123.
- Dedon, P. C. (2008). "The chemical toxicology of 2-deoxyribose oxidation in DNA". *Chemical research in toxicology*, 21(1), 206-219.
- Dettmer, K., Aronov, P. A. and Hammock, B. D. (2007). "Mass spectrometry-based metabolomics". *Mass spectrometry reviews*, 26(1), 51-78.
- Deventer, K., Pozo, O., Verstraete, A. and Van Eenoo, P. (2014). "Dilute-and-shoot-liquid chromatography-mass spectrometry for urine analysis in doping control and analytical toxicology". *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 55, 1-13.
- Di Minno, A., Turnu, L., Porro, B., Squellerio, I., Cavalca, V., Tremoli, E. and Di Minno, M. N. D. (2016). "8-Hydroxy-2-deoxyguanosine levels and heart failure: A systematic review and meta-analysis of the literature". *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*, 27(3), 201-208.
- Dizdaroglu, M. (1992). "Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin". *Mutation research*, 275(3-6), 331.
- Dizdaroglu, M. (1998). "Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry". *Free radical research*, 29(6), 551-563.
- Dwyer, J. B., McQuown, S. C. and Leslie, F. M. (2009). "The dynamic effects of nicotine on the developing brain". *Pharmacology & therapeutics*, 122(2), 125-139.
- El-Aneed, A., Cohen, A. and Banoub, J. (2009). "Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, MALDI, and commonly used mass analyzers". *Applied Spectroscopy Reviews*, 44(3), 210-230.

- England, L. J., Bunnell, R. E., Pechacek, T. F., Tong, V. T. and McAfee, T. A. (2015). "Nicotine and the developing human: a neglected element in the electronic cigarette debate". *American journal of preventive medicine*, 49(2), 286-293.
- Ercan, N. (2012). "Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2-deoksiguanozin düzeyleri". *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 59, 163-168, 2012.
- Etter, J.-F. (2010). "Electronic cigarettes: a survey of users". *BMC public health*, 10(1), 231-231.
- Etter, J.-F. and Bullen, C. (2011). "Electronic cigarette: users profile, utilization, satisfaction and perceived efficacy". *Addiction (Abingdon, England)*, 106(11), 2017-2028.
- Etter, J.-F. and Bullen, C. (2011). "Saliva cotinine levels in users of electronic cigarettes". *European Respiratory Journal*, 38(5), 1219-1220.
- Etter, J.-F. and Bullen, C. (2013). "A longitudinal study of electronic cigarette users". *Addictive behaviors*, 39(2), 491-494.
- Etter, J. F. (2014). "Levels of saliva cotinine in electronic cigarette users". *Addiction*, 109(5), 825-829.
- Evans, M. D. and Cooke, M. S. (2004). "Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids". *BioEssays*, 26(5), 533-542.
- Ewa, B. and Danuta, M.-Š. (2016). "Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts". *Journal of applied genetics*, 58(3), 321-330.
- Farsalinos, K. E., Gillman, G., Poulas, K. and Voudris, V. (2015). "Tobacco-specific nitrosamines in electronic cigarettes: comparison between liquid and aerosol levels". *International journal of environmental research and public health*, 12(8), 9046-9053.
- Farsalinos, K. E. and Niaura, R. (2020). "E-cigarettes and Smoking Cessation in the United States According to Frequency of E-cigarette Use and Quitting Duration: Analysis of the 2016 and 2017 National Health Interview Surveys". *Nicotine & tobacco research*, 22(5), 655-662.
- Farsalinos, K. E. and Polosa, R. (2014). "Safety evaluation and risk assessment of electronic cigarettes as tobacco cigarette substitutes: a systematic review". In (Vol. 5, pp. 67-86). London, England: SAGE Publications.
- Fay, L. B., Leaf, C. D., Gremaud, E., Aeschlimann, J.-M., Steen, C., Shuker, D. and Turesky, R. J. (1997). "Urinary excretion of 3-methyladenine after consumption of fish containing high levels of dimethylamine". *Carcinogenesis*, 18(5), 1039-1044.
- Feng, S., Roethig, H. J., Liang, Q., Kinser, R., Jin, Y., Scherer, G., Urban, M., Engl, J. and Riedel, K. (2006). "Evaluation of urinary 1-hydroxypyrene, S-phenylmercapturic acid, trans,trans-muconic acid, 3-methyladenine, 3-ethyladenine, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and thioethers as biomarkers of exposure to cigarette smoke". *Biomarkers*, 11(1), 28-52.

- Fischer, S., Spiegelhalder, B. and Preussmann, R. (1991). "Tobacco-specific nitrosamines in commercial cigarettes: possibilities for reducing exposure". *IARC Scientific Publications*(105), 489-492.
- Flouris, A. D., Chorti, M. S., Poulianiti, K. P., Jamurtas, A. Z., Kostikas, K., Tzatzarakis, M. N., Wallace Hayes, A., Tsatsakis, A. M. and Koutedakis, Y. (2013). "Acute impact of active and passive electronic cigarette smoking on serum cotinine and lung function". *Inhalation toxicology*, 25(2), 91-101.
- Fuoco, F. C., Buonanno, G., Stabile, L. and Vigo, P. (2014). "Influential parameters on particle concentration and size distribution in the mainstream of e-cigarettes". *Environmental pollution*, 184, 523-529.
- Ganapathy, V., Manyanga, J., Brame, L., McGuire, D., Sadhasivam, B., Floyd, E., Rubenstein, D. A., Ramachandran, I., Wagener, T. and Queimado, L. (2017). "Electronic cigarette aerosols suppress cellular antioxidant defenses and induce significant oxidative DNA damage". *PloS one*, 12(5), e0177780-e0177780.
- Gaur, R. and Ram, G. (2021). "Popcorn lung: the e-disease". *International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences*, 11(1).
- Gavina, J. M., Yao, C. and Feng, Y.-L. (2014). "Recent developments in DNA adduct analysis by mass spectrometry: a tool for exposure biomonitoring and identification of hazard for environmental pollutants". *Talanta*, 130, 475-494.
- Ghosh, A., Coakley, R. D., Ghio, A. J., Muhlebach, M. S., Esther Jr, C. R., Alexis, N. E. and Tarran, R. (2019). "Chronic e-cigarette use increases neutrophil elastase and matrix metalloprotease levels in the lung". *American journal of respiratory and critical care medicine*, 200(11), 1392-1401.
- Glantz, S. A. (2018). "Heated tobacco products: the example of IQOS". *Tobacco control*, 27(Suppl 1), s1-s6.
- Goktas, S., Onsuz, M. F., Isıklı, B. and Metintas, S. (2018). "Elektronik sigara (E-sigara)". *Eskişehir türk dünyası uygulama ve araştırma merkezi halk sağlığı dergisi (Online)*, 3(3), 55.
- Goniewicz, M. L., Gawron, M., Smith, D. M., Peng, M., Jacob, P. and Benowitz, N. L. (2017). "Exposure to nicotine and selected toxicants in cigarette smokers who switched to electronic cigarettes: a longitudinal within-subjects observational study". *Nicotine & tobacco research*, 19(2), 160-167.
- Goniewicz, M. L., Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A., Kurek, J., Prokopowicz, A., Jablonska Czapla, M., Rosik-Dulewska, C., Havel, C., Jacob, P. and Benowitz, N. (2014). "Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes". *Tobacco control*, 23(2), 133-139.
- Goniewicz, M. L., Kuma, T., Gawron, M., Knysak, J. and Kosmider, L. (2013). "Nicotine levels in electronic cigarettes". *Nicotine & tobacco research*, 15(1), 158-166.
- Gottlieb, S. (2018). Statement from FDA Commissioner Scott Gottlieb, M.D., on new steps to address epidemic of youth e-cigarette use. *PR newswire*.

