



**ENDÜSTRİYEL VE KENTSEL HAVA KİRLİLİĞİNİN ÇOCUKLARDA
GENOTOKSİSİTESİNİN YANAK EPİTEL HÜCRELERİNDE
ARAŞTIRILMASI**

Halise Handan ÖZATA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

NİSAN 2019

Halise Handan ÖZATA tarafından hazırlanan "ENDÜSTRİYEL VE KENTSEL HAVA KİRLİLİĞİNİN ÇOCUKLARDA GENOTOKSİSİTESİNİN YANAK EPİTEL HÜCRELERİNDE ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gonca ÇAKMAK

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

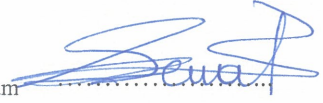
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Başkan : Prof. Dr. Sema BURGAZ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

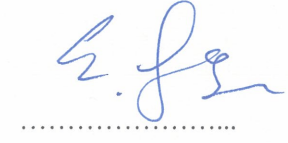
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Doç. Dr. Eftade GAGA

Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Eskişehir Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Tez Savunma Tarihi: 26../04../2019

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Halise Handan ÖZATA

26/04/2019

ENDÜSTRİYEL VE KENTSEL HAVA KİRLİLİĞİNİN ÇOCUKLARDA GENOTOKSİSİTESİNİN YANAK EPİTEL HÜCRELERİNDE ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Halise Handan ÖZATA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2019

ÖZET

Dış ortam hava kirliliği, Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı tarafından insan karsinojeni olarak (Grup 1) sınıflandırılmıştır. Çevresel hava kirliliğine toplumun en hassas kesimleri arasında olan çocukların maruziyeti, davranışsal ve fizyolojik faktörler yüzünden, solunum sistemi hastalıkları ve kansere neden olabilmektedir. Çocuklar dış ortamda daha uzun zaman geçirirler ve fiziksel aktiviteleri göreceli olarak daha fazladır. Tez çalışmasının amacı, çocuklar için çevresel hava kirliliğinin olası genotoksik ve sitotoksik etkisini, iki farklı çalışma yerinde, girişimsiz bir yöntem olan yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemi ile araştırmaktır. Kentsel bölge olarak Kütahya kent merkezinin trafik yoğun kısmı ve endüstriyel bölge olarak Tunçbilek Termal Santraline 5 km. uzaklıktaki Tunçbilek ilçesi ve Gürağaç Beldesi Kütahya kent sınırları içinde çalışma alanları olarak seçilmiştir. Kentsel bölgede seçilen bir ilkokuldaki çocuklar [n=60, ortalama(standart sapma) yaş=8.56 (0.44)] ve endüstriyel bölgedeki 3 ilkokula ait çocuklar [n=88, yaş=8.75 (0.73)] çalışma grubunu oluşturmuştur. Genotoksisite [mikroçekirdek (MÇ), MÇ'li hücre ve nükleer tomurcuk (NT)], hücre proliferasyon [bazal hücre (BH) ve binükleer hücre (BN)], hücre ölümü [kondens kromatin hücre (KK), karyohektik hücre (KH), piknotik (P) ve karyolitik hücreler(KL)] göstergelerinin sıklığı her bir çocuk için 2000 hücrede değerlendirilmiştir. Toplamda 296 000 hücre mikroskopik olarak sayılmıştır. Genotoksisite göstergeleri iki bölge arasında farklı değildir. KL, KH, BN ve P hücre sıklıkları Kütahya Kent Merkezi ile karşılaştırıldığında, Tunçbilek'te anlamlı artmıştır (sırasıyla, $p=0.02$, $p=0.001$, $p=0.003$, $p<0.001$). İlkokullar arasında sitom parametre farkları Gürağaç İlkokulu çocuklarında diğer okullara karşı yüksek ve anlamlı bulunmuştur ve aynı çocukların bireysel örneklemede ozon ve kükürt dioksit düzeyleri de anlamlı artmıştır ($p<0.05$). Kütahya'da iki bölgede yaşayan çocuklarda, farklı hava kirliliği kompozisyonu sitom parametrelerinde de farklılık göstermiştir. Bu durum bölgesel hava kirliliği etkilerini araştırmak için çocukların uygun grup olduğunu da önermektedir. Benzer çalışmalar çocukların gelecek yıllardaki sağlık sorunlarını da önleyebilecektir.

Bilim Kodu : 1021

Anahtar Kelimeler : Hava kirliliği, çocuklar, yanak epitel hücreleri, genotoksisite, mikroçekirdek

Sayfa Adedi : 85

Danışman : Prof. Dr. Gonca ÇAKMAK

INVESTIGATION OF GENOTOXICITY OF AIR POLLUTION FROM INDUSTRIAL AND CITY SOURCES IN CHILDREN

(M. Sc. Thesis)

Halise Handan ÖZATA

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

April 2019

ABSTRACT

Outdoor air pollution is classified as human carcinogen(Group 1) by the International Agency for Research on Cancer (IARC). Environmental exposure to air pollution could be the source of respiratory system diseases and cancer for children, among the most susceptible group of the population, due to the behavioral and physiological factors. Children spend more time outdoors and their physical activity levels are relatively high. The aim of the thesis study was to evaluate the likely genotoxic and cytotoxic effect of the ambient air pollutants for children using non-invasive method of buccal epithelial cell micronucleus cytome assay in two different locations. Traffic dense city center of Kütahya as urban site and small town of Tunçbilek and village of Gurağaç, located at a distance of 5 km to the Tunçbilek Thermal Power Plant as industrial site were chosen as the study area in Kütahya province. Children, from one primary school [n=60, mean(SD) age=8.56 (0.44)] in the urban and from 3 primary schools (n=88, age=8.75 (0.73)) in the industrial site were recruited as the study population. The frequencies of genotoxicity [micronucleus (MN), micronucleated cells and nuclear buds (NB)], cellular proliferation [basal (B) and binucleated (BN) cells], and cell death [condensed chromatin (CC), karyorrhectic(CH), pyknotic(P), and karyolytic (CL) cells] markers were evaluated in 2000 cells for each child. In total 296 000 cells were counted microscopically. The genotoxicity markers were not different between the two regions ($p>0.05$). The CL, CH, BN and P cell frequencies were significantly increased at Tunçbilek region when compared to Kütahya City Center ($p=0.02$, $p=0.001$, $p=0.003$, $p<0.001$, respectively). Among the primary schools higher and significant levels of cytome parameters were found for Gurağaç School in which the personal ozone and sulphur dioxide levels were also increased ($p<0.05$). Children living in the two locations of Kütahya, with different pollution composition showed differences in the cytome parameters of the children. That outcome is suggesting the children as a suitable population to investigate the effects of regional air pollution. Similar studies could prevent the health problems of children in the future years.

Science Code : 1021

Key Words : Air pollution, children, buccal epithelial cells, genotoxicity, micronucleus

Page Number : 85

Advisor : Prof. Dr. Gonca ÇAKMAK

TEŞEKKÜR

Tezimin örneklerinin toplandığı saha çalışmasından bitimine kadar her aşamasında yanımda olan değerli bilgileriyle bana yön veren, desteğini, anlayışını, güler yüzünü esirgemeyen uzakta olsa da her an ulaşabildiğim, sevgili hocam Prof. Dr. Gonca ÇAKMAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin tamamlanmasındaki değerleri katkılarından dolayı Prof. Dr. Sema BURGAZ ve Doç. Dr. Eftade GAGA'ya, laboratuvar çalışmalarında bana yol gösteren, destekleyen bölümümüz doktora öğrencilerinden sevgili arkadaşım Uzm. Kimyager Ayça AKTAŞ ŞÜKÜROĞLU'na, tezimi bitirirken yardımlarını esirgemeyen, benimle birlikte çalışan sevgili arkadaşım Mohanad ALJBORY'ye, her konuda fikir danışabildiğim bölümümüz doktora öğrencilerinden eğlenceli arkadaşım Araş. Gör. Aylin ELKAMA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca bana destek olan, her türlü sorunumu dinleyerek, çözüme kavuşturan, üzüldüğümde benimle üzüлp, sevinçlerimi birlikte katlayarak yaşadığım, en yakın arkadaşlarım, canım ailem, biricik annem Sevim ÖZATA ve biricik abim Özkan Samet ÖZATA'ya derinden sevgilerimle teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca bana her türlü kolaylığı ve anlayışı gösteren, eğitimimi tamamlamam için beni cesaretlendiren değerli büyüğüm Başeczacı Arzu Celkan'a, Başeczacı Fatma Altun'a ve yanımda olan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
HARİTALARIN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Hava Kirliliği ve Kaynakları.....	5
2.1.1. İç ortam hava kirliliği.....	6
2.1.2. Dış ortam hava kirliliği	6
2.2. Havadaki Kirleticiler ve Sağlık Etkileri	7
2.3. Hava Kirliliğine Duyarlı Popülasyonlar.....	10
2.3.1 Hava kirliliğine duyarlılıkta çocuklar ile yetişkinler arası farklar	11
2.4. Hava Kirliliğinin Çocuk Sağlığı Üzerine Etkileri	13
2.5. Moleküler Epidemiyoloji Çalışmalarında Genotoksisite Yöntemlerinin Kullanım Amacı.....	16
2.6. Eksfoliye Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek ve Sitom Yöntemi	19
2.7. Hava Kirliliğinin Çocuklarda Genotoksik Etkisinin Eksfoliye Yanak Epitelde Mikroçekirdek Yöntemi ile Araştırılması.....	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Çalışma Alanı.....	21

3.2. Çalışma Grubu Seçimi	24
3.3. Biyolojik Örneklerin Toplanması	25
3.4. Solunum Fonksiyon Testi ve Pasif Örnekleyici Ölçümleri.....	26
3.5. Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek Sitom Yöntemi.....	28
3.5.1. Gerekli kimyasal maddeler	28
3.5.2. Gerekli malzeme ve cihazlar.....	28
3.5.3. Yöntemin uygulanması	28
3.6. İstatiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR	35
4.1. Çocukların Demografik Özellikleri.....	35
4.2. Örneklem Bölgelerine ve Okullara Göre Eksfoliye Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek Sitom Yöntemine Ait Veriler	36
4.3. Örneklem Bölgelerine ve Okullara Göre Solunum Fonksiyon Testi ve Bireysel Örneklemeye Ait Veriler	43
4.4. Çocuklarda Demografik Özelliklere Göre Mikroçekirdek Sitom Göstergeleri, Solunum Fonksiyon Test Değerleri ve Bireysel Örneklemeye Verileri	50
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
EKLER.....	79
EK-1. Etik kurul onayı.....	80
EK-2. Gönüllü Beyan Formu.....	82
EK-3. Anket Formu	82
ÖZGEÇMİŞ	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Çocukların hava kirliliğine karşı hassasiyetini etkileyen faktörler.....	12
Çizelge 3.1. Çalışmamızda örnek alınan öğrencilerin sayıları ve seçilen okullar	22
Çizelge 4.1. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocukların demografik özellikleri	35
Çizelge 4.2. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocukların okullara göre demografik özellikleri.....	36
Çizelge 4.3. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin bölgelere göre dağılımı	37
Çizelge 4.4. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin bölgelere göre dağılımı	39
Çizelge 4.5. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin okullara göre dağılımı	41
Çizelge 4.6. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin okullara göre dağılımı.....	42
Çizelge 4.7. Solunum fonksiyon testlerinin bölgelere göre dağılımı.....	44
Çizelge 4.8. Solunum fonksiyon testlerinin okullara göre sonuçları	45
Çizelge 4.9. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların bölgelere göre dağılımı	47
Çizelge 4.10. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların okullara göre dağılımı.....	49
Çizelge 4.11. Kız çocuklarına ait yanak epitel hücrelerindeki mikroçekirdek sitom göstergelerinin okullara göre dağılımı	52
Çizelge 4.12. Erkek çocuklarına ait bireysel örnekleyici verilerinin okullara göre dağılımı	53
Çizelge 5.1.Tarihsel dizilime göre günümüze dek çocuklarda YEH’de yapılan genotoksisite çalışmalarının özeti.....	58

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemi hücre tipleri ve kökenleri	18
Şekil 3.1. MÇ içeren hücre görüntüsü (×1000 büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-E).....	31
Şekil 3.2. NT içeren hücre görüntüsü (×1000 büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-F).....	32
Şekil 3.3. Kırık yumurta içeren hücre görüntüsü (×1000 büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-F).....	32
Şekil 4.1. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin bölgelere göre dağılımı.	37
Şekil 4.2. Tunçbilek bölgesinde; ebeveyn sigara tüketimi, VKİ, su tüketiminin MÇ ve NT ile ilişkisi	38
Şekil 4.3. Kütahya Merkez bölgesinde; Ebeveyn sigara tüketimi, VKİ, su tüketiminin MÇ ve NT ile ilişkisi.....	38
Şekil 4.4. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin bölgelere göre dağılımı	40
Şekil 4.5. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin okullara göre dağılımı.....	41
Şekil 4.6. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin okullara göre dağılımı	43
Şekil 4.7. Tunçbilek bölgesinde; SFT verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi	46
Şekil 4.8. Kütahya Merkez bölgesinde; SFT verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi.....	47
Şekil 4.9. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların bölgelere göre dağılımı	48
Şekil 4.10. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların okullara göre dağılımı.....	48
Şekil 4.11. Tunçbilek bölgesinde;bireysel örnekleyici verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi	50
Şekil 4.12. Kütahya merkez bölgesinde;bireysel örnekleyici verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi.....	50

Şekil 4.13. MÇ'li hücre sıklığının cinsiyete göre dağılımı.....	51
Şekil 4.14. NT sıklığının ebeveynin sigara içme durumuna göre dağılımı	54

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Okul ziyaretlerinde çocuklardan YEH toplanması	26
Resim 3.2. Okul ziyaretlerinde çocuklarda yapılan SFT	27
Resim 3.3. Okul ziyaretlerinde çocukların koluna takılan pasif örnekleyiciler.....	27

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 3.1. Tunçbilek(a) ve Kütahya Merkez'i (b) temsil eden okulların yerleşimi ve birbirlerine göre konumları (c).....	23

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

%	Binde
%	Yüzde
g/L	1 litredeki gram ağırlık
g/ml	1 mililitredeki gram ağırlık
mm/Hg	Milimetre civa
µg/m³	1 metreküpteki mikrogram ağırlık

Kısaltmalar

Açıklamalar

A	Atatürk İlkokulu
BN	Binükleer hücre
BH	Bazal hücre
CO	Karbonmonooksit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EPA	Enviromental Protection Agency (Çevre Koruma Ajansı)
eNO	Exhaled Nitric Oxide (Verilen Havadaki Azot Monooksit)
FEV₁	Forced Expiratory Volume in 1 s (Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon hacmi)
FEF%₂₅₋₇₅	Forced Expiratory Flow between 25 and 75% expired volumes (Zorlu ekspirasyon ortası hava akım hızı)
FVC	Forced Expiratory Volume (Zorlu vital kapasite)
G	Gürağaç İlkokulu
HCl	Hidroklorik asit
I	Işık İlkokulu

Kısaltmalar**Açıklamalar****IARC**International Agency for Research on Cancer
(Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)**KOAH**

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

KK

Kondens kromatin

KM

Kütahya Merkez

L

Linyit İlkokulu

MÇ

Mikroçekirdek

MÇ'li Hücre

Mikroçekirdekli hücre

NO

Azot Monooksit

NO₂

Azot Dioksit

NT

Nükleer tomurcuk

OECDOrganisation for Economic Co-operation and
Development (Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma
Örgütü)**O₃**

Ozon

P

Piknotik

PEF

Peak Expiratory Flow (Tepe Akım Hızı)

PKL

Periferel kan lenfositleri

PM

Partikül madde

SFT

Solunum fonksiyon testi

SO

Kükürt oksit

SO₂

Kükürt dioksit

T

Tunçbilek/Gürağaç

UFPs

Ultra fine particles (Ultra ince partikül)

UOB

Uçucu organik bileşikler

VKİ

Vücut kitle indeksi

YEH

Yanak epitel hücresi

YEH-MÇ

Yanak epitel hücresinde mikroçekirdek yöntemi

YEH-MÇSTYanak epitel hücresinde mikroçekirdek sitom
yöntemi

1. GİRİŞ

Çevresel hava kirliliği küresel bir sağlık problemi olarak kabul edilmiştir (Avrupa Çevre Ajansı, 2014; Feretti ve diğerleri, 2014). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre her gün on kişiden dokuzu kirli hava solumaktadır. İçinde bulunduğumuz yıl ile birlikte hava kirliliği sağlık için en büyük çevresel risk olarak gösterilmektedir (İnternet a). Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD), 2050 yılında dış ortam hava kirliliğinin dünya genelinde çevresel koşullara bağlı ölümlerin birinci nedeni olduğunu öngörmektedir (İnternet b).

Güncel epidemiyolojik araştırmalar, hava kirliliği ile çeşitli kronik ve tedavisi güç solunum yolu hastalıkları (Sram ve diğerleri, 2013), kardiyovasküler hastalıklar (Brook ve diğerleri, 2010) ve kanser arasındaki ilişkiyi göstermektedir (Ortega-Garcia ve diğerleri, 2017). Yakın geçmişte, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) da monograflarında dış ortam hava kirliliğini insan karsinojeni (Grup 1) olarak sınıflandırmıştır (İnternet c). Artan kentleşme ve endüstriyel etkinlikler nedeniyle solunan havaya salınan etkenlerin sayısı, miktarı ve birbirleriyle etkileşimleri de çoğalmakta ve sözü edilen sağlık risklerine neden olmaktadır (Brito ve diğerleri 2013; Silva da Silva ve diğerleri, 2015).

Çevresel hava kirliliğinin olumsuz sağlık etkilerine toplumun en duyarlı kesimini çocuklar oluşturmaktadır. Çeşitli çalışmalar, çocukluk çağında meydana gelen erken genetik hasar nedeniyle, ilerleyen yaşlarda kanseri de içine alan pek çok kronik hastalığın meydana geldiğini göstermektedir (Ceretti ve diğerleri, 2014; Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Villarini ve diğerleri, 2018). Yaşam alanlarındaki solunum havasının kirlilik bileşimi, maruziyet süresi ve miktarı, yaşamlarının geri kalan kısmını da etkileyebilecek astım ve kanser gibi hastalıklar için zemin oluşturmaktadır. Aynı zamanda anatomik, fizyolojik ve davranışsal özellikleri hastalıklara yatkınlıklarında belirleyici olmaktadır (Villarini ve diğerleri, 2018). Dolayısıyla, çocuklar günümüzde hava kirliliği etkilerini araştırmak için kurgulanan moleküler epidemiyoloji araştırmalarında sıklıkla çalışma grubu olarak seçilmektedir. Araştırma popülasyonu olmalarında önemli nedenlerden biri de yaşam alanlarını dolayısıyla ilgili çevresel etken temasını en iyi temsil eden grup olmalarıdır. Öncelikle, çocukların günlük yaşamı sınırlı bir bölgede devam etmektedir. Evleri ve okulları genellikle birbirine yakındır. Ayrıca, bu tür araştırmalar için karıştırıcı özelliklerden sayılan sigara kullanımı, alkol tüketimi, mesleksel maruziyetlerin olmaması da önemlidir (Neri ve

diğerleri, 2006; Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Villarini ve diğerleri, 2018). Böylece, çocuklarda hava kirliliğine yönelik biyoizleme çalışmalarında, elde edilen verilerin yaşanılan yeri yansıtmaya olasılığı, yetişkinlere göre daha yüksektir. Elde edilen sonuçlar da hava kirliliği etkenleri ile etki koşullarını anlamayı ve gerekli önlemlerin alınmasına katkı niteliğindedir. Söz konusu çocuklar olduğunda bu durum sağlıklı gelecek nesiller için oldukça önemlidir.