- Göney, G. (2016). Elektronik sigara (e-sigara) kullanıcılarında olası genotoksik hasarın ve nikotin maruziyetinin belirlenmesi. Doktora tezi. (TÜBİTAK 1001 projesi Proje No: 113S837).Gazi Üniversitesi
- Göney, G., Çok, İ., Tamer, U., Burgaz, S. and Şengezer, T. (2016). "Urinary cotinine levels of electronic cigarette (e-cigarette) users". *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(6), 441-445.
- Graille, M., Wild, P., Sauvain, J.J., Hemmendinger, M., Guseva Canu, I. and Hopf, N. B. (2020). "Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis". *International journal of molecular sciences*, 21(11), 3743.
- Gravely, S., ezen, P., Ouimet, J., Quah, A. C. K., Cummings, K. M., Thompson, M. E., Boueau, C., Hammond, D., McNeill, A., Borland, R., Thrasher, J. F., Edwards, R., Omar, M., Hitchman, S. C., Yong, H.-H., Barrientos-Gutierrez, T., Willemsen, M. C., Bianco, E., Boado, M., Goma, F. M., Seo, H. G., Nargis, N., Jiang, y., Perez, C. A. and Fong, G. T. (2019). "Prevalence of awareness, ever-use and current use of nicotine vaping products (NVPs) among adult current smokers and ex-smokers in 14 countries with differing regulations on sales and marketing of NVPs: cross-sectional findings from the ITC Project". *Addiction (Abingdon, England)*, 114(6), 1060-1073.
- Guiochon, G., Felinger, A. and Shirazi, D. G. (2006). *Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography*. Elsevier.
- Guo, C., Li, X., Wang, R., Yu, J., Ye, M., Mao, L., Zhang, S. and Zheng, S. (2016). "Association between Oxidative DNA Damage and Risk of Colorectal Cancer: Sensitive Determination of Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine by UPLC-MS/MS Analysis". *Scientific reports*, 6(1), 32581-32581.
- Gülensoy, E. S., Yüksel, A., Nalan, O., Umudum, H., ve Akpınar, E. (2021). "Subacute lung injury associated with heated tobacco products". *Duzce Medical Journal*, 23(2), 218-220.
- Habib, E., Helaly, M., Elshaer, A., Sriwi, D., Ahmad, M., Mohamed, M. and Obeidat, A. (2020). "Prevalence and perceptions of e-cigarette use among medical students in a Saudi University". *Journal of family medicine and primary care*, 9(6), 3070-3075.
- Hammond, S. K. (2009). Global patterns of nicotine and tobacco consumption. In *Nicotine psychopharmacology* (pp. 3-28). Springer.
- Han, S., Chen, H., Zhang, X., Liu, T. and Fu, Y. N. (2016). "Levels of Selected Groups of Compounds in Refill Solutions for Electronic Cigarettes". *Nicotine & tobacco research*, 18(5), 708-714.
- Hansen, Å. M., Garde, A. H., Christensen, J. M., Eller, N., Knudsen, L. E. and Heinrich-Ramm, R. (2001). "Reference interval and subject variation in excretion of urinary metabolites of nicotine from non-smoking healthy subjects in Denmark". *Clinica chimica acta*, 304(1-2), 125-132.

- He, L., Liu, X., and Zhang, J. (2018). "Simultaneous quantification of urinary 6-sulfatoxymelatonin and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1095, 119-126.
- Hecht, S. S. (1999). "DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines". *Mutation research*, 424(1-2), 127.
- Hecht, S. S. (1999). "DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines". *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424(1-2), 127-142.
- Hecht, S. S., Stepanov, I., and Carmella, S. G. (2016). "Exposure and Metabolic Activation Biomarkers of Carcinogenic Tobacco-Specific Nitrosamines". *Accounts of chemical research*, 49(1), 106-114.
- Hedman, L., Backman, H., Stridsman, C., Bosson, J. A., Lundbäck, M., Lindberg, A., Rönmark, E., and Ekerljung, L. (2018). "Association of electronic cigarette use with smoking habits, demographic factors, and respiratory symptoms". *JAMA network open*, 1(3), e180789-e180789.
- Helbock, H. J., Beckman, K. B., and Ames, B. N. (1999). "8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage". *Methods in enzymology*, 300, 156.
- Hess, I. M., Lachiredy, K., and Capon, A. (2016). "A systematic review of the health risks from passive exposure to electronic cigarette vapour". *Public Health Research and Practice*, 26(2).
- Hosozumi, C., Toriba, A., Chuesaard, T., Kameda, T., Tang, N., and Hayakawa, K. (2012). "Analysis of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human urine using hydrophilic interaction chromatography with tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography B*, 893-894, 173-176.
- Hou, H., Xiong, W., Zhang, X., Song, D., Tang, G., and Hu, Q. (2012). "LC-MS-MS Measurements of Urinary Creatinine and the Application of Creatinine Normalization Technique on Cotinine in Smokers' 24 Hour Urine". *J Anal Methods Chem*, 2012, 245415.
- Howard, D. J., Ota, R. B., Briggs, L. A., Hampton, M., and Pritsos, C. A. (1998). "Environmental tobacco smoke in the workplace induces oxidative stress in employees, including increased production of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine". *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention*, 7(2), 141.
- Hu, C. W., Hsu, Y. W., Chen, J. L., Tam, L. M., and Chao, M.-R. (2014). "Direct analysis of tobacco-specific nitrosamine NNK and its metabolite NNAL in human urine by LC-MS/MS: evidence of linkage to methylated DNA lesions". *Archives of toxicology*, 88(2), 291-299.
- Hu, C. W., Lin, B. H., and Chao, M. R. (2010). "Quantitative determination of urinary N3-methyladenine by isotope-dilution LC-MS/MS with automated solid-phase extraction". *International Journal of Mass Spectrometry*, 304(2-3), 68-73.

- Hu, C. W., Chao, M. R., and Sie, C. H. (2010). "Urinary analysis of 8-oxo-7,8-dihydroguanine and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine by isotope-dilution LC-MS/MS with automated solid-phase extraction: Study of 8-oxo-7,8-dihydroguanine stability". *Free Radic Biol Med*, 48(1), 89-97.
- Hu, C. W., Liu, H. H., Li, Y. J., and Chao, M. R. (2012). "Direct analysis of 5-methylcytosine and 5-methyl-2'-deoxycytidine in human urine by isotope dilution LC-MS/MS: correlations with N-methylated purines and oxidized DNA lesions". *Chem Res Toxicol*, 25(2), 462-470.
- Hukkanen, J., Jacob, P., and Benowitz, N. L. (2005). "Metabolism and disposition kinetics of nicotine". *Pharmacological reviews*, 57(1), 79-115.
- Hwa Yun, B., Guo, J., Bellamri, M., and Turesky, R. J. (2020). "DNA adducts: Formation, biological effects, and new biospecimens for mass spectrometric measurements in humans". *Mass spectrometry reviews*, 39(1-2), 55-82.
- Itoh, M., Aoshiba, K., Herai, Y., Nakamura, H., and Takemura, T. (2018). "Lung injury associated with electronic cigarettes inhalation diagnosed by transbronchial lung biopsy". *Respirology case reports*, 6(1), e00282.
- İnternet: CDC. (2022). *Electronic Cigarettes: What's The Bottom Line?* Web: https://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/e-cigarettes/pdfs/Electronic-Cigarettes-Infographic-508.pdf adresinden 20 Ekim 2022'de alınmıştır.
- İnternet: CDC. (2015). *E-cigarette use triples among middle and high school students in just one year* Web: <https://www.cdc.gov/media/releases/2015/p0416-E-cigarette-use.html> adresinden 20 Eylül 2022'de alınmıştır.
- İnternet: CDC. (2020). *Outbreak of Lung Injury Associated with the Use of E-Cigarette, or Vaping, Products* Web: https://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/e-cigarettes/severe-lung-disease.html adresinden 20 Ekim 2022'de alınmıştır.
- İnternet: CDC. (2021). *E-Cigarettes, or Vaping, Products Visual Dictionary* Web: https://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/e-cigarettes/pdfs/ecigarette-or-vaping-products-visual-dictionary-508.pdf adresinden 03 Kasım 2022'de alınmıştır.
- İnternet: EPA. (1986). *List of Extremely Hazardous Substances*. Web: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2013-09/documents/epcrafrnotice11-17-1986.pdf> adresinden 26 Ekim 2022'de alınmıştır.
- İnternet: Ersan, M. (2022). *EVALI hastalığı Türkiye'de de görülmeye başladı* Web: <https://www.diken.com.tr/evali-hastaligi-turkiyede-de-gorulmeye-basladi/> adresinden 26 Ekim 2022'de alınmıştır.
- İnternet: FDA. (2018). *Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation* Web: https://www.moh.gov.bw/Publications/drug_regulation/Bioanalytical%20Method%20Validation%20FDA%202001.pdf adresinden 22 Eylül 2022'de alınmıştır.
- İnternet: FDA. (2019). *FDA In Brief: FDA seeks comment on proposed additions to list of harmful and potentially harmful constituents found in tobacco products, including electronic nicotine delivery systems such as e-cigarettes and e-liquids* Web:

<https://www.fda.gov/news-events/fda-brief/fda-brief-fda-seeks-comment-proposed-additions-list-harmful-and-potentially-harmful-constituents> adresinden 26 Ekim 2022'de alınmıştır.

İnternet: FDA. (2020). *FDA Authorizes Marketing of IQOS Tobacco Heating System with 'Reduced Exposure' Information* Web: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-marketing-iqos-tobacco-heating-system-reduced-exposure-information> adresinden 30 Eylül 2022'de alınmıştır.

İnternet: FDA. (2022a). *Cigarettes* Web: <https://www.fda.gov/tobacco-products/products-ingredients-components/cigarettes> adresinden 12 Kasım 2022'de alınmıştır.

İnternet: FDA. (2022b). *E-Cigarettes, Vapes, and other Electronic Nicotine Delivery Systems (ENDS)* Web: <https://www.fda.gov/tobacco-products/products-ingredients-components/e-cigarettes-vapes-and-other-electronic-nicotine-delivery-systems-ends> adresinden 20.Ekim. 2022'de alınmıştır.

İnternet: IARC (2002). *International Agency for Research on Cancer (IARC) Involuntary Smoking (Group 1)* Web: <https://inchem.org/documents/iarc/vol83/02-involuntary.html> adresinden 20.Ekim. 2022'de alınmıştır.

İnternet: IARC (2004). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Tobacco Smoke and Involuntary Smoking* Web: <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100E-6.pdf> adresinden 20.Ekim. 2022'de alınmıştır.

İnternet: Resmi Gazete. (1996). *4207 sayılı Tütün Ürünlerinin Zararlarının Önlenmesi ve Kontrolü Hakkında Kanun* Web: <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.4207.pdf> adresinden 26 Ekim 2022'de alınmıştır.

İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı. (2008). *Elektronik Sigara* Web: <https://www.aeo.org.tr/DuyuruModulu/Duyurular/Details/4308?AspxAutoDetectCookieSupport=1>; adresinden 08 Ekim 2022'de alınmıştır.

İnternet: WHO. (2017). *WHO report on the global tobacco epidemic monitoring tobacco use and prevention policies* Web: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255874> adresinden 27 Ekim 2022'de alınmıştır.

İnternet: WHO. (2018). *World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals* Web: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272596/9789241565585-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> adresinden 01 Kasım 2022'de alınmıştır.

İnternet: WHO. (2020). *E-cigarettes are harmful to health* Web: <https://www.who.int/news/item/05-02-2020-e-cigarettes-are-harmful-to-health> adresinden 22 Eylül 2022'de alınmıştır.

İnternet: WHO. (2021). *WHO report on the global tobacco epidemic 2021: addressing new and emerging products* Web: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240032095> adresinden 27 Ekim 2022'de alınmıştır.

- İnternet: WHO. (2022a). *Tobacco* Web: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco> adresinden 30 Eylül 2022'de alınmıştır.
- İnternet: WHO. (2022b). *Tobacco overwiev*. Web: https://www.who.int/health-topics/tobacco#tab=tab_1 adresinden 16.Ekim. 2022'de alınmıştır.
- İnternet: WHO. (2022c). *World health statistics 2022: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals* Web: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051157> adresinden 01 Kasım 2022'de alınmıştır.
- Kaisar, M. A., Prasad, S., Liles, T. and Cucullo, L. (2016). "A Decade of e-Cigarettes: Limited Research and Unresolved Safety Concerns". *Toxicology (Amsterdam)*, 365, 67-75.
- Kalkhoran, S., and Glantz, S. A. (2016). "E-cigarettes and smoking cessation in real-world and clinical settings: a systematic review and meta-analysis". *The lancet respiratory medicine*, 4(2), 116-128.
- Kamada, T., Yamashita, Y., and Tomioka, H. (2016). "Acute eosinophilic pneumonia following heat-not-burn cigarette smoking". *Respirology case reports*, 4(6), e00190.
- Kamal, A., Cincinelli, A., Martellini, T., and Malik, R. N. (2016). "Biomarkers of PAH exposure and hematologic effects in subjects exposed to combustion emission during residential (and professional) cooking practices in Pakistan". *Environmental science and pollution research international*, 23(2), 1284-1299.
- Kanaya, Y., Doi, T., Sasaki, H., Fujita, A., Matsuno, S., Okamoto, K., Nakano, Y., Tsujiwaki, S., Furuta, H., and Nishi, M. (2004). "Rice bran extract prevents the elevation of plasma peroxy lipid in KKAY diabetic mice". *Diabetes research and clinical practice*, 66, S157-S160.
- Kang, J., and Valerio, L. G. (2020). "Investigating DNA adduct formation by flavor chemicals and tobacco byproducts in electronic nicotine delivery system (ENDS) using in silico approaches". *Toxicology and applied pharmacology*, 398(C), 115026.
- Kataoka, H., Mizuno, K., Oda, E., and Saito, A. (2016). "Determination of the oxidative stress biomarker urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography B*, 1019, 140-146.
- Kavitha, D. (2021). "Popcorn lung". *Asian Journal of Nursing Education and Research*, 11(1), 148-150.
- Kawasaki, Y., Li, Y. S., Ootsuyama, Y., Nagata, K., Yamato, H., and Kawai, K. (2020). "Effects of smoking cessation on biological monitoring markers in urine". *Genes Environ*, 42, 26.
- Kennedy, R. D., Awopegba, A., De Leon, E., and Cohen, J. E. (2017). "Global approaches to regulating electronic cigarettes". *Tobacco control*, 26(4), 440-445.

- Keten, H. S., Çelik, M., Ersoy, Ö., Üçer, H. and Işık, O. (2016). "Knowledge, attitudes and behaviors of patients with chronic diseases about smoking and use of Maras powder". *Cukurova Medical Journal*, 41(1), 121-128.
- Kim, S. C., and Friedman, T. C. (2022). "A New Ingenious Enemy: Heat-Not-Burn Products". *Tobacco Use Insights*, 15, 1179173X221076419.
- Klaene, J. J., Sharma, V. K., Glick, J., and Vouros, P. (2013). "The analysis of DNA adducts: The transition from 32P-postlabeling to mass spectrometry". *Cancer Letters*, 334(1), 10-19.
- Kopplin, A., Eberle-Adamkiewicz, G., Glüsenkamp, K.-H., Nehls, P., and Kirstein, U. (1995). "Urinary excretion of 3-methyladenine and 3-ethyladenine after controlled exposure to tobacco smoke". *Carcinogenesis*, 16(11), 2637-2641.
- La, D. K., and Swenberg, J. A. (1996). "DNA adducts: biological markers of exposure and potential applications to risk assessment". *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 365(1-3), 129-146.
- Lam, P. M. W., Mistry, V., Marczylo, T. H., Konje, J. C., Evans, M. D., and Cooke, M. S. (2012). "Rapid measurement of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in human biological matrices using ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry". *Free radical biology and medicine*, 52(10), 2057-2063.
- Laverty, A., Filippidis, F., and Vardavas, C. (2018). "Patterns, trends and determinants of e-cigarette use in 28 European Union Member States 2014–2017". *Preventive medicine*, 116, 13-18.
- Lawley, P. (1974). "Some chemical aspects of dose-response relationships in alkylation mutagenesis". *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 23(3), 283-295.
- Lee, A. C., Chakladar, J., Li, W. T., Chen, C., Chang, E. Y., Wang-Rodriguez, J., and Ongkeko, W. M. (2020). "Tobacco, but not nicotine and flavor-less electronic cigarettes, induces ACE2 and immune dysregulation". *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5513.
- Leigh, N. J., Palumbo, M. N., Marino, A. M., O'Connor, R. J., and Goniewicz, M. L. (2018). "Tobacco-specific nitrosamines (TSNA) in heated tobacco product IQOS". *Tobacco control*, 27(Suppl 1), s37-s38.
- Leigh, N. J., Tran, P. L., O'Connor, R. J., and Goniewicz, M. L. (2018). "Cytotoxic effects of heated tobacco products (HTP) on human bronchial epithelial cells". *Tobacco control*, 27(Suppl 1), s26-s29.
- Leventhal, A. M., Strong, D. R., Kirkpatrick, M. G., Unger, J. B., Sussman, S., Riggs, N. R., Stone, M. D., Khoddam, R., Samet, J. M., and Audrain-McGovern, J. (2015). "Association of Electronic Cigarette Use With Initiation of Combustible Tobacco Product Smoking in Early Adolescence". *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 314(7), 700.