Çeşitli çalışmalar, çocukluk çağına meydana gelen erken genetik hasar nedeniyle, ilerleyen yaşlarda kanseri de içine alan pek çok kronik hastalığın meydana geldiğini göstermektedir (Ceretti ve diğerleri, 2014; Villarini ve diğerleri, 2018).

Çocuklarla ilgili biyoizleme çalışmalarında non-invaziv (girişimsiz) biyolojik örnekleme yapmak, çalışmaların tasarlanması ve yürütülmesini kolaylaştırmaktadır. Etik kaygılar azalırken araştırmaya katılan çocuklar ve ebeveynlerinin huzursuzlukları giderilebilmekte böylece örneklem genişleme şansına sahip olmaktadır. Genotoksisite testleri arasındaki eksfoliyasyon yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek (YEH-MÇ) yöntemi de girişimsiz bir yöntemdir (Cavalcante ve diğerleri, 2017). Özellikle, hedef doku niteliğinde olduğu çevresel, mesleki ve klinik araştırmalarda yaygın kullanılmaktadır (Bolognesi ve diğerleri, 2015; Holland ve diğerleri, 2011). Yöntemde genotoksisite göstergelerinin yanına hücre proliferasyonu ve hücre ölümü göstergelerinin de eklenmesi yoluyla oluşturulan metodoloji ile uygulanan yöntem (Bolognesi ve diğerleri, 2015), yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom (YEH-MÇST) yöntemi olarak adlandırılmıştır (Bolognesi ve diğerleri, 2013; Holland ve diğerleri, 2008). Ağız yoluyla ve solunum yolu ile maruz kalınan etkenler için hedef doku özelliği, girişimsiz örnekleme, çocuklar ve aileleri tarafından daha kolay kabul edilir olması ve teknik uygulamasının da göreceli kolaylığı çocuklarda yapılan araştırmalarda kullanımını yaygınlaştırmıştır (Cavalcante ve diğerleri, 2017; Ceretti ve diğerleri, 2014; Silva da Silva ve diğerleri, 2015).

Tez çalışmasının amacı hava kirliliğinin genotoksisite odaklı olası sağlık risklerini, endüstriyel ve kentsel iki bölgede yaşayan çocuklarda YEHE-MÇST yöntemi ile değerlendirmektir.

Tez kapsamında yapılanlar aşağıda sıralanmıştır;

- Çalışma bölgesi, ülkemizde hava kirliliği en yoğun kentlerden olan Kütahya'nın il sınırları içinde bulunan Tunçbilek Bölgesi (kömür yakıtlı aktif iki termik santralin etkisi altında olan endüstriyel bölge) ve Kütahya Merkezidir (kentsel, trafik yoğun bölge). Evsel ısınma ve endüstriyel işlemlerin bir kısmında doğalgaza geçilmiş olmasına rağmen, kentte yüksek kirletici seviyeleri bulunmaktadır. İl sınırları içinde aktif durumda iki adet kömür yakıtlı termik santralin bulunması, üçüncü termik santralin kurulma aşamasında olması ve bölgede kış aylarında ısınma amaçlı olarak halen kömür kullanılmaya devam edilmesi bu şehrin seçilmesinde etkili olmuştur (Altuğ ve diğerleri, 2015).
- Çocuklar, endüstriyel ve kentsel iki bölgeden, ön çalışmalarla belirlenen toplam 4 ilkokuldan seçilmiştir.
- Yanak epitelleri toplanmış ve YEH-MÇST yöntemi uygulanmıştır.
 - Tez çalışmasının parçası olduğu proje ile (Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi No: 1407F398), çalışma bölgesinin ve örneklemenin yapılacağı okullar belirlenmiştir. Örneklem bölgeleri ve örneklemde yer alan çocuklar belli dönemlerde dört kez ziyaret edilmiş, okulların bulunduğu bölgedeki kirletici düzeyleri, kirletici ve rüzgar haritalamaları, çocuklarda bireysel örnekleyicilerle ozon (O₃), azot dioksit (NO₂) ve kükürt dioksit (SO₂) düzeyleri, solunum fonksiyon testi (SFT) verileri [FEV₁ (Birinci Saniyedeki Zorlu Ekspirasyon Hacmi- Forced Expiratory Volume in 1 s), FVC (Zorlu Vital Kapasite-Forced Vital Capacity), PEF (Tepe akım hızı - Peak Expiratory Flow), FEF_{%25-75} (Zorlu ekspirasyon ortası hava akım hızı - Forced Expiratory Flow between 25 and 75% expired volumes), FEV₁/FVC], vücut kitle indeksleri (VKİ) ve tansiyon parametreleri çok detaylı anketler eşliğinde toplanmıştır.
 - Son ve dördüncü örneklem döneminde (Haziran 2016) ise tez çalışmamızın biyolojik örnekleri de toplanmıştır. Tez çalışmasından YEH-MÇST yöntemi ile elde edilen genotoksisite verileri ile solunum fonksiyon testi verileri, bireysel örneklemeye ait veriler ve demografik özelliklerden cinsiyet, ebeveyn sigara içimi ve okula ulaşım şekli verileri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.
 - Çocuklarda yapılan bireysel ölçüm verileri proje kapsamında elde edilen, okulların bahçesinde (O₃, SO₂, NO₂) ve çevresinde yapılan dış ortam hava kirletici ölçümleri,

evlerinin konumu ve trafik yoğunluğu ve rüzgar haritalamaları gibi dış ortama ait veriler ile bazı çocukların ev içinde yapılan kirletici ölçümleri, ev içi ısınma ve yemek pişirme de hangi yakıtın kullanıldığı, küf ve nem durumu gibi iç ortama ait veriler ayrıca çocukların ev, okul ve araç içerisi gibi iç ve dış ortamlarda geçirdiğı zamanı gösteren zaman-aktivite günlükleri ile zengileştirilerek genotoksisite verileri ile detaylı ilişkilendirilmesi bilimsel makale hazırlanması sırasında yapılacak olup ileri bir hedef olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hava Kirliliği ve Kaynakları

Hava kirliliği, günümüzde sağlık ve iklim üzerinde başlıca tehditlerdendir. Hava kirliliği, atmosferin doğal yapısının iç ve dış ortam kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkenler tarafından değiştirilmesidir (İnternet d; İnternet e). DSÖ' ye göre iç ve dış ortam hava kirliliği, her yıl 7 milyon prematüre ölüm ile epidemiyolojik, klinik ve deney hayvanı araştırmalarına göre akut solunum yolu enfeksiyonları, akciğer kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kalp hastalıkları ve inmeden kaynaklanan ölümlerin artışına neden olmaktadır (Farmer ve diğerleri, 2014). Hava kirliliği izlenen kentsel alanlarda yaşayan insanların %80'inden fazlası, DSÖ rehberlerinde belirlenmiş sınır değerleri aşan hava kirliliğine maruz kalmaktadır. Bu kişilerden düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayanlar kirliliğe en yüksek düzeyde maruz kalmaktadırlar (İnternet d).

Dış ortam hava kirliliği konsantrasyonları, özellikle dünya çapında meydana gelen hızlı kentleşme nedeniyle yükselmiştir. Ayrıca yetersiz havalandırma, sigara dumanı ve diğer toksik kimyasallar iç ortam hava kirliliği konsantrasyonlarının da artışına neden olmaktadır (Sopori M., 2002).

Küresel ısınma ile iklim değişikliklerine yazılı ve görsel basın ilgisinin artışı nedeniyle dış ortam hava kirliliğinin zararlı etkilerine verilen önem artmış ve yasal düzenlemeler yapılmıştır. DSÖ'ye göre her yıl hava kirliliği nedeniyle olan 7 milyon ölümün (İnternet d) %60'ından fazlası iç ortam hava kirliliğine maruziyet nedeniyledir (Farmer ve diğerleri, 2014).

Dünya çapında hava kirliliği, hızlı kentleşme ile birlikte özellikle endüstriyel tesislerden, konutlarda ısınma amaçlı yakıt tüketiminden ve motorlu taşıt egzozlarından yayılan kirliliklerden kaynaklanmaktadır (Brunekreef ve Holgate, 2002).

Hava kirliliği insan ve doğal kaynaklı olabilmektedir. Bunlar;

- Fosil yakıtların elektrik üretimi, taşıma, endüstri ve evsel alanlarda kullanılmasıyla oluşan yanma ürünleri,

- Endüstriyel işlemler
- Trafik,
- Atık arıtımı,
- Bazı inşaat malzemeleri, temizlik ürünleri kullanımı gibi evsel kaynaklar,
- Tarımla ilgili kullanılan ürünler,
- Volkanik patlama, rüzgârdan savrulmuş tozlar, deniz tuzu spreyleri ve bitkilerden gelen uçucu organik bileşikler (UOB)'in emisyonu gibi doğal kaynaklardan oluşur (İnternet f; İnternet g; Peixoto M. S. ve diğerleri, 2017).

2.1.1. İç ortam hava kirliliği

Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, aydınlanma, yemek pişirme ve ısınma gibi evsel aktivitelerde katı yakıtların kullanılması, tütün ürünleri ile partikül ve gaz salınımına neden olan diğer işlemler sonucu ev içi oluşan hava kirliliği iç ortam hava kirliliği olarak tanımlanmaktadır (Gordon ve diğerleri, 2016). Daha gelişmiş ülkelerde, havalandırma sistemlerinin yetersizliği, formaldehit, sigara dumanı, yeni yalıtılmış ofis inşaatları, özellikle iç ortam hava kirliliği seviyelerinin artışına neden olmaktadır (Farmer ve diğerleri, 2014; Smith ve diğerleri, 2000; Yu ve diğerleri, 2009) Açık şöminelerde ve uygunsuz sobalarda gübre, odun, kömür gibi yakıtların yakılmasıyla partikül madde (PM), metan, karbon monoksit (CO), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve UOB gibi çeşitli salığa zararlı kirleticiler ortaya çıkmaktadır. İç ortam kirlilik etkenlerinden sigara dumanı en tehlikeli olanlardandır. Aydınlanma, ısınma ve yemek pişirme için kullanılan katı yakıt ve kerosenin yakılması sırasında oluşan kirlilikler çevreye yayılmaktadır. Ev içi diğer hava kirliliklerini ise küf, yapı malzemeleri, ev ürünleri ve doğal olarak oluşan radon gibi gazlar oluşturmaktadır (Gordon ve diğerleri, 2016).

Ev içi hava kirliliği solunum sistemi enfeksiyonları, alerji, KOAH ve astım gibi kronik akciğer hastalıkları, solunum yolu kanserleri ile kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok sağlık etkisiyle ilişkilidir (Gordon ve diğerleri, 2016).

2.1.2. Dış ortam hava kirliliği

Dış ortam hava kirliliğinin dünya genelinde 2016 yılında şehirler ve kırsal alanlar dâhil olmak üzere 4.2 milyon prematüre ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir. Bu mortalite

çapı 2,5 mikron veya daha az olan, kardiyovasküler hastalıklar, solunum hastalıkları ve kansere neden olan küçük partikül maddelere (PM_{2.5}), maruziyet nedeniyle olmuştur (İnternet a). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (International Agency for Research on Cancer-IARC) dış ortam hava kirliliği ve hava kirleticisi PM'yi insan karsinojeni (Grup 1) olarak sınıflamıştır (İnternet c).

Yıllık 3 milyon ölüm dış ortam hava kirliliği ile bağlantılıdır. 2012 yılında 6,5 milyon ölüm (küresel ölümlerin %11,6'sı) iç ve dış ortam hava kirliliği ile ilişkilidir. Bu ölümlerin %94'ü kardiyovasküler hastalıklar, inme, KOAH, astım gibi solunum yolu hastalıkları ve akciğer kanseri nedeniyledir. Ayrıca akut solunum enfeksiyonlarda da artış gözlemlenmiştir (Fleck ve diğerleri, 2014; Lawson ve diğerleri, 2011). Dış ortam hava kirliliğinin ana bileşenleri [O₃, CO, azot monoksit (NO),kükürt oksit (SO), kurşun, PM, siyah karbon, PAH, metaller ve UOB gibi] endüstriyel işlemler, enerji santralleri ve trafik gibi kaynaklardan ortak ara ürün olarak üretilmiştir (Farmer ve diğerleri, 2014; Fleck ve diğerleri, 2014; Yu ve diğerleri, 2009; Smith ve diğerleri, 2000 Brunekreef B. ve Holgate S. T., 2002). Ayrıca ev ısıtma sistemleri de kentsel hava kirliliğine neden olan diğer antropojenik aktivitelerdendir.

Gelişmiş ülkelerde motorlu taşıtlar hava kirliliği temel kaynağı sayılmaktadır (Dons ve diğerleri, 2014; Fleck ve diğerleri, 2014). Trafik ilişkili hava kirliliği, toksisiteleri çeşitlilik gösteren pek çok bileşikten oluşan bir karışımdır. Trafik emisyonları siyah karbon NO_x, CO, benzen, UFP, PM, UOB gibi egzoz borusu, fren ve tekerleklerden yayılan kirleticiler birincil hava kirliliklerine katkı sağlarken NO₂, O₃, ikincil organik/inorganik aerosoller gibi öncüllerin atmosferdeki formu olan kirleticiler ikincil hava kirliliklerine katkı sağlarlar (Dons ve diğerleri, 2014).

2.2. Havadaki Kirleticiler ve Sağlık Etkileri

CO, O₃, NO₂, PM, SO₂ ve kurşun en önemli hava kirleticileri olarak kabul edilmektedir (Levy, R. J., 2016; Mustafić ve diğerleri, 2012) ve bunlar EPA'ya göre dış ortam hava kalitesi için 'kriter' olarak belirlenmiş altı temel hava kirleticisidir (İnternet h). Kısaca adı geçen kirleticilerden söz edilecektir.

Karbonmonoksit

Hidrokarbonların tam olmayan yanması sonucu yan ürün olarak oluşan renksiz, tatsız, kokusuz CO'nun ana kaynakları; motorlu araçlar, tütün dumanı ve ısınma kaynaklı sobalardır (Levy, R. J. 2016, Vrijheid ve diğerleri, 2012). Hava almayan ortamlarda açık ocaklar, bacası çekmeyen soba, şöfben, bacasız gaz sobalarında yakıtın iyi yanmaması gibi nedenlerle meydana gelen zehirlenmede, CO vücuda solunum yolu ile girip doğrudan kana ulaşarak oksijen alımını engeller ve kısa süre içerisinde tıbbi müdahale yapılmaz ise ölümle sonuçlanabilmektedir (İnternet 1).

Partikül madde

PM; havada bulunan toz, kir, is veya sigara dumanı gibi katı partiküllerin ve sıvı damlacıkların bir karışımıdır (EPA). PM tek başına bir kirletici olmayıp, farklı kaynaklardan gelen birçok bileşenin karışımıdır. PM boyutuna göre 3 temel kategoriye ayrılmıştır. Bunlar $PM_{0.1}$, $PM_{2.5}$ ve PM_{10} 'dur (Du ve diğerleri, 2016; Nasser ve diğerleri, 2015; Nelin ve diğerleri, 2012). PM_{10} çapı 2.5 ile 10 μm olarak değişen, kalın partiküller olarak bilinirken $PM_{2.5}$ ise çapı 2.5 μm 'den küçük olup ince partiküller olarak adlandırılır. $PM_{0.1}$ ise çok ince partiküller olarak (ultra fine particules – UFP) bilinir ve çapları 0.1 μm 'den daha küçük olan partiküllerdir (Du ve diğerleri, 2016; Nelin ve diğerleri, 2012).

PM'nin 10 μm 'den büyük kısmı burun ve nazofarenks kısmında tutulmaktadır. 10 μm 'den küçük kısmı bronşlarda birikir. PM_{10} bronşçuk ve alveollere kadar ulaşabilir fakat penetre olmazlar. Bu bölgelerde fiziksel hasara neden olurlar (Kim ve diğerleri, 2017). $PM_{2.5}$ ve $PM_{0.1}$ bronşçuk ve alveollere ulaşırlar ve bu bölgelerde birikirler. Akciğerlerin derinliklerine ilerleyen partiküller alveoler-kapiller membrana penetre olarak sistemik dolaşıma geçebilirler. Böylece sadece solunum sistemini değil ulaştıkları diğer bölgeleri de etkilerler. (Du ve diğerleri, 2016; Nelin ve diğerleri, 2012; Vriens ve diğerleri, 2016).

Boyutları 0.1 μm ile 2.5 μm arası olan partiküllerin alveolar bölgedeki birikime katkıları %10-%20 iken UFP'lerin (0.1 μm) katkısı da oldukça yüksektir. Daha küçük boyuta sahip olanların katkısı ise %50 'lere varmaktadır. Boyutu küçük PM, oküler maruziyet ya da nazal maruziyet sonucu beyne kadar ilerleyebilir. PM'nin deriden penetrasyonunun intrasellüler

trans-epidermal hücreler veya derideki porlardan difüzyon yoluyla olabileceği düşünülmektedir. (Gulson ve diğerleri, 2010; Chen ve diğerleri, 2016)

Düşük havalandırma şartlarında, çevresel PM sigara dumanı, yemek pişirme faaliyetleri, mum ve şömine yanması gibi ek kirlilik kaynaklarının bulunduğu iç ortam alanlarına penetre olabilmektedir (Peixoto ve diğerleri, 2017). PM, insan sağlığına en zararlı çevresel hava kirleticilerindendir. IARC tarafından insan karsinojeni (Grup 1) olarak sınıflandırılan PM (İnternet, 2019c), kardiyovasküler ve solunum sistemi hastalıkları nedeniyle erken ölümlere neden olmaktadır (Sram ve diğerleri, 2013). Ölümcül olmayan kalp krizi, düzensiz kalp atışı, astım alevlenmesi, akciğer fonksiyonlarında azalma ve hava yolları tahrişi, öksürme, zor nefes alma gibi solunumla ilgili semptomların artışına neden olmaktadır (Kim ve diğerleri, 2017).

PM'nin birçok organdaki endotelial damarlarda hasar oluşturduğu bulunmuştur (Kim ve diğerleri, 2017). PM maruziyeti ve dolaşım ve solunum sistemi üzerindeki etkilerinde (hipertansiyon gibi) renal fonksiyonların da erken gösterge olduğu düşünülmektedir (Kim ve diğerleri, 2017).