- Li, X., Liu, L., Wang, H., Chen, J., Zhu, B., Chen, H., Hou, H., and Hu, Q. (2017). "Simultaneous analysis of six aldehyde-DNA adducts in salivary DNA of nonsmokers and smokers using stable isotope dilution liquid chromatography electrospray ionization-tandem mass spectrometry". *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1060, 451-459.
- Li, Y.-S., Song, M.-F., Kasai, H., and Kawai, K. (2013). "Generation and threshold level of 8-OHdG as oxidative DNA damage elicited by low dose ionizing radiation". *Genes and Environment*.
- Lin, I. H., Chao, M. R., Hu, C. W., Ho, M. L., Huang, J. Y., Lee, H. S., Chen, C. C., and Wong, R. H. (2009). "Modification of urinary N7-methylguanine excretion in smokers by glutathione-S-transferase M1 polymorphism". *Toxicology*, 260(1-3), 1-6.
- Liu, S., and Wang, Y. (2015). "Mass spectrometry for the assessment of the occurrence and biological consequences of DNA adducts". *Chemical Society Reviews*, 44(21), 7829-7854.
- Liu X, Lugo A, Spizzichino L, Tabuchi T, Gorini G, Gallus S. (2018) "Heat-Not-Burn Tobacco Products Are Getting Hot in Italy". *J Epidemiol* 2018;28(5):274-275
- Loukas, A., Marti, C. N., Cooper, M., Pasch, K. E., and Perry, C. L. (2018). "Exclusive e-cigarette use predicts cigarette initiation among college students". *Addictive behaviors*, 76, 343-347.
- Lu, C. Y., Ma, Y. C., Chen, P. C., Wu, C. C., and Chen, Y. C. (2014). "Oxidative stress of office workers relevant to tobacco smoking and inner air quality". *International journal of environmental research and public health*, 11(6), 5586-5597.
- Ma, B., Stepanov, I., and Hecht, S. S. (2019). "Recent Studies on DNA Adducts Resulting from Human Exposure to Tobacco Smoke". *Toxics (Basel)*, 7(1), 16.
- Machacek, D. A., and Jiang, N. (1986). "Quantification of cotinine in plasma and saliva by liquid chromatography". *Clinical chemistry*, 32(6), 979-982.
- Madison, M. C., Landers, C. T., Gu, B. H., Chang, C. Y., Tung, H. Y., You, R., Hong, M. J., Baghaei, N., Song, L.-Z., and Porter, P. (2020). "Electronic cigarettes disrupt lung lipid homeostasis and innate immunity independent of nicotine". *The Journal of clinical investigation*, 129(10), 4290-4304.
- Malas, M., van der Tempel, J., Schwartz, R., Minichiello, A., Lightfoot, C., Noormohamed, A., Andrews, J., Zawertailo, L., and Ferrence, R. (2016). "Electronic Cigarettes for Smoking Cessation: A Systematic Review". *Nicotine and tobacco research*, 18(10), 1926-1936.
- Marques, P., Piqueras, L., and Sanz, M.-J. (2021). "An updated overview of e-cigarette impact on human health". *Respiratory research*, 22(1), 1-14.
- Marsden, L., Michalick, Z. D., and Christensen, E. D. (2019). "More on the pathology of vaping-associated lung injury". *New England journal of medicine*.

- McCauley, L., Markin, C., and Hosmer, D. (2012). "An unexpected consequence of electronic cigarette use". *Chest*, 141(4), 1110-1113.
- McConnell, R., Barrington-Trimis, J. L., Wang, K., Urman, R., Hong, H., Unger, J., Samet, J., Leventhal, A., and Berhane, K. (2017). "Electronic cigarette use and respiratory symptoms in adolescents". *American journal of respiratory and critical care medicine*, 195(8), 1043-1049.
- McDorman, K. S., Pachkowski, B. F., Nakamura, J., Wolf, D. C., and Swenberg, J. A. (2005). "Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in Long-Evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products". *Chemico-biological interactions*, 152(2-3), 107-117.
- McMillen, R. C., Gottlieb, M. A., Shaefer, R. M. W., Winickoff, J. P., and Klein, J. D. (2015). "Trends in Electronic Cigarette Use Among U.S. Adults: Use is Increasing in Both Smokers and Nonsmokers". *Nicotine and tobacco research*, 17(10), 1195-1202.
- McRobbie, H., Phillips, A., Goniewicz, M. L., Smith, K. M., Knight-West, O., Przulj, D., and Hajek, P. (2015). "Effects of switching to electronic cigarettes with and without concurrent smoking on exposure to nicotine, carbon monoxide, and acrolein". *Cancer Prevention Research*, 8(9), 873-878.
- Mei, S., Xu, G., and Wu, C. (2001). "Analysis Of Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine by Capillary Electrophoresis and Solid-Phase Extraction". *Analytical letters*, 34(12), 2063-2076.
- Miller, C. R., Xu, S. S., Smith, D. M., Sutanto, E., Goniewicz, M. L., Quah, A. C., and Fong, G. T. (2022). "Assessing use of inhalable nicotine products within complex markets: the dilemma of heated tobacco products". In: BMJ Publishing Group Ltd.
- Miller, N. S., and Cocores, J. A. (1993). "Nicotine dependence: diagnosis, chemistry, and pharmacologic treatments". *Pediatrics in Review*, 14(7), 275-279.
- Miyashita, L., and Foley, G. (2020). "E-cigarettes and respiratory health: the latest evidence". *The Journal of physiology*, 598(22), 5027-5038.
- Morgil, G. K. ve Çok, İ. (2020). "Development and Validation of a Fast and Simple LC-ESI MS/MS Method for Quantitative Analysis 8-Hydroxyl-2'-Deoxyguanosine (8-OHdG) in Human Urine". *FABAD J. Pharm. Sci.*, 45 (2), 125.
- Münzel, T., Hahad, O., Kuntic, M., Keaney Jr, J. F., Deanfield, J. E. and Daiber, A. (2020). "Effects of tobacco cigarettes, e-cigarettes, and waterpipe smoking on endothelial function and clinical outcomes". *European heart journal*, 41(41), 4057-4070.
- O'Connor, R. J., Cummings, K. M., Rees, V. W., Connolly, G. N., Norton, K. J., Swenor, D., Parascandola, M., Hatsukami, D. K., and Shields, P. G. (2009). "Surveillance methods for identifying, characterizing, and monitoring tobacco products: potential reduced exposure products as an example". *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention*, 18(12), 3334.
- Ogan, N., Baha, A., Coskun, O. and Akpınar, E. E. (2019). "Use of and awareness about electronic cigarette among medical school students". *EJMO*, 3(1), 6-13.