Ozon

Ozon (O₃) doğrudan havaya yayılmamakla birlikte trafik, termik santraller, endüstriyel faaliyetler, rafineriler, kimyasal tesisler gibi kaynaklardan yayılan, NO_x ve UOB'nin ısı ve güneş ışığı varlığında kimyasal reaksiyonu ile oluşmaktadır (İnternet i).

Çeşitli çalışmalar, O₃ maruziyetinin daha çok solunum sistemine zarar verdiğini ve oksidatif strese neden olarak bronşiyollerin içindeki hava yollarında önemli fonksiyonel ve biyokimyasal değişikliklere neden olabileceğini göstermektedir (Lakey ve diğerleri, 2016; Paffett ve diğerleri, 2015). Ayrıca O₃, PM ve NO maruziyeti ile hava yolu enflamasyonu, astım, KOAH ve akciğer kanseri görülme sıklığı artmaktadır (Kurt ve diğerleri, 2016). Ozonun genotoksik olduğuna ilişkin in vitro veriler bulunmaktadır (Poma ve diğerleri, 2017). Çakmak Demircigil ve diğerlerinin Eskişehir ilinde şehir merkezi ve merkeze uzak iki bölgede çocuklarda yaptıkları çalışmada yüksek O₃ seviyeleri ile mikroçekirdek sıklığı artışı arasında benzerlik bulunmuştur (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014).

Kükürt dioksit ve Azot dioksit

Yanma olayları sonucu oluşan temel kaynakları, trafik ve elektrik santralleri olan, nitrojen oksit grubunun göstergesi NO₂ ile sülfür oksit grubunun göstergesi SO₂'nin birincil etki bölgeleri solunum sistemi olup, hıştılı nefes alma, öksürük gibi belirtilerle astım alevlenmesi ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurlar (İnternet j; İnternet k).

SO₂'nin astımlı sıçanlarda solunum yolu enflamasyonuna neden olarak ve immün yanıtları etkilediğini ve akciğerlerinde enflamatuvar yanıtları şiddetlendirerek duyarlılıklarını arttırdığını göstermiştir (Li ve diğerleri, 2014).

Kurşun

Kurşun dünyanın her yerinde olmasına rağmen, değişik bölgelerde kaynakları farklılık gösterebilmektedir. Kurşun kirliliği eski endüstri bölgeleri veya günümüzdeki madencilik, pil geri dönüşüm veya döküm tesisleri gibi endüstri kaynaklı olabilir.(Mackay et al. 2013). Gelişmiş ülkelerdeki diğer kaynaklar genellikle eski evlerin tadilatlarında oluşan soyulmuş veya ufalanmış, kurşun bazlı boyalardır (Farías ve diğerleri, 2014).

Vücuttaki tüm organ sistemleri kurşundan etkilenmekle birlikte temel etki bölgeleri sinir, kardiyovasküler, renal, endokrin, bağışıklık sistemi üzerinedir. (Farías ve diğerleri, 2014). Vücuda alınan kurşun kan yoluyla, kemiklerde akümülyasyona uğramaktadır. Yetişkinlerde daha çok kardiyovasküler sistem üzerinde etkileri mevcutken çocuklarda en çok sinir sistemi üzerinde etkilidir. Bebekler ve küçük çocuklar düşük dozda kurşuna bile duyarlıdır ve kurşun maruziyeti davranışsal problemler, öğrenme ve zeka geriliğine yol açabilmektedir (İnternet l).

2.3. Hava Kirliliğine Duyarlı Popülasyonlar

Hava kirliliğine maruziyetin insan sağlığına kısa ve uzun pek çok zararlı etkisi mevcuttur. Bu etkilere karşı toplumun duyarlı kesimleri daha fazla risk altındadır. Bu gruplar arasında; bebekler, çocuklar, gebeler, emziren anneler, yaşlılar, kronik hastalığı olanlar ve genetik yatkınlığa sahip olanlar sayılabilir. Çocuklarda bağışıklık sistemi tam olarak gelişmemiş (Salvi S., 2007), yaşlılarda ise bağışık yanıt yavaşlamakta, havayolu tıkanması oluşmakta ve

egzersiz kapasitesi kısıtlılığına neden olan solunum fonksiyonlarında düşüş gibi nedenlerle kirleticilerin etkilerine duyarlılık artmaktadır (Sharma G. ve Goodwin J. 2006). Kronik hastalıklardan astım, KOAH ve fibrosiz gibi bir kronik akciğer hastalığı, aritmi, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı gibi dolaşım sistemi hastalığı, ya da diyabeti olan kişiler yaştan bağımsız olarak hava kirliliğine daha duyarlıdırlar (Brook ve diğerleri, 2010). Genetik yatkınlık ise kirleticilere karşı savunma sistemindeki farklılıklardan dolayı duyarlılıkta değişikliklere nedendir (Yang ve diğerleri, 2009).

2.3.1 Hava Kirliliğine Duyarlılıkta Çocuklar İle Yetişkinler Arası Farklar

İnsanlarda çevre (Ceretti ve diğerleri, 2014) ve diyetle bağlı çeşitli etkenlere (Neri ve diğerleri, 2006; Silva da Silva, ve diğerleri, 2015) maruziyet değerlendirildiğinde, çocukların yetişkinlere kıyasla toksik etkilere daha duyarlı olduğu görülmüştür (Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Neri ve diğerleri, 2006; Ceretti ve diğerleri, 2014; Sisenendo ve diğerleri, 2014; Huen ve diğerleri, 2006; Villarini ve diğerleri, 2018). Çocuklar, kendilerine özgü ve farklı maruziyet şekilleri, dinamik gelişimsel fizyolojileri ve uzun hayat beklentilerinden dolayı yüksek risk grubundadır (Villarini ve diğerleri, 2018). Çeşitli çalışmalar, çocukluk çağında meydana gelen erken genetik hasar nedeniyle, ilerleyen yaşlarda kanseri de içine alan pek çok kronik hastalığın meydana geldiğini göstermektedir (Ceretti ve diğerleri, 2014; Villarini ve diğerleri, 2018).

Çocukların duyarlılık nedenlerinin başında akciğerlerinin hala gelişiyor olması gelmektedir. Erken dönemde meydana gelen hava kirliliği maruziyeti akciğer fonksiyonlarını ve akciğer gelişimini kolaylıkla değiştirebilmektedir. Birçok çalışmada PM konsantrasyonları ile akciğer gelişiminin gerilemesi arasında ilişki saptanmış olup bu da hava kirliliğinin solunum fonksiyonlarını değiştirebileceğini göstermektedir (Esposito ve diğerleri, 2014).

Çocukların yetişkinlere göre enzim yeterlilikleri, enzim aktivite farklılıkları maruz kalınan etkenlerin metabolizmalarında değişiklikler oluşturmaktadır (Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Kurt ve diğerleri, 2016; Villarini ve diğerleri, 2018). Çocukların vücut yüzey alanlarının vücut ağırlıklarına oranının yüksek olması ile birlikte yetişkinlere göre daha fazla su, meyve suyu ve süt tüketmeleri, kontamine olmuş taze besinleri daha fazla tüketme olasılıkları, ellerini ağızlarına götürme alışkanlıklarının daha fazla olması, birim vücut ağırlığı başına daha fazla hacimde nefes almaları, ev tozları ve toprakla temaslarının daha

fazla olması duyarlılığı artırmaktadır.(Neri ve diğerleri, 2006, Silva da Silva ve diğerleri, 2015, Villarini ve diğerleri, 2018).

Trafik kaynaklı hava kirliliğine çocuklarda yetişkinlere göre fazla duyarlılık; fiziksel aktivite ve dışarıda geçirilen zamanın daha fazla olması nedeniyle maruziyetlerinin artmasına bağlanmaktadır. Buna ek olarak da akciğer ve bağışıklık sisteminin yeterince gelişmemiş olması etkileri şiddetlendirmektedir (Huen ve diğerleri, 2006; Sisenendo ve diğerleri, 2014). Çocuklar zamanlarının önemli bir kısmını da okulda geçirmektedir. Dolayısıyla trafik yoğunluğunun fazla olduğu bölgelerde okuyan çocukların, özellikle yazın okul bahçesinde artan fiziksel aktiviteleri de hava kirliliğine maruziyetlerine katkıda bulunmaktadır (Dons ve diğerleri, 2014). Astım alevlenmesi ile hava kirliliği arasındaki ilişkinin yazları artarken; kışları azalması da bu düşüncüyü desteklemektedir (Esposito ve diğerleri, 2014). Bazı kirleticilerin daha yoğun olduğu yere (zemin) daha yakın olmaları da kirleticilere maruziyetlerini artırmaktadır (Huen ve diğerleri, 2006).

Çocukların ağızdan nefes alma alışkanlıklarının daha fazla olması nazal süzölmelerin atlanarak daha fazla partikülün alt hava yollarına ilerlemesine neden olmaktadır (Esposito ve diğerleri, 2014). Ayrıca çocukların solunum oranları da yetişkinlere göre daha fazladır. Sonuçta vücut ağırlıklarına göre birim başına daha fazla kirlilik solumuş olmaktadırlar (Huen ve diğerleri, 2006). Anlatılan farklılıklar Çizelge 2.1.'de topluca gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Çocukların hava kirliliğine karşı hassasiyetini etkileyen faktörler

Kategori	Faktörler
Fizyolojik faktörler	- Yetişkinlere kıyasla, birim vücut ağırlığı başına hava soluma kapasitesi ↑ - Akciğerler ve hava yolları ↓ - Detoksifiye edici enzimler ↓
Akciğer gelişimi ve solunum fonksiyonları	- Gelişmekle olan havayolları ve alveollerin savunmasızlığı - Bağışıklık sisteminin tam gelişmemiş olması
Zaman-aktivite modelleri	- Dışarıda harcanan zaman - Oyun oynama ve egzersiz sırasında ventilasyon hızı ↑ , ağızdan nefes alma
Kronik hastalıklar	- Astım prevalansı ↑ - Kistik fibroz prevalansı ↑
Akut hastalıklar	Akut solunum yolu enfeksiyonlarının sıklık ↑

Not: Esposito ve diğerleri, 2014; DSÖ, 2005(İnternet, 2019m); Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Villarini ve diğerleri, 2018 çeşitli kaynaklardan derlenmiştir.

İnsanlarda yapılan moleküler epidemiyoloji çalışmalarındaki sorunlardan birisi karıştırıcı faktörlerin etkisinin, saptanmak istenen etkenin etkisini maskeleyesidir (Silva da Silva ve diğlerleri, 2015). Hava kirliliğinin sağık etkileri söz konusu olduğunda; çocuklarda yetişkinlere göre karıştırıcı faktörler düşük düzeyde gözlenmektedir. Çocuklarda, ergenlik döneminin sonuna kadar sigara ve alkol kullanma alışkanlığı yoktur. Çocuklar çalışmadığı için meslek nedeniyle genotoksik etkenlere maruziyet gibi maskeleyici etkenler görülmez. Ek olarak, çoğunlukla çocukların yaşadıkları, oynadıkları, okula gittikleri yer ve evleri birbirine yakın konumdadır ki böylece hava kirliliğinin araştırıldığı yerin etkilerini popülasyonda saptamak kolaylaşmaktadır (Neri ve diğlerleri, 2006; Silva da Silva ve diğlerleri, 2015; Sisenando ve diğlerleri, 2012). Ancak, çocukların pasif içiciliğe maruz kalabilmeleri ve beslenme alışkanlıkları farklılıkları olabilmektedir (Neri ve diğlerleri, 2006).

Çocuk sağığı ile ilgili endişeler ve çocuk sağığını etkileyen faktörler, sağık politikalarının önemli belirleyicileridir. Özellikle, çevresel faktörlerin sağık üzerindeki olumsuz etkilerine karşı yürütölen politikalarda, yapılan düzenlemelerde çocuklar göz önünde bulundurulmalıdır (İnternet m).

2.4. Hava Kirliliğinin Çocuk Sağığı Üzerine Etkileri

Solunum sistemi üzerine etkiler

Hava kirleticileri, birincil olarak solunum sistemine etki etmektedir (Dons ve diğlerleri, 2014) ve duyarlılığı yüksek olan çocuklarda solunum yolu enflamasyonunu indüklemekte, astım morbiditesini artırmaktadır (Esposito ve diğlerleri, 2014). Hava kirliliğı bileşenlerine erken yaşta maruz kalma, çocukluk çağı astım sıklığı ve diğler solunum tanıları ile ilişkilidir ve çocukluk çağı astım tanı prevalansını artırmaktadır (Farmer ve diğlerleri, 2014). Astım hastası çocuklarda kirliliğe bağı solunum yolu enflamasyonu ile ilgili mekanizmaların tanımlanması, astım alevlenmesini önlemek için yeni klinik ve terapötik stratejiler bulunması açısından gereklidir. Birçok epidemiyolojik çalışmada da belirtildiğı üzere hava kirliliğine maruziyet birçok solunum yolu enfeksiyonuna ve duyarlılığın oluşmasında rol oynamaktadır (Esposito ve diğlerleri, 2014).

Astım, KOAH gibi kronik akciğer hastalıklarının tanı, tedavi ve izleminde spirometri adı verilen, solunum fonksiyonlarının değlerlendirilmesinde soluk verme sırasındaki hava akım

hızının ve akciğer hacminin ölçüldüğü testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Solunum Fonksiyon Testleri (SFT) olarak da bilinen bu testlerin yaygın olarak kullanılan önemli parametreleri arasında, FEV₁, FVC, PEF, FEF_{%25/75} ve FEV₁/FVC sıralanabilir (Altuğ, 2013).

Trafik ve trafik ilişkili hava kirliliğine çocuklarda maruziyet; akciğer gelişimini, hava yolları alerjisi ve astım varlığını etkileyebilmektedir. Ayrıca sağlıklı ve astım hastası çocuklarda hava kirliliğine maruziyet ile birçok oksidatif stres ve bağışıklık biyogöstergesi arasında ilişki saptanmıştır (Dons ve diğerleri, 2014). Hava kirliliğinin hava yolu enflamasyonu ve astım üzerindeki akut etkilerini değerlendirmede verilen havadaki NO (eNO) ve yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası gibi göstergeler ölçülmektedir (Patel M. M. ve Miller R. L., 2010). 9-11 yaş aralığındaki çocuklarda yapılan bir çalışma da trafiğin yoğun olduğu yollara yakınlıkla eNO seviyesinin artışı arasında ilişki saptanmıştır (Patel M. M. ve Miller R. L., 2010).

Ana yola yakın bölgede yaşayan 6-17 yaş aralığındaki 224 çocukta yapılan çalışmada hava yolu ve sistemik enflamasyon göstergesi olan yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası pH seviyesinde düşüş gözlenmiştir (Brown ve diğerleri, 2012).

14-19 yaş aralığındaki 18 astım hastası ve 18 sağlıklı çocukta da artan NO₂ ve dizel egzoz partiküllerinden gelen siyah karbona kısa dönem maruziyet ile yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası pH seviyeleri düşüşü arasında ilişki saptanmıştır. Bu düşüş astım hastası olan ve olmayan çocuklar arasında farklılık göstermemekle birlikte hava yolu inflamasyonu ve oksidatif stres oluştuğunu göstermektedir (Patel ve diğerleri, 2013).

Amerika’da 620 çocukta yapılan bir çalışma da, hamilelik döneminde annenin yüksek miktar NO₂ ve benzen maruziyet sonucu çocuklar 4,5 yaşına geldiklerinde FEV₁, FVC ve PEF değerlerinde düşme gözlenmiştir (Morales ve diğerleri, 2015).

6-11 yaşlarında astımlı çocuklarda yapılan bir çalışmada prenatal ve erken çocukluk dönemlerinde hava kirliliğine maruziyet ile akciğer fonksiyon parametrelerinden FVC ve FEV₁ düşüşü arasında ilişki saptanmıştır (Mortimer ve diğerleri, 2008).

Smargiassi ve diğerlerinin Kanada (Montreal, Quebec)'da, iki petrol rafinerisinin bulunduğu bölgede kentsel, endüstriyel ve trafik kaynaklı hava kirliliğinin sağlık etkilerini araştırdığı çalışmada, astım hastası 72 çocukta (8-12 yaş) NO_2 , $\text{PM}_{2.5}$, PAH ve benzen maruziyeti ile solunum fonksiyon testi sonuçları (FVC, FEV_1 , $\text{FEF}_{\%0.25/0.75}$), kandaki oksijen saturasyonu ve kan basıncı arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır. Sadece solunum fonksiyon testi sonuçlarında PAH'a maruziyet ile küçük bir düşüş saptanmıştır (Smargiassi ve diğerleri, 2014).

Kardiyovasküler sistem üzerine etkiler

Hava kirliliği bileşenlerinden daha çok PM kardiyovasküler sistem üzerinde etkilidir. (Du et al. 2016). PM ve kardiyovasküler etkileri ile ilgili pek çok mekanizma tanımlanmıştır ve bunların ilki doğrudan yolaktır. Bu yolla, $\text{PM}_{2.5}$ ve UFP doğrudan kan dolaşımına girerek, hedef organlara ilerler. Diğer yollarla dolaylıdır. Bunlar akciğerlerde oksidatif stres ve enflamatuvar cevabın oluştuğu daha az akut olayları kapsamaktadır (Shrey ve diğerleri, 2011).

Hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklar çocukluk dönemi yaşam koşullarına da bağlıdır. Çocuklarda periferik kan basıncını da içeren kardiyovasküler parametrelerin kentsel hava kirliliği ile ilişkisini araştıran çalışmalar az olmakla birlikte mevcuttur. (Sughis ve diğerleri, 2012).

Sughis ve diğerleri Pakistan'da, 130 çocukta (8-12 yaş) arteriyel kan basıncını trafiğin yoğun olduğu bölge ile düşük olduğu bölge arasında karşılaştırılmıştır. Trafik yoğunluğu düşük bölgede (günlük $\text{PM}_{2.5} = 28,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) kan basıncı 108.3/66.4 mmHg bulunmuş, yoğun olduğu bölgede ise (günlük $\text{PM}_{2.5} = 183 \mu\text{g}/\text{m}^3$) 115.9/70.9 mmHg olarak daha yüksek ölçülmüştür (Sughis ve diğerleri, 2012).

PM_{10} , CO, NO_2 , SO_2 ve O_3 'nin kardiyovasküler etkilerinin 11-84 yaş arası kişilerde incelendiği bir çalışmada PM_{10} , CO ve NO_2 artışıyla, hiperkoagülasyon oluşumu ve kardiyovasküler olayların meydana gelmesine neden olabilen protrombin zamanı azalması arasında ilişki saptanmıştır (Baccerelli ve diğerleri, 2007).