- Özdemir, S. ve Üzümcü, L. (2019). "Elektronik Sigara Kullanımı ve Sağlık Üzerine Etkileri". *Turkiye Klinikleri Journal of Biostatistics*, 11(3).
- Park-Lee, E., Ren, C., Sawdey, M. D., Gentzke, A. S., Cornelius, M., Jamal, A., and Cullen, K. A. (2021). "Notes from the field: e-cigarette use among middle and high school students—National Youth Tobacco Survey, United States, 2021". *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 70(39), 1387.
- Phillips, D. H. (2005). "DNA adducts as markers of exposure and risk". *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 577(1-2), 284-292.
- Phillips, D. H. (2013). "On the origins and development of the 32P-postlabelling assay for carcinogen–DNA adducts". *Cancer Letters*, 334(1), 5-9.
- Phillips, D. H., and Venitt, S. (2012). "DNA and protein adducts in human tissues resulting from exposure to tobacco smoke". *Int J Cancer*, 131(12), 2733-2753.
- Pisinger, C., and Døssing, M. (2014). "A systematic review of health effects of electronic cigarettes". *Preventive medicine*, 69, 248-260.
- Poirier, M. C. (2016). "Linking DNA adduct formation and human cancer risk in chemical carcinogenesis". *Environmental and molecular mutagenesis*, 57(7), 499-507.
- Popova, L., Lempert, L. K., and Glantz, S. A. (2018). "Light and mild redux: heated tobacco products' reduced exposure claims are likely to be misunderstood as reduced risk claims". *Tobacco control*, 27(Suppl 1), s87.
- Pratt, M. M., John, K., MacLean, A. B., Afework, S., Phillips, D. H., and Poirier, M. C. (2011). "Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and DNA adduct semi-quantitation in archived human tissues". *International journal of environmental research and public health*, 8(7), 2675-2691.
- Prevost, V., Shuker, D., Friesen, M., Eberle, G., Rajewsky, M., and Bartsch, H. (1993). "Immunoaffinity purification and gas chromatography—mass spectrometric quantification of 3-alkyladenines in urine: metabolism studies and basal excretion levels in man". *Carcinogenesis*, 14(2), 199-204.
- Prieme, H., Loft, S., Klarlund, M., Gronbaek, K., Tonnesen, P., and Poulsen, H. E. (1998). "Effect of smoking cessation on oxidative DNA modification estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion". *Carcinogenesis (New York)*, 19(2), 347-351.
- Protano, C., Manigrasso, M., Avino, P., Sernia, S., and Vitali, M. (2016). "Second-hand smoke exposure generated by new electronic devices (IQOS® and e-cigs) and traditional cigarettes: submicron particle behaviour in human respiratory system". *Annali di igiene*, 28(2), 109.
- Pullman, B., and Pullman, A. (1980). Nucleophilicity of DNA. Relation to Chemical Carcinogenesis. In *Carcinogenesis: fundamental mechanisms and environmental effects* (pp. 55-66). Springer.

- Rackowska, E., Bobrowska-Korczak, B., and Giebultowicz, J. (2019). "Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for determination of methylated nucleosides and nucleobases in urine". *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1128, 121775.
- Randerath, K., Reddy, M. V., and Gupta, R. C. (1981). "³²P-labeling test for DNA damage". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(10), 6126-6129.
- Rowell, T. R., and Tarran, R. (2015). "Will chronic e-cigarette use cause lung disease?". *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 309(12), L1398.
- Saffhill, R., Margison, G. P., and O'Connor, P. J. (1985). "Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 823(2), 111-145.
- Sakamaki-Ching, S., Williams, M., Hua, M., Li, J., Bates, S. M., Robinson, A. N., Lyons, T. W., Goniewicz, M. L., and Talbot, P. (2020). "Correlation between biomarkers of exposure, effect and potential harm in the urine of electronic cigarette users". *BMJ open respiratory research*, 7(1), e000452.
- Santella, R. M. (1999). "Immunological methods for detection of carcinogen-DNA damage in humans". *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 8(9), 733-739.
- Schroeder, M. J., and Hoffman, A. C. (2014). "Electronic cigarettes and nicotine clinical pharmacology". *Tobacco control*, 23(suppl 2), ii30-ii35.
- Schweitzer, R. J., Wills, T. A., Tam, E., Pagano, I., and Choi, K. (2017). "E-cigarette use and asthma in a multiethnic sample of adolescents". *Preventive medicine*, 105, 226-231.
- Sedgwick, B., Bates, P. A., Paik, J., Jacobs, S. C., and Lindahl, T. (2007). "Repair of alkylated DNA: recent advances". *DNA Repair (Amst)*, 6(4), 429-442.
- Sharma, P., Sane, N., Anand, S. D., Marimuthu, P., and Benegal, V. (2019). "Assessment of cotinine in urine and saliva of smokers, passive smokers, and nonsmokers: Method validation using liquid chromatography and mass spectrometry". *Indian J Psychiatry*, 61(3), 270-276.
- Shih, Y. M., Chang, Y. J., Cooke, M. S., Pan, C. H., Hu, C. H., Chao, M. R., and Hu, C. W. (2021). "Alkylating and oxidative stresses in smoking and non-smoking patients with COPD: Implications for lung carcinogenesis". *Free Radic Biol Med*, 164, 99-106.
- Singh, K. P., Lawyer, G., Muthumalage, T., Maremanda, K. P., Khan, N. A., McDonough, S. R., Ye, D., McIntosh, S., and Rahman, I. (2019). "Systemic biomarkers in electronic cigarette users: implications for noninvasive assessment of vaping-associated pulmonary injuries". *ERJ open research*, 5(4).
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., and Lleonart, M. E. (2012). "Oxidative stress and cancer: An overview". *Ageing research reviews*, 12(1), 376-390.

- Tabuchi, T., Kosuke, K., Hoshino, T., Bekki, K., Inaba, Y., and Kunugita, N. (2016). "Awareness and use of electronic cigarettes and heat-not-burn tobacco products in Japan". *Addiction (Abingdon, England)*, 111(4), 706-713.
- Tackett, A. P., Keller-Hamilton, B., Smith, C. E., Hébert, E. T., Metcalf, J. P., Queimado, L., Stevens, E. M., Wallace, S. W., McQuaid, E. L., and Wagener, T. L. (2020). "Evaluation of respiratory symptoms among youth e-cigarette users". *JAMA network open*, 3(10), e2020671-e2020671.
- Takahashi, N., Boysen, G., Li, F., Li, Y., and Swenberg, J. A. (2007). "Tandem mass spectrometry measurements of creatinine in mouse plasma and urine for determining glomerular filtration rate". *Kidney Int*, 71(3), 266-271.
- Tang, Y., Wang, Z., Li, M., Zhang, R., and Zhang, J. (2019). "Simultaneous quantitation of 14 DNA alkylation adducts in human liver and kidney cells by UHPLC-MS/MS: Application to profiling DNA adducts of genotoxic reagents". *J Pharm Biomed Anal*, 166, 387-397.
- Teasdale, J. E., Newby, A. C., Timpson, N. J., Munafò, M. R., and White, S. J. (2016). "Cigarette smoke but not electronic cigarette aerosol activates a stress response in human coronary artery endothelial cells in culture". *Drug and alcohol dependence*, 163, 256-260.
- Temas, D., and Meyer, A. (2020). "E-cigarette-and vaping-related lung injury (EVALI) at a regional hospital system in South Carolina". *Case Reports in Pulmonology*, 2020.
- TG, S., Siddiqui, S. A., and Dubey, K. D. (2022). "Unraveling key interactions and the mechanism of demethylation during hAGT-mediated DNA repair via simulations". *Frontiers in molecular biosciences*, 983.
- Tian, Y., Hou, H., Zhang, X., Wang, A., Liu, Y., and Hu, Q. (2014). "New validated LC-MS/MS method for the determination of three alkylated adenines in human urine and its application to the monitoring of alkylating agents in cigarette smoke". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(22), 5293-5302.
- Tommasi, S., Caliri, A. W., Caceres, A., Moreno, D. E., Li, M., Chen, Y., Siegmund, K. D., and Besaratinia, A. (2019). "Deregulation of Biologically Significant Genes and Associated Molecular Pathways in the Oral Epithelium of Electronic Cigarette Users". *International journal of molecular sciences*, 20(3), 738.
- Tretyakova, N., Villalta, P. W., and Kotapati, S. (2013). "Mass spectrometry of structurally modified DNA". *Chemical reviews*, 113(4), 2395-2436.
- Trivers, K. F., Phillips, E., Gentzke, A. S., Tynan, M. A., and Neff, L. J. (2018). "Prevalence of cannabis use in electronic cigarettes among US youth". *JAMA pediatrics*, 172(11), 1097-1099.
- Tsuboi, H., Kouda, K., Takeuchi, H., Takigawa, M., Masamoto, Y., Takeuchi, M., and Ochi, H. (1998). "8-Hydroxydeoxyguanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis". *British journal of dermatology (1951)*, 138(6), 1033-1035.