2.5. Moleküler Epidemiyoloji Çalışmalarında Genotoksisite Yöntemlerinin Kullanımı

Moleküler epidemiyoloji çalışmaları, çevresel ve mesleksel maruziyetlerin toplumun belli kesimi üzerindeki etkisini, ortaya çıkan hastalıklarla ilişkisini; çeşitli gösterge ve biyogöstergeleri kullanmak yoluyla epidemiyolojik çalışmalara göre daha az birey üzerinde araştırmayı sağlar. Söz konusu etkenin genetik hasara neden olma olasılığı varsa kanseri öngörmeye yönelik etki biyogöstergesi olan genotoksisite yöntemlerini kullanmak mümkündür (Çakmak Demircigil G. ve Burgaz S, 2008; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2009). Biyolojik örnek niteliğindeki periferik lenfositler (Aykanat ve diğerleri, 2011; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2010; Bonassi ve diğerleri, 2007; Pedersen ve diğerleri, 2006), yanak epitel hücreleri (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014; Aykanat ve diğerleri, 2016, Cavalcante ve diğerleri, 2017; Villarini ve diğerleri, 2018), burun epitel hücreleri (Burgaz ve diğerleri, 2002; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2010) ve idrar epiteli (Burgaz ve diğerleri, 1995;) gibi hücre tipleri çocuklarda ve yetişkinlerde çevresel, mesleksel ya da klinik durumların genotoksik etkilerini ortaya koymak için mikroçekirdek yöntemi, kromozomal aberasyon yöntemi, comet yöntemi kullanılmıştır. Moleküler epidemiyoloji araştırmalarının risk değerlendirmesinin tehlikeyi ortaya koyma basamağında da önemli yeri vardır. Kansere giden yolda ara bir basamak olan genotoksisiteye yönelik yöntemlerden periferik lenfositlerde mikroçekirdek yöntemi (Bonassi ve diğerleri, 2007) ve kromozomal aberasyon yöntemi (Hagmar ve diğerleri, 2004) kanseri öngörmede geçerlenmiş yöntemler olarak kabul edilmiştir.

2.6. Eksfoliyasyon Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek ve Sitom Yöntemi

Mikroçekirdek kavramı ilk olarak hematolojistler William Howell ve Justin Jolly tarafından eritrositlerde tanımlanmıştır, bu nedenle aynı zamanda Howell-Jolly cisimcikleri olarak da bilinmektedirler (Fenech ve diğerleri, 2011).

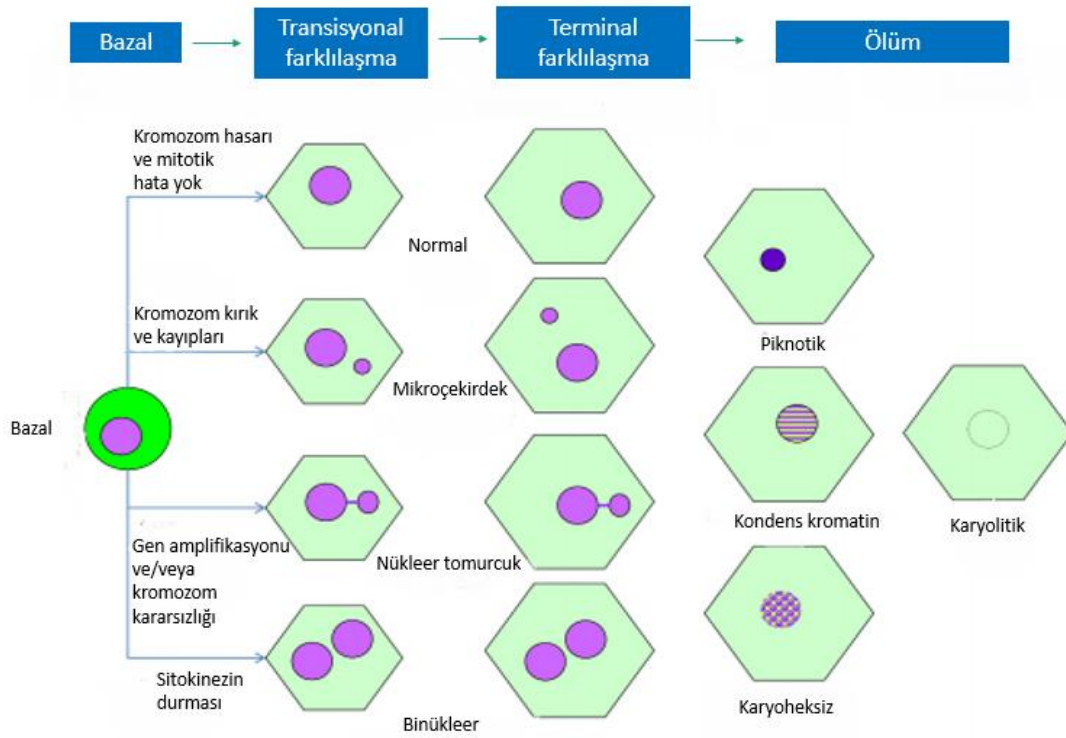
Mikroçekirdek (MÇ)'ler hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, ana çekirdeğe bağlı olmayan fakat hücre sitoplazması içerisinde olan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından oluşan küçük çekirdekçikler olarak tanımlanmaktadır. Bu oluşumla genellikle hücre siklusunu kontrol eden genlerdeki eksikliklerden, mitotik iğdeki hatalardan, kinetokordan veya mitotik aygıtın diğer parçalarından ve kromozomal hasarlardan kaynaklanmaktadır. MÇ'lerin oluşumu hücre bölünmesi sırasında meydana

gelen kromozom kaybı veya kırıklarının bir göstergesidir (Thomas P. ve Fenech M., 2011).

Bu yöntem, 1950’lerde bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde, 1970’lerde hayvan hücrelerinde ve daha sonra Haddle ve arkadaşları tarafından kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır (Demirel S. Ve Zamani A. 2002). MÇ sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iç iplikçiklerinde kromozom kaybına neden olurken; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MÇ oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Cavalcante ve diğerleri, 2017).

Yanak epitel hücrelerinde (YEH) mikroçekirdek testi, oral mukozadan alınan, in vitro kültür gerektirmeyen YEH’de genotoksisitenin belirlenmesi için kullanılan girişimsel olmayan bir yöntemdir ve sıklıkla kullanılmaktadır (Thomas P. ve Fenech M., 2011; Holland ve diğerleri, 2011). Yöntem, genomik hasarın yanı sıra hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hücre ölümünün de değerlendirildiği göstergelerin eklenmesi ile YEH’te mikroçekirdek sitom yöntemi (YEH-MÇST) adını almıştır. Bu yöntem ile kromozom hasar/genotoksisite göstergeleri [mikroçekirdek (MÇ) ve nükleer tomurcuk (NT)], hücre proliferasyon göstergeleri [bazal hücre (BH) ve binükleer hücre (BN)] ve hücre ölümü/apoptozis göstergeleri [Kondens kromatin hücre (KK), karyohektik hücre (KH) piknotik (P) ve karyolitik hücreler (KL)] değerlendirilebilmektedir (Thomas P. ve Fenech M, 2011; Bolognesi ve diğerleri, 2013). Bazal tabakadaki kök hücrelerden üretilen bazal hücreler önce transisyonal daha sonra terminal differansiye hücrelere olgunlaşır (Şekil 2.1). Bazal hücrenin, çekirdeğin tamamen parçalandığı karyolitik hücreye dönüşerek yüzeye doğru göçü, 7-21 gün sürmektedir (Bolognesi ve diğerleri, 2013)

YEH-MÇST yöntemi genotoksinlere çevresel ve mesleki maruziyeti mikronütrient eksiklikleri, medikal prosedürleri, yaşam şekli faktörlerini ve genetik duyarlılığı değerlendiren biyoizleme çalışmalarında oldukça fazla kullanılmaktadır. Dahası artan MÇ sıklığı dejeneratif hastalıklar ve kanser gelişme riski ile yakından ilişkilidir (Bolognesi ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.1. Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemi hücre tipleri ve kökenleri (Bolognesi ve diğerleri, 2013).

2.7. Hava Kirliliğinin Çocuklarda Genotoksik Etkisinin Eksfoliye Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek Yöntemi ile Araştırılması

Pek çok çalışmada hava kirliliğinin çocuklarda neden olduğu genetik hasar çeşitli yöntemlerle ve çeşitli hücre tiplerinde araştırılmaktadır. Aşağıda konuyla ilgili birkaç örnek verilmiştir. Meksika’da yapılan bir çalışmada yüksek hava kirliliğine sahip bölge ile daha düşük kirliliğe sahip alanda yaşayan çocukların nazal epitelinden alınan örneklerinde yapılan Comet değerlendirmesinde kirliliğe sahip bölgede yaşayan çocuklarda DNA hasarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür (Calderón-Garcidueñas ve diğerleri, 1997). Rusya’da yapılan diğer bir çalışmada çevresel hava kirliliğinin oldukça yüksek seviyede olduğu bölge ile daha düşük olan seviyede olduğu bölge karşılaştırıldığında, periferik kan lenfositleri (PKL)’ndeki MÇ sıklığının yüksek olduğu raporlanmıştır (Peleвина II ve diğerleri, 2000). Bu çalışmalar hava kirliliğinin çocuklarda genomik stabiliteyi etkilediğini ve ileride kanser vakalarına neden olabileceği olasılığını güçlendirmektedir (Huen ve diğerleri, 2006). Dünyanın farklı bölgelerinde YEH ve PKL yapılan çalışmalarda, kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında, çevresel maruziyeti olan çocukların MÇ seviyelerinde %30-130 oranında artış görülürken,

iç ortam sigara dumanına maruziyette de lenfositlerde %30 oranında artış görülmüştür (Holland ve diğerleri, 2011). Kaliforniya’da yapılan bir diğer çalışmada bölgesel ozona maruz kalan çocuklarda lenfositlerde ve bukkal hücrelerdeki MÇ seviyelerinde önemli artış saptanmıştır (Huen ve diğerleri, 2006). Yüksek kirliliğe sahip bölgede yaşayan 5-9 ve 10-13 yaşlarındaki Çek çocuklarda yapılan araştırmada düşük kirliliğe sahip bölgede yaşayan çocuklara göre, binükleer lenfositlerdeki MÇ sıklığı önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (%7,0’a karşı %4,9 ve %9,2’a karşı %6,6) (Pedersen ve diğerleri, 2006). Yaşı büyük çocuklarda daha yüksek MÇ sıklığı saptanması, yaşla sıklığın artışına veya daha uzun süre maruz kalmalarına bağlanabilir (Holland ve diğerleri, 2011).

Çocuklarda MÇ sıklığının YEH’de ölçümünde son yıllarda artış olmuştur. Yöntemin; girişimsiz bir yöntem olması, çocuk ve ailesi ile iletişim ve çalışmayı kolaylaştırmakta ve katılımı artırmaktadır (Holland ve diğerleri, 2011).

Çocuklarda YEH’de MÇ yöntemi, kentsel ve kırsal çevresel hava kirliliği maruziyet çalışmalarında (Sisenando ve diğerleri, 2012) endüstriyel bölgelere ait maruziyetlerin etkilerini saptamada (Ceretti ve diğerleri, 2014; Marcon ve diğerleri, 2014) kullanımı bulunmaktadır. Olası genotoksik etkenler arasında; sigara dumanı, partikül maddeler, yemek pişirme faaliyetleri sırasında ortaya çıkan etkenler, pestisit uygulamaları ve havada bulunabilecek diğer petrol, kömür ve egzoz kaynaklı yanma ürünleri, non-iyonize ve iyonize radyasyon sayılabilir (Holland ve diğerleri, 2011). Bilgilerimize göre çocuklarda hava kirliliğinin etkilerini araştırmak üzere YEH-MÇ ve YEH-MÇST yöntemini kullanan çalışmaların sayısı on kadardır ve son on beş yılda artmıştır (Huen ve diğerleri, 2006; Chen ve diğerleri, 2006; Sisenando ve diğerleri, 2012; Silva da Silva, 2015; Ceretti ve diğerleri 2014; Marcon ve diğerleri, 2014; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014 ; Cavalcante ve diğerleri, 2017; Villarini ve diğerleri, 2018).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Alanı

Çalışma bölgesi, ülkemizde hava kirliliğinin en yoğun olduğu illerden olan Kütahya sınırları içindedir.

Kütahya 29°00'–30°30' doğu boylamları ve 38°70'–39°80' kuzey enlemleri arasında, Türkiye'nin iç batı kesiminde yer alan 11.875 km² alanı olan bir Ege Bölgesi ilidir (KDEU, 2015). 2014 yılı sayımlarına göre nüfusun %68'ini kentsel popülasyon oluşturmaktadır. Kalan %32'lik bölüm 550 farklı kırsal alanda yaşamaktadır. Bölge topografisine göre dağ ve tepelerden ve kuzeybatısından güneydoğusunu kadar yayılmış ovalardan oluşmaktadır (Tuygun ve diğerleri, 2017). Evsel ısınma için Kütahya kent merkezi, Emet, Gediz ve Tavşanlı gibi bazı bölgelerde doğalgaz kullanılmaktadır. Kırsal kesimlerde ısınmak için linyit kullanılmaktadır (Küçükaçıl ve diğerleri, 2017). Bölgede üç adet termik santral bulunmaktadır. İlki Kütahya kent merkezine 20 km uzaklıktaki 600 MWe kapasiteli Seyitömer Termik Santrali (STS)'dir. Diğerleri şehir merkezine 50 km mesafede olan Tunçbilek Termik Santrali (TTS) (365MWe) ile 105 km mesafede olan Orhaneli Termik Santrali (OTS) (210MWe)'dir (Küçükaçıl ve diğerleri, 2017; Tuygun ve diğerleri, 2017). Bu termik santrallerde 4800 kcal/kg kalorifik değeri ve 2% sülfür içeriğiyle düşük kaliteli linyit kullanılmaktadır (Tuygun ve diğerleri, 2017). Kütahya ili çevresinde konumlanmış diğer endüstriyel kirlilik kaynakları şeker, seramik, gıda, taşıma, inşaat malzemeleri, bor madenciliği ve manyezit endüstri tesislerinden oluşmaktadır (Küçükaçıl ve diğerleri, 2017). Kütahya'da 12 ana otoyol ve 46 ana kentsel sokak bulunması nedeniyle trafik önemli kirlilik kaynağıdır. Kütahya'nın kent içi trafiği de oldukça yoğundur. 2014 yılında şehirde seyir halindeki araç sayısı 184,661'dir (Küçükaçıl ve diğerleri, 2017) ve bunun 60%'ını yolcu araçları oluştururken, hafif hizmet araçları (minübüs, pikap, kamyon) ile ağır hizmet araçları (otobüs, kamyon) sırasıyla 36% ve 4%'ünü oluşturur (Küçükaçıl ve diğerleri, 2017; Tuygun ve diğerleri, 2017).

Kütahya'da çalışma alanı olarak, tez çalışmasının parçası olduğu proje ile (Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi No: 1407F398) iki ayrı bölge belirlenmiştir. İlki Tunçbilek Bölgesidir ve Tunçbilek Beldesi / Gurağaç Köyünü temsil etmektedir. Gurağaç

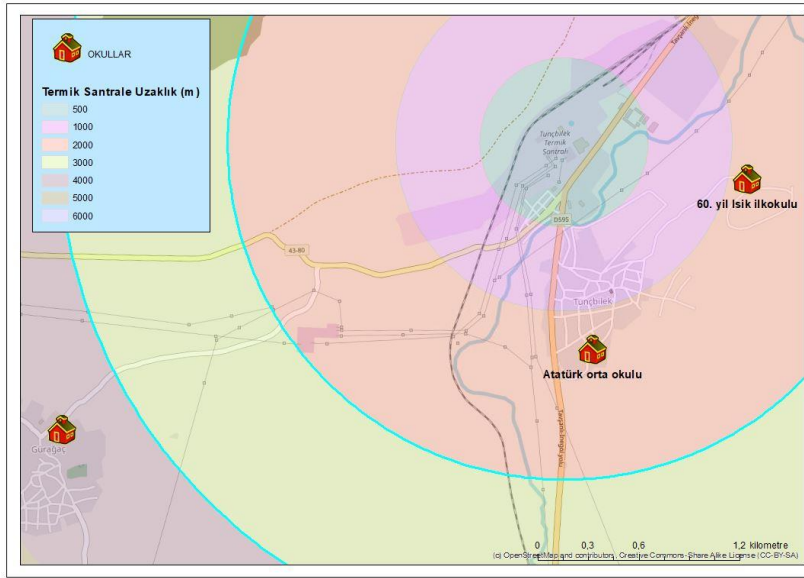
Köyü, Tuğbilek Beldesine bağlı olduğu için bölgeden bahsedilirken sadece Tuğbilek ismi kullanılacaktır. Tuğbilek, kömür yakıtlı aktif iki termik santralin (STS ve TTS) etki alanı içinde kırsal kesimdir. Bölgede kış aylarında ısınma amaçlı olarak halen kömür kullanılmaya devam edilmektedir (Altuğ ve diğerleri, 2015). İkinci çalışma bölgesi ise, Kütahya kentinin trafiği en yoğun bölgesi olarak belirlenmiş merkezidir. Kütahya Merkez ismi ile belirtilecektir. İki bölgeyi temsilen 4 ayrı okul belirlenmiştir (Harita 3.1.). Seçilen okulların listesi Çizelge 3.1.'de ve konumları da Harita 3.1.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Çalışmamızda örnek alınan öğrencilerin sayıları ve seçilen okullar

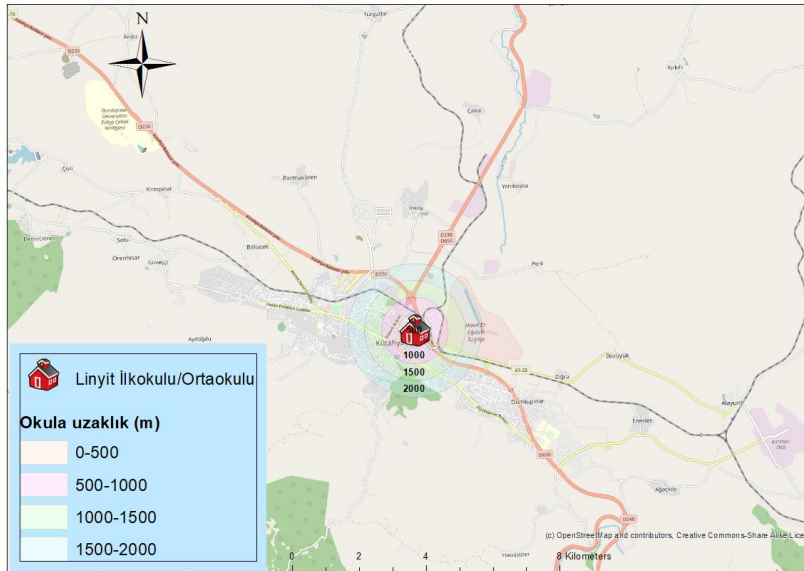
Çalışma alanı	Seçilen İlkokul	Çalışmaya dahil edilen çocuk sayısı	Öğretim durumu*	TTS uzaklığı	STS uzaklığı	Rakım
Tuğbilek	Gürağaç Köyü İlkokulu	37	NÖ	3,5 km	39 km	853 m
	Atatürk Ortaokulu	18	NÖ	2 km	35 km	840 m
	60. Yıl Işık İlkokulu	33	NÖ	1 km	35 km	836 m
Kütahya Merkez	Linyit İlkokulu	60	İÖ	64 km	19.5 km	937 m

NÖ=normal öğretim, İÖ=ikili öğretim, TTS=Tuğbilek Termik Santrali, STS=Seyitömer Termik Santrali

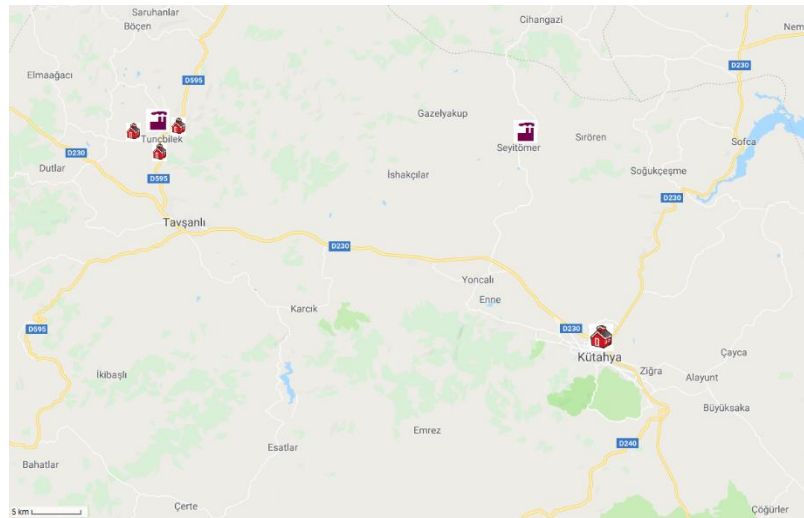
*Normal öğretim ders başlama ve bitiş saatleri 08:20-14:30, İkili öğretim: Sabah 7:30-13:20; Öğle 13:30-18:20



(a)



(b)



(c)

Harita 3.1. Tunçbilek(a) ve Kütahya Merkez'i (b) temsil eden okulların yerleşimi ve birbirlerine göre konumları (c)

3.2. Çalışma Grubu Seçimi

Çalışma grubu, belirlenen iki örneklem bölgesini temsil eden 4 ayrı okuldan, sağlıklı 9-11 yaş grubu, cinsiyet ve demografik özellikler açısından benzer sağlıklı çocuklardan oluşmuştur. Çocuklara ait demografik özellikler bulgular kısmında (Çizelge 4.1) detaylı olarak değerlendirilmiştir. Tez çalışmasına ait biyolojik örneklerin toplanması, çalışmanın dahil olduğu projenin bölge ziyaretlerinin sonuncusu olan Haziran 2016'da daha önceki saha çalışmalarına katılan çocuklarda yapılmıştır. Olası karıştırıcı etkenlerle ilgili özellikleri soran anket de (velilere yollanmış, ertesi gün çocuk getirmiştir) aynı zamanda uygulanmıştır (EK-3).