- Tsvet, M. (1903). "On a new category of adsorption phenomena and their application to biochemical analysis". *Biological Section of the Warsaw Society of Natural Sciences*.
- Tubbs, J., and Tainer, J. (2013). DNA Damage: Alkylation. In *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition* (pp. 9-15). Elsevier Inc.
- Turesky, R. J., and Le Marchand, L. (2011). "Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies: lessons learned from aromatic amines". *Chemical research in toxicology*, 24(8), 1169-1214.
- Urrutia-Pereira, M., Solé, D., Chong Neto, H. J., Badellino, H., Acosta, V., Castro-Almarales, R. L., León, M. G., Avalos, M. M., Fernández, C. C., Sisul-Alvariza, J. C., Oliano, V. J., and Rinelli, P. N. (2018). "Youth tobacco use in Latin America: What is the real extent of the problem?". *Allergologia et immunopathologia*, 47(4), 328-335.
- Vansickel, A. R., and Eissenberg, T. (2013). "Electronic cigarettes: effective nicotine delivery after acute administration". *Nicotine and tobacco research*, 15(1), 267-270.
- Villas-Bôas, S. G., Mas, S., Åkesson, M., Smedsgaard, J., and Nielsen, J. (2005). "Mass spectrometry in metabolome analysis". *Mass spectrometry reviews*, 24(5), 613-646.
- Volkow, N. D. (2020). "Collision of the COVID-19 and Addiction Epidemics". *Annals of internal medicine*, 173(1), 61.
- Wall, M. A., Johnson, J., Jacob, P., and Benowitz, N. L. (1988). "Cotinine in the serum, saliva, and urine of nonsmokers, passive smokers, and active smokers". *American journal of public health*, 78(6), 699-701.
- Wang, C.-C., Chen, W.-L., Lin, C.-M., Lai, C.-H., Loh, C.-H., Chen, H.-I., and Liou, S.-H. (2016). "The relationship between plasma and urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine biomarkers measured by liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Environmental science and pollution research international*, 23(17), 17496-17502.
- Wang, C. J., Yang, N. H., Chang, C. C., Liou, S. H., and Lee, H. L. (2011). "Rapid and simple one-step membrane extraction for the determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human plasma by a combination of on-line solid phase extraction and LC-MS/MS". *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 879(30), 3538-3543.
- Wang, J. B., Olgin, J. E., Nah, G., Vittinghoff, E., Cataldo, J. K., Pletcher, M. J., and Marcus, G. M. (2018). "Cigarette and e-cigarette dual use and risk of cardiopulmonary symptoms in the Health eHeart Study". *PloS one*, 13(7), e0198681.
- Wang, M. P., Ho, S. Y., Leung, L. T., and Lam, T. H. (2016). "Electronic cigarette use and respiratory symptoms in Chinese adolescents in Hong Kong". *JAMA pediatrics*, 170(1), 89-91.
- Wang, T. W., Gentzke, A., Sharapova, S., Cullen, K. A., Ambrose, B. K., and Jamal, A. (2018). "Tobacco product use among middle and high school students—United States, 2011–2017". *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 67(22), 629.

- Wang, W., He, Z., Feng, N., and Cai, Y. (2019). "Electronic cigarette use in China: Awareness, prevalence and regulation". *Tobacco induced diseases*, 17(April), 30-30.
- Williams, M., Villarreal, A., Bozhilov, K., Lin, S., and Talbot, P. (2013). "Metal and silicate particles including nanoparticles are present in electronic cigarette cartomizer fluid and aerosol". *PloS one*, 8(3), e57987.
- Wills, T. A., Pagano, I., Williams, R. J., and Tam, E. K. (2019). "E-cigarette use and respiratory disorder in an adult sample". *Drug and alcohol dependence*, 194, 363-370.
- WJC., d., AF., Z., CB., d., RM., Z., PEM., F., and al., R. L. (2018). "Electronic cigarette awareness and use among students at the Federal University of Mato Grosso, Brazil". *Jornal brasileiro de pneumologia*, 44(5), 367-369.
- Xiong, W., Hou, H., Jiang, X., Tang, G., and Hu, Q. (2010). "Simultaneous determination of four tobacco-specific N-nitrosamines in mainstream smoke for Chinese Virginia cigarettes by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and validation under ISO and “Canadian intense” machine smoking regimes". *Analytica chimica acta*, 674(1), 71-78.
- Yoshida, R., Ogawa, Y., and Kasai, H. (2002). "Urinary 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine values measured by an ELISA correlated well with measurements by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection". *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 11(10), 1076-1081.
- Yuan, J.-M., Butler, L. M., Stepanov, I., and Hecht, S. S. (2014). "Urinary tobacco smoke–constituent biomarkers for assessing risk of lung cancer". *Cancer research*, 74(2), 401-411.
- Yuan, J.-M., Knezevich, A. D., Wang, R., Gao, Y.-T., Hecht, S. S., and Stepanov, I. (2011). "Urinary levels of the tobacco-specific carcinogen N'-nitrosonornicotine and its glucuronide are strongly associated with esophageal cancer risk in smokers". *Carcinogenesis*, 32(9), 1366-1371.
- Zhang, X., Hou, H., Chen, H., Liu, Y., Wang, A., and Hu, Q. (2015). "A column-switching LC-MS/MS method for simultaneous quantification of biomarkers for 1,3-butadiene exposure and oxidative damage in human urine". *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1002, 123-129.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
18/12/2019	23	552

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmet ÇOK'un sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Elektronik Sigara Kullanan Bireylerde DNA Hasarının DNA-Katım (Adduct) Ürünleri Yardımıyla Belirlenmesi" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 11/12/2019 tarihinde sunulan Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar İçin Başvuru Formu ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, araştırmanın yürürlükte olan yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkan

İmza
Prof. Dr. Selma ÜNAL
Başkan Yardımcısı

İmza
Prof. Dr. F. Özlem KANDEMİR
Üye

İmza
Prof. Dr. Olgu HALLIOĞLU
KILINÇ
Üye

İmza
Prof. Dr. Murat BOZLU
Üye

İmza
Prof. Dr. M. Sami SERİN
Üye

İmza
Prof. Dr. Bahar TAŞDELEN
Üye

İmza
Prof. Dr. İsmail ÜN
Üye

İmza
Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE
Üye

İmza
Dr. Öğr. Üyesi M. Tükan IŞIK
Üye

İmza
Dr. Öğr. Üyesi Nalan TİFTİK
Üye

İmza
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa AZİZOĞLU
Üye

(Katılamadı)
Dr. Öğr. Üyesi Özge KURMUŞ
Üye

(Katılamadı)
H. Betül LEVENT ERDAL
Üye

İmza
Lale DAĞLI
Üye

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Başkanı
ASLI GİBİDİR

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Elektronik Sigara Kullanan Bireylerde DNA Hasarının DNA-Katım (Adduct) Ürünleri Yardımıyla Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		---
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Mersin Üniversitesi Çiftlikköy Kampüsü Prof. Dr. Uğur ORAL Kültür Merkezi, 33343, Yenişehir/Mersin
	TELEFON	0 324 361 00 01 / 4417
	FAKS	---
	E-POSTA	meukaek@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. İsmet ÇOK			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Toksikoloji Ana Bilim Dalı			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi			
VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	---			
DESTEKLEYİCİ	---			
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Prof. Dr. İsmet ÇOK			
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- Rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyaller ile yapılacak araştırma Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyal ile yapılacak araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Etik Kurul Başkanı İmza:

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

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Elektronik Sigara Kullanan Bireylerde DNA Hasarının DNA-Katım (Adduct) Ürünleri Yardımıyla Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	---

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (E-SİGARA İÇİN ERİŞKİN HASTALAR İÇİN)	23.10.2019	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (SİGARA İÇİN ERİŞKİN HASTALAR İÇİN)	23.10.2019	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (SİGARAYA PASİF MARUZ KALAN ERİŞKİNLER İÇİN)	23.10.2019	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (SAĞLIKLI ERİŞKİNLER İÇİN)	23.10.2019	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama			
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	☒	05.05.2019, Ver2.0 İmza Tarihi:25.11.2019			
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER: GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	☒	03.12.2019 İmza Tarihi			
	ARAŞTIRMACILARIN ÖZ GEÇMİŞİ	☒				
3 ADET LİTERATÜR	☒	-Çalışmanın Tez Olduğuna İlişkin Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nün yazısı -Anket Formları; Sigara İçen Bireyler, Elektronik Sigara İçen Bireyler, Sigaraya Maruz Kalan/Kalmayan Bireyler -Proforma Fatura				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2019/552	Tarih: 18.12.2019				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Etik Kurul Başkanı İmza:

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

EK-1. (devam) Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Elektronik Sigara Kullanan Bireylerde DNA Hasarının DNA-Katım (Adduct) Ürünleri Yardımıyla Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	---

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN	Farmakoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Bölümü Farmakoloji ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Selma ÜNAL	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. F. Özlem KANDEMİR	Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Enfeksiyon Hastalıkları ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Olgü HALLIOĞLU KILINÇ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Murat BOZLU	Üroloji	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. M. Sami SERİN	Mikrobiyoloji	MEÜ Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Bahar TAŞDELEN	Biyoistatistik	MEÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyoistatistik ve Tıbbi Bilimler ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. İsmail ÜN	Tıbbi Farmakoloji	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Farmakoloji ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Nimet KARAGÖLLE	Biyomühendislik	MEÜ Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi M. Türkan IŞIK	Tıp Tarihi ve Etik	MEÜ Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Bölümü Hemşirelik Esasları ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Nalan TİFTİK	Tıbbi Farmakoloji	MEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Farmakoloji ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa AZİZOĞLU	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	MEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Özge KURMUŞ	Kardiyoloji	Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Kardiyoloji ABD	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Yüksek Şehir Plancısı H. Betül LEVENT ERDAL	Şehir ve Bölge Planlama/Uluslararası Proje Yönetimi	Mersin Mezitli Belediyesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	
Avukat Lale DAĞLI	Hukuk	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Etik Kurul Başkanı İmza

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

EK-2. Anket Formları

SİGARAYA PASİF MARUZ KALAN/KALMAYAN**BİREYLER İÇİN ANKET FORMU****Tarih:****Sıra No:**

1. Yaşı:
2. Eğitim durumu:
İlk ☐ Orta ☐ Lise ☐ Yüksek ☐
3. Vücut ağırlığı (kg):
4. Boyu (cm):
5. Mesleği:
6. Son 24 saat içinde İş yeri ortamınızda sigara dumanına maruz kaldınız mı?
Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.
Hayır ☐
7. Son 24 saat içinde evinizde sigara dumanına maruz kaldınız mı?
Evet ☐ Maruz kalma süresi belirtiniz.
Hayır ☐
8. Son 24 saat içerisinde nargile dumanına maruz kaldınız mı?
Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz
Hayır ☐
9. Son 24 saat içerisinde sigara veya tütün ürünü içilen araba dahil kapalı bir ortamda bulundunuz mu?
Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.
Hayır ☐
10. Son 24 saat içinde mangalda pişmiş et yediniz mi?
Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.
Hayır ☐
11. Son 24 saatte trafikte kalma süreniz ne kadardır?
 $\frac{1}{2}$ saatten az ☐
 $\frac{1}{2}$ - 1 saat arası ☐
1 saatten fazla ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

12. Son 24 saatte yanmadan kaynaklanan herhangi bir dumana maruz kaldınız mı?Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐**13. Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi? (Diş ve diğer)**Evet ☐ Hangisi?Hayır ☐**14. Çay içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐ 1 bardak/gün ☐ 2 bardak/gün ☐ 3 ve daha fazla bardak/gün ☐Hayır ☐**15. Kahve içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐ 1 fincan/gün ☐ 2 fincan/gün ☐ 3 ve daha fazla fincan /gün ☐Hayır ☐**16. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?**Evet ☐ Belirtiniz...Hayır ☐**17. Herhangi bir ilaç alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir?

Ne kadar süredir?

Hayır ☐**18. Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir?

Hangi sıklıkla?

Hayır ☐**TEŞEKKÜRLER**

EK-2. (devam) Anket Formları

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

Hiç içmedim	☐	1-10 sigara/gün	☐
Eskiden içerdim	☐	11-20 sigara/gün	☐
3 aydır içiyorum	☐	20 ve daha fazla sigara/gün	☐
6 ay -1 yıldır içiyorum	☐		
1-5 yıldır içiyorum	☐		
5-10 yıldır içiyorum	☐		
10-15 yıldır içiyorum	☐		
15-20 yıldır içiyorum	☐		
20 ve daha fazla yıldır içiyorum	☐		

7. Son 24 saat içerisinde ev veya iş yerinde sigara dumanına maruz kaldınız mı?Evet ☐

Maruz kalma süresini belirtiniz.

Hayır ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

8. Son 24 saat içerisinde elektronik sigara içilen bir ortamda bulundunuz mu?Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐**9. Son 24 saat içerisinde nargile dumanına maruz kaldınız mı?**Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtinizHayır ☐**10. Son 24 saat içerisinde sigara veya tütün ürünü içilen araba dahil kapalı bir ortamda bulundunuz mu?**Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐**11. Son 24 saat içinde mangalda pişmiş et yediniz mi?**Evet ☐Hayır ☐**12. Son 24 saatte trafikte kalma süreniz ne kadardır?** $\frac{1}{2}$ saatten az ☐ 1/2- 1 saat arası ☐ 1 saatten fazla ☐**13. Son 24 saatte yanmadan kaynaklanan herhangi bir dumana maruz kaldınız mı?**Evet ☐ Maruz kalma süresini belirtiniz.Hayır ☐**14. Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi? (Diş ve diğer)**Evet ☐ Hangisi?Hayır ☐**15. Çay içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐ 1 bardak/gün ☐ 2 bardak/gün ☐ 3 ve daha fazla bardak/gün ☐Hayır ☐**16. Kahve içme alışkanlığınız var mı?**Evet ☐ 1 fincan/gün ☐ 2 fincan/gün ☐ 3 ve daha fazla fincan /gün ☐Hayır ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

17. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?Evet ☐ Nedir?Hayır ☐**18. Herhangi bir ilaç alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir?

Ne kadar süredir?

Hayır ☐**19. Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?**Evet ☐ Adı nedir?

Hangi sıklıkla?