Çalışmanın dahil olduğu projede, teze ait biyolojik örnekleme yapıldığı Haziran 2016'ya kadar yapılanlar kısaca aşağıdaki gibidir.

-Saha çalışmaları başlamadan önce, örnekleme yerlerini ve çalışma popülasyonunu belirlemek üzere bölgeye ön değerlendirme ziyareti yapılmış, çalışma popülasyonu olan çocukların velilerinden (n=200) izin alınmıştır.

-Proje kapsamında, 2016 yılının Ocak, Şubat, Mayıs ve Haziran aylarında 4 saha çalışması kapsamında örneklem bölgesi ve çocuklar ziyaret edilmiş, okulların bulunduğu bölgedeki kirletici düzeyleri, kirletici ve rüzgar haritalamaları, çocuklarda; solunum fonksiyon testi verileri (FEV₁, FVC, PEF, FEF_{%25/75} ve FEV₁/FVC), VKİ ve tansiyon ve nabız parametreleri ve kollarına takılan bireysel örnekleyicilerle O₃, NO₂ ve SO₂ düzeylerini belirlemek üzere çalışılmıştır.

-Çocuklarda yapılan ölçümlere ek olarak okulların bahçesinde (SO₂, NO₂ ve O₃) ve çevresinde yaklaşık 30 noktada dış ortam kirletici ölçümleri ve bazı çocukların ev içinde de iç ortam kirletici ölçümleri proje kapsamındaki ziyaretler sırasında yapılmıştır.

-Her bir saha çalışmasında, çocuklar için detaylı anket uygulaması yapılmıştır. Ankette; çocuklarla ve aileleri ile ilgili demografik, sosyoekonomik bilgiler, çocuklarda olası alerjik rinit, alerjik egzema ve astım varlığına yönelik durumlar [The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) anketi] çocuğun yaşadığı iç ortama (evi içi ısınma, sigara kullanımı, evcil hayvan sahipliği, küf ve nem durumu gibi) ve dış ortama ait bilgiler

alınmıştır.

Kırsal ancak termik santrallerin etki alanı içinde olan bölgedeki çocuklarla (Tunçbilek) trafiğin yoğun olduğu, kentsel bölgeyi temsil eden okuldaki çocuklara (Kütahya Merkez) ait genotoksisite göstergelerinin, proje kapsamında elde edilen, okulların bahçesinde (O_3 , SO_2 , NO_2) ve çevresinde yapılan dış ortam hava kirletici ölçümleri, evlerinin konumu ve trafik yoğunluğu ve rüzgar haritalamaları gibi dış ortama ait veriler ile bazı çocukların ev içinde yapılan kirletici ölçümleri, ev içi ısıtma ve yemek pişirme de hangi yakıtın kullanıldığı, küf ve nem durumu gibi iç ortama ait veriler ayrıca çocukların ev, okul ve araç içerisi gibi iç ve dış ortamlarda geçirdiği zamanı gösteren zaman-aktivite günlükleri ile zengileştirilen veriler ile detaylı ilişkilendirilmesi bilimsel makale hazırlanması sırasında yapılacak olup ileri bir hedef olarak belirlenmiştir.

3.3. Biyolojik Örneklerin Toplanması

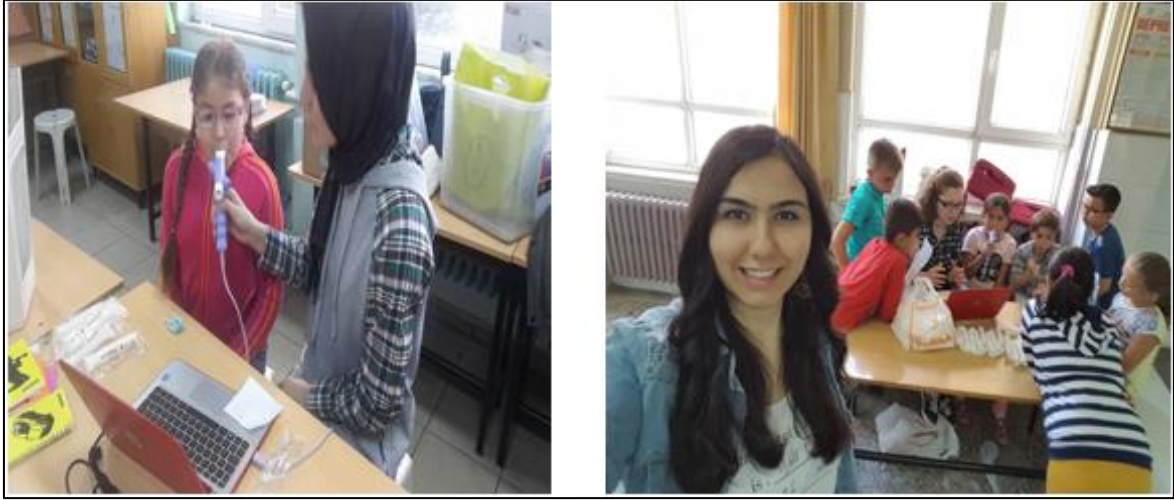
Projenin dördüncü örneklem bölgesi ziyaretinde (Haziran 2016), tez çalışmasının biyolojik örnekleri olan yanak epitel hücreleri (YEH) ve idrar örnekleri, önceki üç çalışmada yer alan çocuklarda ve yine önceki üç çalışmada yapılan ölçümlere ek olarak toplanmıştır. İdrar örnekleri soğuk zincirle Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında -20^0C 'de saklanmış ve tez kapsamında kullanılmamıştır. YEH'in toplanması aşamasında, çocukların ağızlarını suyla iki kez çalkalayarak temizlemeleri istenmiştir. Çocuklara yapılacak işlemin acısız ve rahatsız edici olmadığı anlatılmış, ağızları kısa süre açmaları söylenmiştir. Su ile ıslatılmış steril tahta abeslangın bir ucu her iki yanak içine ikişer kez dairesel hareketlerle sürülmüş ve olası atıklar alınmıştır. Sonrasında ikinci ucu ıslatılarak yine dairesel hareketlerle hücre sürüntüleri iki yanaktan toplanmıştır (Resim 3.1.) Daha önceden suda tutulan iki adet lama dikkatlice yayılmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Thomas P ve Fenech M, 2011). Kurutulan lamlar lam saklama kutularına konularak, Ankara'da, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı'na ulaştırılmıştır.



Resim 3.1. Okul ziyaretlerinde çocuklardan YEH toplanması

3.4. Solunum Fonksiyon Testi ve Pasif Örnekleyici Ölçümleri

Proje kapsamındaki çocuklarda, proje boyunca yapılan solunum fonksiyon testi (SFT), pasif örnekleyici ve antropojenik ölçümler, dördüncü ve teze ait biyolojik örneklemeyle eş zamanlı olan dönemde de proje yürütücüsü grup tarafından yapılmıştır. Çocukların SFT ölçümleri, örnekleme ziyaretlerinin her birinde spirometri aleti kullanılarak yapılmıştır. SFT sonunda elde edilen veriler; FEV_1 , FVC, PEF, $FEF_{25/75}$ ve FEV_1/FVC 'dir (Resim 3.2).



Resim 3.2. Okul ziyaretlerinde çocuklarda yapılan SFT

Proje kapsamındaki örnekleme çalışmalarında, Anadolu Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Hava Kirliliği Araştırma Ekibi tarafından, ‘Analyst’ adlı patenti alınmış pasif örnekleyiciden geliştirilen “badge” tipi pasif örnekleyiciler çocukların kollarına takılmış ertesi gün de toplanmıştır. Böylece, çocukların havada gaz formunda bulunan SO_2 , NO_2 ve O_3 kirleticilerine 24 saatlik maruziyetleri ölçülmüştür (Resim 3.3) Ertesi gün okullar tekrar ziyaret edilerek araştırmacılar tarafından kolluklar toplanmıştır. Pasif örnekleyiciler ölçülecek gaz formdaki hava kirleticisinin absorban yüzeye difüzyonu esasına dayanmaktadır ve pompa sistemi içermezler. Ucuz olmaları ve herhangi bir elektrik kaynağına ihtiyaç duymamaları sebebiyle kullanımları oldukça yaygın ve kolaydır (Gaga ve diğerleri, 2012).



Resim 3.3. Okul ziyaretlerinde çocukların koluna takılan pasif örnekleyiciler

3.5. Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek Sitom Yöntemi

3.5.1. Gerekli kimyasal maddeler

Metanol	(Merck)
HCl	(Sigma-Aldrich)
Schiff's reagent	(Merck)
Fast Green FCF	(F-7252, Sigma 5G)

3.5.2. Gerekli malzeme ve cihazlar

Işık Mikroskobu	(Zeiss Primo Star)
Hassas Terazî	(Shimadzu AW320)
Sayaç	(Marienfeld Superior Counter 2001)
Tahta abeslag	
Lam	
Lamel	
Lam kutusu	
Cam şale	
Beher	
Mezür	
Tartım Kaşığı	
Tartım Kağıdı	

3.5.3. Yöntemin uygulanması

Gerekli çözeltiler ve çözeltilerin hazırlanması

Fiksatif çözeltinin hazırlanması

Metanol: Distile su (80:20) olacak şekilde alınan metanol, çeker ocak altında mezurda gerekli miktara distile su ile tamamlanmıştır.

5M HCl çözeltisinin hazırlanması

%37'lik HCl'in (Yoğunluk = 1,18 g/L = 1180 g/ml; $MA_{HCl} = 36,5$ g) 415 mL'si, 1 L'ye distile su ile tamamlanır. Ekzotermik bir reaksiyon olduğu için çözeltinin hazırlanması soğukta ve su üzerine yavaş yavaş asit eklenerek yapılmıştır.

Schiff's reagent çözeltisi

Hazır çözelti kullanılmıştır. Işıktan korunmuştur. Buzdolabında tutulmuştur. Kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir.

Fast green çözeltisi

%0,2'lik fast green çözeltisi için 1 gr Gurr Light Gree toz alınıp, 500 ml ultrafiltre su içerisinde çözülür. Fast Green çözeltisi boyama işlemi yapılmadan 24 saat önce hazırlanmalıdır. Kesinlikle ışık almamalıdır (amber renkli şişe veya etrafı alüminyum folyo ile sarılmış olmalıdır) . Oda sıcaklığında saklanmalıdır. Birden fazla kullanılabilir.

Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek Sitom (YEH-MÇST) yönteminin uygulanışı ve mikroskopik değerlendirme

Laboratuvara lam kutusunda getirilen lamlar %80 metanol çözeltisi içinde 10 dakika fikse edilmiştir. Kuruduktan sonra boyanana kadar bekletilmiştir.

Kuruyan lamlar tekrar yerleştirilmiştir. Boyama işlemi için şalelere dizilen lamlar, 5M HCl çözeltisinde ile 30 dakika muamele edilmiştir. Kurutulduktan sonra, Feulgen boyasında 90 dakika karanlıkta tutulmuştur. Boya yeniden şişesine konulduktan sonra, lamlar 5-10 dakika suda tutulup, yıkanmıştır. Kurutulan lamlar, fast green boyasında 10 saniye kadar tutulmuştur. Ardından su ile yıkanmış ve kurutulmuştur. Ksilende 10 dakika bekletilen lamlar kuruduktan sonra lam kutularında mikroskopik değerlendirmeye hazır duruma getirilmiştir (Thomas and Fenech, 2011). Işık (x40 büyütme, Zeiss Primostar) ve gerektiğinde floresan mikroskop kullanılarak (x100 büyütme, Zeiss, Axioscope 2), kromozomal hasar/genotoksisite göstergeleri [mikroçekirdek (MÇ), MÇ'li hücre ve nükleer tomurcuk (NT)], hücre proliferasyon göstergeleri [bazal hücre (BH) ve binükleer hücre

(BN)], hücre ölümü/apoptozis göstergeleri [kondens kromatin hücre (KK), karyohektik hücre (KH), piknotik (P) ve karyolitik hücreler(KL)] mikroskopik olarak değerlendirilmiştir (Thomas et al., 2009; Thomas and Fenech, 2011). Değerlendirmede sayım sırasında Thomas ve Fenech (2011)'de yer alan yöntem küçük değişikliklerle kullanılmıştır (Thomas and Fenech ,2011). Değerlendirmeyi tek okuyucu, kodlanmış lamalar üzerinde yapmıştır (kör değerlendirme).

Tez örneklerini içeren lamalar sayılmadan önce, 13 laboratuvarın katılımıyla YEH-MÇST göstergelerinin, farklı laboratuvarlarda ve laboratuvar içi çeşitliliğinin, sağlıklı bireyler (kontrol grup) ve radyoterapi gören kanser hastalarından (tedavi edilen grup) elde edilen aynı örneklerde değerlendirilmesini amaçlayan uluslararası işbirliği çalışmasında kullanılan referans lam (Bolognesi ve diğerleri, 2017) sayılarak hazırlık aşaması tamamlanmıştır.

Her çocuk için toplam 2000 adet differansiye YEH hücre aşağıdaki gibi değerlendirilmiştir. 2000 hücrenin sayılması iki basamakta gerçekleştirilmiştir.

-İlk basamakta toplam 1000 YEH olacak şekilde BH, differansiye, BN, KK, KH, P, KL hücre tipleri sayılmıştır. Differansiye YEH'te MÇ, MÇ'li hücre ve NT sıklığı kaydedilmiştir.

-İkinci basamakta differansiye YEH hücre sayısı 2000'e tamamlanırken, MÇ, MÇ'li hücre ve NT sayıları kaydedilmiştir.

Aşağıda, değerlendirmeye alınan hücre tiplerinin detaylı tanımlanması ve mikroskopik görüntüleri yer almaktadır.

YEH-MÇST yöntemi ile hücre tiplerinin belirlenmesi Thomas ve Fenech tarafından uygulanan metoda göre yapılmıştır. Buna göre yanak epitel hücreleri “ normal ” ve sitolojik geleceğinin anormal çekirdek morfolojisine sahip olacağı düşünülen “ anormal ” hücreler olmak üzere iki temel katagoriye ayrılmıştır. Bu anormal çekirdek morfolojisi hücre ölümü veya DNA hasarının göstergesi olarak düşünülmektedir (Thomas, P. ve Fenech, M., 2011).

Normal bazal hücreler

- Eksfoliyé bukkal hücreler arasında en küçük hücrelerdir.

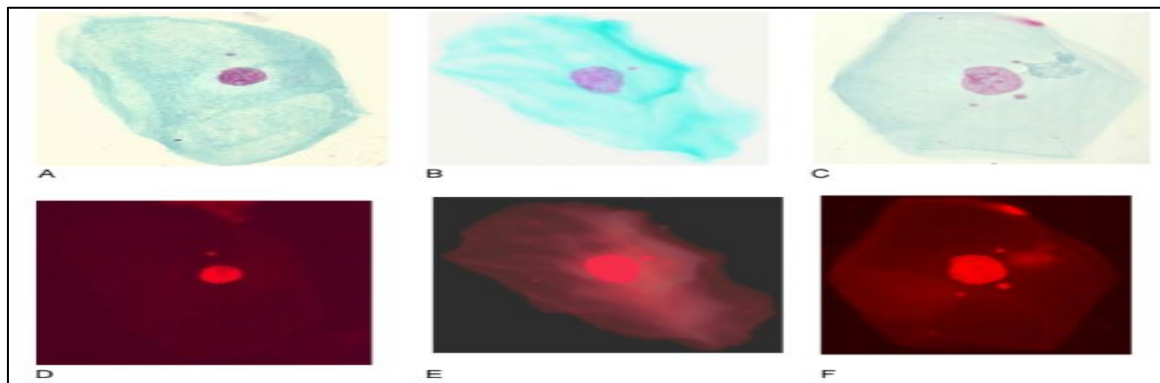
- Boyutları differansiye hücrelerin yaklaşık 1/3'ü ile 1/4'ü arasındadır.
- Çekirdek/sitoplazma alanı oranları differansiye hücelere göre daha büyüktür.
- Stoplazma şekilleri bazen yuvarlak veya oval, homojen lekelenmeye sahip differansiye hücelere göre daha az açılıdır (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).

Normal “ differansiye ” hüceler

- Bu hüceler oval veya yuvarlak şekilli, homojen bir şekilde lekelenmiş hücelerdir.
- Basal hücelerden boyut olarak büyük olmaları ve çekirdek/sitoplazma alanı oranlarının daha küçük olmasıyla ayrılırlar. Bu hüceler çekirdek dışında , DNA’dan başka yapılar içerebilmektedir (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).

Mikroçekirdek (MÇ) içeren hücre

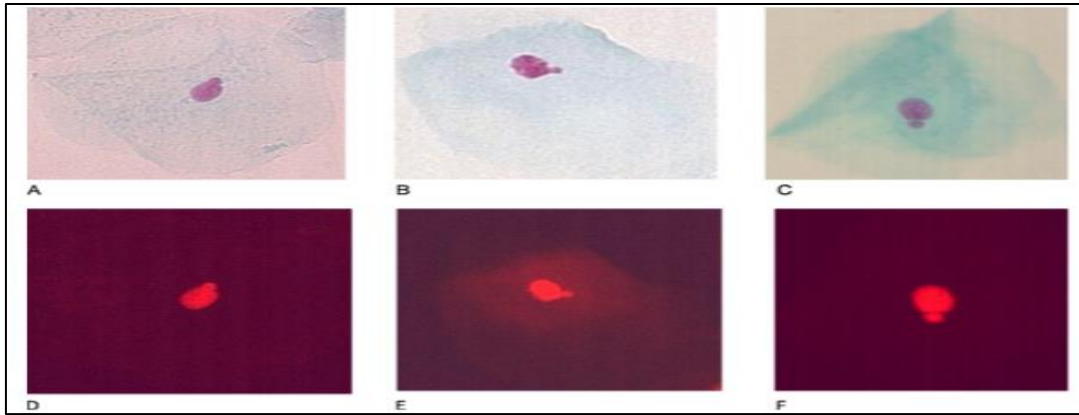
- Bu hüceler ana çekirdek ile birlikte MÇ olarak adlandırılan bir veya daha çok küçük çekirdek varlığıyla karakterize hücelerdir. MÇ’ler genellikle yuvarlak veya oval şekle sahip olup ana çekirdeğin 1/3’ü ile 1/16’sı arasında çapa sahiptir. MÇ’li hüceler genellikle tek MÇ içerirler.
- MÇ mutlaka hücre sitoplazması içinde bulunmalıdır. MÇ sadece differansiye ve basal hücelerde görünürse skorlamaya dahil edilir. Piknotik, kondens kromatin veya karyohektik hücelerde görülen MÇ’ler skorlamaya dahil edilmezler (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).



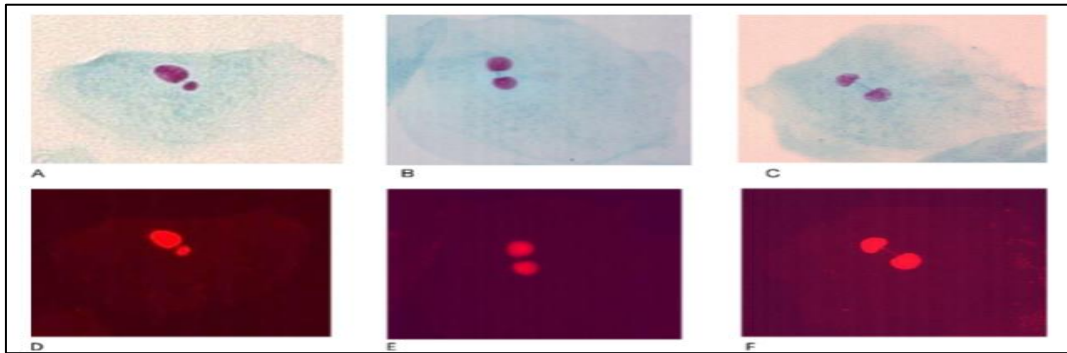
Şekil 3.1. MÇ içeren hücre görüntüsü ($\times 1000$ büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-E)

Nükleer tomurcuk (NT) içeren hücre

- Bu hücrelerin çekirdeği görünür bir daralma ile tomurcuklanma oluşturur. Yani nükleer materyalin tomurcuklanma ile ayrılması olarak düşünülebilir. (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011; Bolognesi ve diğerleri, 2013). NT'li hücreler ana çekirdekle aynı yapı ve leke yoğunluğuna sahiptir. Ana çekirdeğin 1/3'ü ile 1/16'sı arasında boyuta sahiptir (Bolognesi ve diğerleri, 2013).
- Bu hücreler ana çekirdeğe dar veya geniş nükleoplasmik köprü ile bağlı çekirdek yapıları içermektedir. (Bolognesi ve diğerleri 2013) NT'ler ana çekirdeğe oldukça yakın konumlanabilmektedir hatta dokunabilirler (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011). Nadir durumlarda NT'ler, Tolbert tarafından adlandırılan “ kırık yumurta ” olarak bilinen yapıyı da oluşturabilirler (Tolbert ve diğerleri, 1992) Kırık yumurta oluştuğunda NT'nin boyutu daha büyük olmaktadır (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).



Şekil 3.2. NT içeren hücre görüntüsü ($\times 1000$ büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-F)



Şekil 3.3. Kırık yumurta içeren hücre görüntüsü ($\times 1000$ büyütme oranı) Işık mikroskobu (A-C) ve Florensan mikroskobu (D-F)

Binükleer hücreler (BN)

- BN oluşum mekanizması daha çok hücre döngüsünün durması sonucu sitokinezis evresinin başarısızlığı ayrılmama durumu sonucu iki çekirdeğe sahip hücreler oluşmaktadır. (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011; Bolognessi ve diğerleri, 2013)
- Bu iki çekirdek aynı boyut, morfoloji, yapı ve boyanma özelliklerine sahiptirler. Birbirlerine çok yakın konumlanmışlardır. Hatta dokunabilirler (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011; Bolognessi ve diğerleri, 2013)

Kondens kromatin hücreler (KK)

- Bu hücrelerin çekirdeği yoğun veya kümelenmiş kromatin bölgeleri içerir.
- Çekirdek modeli damarlı bir yapıya sahiptir (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).

Karyohektik hücreler (KH)

- Bu hücrelerin çekirdeği kondens kromatin hücre çekirdeğiyle benzer olmakla birlikte onlara göre daha yaygın görünüme sahiptir. Nükleer materyalin çözünmesi ile çekirdeğin olası dağılmasını ve parçalanmasını gösteren, benekli nükleer yapıya sahiptir (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011)

Piknotik hücreler (P)

- Bu hücreler küçük daralmış çekirdeğe sahiptir. Nükleer materyal yüksek yoğunlukta, homojen dağılmış, yoğun lekeliidir.
- Normal differansiye hücrelere göre çekirdek çapı $1/3$ 'ü ile $2/3$ 'ü arasında değişmektedir (Thomas, P. ve Fenech, M. 2011).

Karyolitik hücreler (KL)

- Bu hücrelerde çekirdek içinde DNA tamamen bitmiştir ve çekirdek hayalet benzeri görünüme sahiptir.
- Feulgen boyası görülmez. Bu hücrelerde çekirdek bulunmamaktadır. (Thomas P. ve Fenech M. 2011)

3.6. İstatiksel Analiz

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen istatistiksel analizlerin tamamı için açık kaynak kodlu R yazılımı kullanılmıştır[R, 2018]. Veri setinde bulunan sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama (standart sapma) ve ortanca (min-maks) olarak, kategorik değişkenler için sıklık(%) olarak hesaplanmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyum gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile araştırılmıştır. Bu testin sonucuna göre, normal dağılıma uyum gösteren değişkenlerin analizleri t-test ve ikiden fazla grup için ANOVA kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uymama durumunda ise analizler için parametrik olmayan testlerden Mann-Whitney U ve Wilcoxon İşaret testi, ikiden fazla grup karşılaştırması için Kruskal Wallis kullanılmıştır. Veri setinde yer alan kategorik verilerin analizleri Pearson ki-kare testi ile gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığı Spearman'ın Korelasyon testiyle araştırılmıştır (İnternet o).

4. BULGULAR

4.1. Çocukların Demografik Özellikleri

Yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom değerlendirilmesi yapılan çocukların 88'i Tunçbilek/Gürağaç (T) bölgesindeki 3 ilkokuldan Gürağaç İlkolulu (G) , Işık İlkokulu (I), Atatürk İlkokulu (A) 60 tanesi ise Kütahya Merkez'de (KM) yer alan Linyit İlkokulundandır (L). Araştırmaya dahil edilen çocukların demografik özelliklerinden bazıları, yaşadıkları iki ayrı bölge olan Tunçbilek ve Kütahya Merkez'i tanımlamak üzere Çizelge 4.1'de, örneklemenin yapıldığı farklı okulları tanımlamak üzere de Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Kız ve erkek dağılımı, yaş, VKİ, son bir yılda aşı olanlar ve son 3 ayda röntgen çekimi, iki bölgedeki çocuklar arasında anlamlı fark yoktur ancak anne ve/ya da babanın sigara içmesi iki bölgede anlamlı fark göstermiştir ($p>0.05$, Çizelge 4.1). Günlük içilen su miktarları, okula veya ya da motorlu taşıtla ulaşım iki grupta benzerdir($p>0.05$). T'de çocukların %57'si, KM'de ise %52'si okula veya gitmektedir.

Çizelge 4.1. Tunçbilek ve Kütahya Merkez'de yaşayan çocukların demografik özellikleri

	Tunçbilek/ Gürağaç (T) (n=88)	Kütahya Merkez (KM) (n=60)	Toplam (n=148)
Yaş			
Ort.(SS)	8.75 (0.73)	8.56 (0.44)	8.67 (0.63)
Medyan [Min, Maks]	8.70 [7.45, 10.0]	8.56 [7.67, 9.98]	8.63 [7.45, 10.0]
VKİ			
Ort.(SS)	17.6 (3.58)	17.6 (3.20)	17.6 (3.42)
Medyan [Min, Maks]	16.5 [9.76, 28.9]	17.1 [10.3, 28.2]	16.9 [9.76, 28.9]
Cinsiyet			
Kız	50 (56.8%)	26 (43.3%)	76 (51.4%)
Erkek	38 (43.2%)	34 (56.7%)	72 (48.6%)
Ebeveynin sigara içmesi^{*,**}			
Evet	63 (71.6%)	32 (53.3%)	95 (64.2%)
Hayır	25 (28.4%)	28 (46.7%)	53 (35.8%)
Aşı geçmişi (12 ay)			
Evet	3 (3.4%)	1 (1.7%)	4 (2.7%)
Hayır	85 (96.6%)	59 (98.3%)	144 (97.3%)
Röntgen maruziyeti (Son 3 ay)			
Evet	8 (9.1%)	13 (21.7%)	21 (14.2%)
Hayır	80 (90.9%)	47 (78.3%)	127 (85.8%)

*Anne ya da babası ya da her ikisi sigara içen çocuklara ait bilgidir. **;ki kare testi ile iki bölgedeki bireylerin dağılımı uyumlu değildir ($p=0.04$). VKİ: Vücut kitle indeksi, Ort.(SS):Ortalama (Standart Sapma), Min: Minimum değer, Maks:Maksimum değer.

Kız ve erkek dağılımı, VKİ, anne ve/ya da babanın sigara içmesi, son bir yılda aşı olanlar ve son 3 ayda röntgen çekimi açısından, dört okuldaki çocuklar arasında anlamlı fark yoktur ancak yaş ortalamaları 4 okul arasında anlamlı fark göstermiştir ($p<0.05$, Çizelge 4.2). Günlük içilen su miktarları okullar arasında benzerdir. Okula yaya ya da motorlu taşıtla ulaşım dağılımı da dört okul arasında anlamlı fark göstermektedir ($p<0.001$, ki kare testi). G’de bütün çocuklar yaya okula giderken, diğer okullarda oran; A’da %76, I’da %6, L’de ise %53’dür.

Çizelge 4.2. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocukların okullara göre demografik özellikleri

	Tunçbilek/Gürağaç (T)			Kütahya Merkez
	Gürağaç İlkokulu (G) (n=37)	Atatürk İlkokulu (A) (n=18)	Işık İlkokulu (I) (n=33)	Linyit İlkokulu (L) (n=60)
Cinsiyet				
Kız	27 (73.0%)	9 (50.0%)	14 (42.4%)	26 (43.3%)
Erkek	10 (27.0%)	9 (50.0%)	19 (57.6%)	34 (56.7%)
Yaş (yıl)				
Ort (SS)	8.75 (0.755)	9.55 (0.252) ^a	8.31 (0.449) ^{a,b}	8.56 (0.437) ^{b,c}
Med [Min, Maks]	8.77 [7.45, 10.0]	9.54 [9.13, 9.92]	8.37 [7.49, 8.92]	8.56 [7.67, 9.98]
VKİ				
Ort (SS)	17.8 (3.81)	16.8 (2.62)	17.7 (3.80)	17.6 (3.20)
Med [Min, Maks]	18.1 [9.76, 26.1]	16.3 [11.7, 21.6]	16.1 [13.2, 28.9]	17.1 [10.3, 28.2]
Sigara (E/H)*				
Evet	27 (73.0%)	14 (77.8%)	22 (66.7%)	32 (53.3%)
Hayır	10 (27.0%)	4 (22.2%)	11 (33.3%)	28 (46.7%)
Aşı (E/H)				
Evet	0 (0%)	1 (5.6%)	2 (6.1%)	1 (1.7%)
Hayır	37 (100%)	17 (94.4%)	31 (93.9%)	59 (98.3%)
Röntgen(E/H)				
Evet	3 (8.1%)	1 (5.6%)	4 (12.1%)	13 (21.7%)
Hayır	34 (91.9%)	17 (94.4%)	29 (87.9%)	47 (78.3%)

*Anne ya da babası ya da her ikisi sigara içen çocuklara ait bilgidir.

VKİ: Vücut Kitle İndeksi, Ort.(SS):Ortalama(Standart Sapma), Min:Minimum değer, Maks:Maksimum Değer,^a, Gürağaç İlkokulu’na karşı, ^b,Atatürk İlkokulu’na karşı, ^c,Işık İlkokuluna karşı fark anlamlıdır ($p<0.05$).

4.2. Örneklem Bölgelerine ve Okullara Göre Eksfoliye Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekerdek Sitom Yöntemine Ait Veriler

İki örneklem bölgesi olan T ve KM’de çocukların yanak epitel hücrelerinde genotoksisite gösterge sıklıkları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Mikroçekerdekli hücre (MÇ’li

hücre) sıklıkları ve mikroçekirdek (MÇ) benzerdir ($p>0.05$). Aynı şekilde, nükleer tomurcuk (NT) sıklığı da iki bölgede fark göstermemiştir ($p>0.05$).

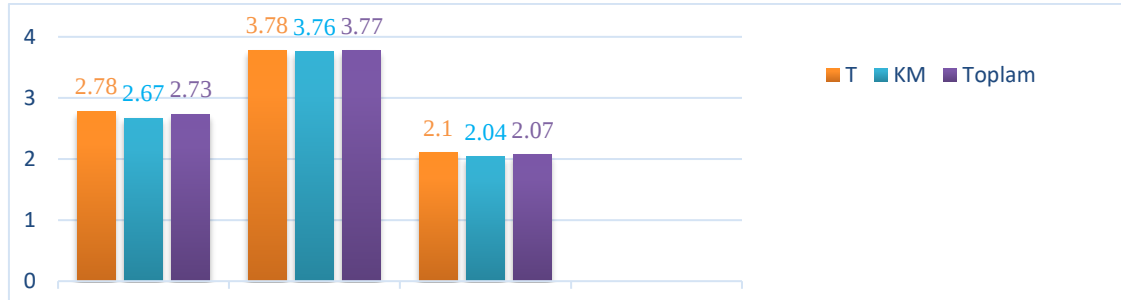
Çizelge 4.3. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliyeye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin bölgelere göre dağılımı

	Tunçbilek (T) (n=88)	Kütahya Merkez (KM) (n=60)	Toplam (n=148)
MÇ’li hücre(‰)*			
Ortalama (SS)	2.78 (1.74)	2.67 (1.91)	2.73 (1.80)
Medyan [Min, Maks]	2.50 [0.500, 8.00]	2.00 [0.00, 10.0]	2.50 [0.00, 10.0]
MÇ(‰)*			
Ortalama (SS)	3.78 (2.44)	3.76 (2.70)	3.77 (2.54)
Medyan [Min, Maks]	3.50 [0.500, 10.5]	3.00 [0.00, 14.5]	3.00 [0.00, 14.5]
NT(‰)*			
Ortalama (SS)	2.10 (1.35)	2.04 (1.01)	2.07 (1.22)
Medyan [Min, Maks]	2.00 [0.00, 6.50]	2.00 [0.500, 4.00]	2.00 [0.00, 6.50]

*2000 differensiye hücre değerlendirmeye alındığında elde edilen değerlerdir.

SS:Standart Sapma, Min: Minimum değer, Maks:Maksimum değer, Kromozom hasar göstergeleri (genotoksisite); MÇ’li hücre:Mikroçekirdekli hücre, MÇ:Mikroçekirdek, NT: Nükleer tomurcuk

Şekil 4.1 Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliyeye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin bölgelere göre dağılımı.



Kromozom hasar göstergeleri (genotoksisite); MÇ’li hücre:Mikroçekirdekli hücre, MÇ:Mikroçekirdek, NT: Nükleer tomurcuk, T:Tunçbilek, KM:Kütahya Merkez

T bölgesinde yanak epitel hücrelerinde genotoksisite parametrelerle ilgili korelasyon analizi yapıldığında, Spearman’ın korelasyon katsayısına göre oluşturulan korelasyon matrisinde (Şekil 4.2) NT ile VKİ ve NT ile günlük sigara tüketimi arasında çok yüksek olmamakla birlikte anlamlı bir ilişki olduğu %95 güven düzeyinde söylenebilir. Buna göre, NT değerleri artarken VKİ azalmakta, günlük sigara tüketim miktarı arttıkça NT değerleri de artmaktadır. T’de, NT ile VKİ arasında ($r=-0.33$) ve NT ile günlük sigara tüketimi arasında ($r=0.24$) anlamlı bir ilişki vardır ($p<0.05$).

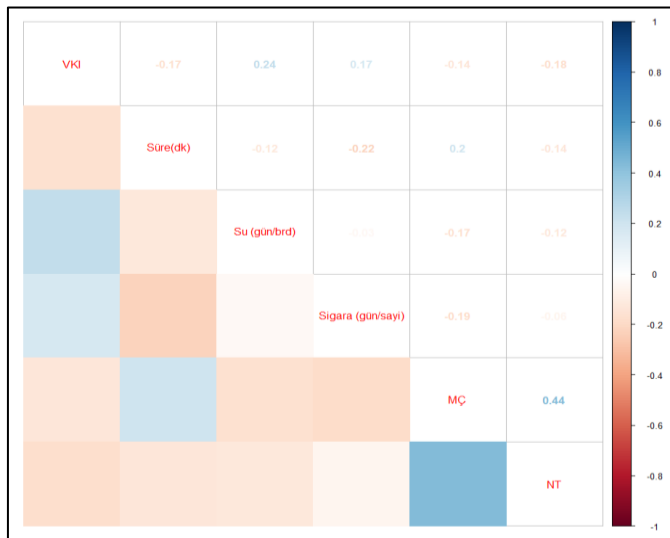
Şekil 4.2. Tunçbilek bölgesinde; ebeveyn sigara tüketimi, VKİ, su tüketiminin MÇ ve NT ile ilişkisi



VKİ:Vücut kitle indeksi, MÇ:Mikroçekirdek, NT:Nükleer tomurcuk.