Hayır ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

ELEKTRONİK SİGARA İÇEN BİREYLER İÇİN ANKET FORMU**Tarih:****Sıra No:****1. Yaş:****2. Eğitim durumu:**İlk ☐Orta ☐Lise ☐Yüksek ☐Lisans üstü ☐**3. Vücut ağırlığı (kg)****4. Boyu (cm):****5. Mesleği:****6. Ne kadar süredir elektronik sigara kullanıyorsunuz?**3 ay ☐3-6 ay ☐6 ay- 1 yıl ☐1-2 yıl ☐2 Yıldan daha fazla ☐**7. Hangi sıklıkla elektronik sigarayı kullanıyorsunuz**Her yarım saatten daha az sürede bir kez ☐Yarım saat-1 saat aralığında bir kez ☐1-1,5 saat aralığında bir kez ☐1,5- 2 saat aralığında bir kez ☐2-3 saat aralığında bir kez ☐Günde 1-2 kez ☐Günde 2-4 kez ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

8. Hangi tip elektronik sigara kullanıyorsunuz?

- a) IQOS
- b) Nikotin Kartuşlu
- c) Diğer tip (Bloom vs..)

9. IQOS tipi elektronik sigara kullanıyorsanız günde kaç tane IQOS sigarası tüketiyorsunuz?**10. Voltajı ayarlanabilir tip elektronik sigara tüketiyorsanız, voltaj derecesini bildiriniz.****11. Elektronik sigara içiminde aroma verici maddeler de kullanıyor musunuz?**Evet ☐

Adı nedir?

Hangi sıklıkla?

Hayır ☐**12. Elektronik sigara içiminde genellikle kullanmış olduğunuz kartuşun içindeki Nikotin miktarı hakkında bilginiz var mı?**Evet ☐

Miktarını belirtiniz:

Hayır ☐**13. Elektronik sigara içimine ne amaçla başladınız?**Sigarayı bırakmak amacıyla ☐Sigara içimi nedeniyle başkalarını rahatsız etmemek amacıyla ☐Sigaraya izin verilmeyen alanlarda rahatlıkla içebilmek amacıyla ☐Sigaradan daha az kimyasal maddeye maruz kalacağımı düşünmem nedeniyle ☐Sağlığa daha az zararlı olduğunu düşünmem nedeniyle ☐Fiyatının sigarayla karşılaştırıldığında uzun dönemde uygun olması nedeniyle ☐**14. İş yeri ortamınızda veya evinizde sizden kaynaklanmayan sigara dumanına maruz kalıyor musunuz?**Evet ☐ İşyeri ☐ Ev ☐Hayır ☐

EK-2. (devam) Anket Formları

15. Alkol kullanıyor musunuz?Evet ☐

Hayır

☐

Nadiren

☐**16. Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi? (Diş ve diğer)**Evet ☐

Hangisi?

Hayır ☐**17. Elektronik sigara kullanımından kaynaklandığını düşündüğünüz bir sağlık problemine sahip misiniz?**Evet ☐

Belirtiniz...

Hayır ☐**18. Herhangi bir genetik hastalığa sahip misiniz?**Evet ☐

Belirtiniz...

Hayır ☐**19. Şu anda herhangi bir sağlık sorunuz var mı?**Evet ☐

Belirtiniz...

Hayır ☐**20. Şu an kullandığınız bir ilaç var mı?**Evet ☐

Adını belirtiniz

Ne kadar süredir?

Hayır ☐**21. Vitamin ve mineral takviyesi alıyor musunuz?**Evet ☐

Adı nedir?

Hangi sıklıkla?

Hayır ☐

TEŞEKKÜRLER

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KOÇ MORGİL, Göksel
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Yüksek Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi / Kimya Anabilim Dalı	2004
Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi / Kimya Bölümü	2001

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-devam ediyor	Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Toksikoloji Laboratuvarı	Laboratuvar Sorumlusu
2012-2016	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Tüketici Ürünleri Toksikoloji Laboratuvarı	Laboratuvar Sorumlusu
2004-2012	Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Biyolojik Materyal Toksikoloji Laboratuvarı	Yüksek Kimyager
2001-2003	Bolu Halk Sağlığı Laboratuvarı	Kimyager

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

I. Uluslararası Dergilerde Yayımlanmış Makaleler

- G Morgil, I Çok (2020). Development and validation of a fast and simple LC-ESI MS/MS method for quantitative analysis 8-hydroxyl-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in human urine FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences 45 (2), 125-134
- B Karahalil, E Hare, G Koç, İ Uslu, K Şentürk, Y Özkan (2017). Hepatotoxicity associated with statins, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 68 (4), 254-260
- A. Dursun, K. Yurdakok, S. S. Yalcin, G. Tekinalp, O. Aykut, G. Orhan, G. K. Morgil (2016) Maternal risk factors associated with lead, mercury and cadmium levels in umbilical cord blood, breast milk and newborn hair, *Journal of Maternal Fetal and Neonatal Medicine*, 2016, 1476-7058, 29, 6, 954-961.
- A Dursun, K Yurdakok, SS Yalcin, G Tekinalp, O Aykut, G Orhan, GK Morgil (2012). Lead, Mercury and Cadmium Levels in Cord Blood, Breast Milk and Newborn Hair, *Archives of Disease in Childhood* 97 (Suppl 2), A27-A28
- E Örün, SS Yalçın, O Aykut, G Orhan, GK Morgil (2012). Zinc and copper concentrations in breastmilk at the second month of lactation, *Indian pediatrics* 49 (2), 133-135
- E. Orun, S. Yalcin, O. Aykut, G. Orhan, G. Koc-Morgil, K. Yurdakok, R. Uzun (2012) Mercury exposure via breast-milk in infants from a suburban area of Ankara, Turkey, *Turkish Journal Of Pediatrics*, 2012, 0041-4301, 54, 2, 136-143.
- E. Orun, SS Yalçın, O Aykut, G Orhan, GK Morgil, K Yurdakök, R Uzun (2011). Breast milk lead and cadmium levels from suburban areas of Ankara, *Science of the total environment* 409 (13), 2467-2472

II. Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

- G. Koc Morgil, N.N. Bozkurt, M. Canbolat. E. N. Bozkurt, (2019). Determination of Tacrolimus Level in Whole Blood by LC-MS/MS, *International Industrial and Environmental Toxicology Congress*
- G. Koc Morgil, M. Canbolat, N.N. Bozkurt, E. N. Bozkurt, (2019). Determination of Mercury Level in Biological Samples by ICP/MS, *International Industrial and Environmental Toxicology Congress*
- N.N. Bozkurt, G. Koc Morgil, M. Canbolat, E. N. Bozkurt, (2019). Determination of Acetaminophen (paracetamol) Levels in Plasma by LC-MS/MS *10th International Congress of the Turkish Society of Toxicology*
- I. Çok, G. Koc Morgil, A. A. Ali, O. K. Ulutas, O. Yilmaz, A. Aysal (2018). Assessment of Urinary 8-hydroxyl-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and 1-Hydroxypyrene Levels as Biomarkers of Exposure To PAHs In Electronic Cigarette (E-Cigarette) Users, *International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS)*
- G. Koc Morgil, A. A. Ali, I. Çok, O. K. Ulutas, E. N. Bozkurt, Y. Cesaratli (2018). Urinary 8-hydroxyl-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) Levels of Electronic Cigarette (e-cigarette) Users, Congress of Toxicology in Developing Countries, *10th Congress of Toxicology in Developing Countries (IUTOX CTDC)*

- G. Koc Morgil, Y. Cesaretli, M.K. Başarılı, İ. Şencan (2016). Determination of Di (2-Ethylhexyl) Phthalate (DEHP) in Toys by Tandem Mass Spectrometry (LC-MSMS), *Uluslararası Şehir Çevre ve Sağlık Kongresi*
- G. Koc Morgil, S. Erdoğan, Y. Cesaretli, H. Irmak (2014). Çocuk Kullanım ve Bakım Eşyalarında Bisfenol A Düzeyinin LC-MS/MS Yöntemi ile Belirlenmesi, *Uluslararası Fetal Hayattan Çocukluğa İlk 1000 Gün Gebe Çocuk Beslenme Kongresi*
- F. Karadeniz Dursun, G. Koc Morgil, G. Orhan, Y. Cesaretli, H. Irmak (2013). İşlenmiş gıda ve sularda pestisit etken maddelerinin GC-MS ile tespiti, *4. Gıda Güvenliği Kongresi*



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..