KM bölgesinde yanak epitel hücrelerinde genotoksisite parametrelerle ilgili korelasyon analizi yapıldığında, Spearman'ın korelasyon katsayısına göre oluşturulan korelasyon matrisinde (Şekil 4.3) demografik özellikler ile MÇ ve NT arasında ilişki olup olmadığı verilmektedir. Buna göre sadece MÇ ve NT arasında istatistiksel olarak anlamlı olan aynı yönlü bir ilişkinin varlığı %95 güven ile söylenebilir ($r=0.44$ ve $p<0.05$) . MÇ ve NT ile diğer demografik özellikler arasında herhangi bir anlamlı ilişki gözlenmemiştir.

Şekil 4.3.Kütahya Merkez bölgesinde; Ebeveyn sigara tüketimi, VKİ, su tüketiminin MÇ ve NT ile ilişkisi



VKİ:Vücut kitle indeksi, MÇ:Mikroçekirdek, NT:Nükleer tomurcuk

İki örneklem bölgesinde çocukların yanak epitel hücrelerinde proliferasyon ve hücre ölümü gösterge sıklıkları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Karyolitik(KL), karyohektik(KH), binükleotik(BN) ve piknotik(P) hücre sıklıkları; Tunçbilek bölgesinde, Kütahya Merkez bölgesine göre anlamlı olarak artmıştır (sırasıyla, $p=0.02$, $p=0.001$, $p=0.003$, $p<0.001$).

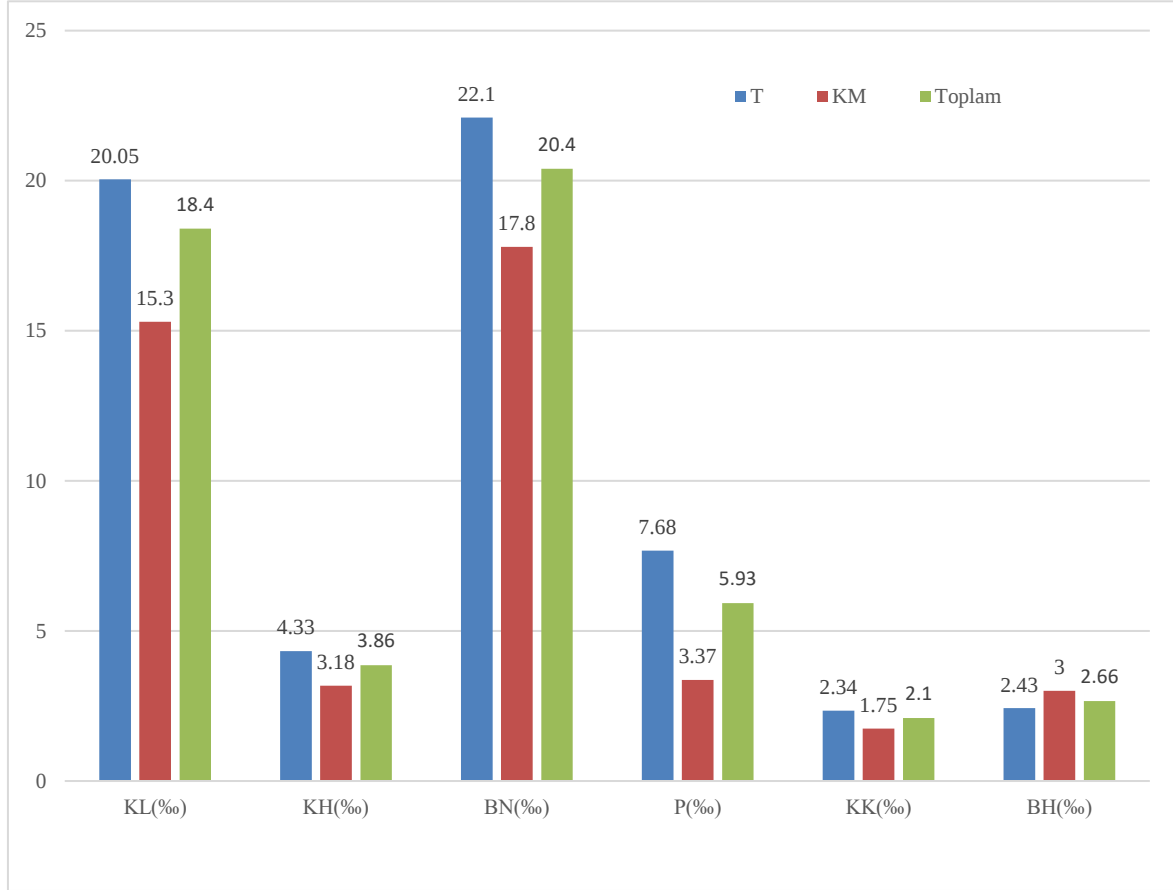
Çizelge 4.4. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin bölgelere göre dağılımı

	Tunçbilek (T) (n=88)	Kütahya Merkez (KM) (n=60)	Toplam (n=148)
BH(‰)			
Ortalama (SS)	2.43 (2.00)	3.00 (2.12)	2.66 (2.06)
Medyan [Min, Maks]	2.00 [0.00, 7.00]	3.00 [0.00, 8.00]	2.00 [0.00, 8.00]
KK(‰)			
Ortalama (SS)	2.34 (1.95)	1.75 (1.70)	2.10 (1.87)
Medyan [Min, Maks]	2.00 [0.00, 8.00]	1.00 [0.00, 6.00]	2.00 [0.00, 8.00]
KL(‰)^a			
Ortalama (SS)	20.5 (13.9)	15.3 (11.8)	18.4 (13.3)
Medyan [Min, Maks]	18.0 [1.00, 61.0]	12.0 [0.00, 56.0]	15.5 [0.00, 61.0]
KH(‰)^a			
Ortalama (SS)	4.33 (3.07)	3.18 (3.66)	3.86 (3.36)
Medyan [Min, Maks]	4.00 [0.00, 17.0]	2.00 [0.00, 18.0]	3.00 [0.00, 18.0]
BN(‰)^a			
Ortalama (SS)	22.1 (9.08)	17.8 (6.20)	20.4 (8.29)
Medyan [Min, Maks]	20.0 [6.00, 54.0]	17.0 [7.00, 40.0]	19.0 [6.00, 54.0]
P(‰)^a			
Ortalama (SS)	7.68 (3.47)	3.37 (2.58)	5.93 (3.78)
Medyan [Min, Maks]	7.00 [1.00, 17.0]	3.00 [0.00, 11.0]	5.00 [0.00, 17.0]

^a, İki bölge arasında değişim istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).

SS:Standart Sapma, Min: Minimum değer, Maks:Maksimum değer, Proliferasyon göstergeleri; BH:Bazal hücre, BN:Binükleer hücre, Hücre ölümü göstergeleri; KK:Kondes kromatin, KL: Karyolitik, KH:karyohektik, P:Piknotik

Şekil 4.4. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin bölgelere göre dağılımı



BH:Bazal hücre, BN:Binükleer hücre, Hücre ölümü göstergeleri; KK:Kondes kromatin, KL: Karyolitik, KH:karyohektik, P:Piknotik, T:Tunçbilek, KM:Kütahya Merkez

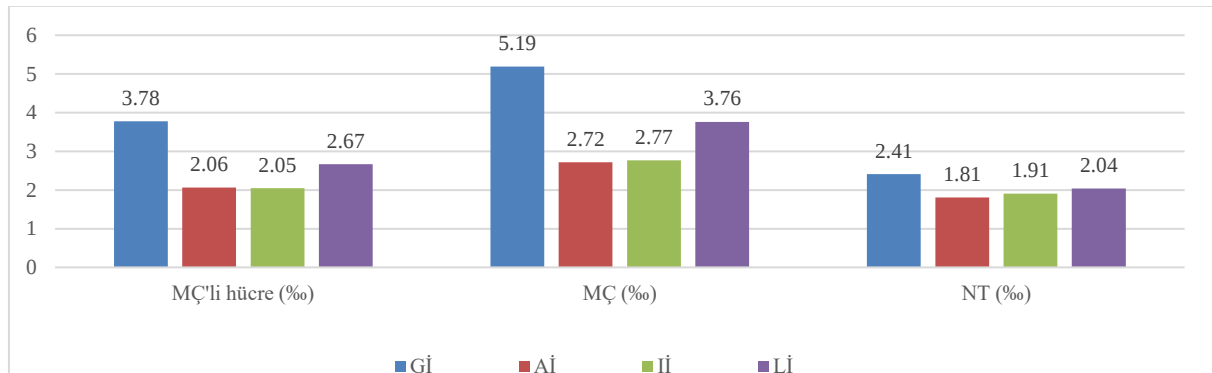
Çocukların yanak epitellerindeki genotoksisite göstergelerinin iki örneklem bölgesinde yer alan her bir okuldaki sıklıkları Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5’de gösterilmiştir. MÇ’li hücre sıklığı Tunçbilek G’de; diğer Tunçbilek okulları olan A ve I’ya ve Kütahya Merkezdeki L’ye göre anlamlı olarak artmıştır (sırasıyla, $p=0.003$, $p=0.001$, $p=0.007$). Aynı şekilde, MÇ sıklığı Tunçbilek G’de; A, I ve L’ye göre anlamlı olarak artmıştır (sırasıyla, $p=0.001$, $p<0.001$, $p=0.003$).

Çizelge 4.5. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin okullara göre dağılımı

	Tunçbilek (T)			Kütahya Merkez (KM)
	Gürağaç İ.(n=37)	Atatürk İ.(n=18)	Işık İ.(n=33)	Linyit İ. (n=60)
MÇ’li hücre(%)*				
Ort(SS)	3.78 (1.93)	2.06 (1.25) ^a	2.05 (1.08) ^a	2.67 (1.91) ^a
Med[Min , Maks]	3.50 [0.500, 8.00]	2.00 [0.500, 5.50]	2.00 [0.500, 4.50]	2.00 [0.00, 10.0]
MÇ(%)*				
Ort(SS)	5.19 (2.60)	2.72 (1.88) ^a	2.77 (1.66) ^a	3.76 (2.70) ^a
Med[Min , Maks]	5.00 [0.500, 10.5]	2.75 [0.500, 7.00]	2.50 [0.500, 6.00]	3.00 [0.00, 14.5]
NT(%)*				
Ort(SS)	2.41 (1.54)	1.81 (1.20)	1.91 (1.15)	2.04 (1.01)
Med[Min , Maks]	2.00 [0.00, 6.50]	1.75 [0.00, 4.00]	1.50 [0.500, 5.00]	2.00 [0.500, 4.00]

^a, Gürağaç İlkokuluna göre; ^b, Atatürk İlkokuluna göre; ^c, 60.yıl Işık İlkokuluna göre değişim istatistiksel olarak anlamlı değişmiştir (p<0.05). *2000 differensiye hücre değerlendirmeye alındığında elde edilen değerlerdir. İ:İlkokul , Ort:Ortalama , SS:Standart sapma , Med:Medyan , Min:Minimum değer, Maks: Maksimum değer, Kromozom hasar göstergeleri (genotoksisite); MÇ’li hücre:Mikroçekirdekli hücre, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk.

Şekil 4.5. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait kromozom hasar (genotoksisite) göstergelerinin okullara göre dağılımı



MÇ'li hücre:Mikroçekirdekli hücre, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk, Gİ:Gürağaç İlkokulu, Aİ: Atatürk İlkokulu, İİ: Işık İlkokulu, Lİ: Linyit İlkokulu.

Her bir okuldaki çocukların yanak epitellerindeki proliferasyon ve hücre ölümü göstergelerinin sıklıkları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6’da gösterilmiştir. KH ve P hücre sıklıkları; Tunçbilek okullarında (G, A ve I), Kütahya Merkez okuluna (L) göre anlamlı olarak artmıştır (sırasıyla, $p=0.04$, $p<0.001$). P hücre sıklığı; I’da, G’ye göre anlamlı olarak artmıştır ($p=0.02$). KL, BN hücre sıklıkları ise; G’de, I’ya göre (sırasıyla, $p=0.011$, $p=0.001$) ve L’ye göre (sırasıyla, $p=0.003$, $p<0.001$) anlamlı olarak artmıştır.

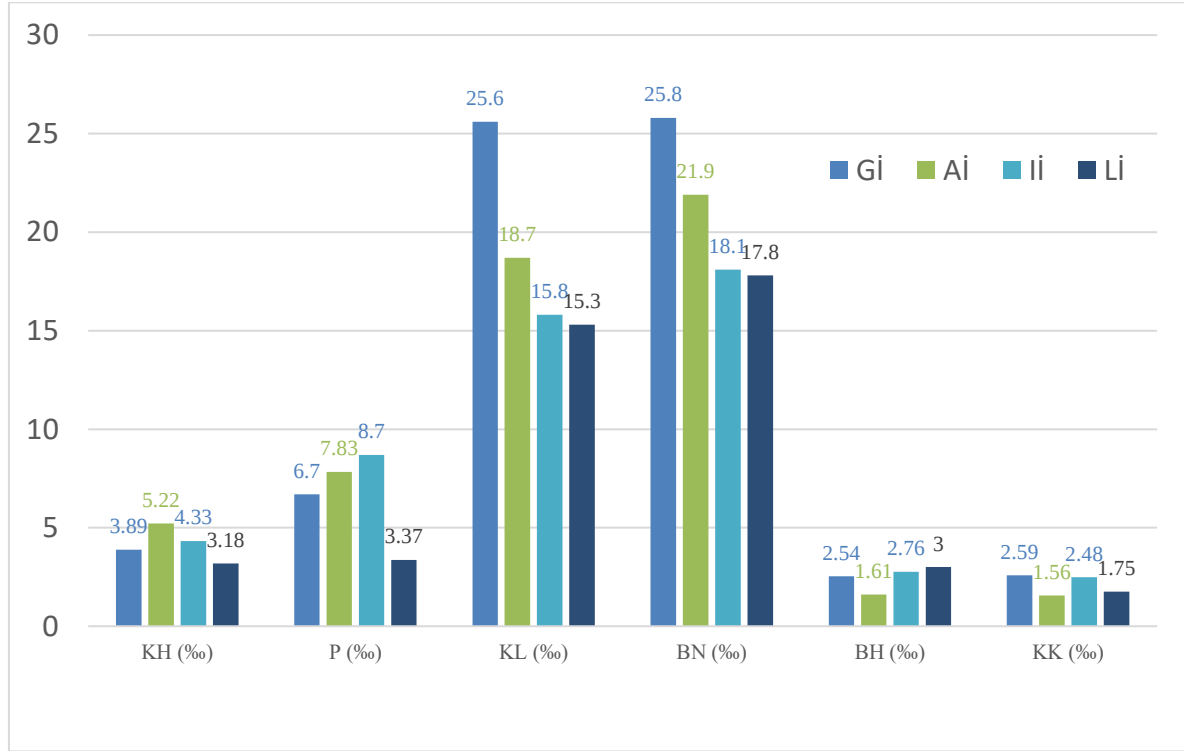
Çizelge 4.6. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin okullara göre dağılımı

	Tunçbilek (T)			Kütahya Merkez (KM)
	Gürağaç İ.(n=37)	Atatürk İ.(n=18)	Işık İ.(n=33)	Linyit İ. (n=60)
BH(‰)				
Ort(SS)	2.54 (1.99)	1.61 (1.94)	2.76 (1.98)	3.00 (2.12)
Med[Min, Maks]	3.00 [0.00, 7.00]	1.00 [0.00, 6.00]	3.00 [0.00, 7.00]	3.00 [0.00, 8.00]
KK(‰)				
Ort(SS)	2.59 (1.89)	1.56 (1.34)	2.48 (2.21)	1.75 (1.70)
Med [Min, Maks]	3.00 [0.00, 8.00]	1.00 [0.00, 4.00]	2.00 [0.00, 7.00]	1.00 [0.00, 6.00]
KL(‰)				
Ort(SS)	25.6 (14.9)	18.7 (10.9)	15.8 (12.4) ^a	15.3 (11.8) ^a
Med[Min, Maks]	24.0 [1.00, 61.0]	17.5 [5.00, 47.0]	12.0 [3.00, 59.0]	12.0 [0.00, 56.0]
KH(‰)				
Ort(SS)	3.89 (2.47)	5.22 (4.10)	4.33 (3.02)	3.18 (3.66) ^{a,b,c}
Med[Min, Maks]	4.00 [0.00, 11.0]	4.00 [0.00, 17.0]	4.00 [0.00, 11.0]	2.00 [0.00, 18.0]
BN(‰)				
Ort(SS)	25.8 (10.3)	21.9 (8.64)	18.1 (5.81) ^a	17.8 (6.20) ^a
Med[Min, Maks]	24.0 [11.0, 54.0]	20.0 [10.0, 37.0]	17.0 [6.00, 34.0]	17.0 [7.00, 40.0]
P(‰)				
Ort(SS)	6.70 (3.28)	7.83 (4.33)	8.70 (2.90) ^a	3.37 (2.58) ^{a,b,c}
Med[Min, Maks]	6.00 [1.00, 13.0]	7.00 [2.00, 17.0]	10.0 [4.00, 17.0]	3.00 [0.00, 11.0]

^a, Gürağaç İlkokulu’na göre; ^b, Atatürk İlkokulu’na göre; ^c, 60.yıl Işık İlkokulu’na göre değişim istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$).

İ:İlkokul, Ort:Ortalama, SS:Standart sapma, Med:Medyan Min:Minimum, Maks:Maksimum, Proliferasyon göstergeleri; BH:Bazal hücre, BN:Binükleer hücre, Hücre ölümü göstergeleri; KK:Kondens kromatin, KL:Karyolitik, KH:Karyohektik, P:Piknotik.

Şekil 4.7. Tunçbilek ve Kütahya’da yaşayan çocuklarda eksfoliye yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sitom yöntemine ait proliferasyon ve hücre ölüm göstergelerinin okullara göre dağılımı



Proliferasyon göstergeleri; BH:Bazal hücre, BN:Binükleer hücre, Hücre ölümü göstergeleri; KK:Kondens kromatin, KL:Karyolitik, KH:Karyohektik, P:Piknotik, Gİ:Gürağaç İlkokulu, Aİ: Atatürk İlkokulu, İİ: Işık İlkokulu, Lİ: Linyit İlkokulu.

4.3. Örneklem Bölgelerine ve Okullara Göre Solunum Fonksiyon Testi ve Bireysel Örnekleme Ait Veriler

Çizelge 4.7’de solunum fonksiyon testinde (SFT) her bir çocukta ölçülen, zorlu ekspirasyon ortası hava akım hızı ($FEF_{25/75}$) , birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon hacmi (FEV_1) , tepe akım hızı (PEF) parametrelerinin, T ve KM’e göre dağılımları gösterilmiştir. Çocuklara ait SFT verilerinde bölgeler arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Çizelge 4.8’de ise her bir okuldaki çocuklara ait SFT verileri gösterilmiştir. Okullar arası farklılık sadece, FEV_1/FVC (tiffeneau oranı) değeri için G ile I okulu arasında anlamlıdır ($p=0.03$).

Çizelge 4.8. Solunum Fonksiyon testlerinin bölgelere göre dağılımı

	Tunçbilek (n=88)	Kütahya (n=60)	Toplam (n=148)
$FEF_{25/75}$			
Ortalama (SS)	2.08 (0.495)	2.09 (0.741)	2.08 (0.605)
Medyan [Min, Maks]	2.10 [0.789, 3.28]	2.11 [0.221, 3.66]	2.11 [0.221, 3.66]
Missing	9 (10.2%)	5 (8.3%)	14 (9.5%)
FEV_1			
Ortalama (SS)	1.86 (0.303)	1.84 (0.429)	1.85 (0.359)
Medyan [Min, Maks]	1.87 [1.13, 2.53]	1.86 [0.370, 2.82]	1.87 [0.370, 2.82]
PEF			
Ortalama (SS)	3.98 (0.712)	4.12 (0.920)	4.04 (0.804)
Medyan [Min, Maks]	3.95 [2.55, 6.03]	4.15 [1.35, 6.74]	4.10 [1.35, 6.74]
FEV_1/FVC			
Ortalama (SS)	0.848 (0.0533)	0.828 (0.117)	0.840 (0.0857)
Medyan [Min, Maks]	0.856 [0.662, 0.959]	0.848 [0.301, 0.959]	0.855 [0.301, 0.959]

Ort.Ortalama , SS:Standart sapma, Med:Medyan, Min:Minimum, Maks:Maksimum, $FEF_{25/75}$:Zorlu ekspirasyon ortası hava akım hızı, FEV_1 : Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon hacmi, PEF: Tepe akım hızı.

Çizelge 4.9. Solunum Fonksiyon testlerinin okullara göre sonuçları

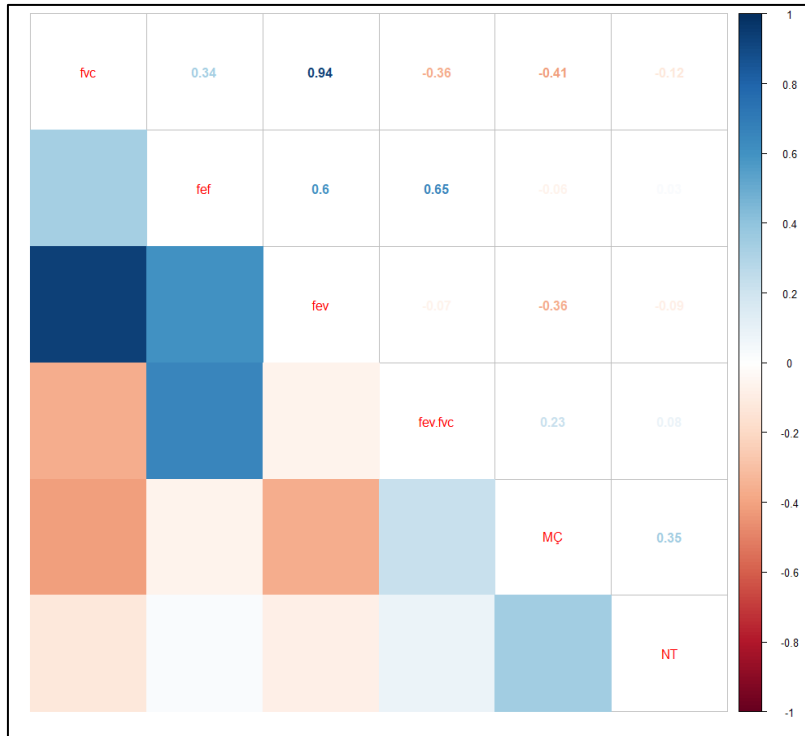
	Tunçbilek			Kütahya
	Gürağaç (n=37)	Atatürk (n=18)	60.yıl (n=33)	Linyit (n=60)
FEF_{25/75}				
Ortalama (SS)	2.23 (0.478)	2.04 (0.483)	1.90 (0.475)	2.09 (0.741)
Medyan [Min, Maks]	2.24 [1.22, 3.28]	2.06 [0.789, 2.96]	1.98 [1.05, 2.70]	2.11 [0.221, 3.66]
Kayıp	3 (8.1%)	1 (5.6%)	5 (15.2%)	5 (8.3%)
FEV₁				
Ortalama (SS)	1.87 (0.354)	1.93 (0.223)	1.81 (0.275)	1.84 (0.429)
Medyan [Min, Maks]	1.89 [1.13, 2.50]	1.94 [1.54, 2.52]	1.80 [1.38, 2.53]	1.86 [0.370, 2.82]
Kayıp	3 (8.1%)	1 (5.6%)	5 (15.2%)	5 (8.3%)
PEF				
Ortalama (SS)	4.05 (0.730)	4.03 (0.566)	3.87 (0.778)	4.12 (0.920)
Medyan [Min, Maks]	4.17 [2.55, 5.94]	3.91 [3.34, 5.11]	3.73 [2.59, 6.03]	4.15 [1.35, 6.74]
Kayıp	3 (8.1%)	1 (5.6%)	5 (15.2%)	5 (8.3%)
FEV₁/FVC				
Ortalama (SS)	0.868 (0.0425)	0.834 (0.0665)	0.831 (0.0495) ^a	0.828 (0.117)
Medyan [Min, Maks]	0.868 [0.782, 0.959]	0.856 [0.662, 0.918]	0.842 [0.724, 0.904]	0.848 [0.301, 0.959]
Kayıp	3 (8.1%)	1 (5.6%)	5 (15.2%)	5 (8.3%)

^a, Gürağaç İlkokuluna karşı istatistiksel anlamlı değişim (p<0.05).

Ort.Ortalama, SS:Standart sapma, Med:Medyan, Min:Minimum, Maks:Maksimum, FEF_{25/75} : Zorlu ekspirasyon ortası hava akım hızı, FEV₁: Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon hacmi, PEF: Tepe akım hızı.

T bölgesinde, Solunum fonksiyonları ile MÇ ve NT arasında ilişki olup olmadığını araştırmak için Spearman'ın korelasyon katsayısına göre oluşturulan korelasyon matrisinde (Şekil 4.7), MÇ ile FVC, FEV₁ ve FEV₁/FVC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu %95 güven ile söylenebilir. Söz konusu ilişki MÇ ile FVC ($r=-0.41$), ve MÇ ile FEV₁ ($r=-0.36$) arasında ters yönlü iken, MÇ ile FEV₁.FVC ($r=0.23$) arasında aynı yönlüdür (Şekil 4.7).

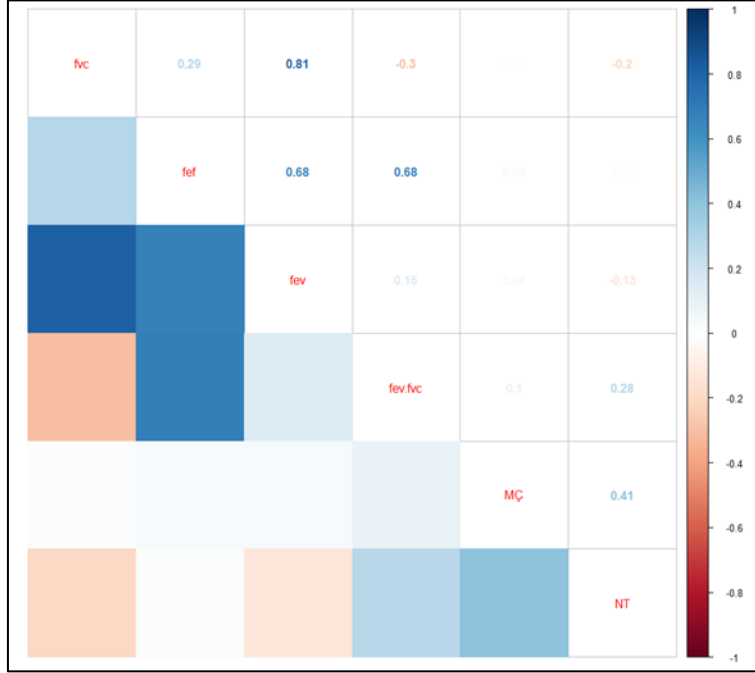
Şekil 4.7. Tunçbilek bölgesinde; SFT verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi



FVC :Zorlu Vital Kapasite, FEV₂₅₋₇₅:Zorlu ekspirasyon ortası hava akımı, FEV₁/FVC], FEV₁: Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk.

KM bölgesinde yine Solunum fonksiyonları ile MÇ ve NT arasında ilişki olup olmadığını araştırmak için yine Spearman Korelasyon katsayısı hesaplanmış ve aşağıdaki korelasyon matrisi oluşturulmuştur (Şekil.4.8) . Buna göre, istatistiksel olarak anlamlı ilişki yalnızca NT ile FEV₁/FVC arasında ($r=0.28$) aynı yönlü olarak %95 güven aralığı ile gözlenmiştir (Şekil4.8).

Şekil 4.8. Kütahya Merkez bölgesinde; SFT verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi



FVC :Zorlu Vital Kapasite, FEF₂₅₋₇₅:Zorlu ekspirasyon ortası hava akımı, FEV₁/FVC], FEV₁: Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü, MÇ:Mikroçekerdek , NT:Nükleer tomurcuk.

Çocuklarda yapılan bireysel örneklemede, Tunçbilek ve Kütahya Merkezde değerlerin dağılımı Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Ozon (O₃) ve Sülfür dioksit (SO₂) değerleri, T’de, KM’ye göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.001). Azot dioksit (NO₂) değerleri ise KM’de, T’ye göre anlamlı düzeyde yüksektir(p<0.001).

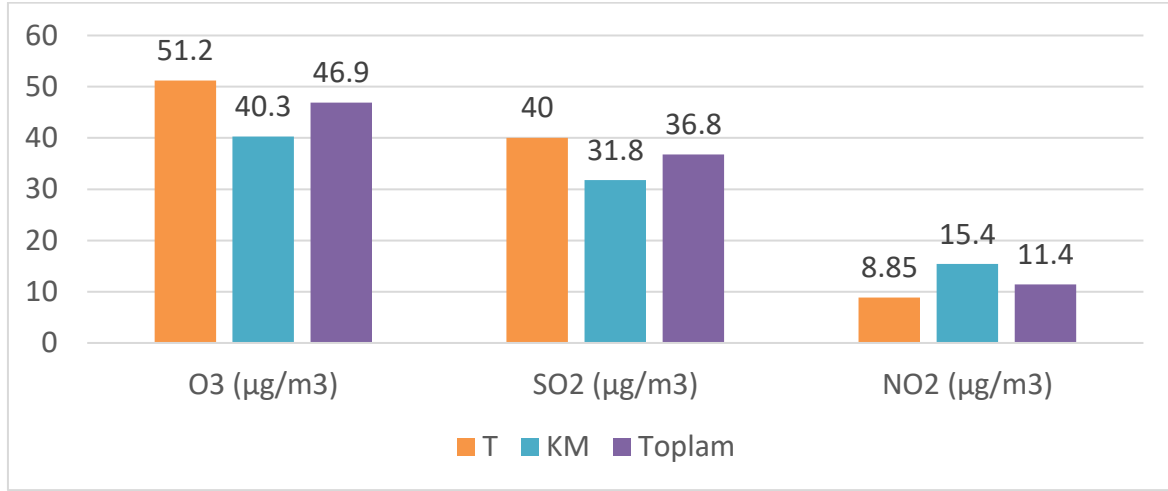
Çizelge 4.10. Bireysel örnekleycilere ait sonuçların bölgelere göre dağılımı

	Tunçbilek (n=88)	Kütahya (n=60)	Toplam (n=148)
O₃^a µg/m³			
Ortalama (SS)	51.2 (19.7)	40.3 (14.1)	46.9 (18.5)
Medyan [Min, Maks]	46.4 [9.91, 102]	37.5 [21.5, 90.3]	41.6 [9.91, 102]
NO₂^a µg/m³			
Ortalama (SS)	8.85 (4.61)	15.4 (5.97)	11.4 (6.10)
Medyan [Min, Maks]	7.35 [3.02, 25.9]	14.8 [4.16, 42.4]	10.4 [3.02, 42.4]
SO₂^a µg/m³			
Ortalama (SS)	40.0 (16.4)	31.8 (11.8)	36.8 (15.2)
Medyan [Min, Maks]	35.2 [16.0, 104]	28.4 [20.6, 89.0]	32.5 [16.0, 104]

^a, Tunçbilek ve Kütahya Merkez arasında istatistiksel anlamlı değişim(p<0.05)

Ort.Ortalama , SS:Standart sapma , Med:Medyan Min:Minimum , Maks:Maksimum , O₃:Ozon , SO₂ :Sülfür dioksit , NO₂:Azot dioksit.

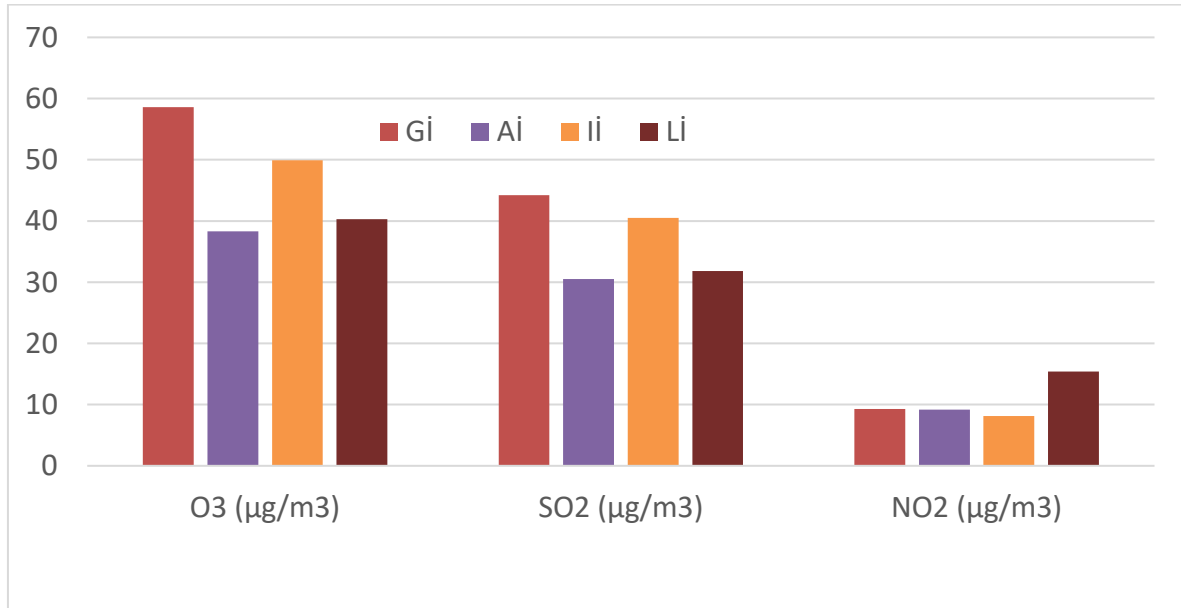
Şekil 4.11. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların bölgelere göre dağılımı



O₃:Ozon , SO₂ :Sülfür dioksit , NO₂:Azot dioksit., T:Tunçbilek, KM:Kütahya Merkez

Çocuklarda yapılan bireysel örnekleme, okullara göre değerlerin dağılımı Şekil 4.10 ve Çizelge 4.10'de gösterilmiştir. O₃ değerleri, G'de A'ya ve L'ye göre anlamlı artış göstermiştir ($p < 0.001$). NO₂ değerleri, G'de, A'da ve I'da, Kütahya Merkeze(L) göre anlamlı düzeyde düşüktür($p < 0.001$). SO₂ değerleri, G'de, A'ya ve L'ye göre anlamlı yükselmiştir ($p < 0.001$). SO₂ değerleri, I'da, A'ya ve Kütahya merkeze göre anlamlı yükselmiştir(sırasıyla, $p = 0.008$, $p < 0.001$).

Şekil 4.12. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların okullara göre dağılımı



O₃:Ozon , SO₂ :Sülfür dioksit , NO₂:Azot dioksit, Gİ:Gürağaç İlkokulu, Aİ: Atatürk İlkokulu, İİ: Işık İlkokulu, Lİ: Linyit İlkokulu.

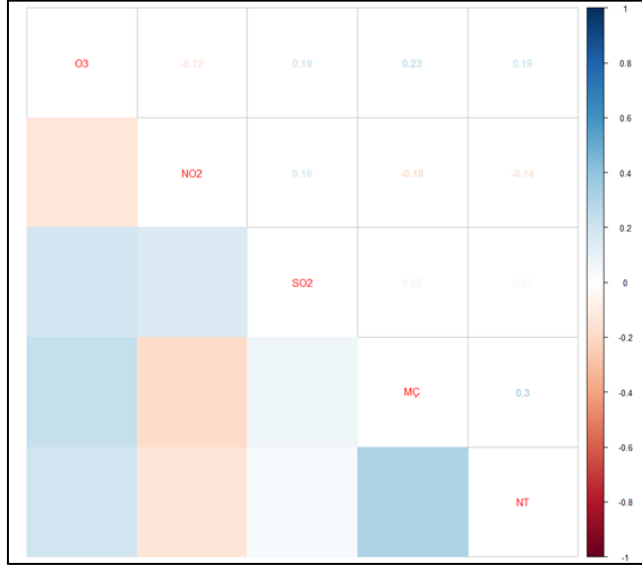
Çizelge 4.13. Bireysel örnekleyicilere ait sonuçların okullara göre dağılımı

	Tunçbilek			Kütahya
	Gürağaç (G) (n=37)	Atatürk(A) (n=18)	Işık (I) (n=33)	Linyit (L) (n=60)
O₃ µg/m³				
Ort (SS)	58.6 (18.2)	38.3 (7.99) ^a	49.9 (22.4)	40.3 (14.1) ^a
Medyan [Min, Maks]	55.0 [31.1, 102]	38.3 [22.0, 54.1]	43.8 [9.91, 102]	37.5 [21.5, 90.3]
Kayıp	0 (0%)	0 (0%)	3 (9.1%)	4 (6.7%)
NO₂ µg/m³				
Ortalama (SS)	9.28 (5.87)	9.16 (3.88)	8.15 (3.11)	15.4 (5.97) ^{a,b,c}
Medyan [Min, Maks]	7.02 [3.02, 25.9]	8.85 [3.26, 18.7]	6.90 [4.29, 18.3]	14.8 [4.16, 42.4]
Kayıp	0 (0%)	0 (0%)	2 (6.1%)	4 (6.7%)
SO₂ µg/m³				
Ortalama (SS)	44.2 (17.5)	30.5 (4.63) ^a	40.5 (17.5) ^b	31.8 (11.8) ^{a,c}
Medyan [Min, Maks]	36.5 [20.6, 101]	29.6 [24.8, 40.5]	36.0 [16.0, 104]	28.4 [20.6, 89.0]
Kayıp	0 (0%)	0 (0%)	2 (6.1%)	4 (6.7%)

^a, Gürağaç İlkokulu'na göre; ^b, Atatürk İlkokulu'na göre; ^c, 60.yıl Işık İlkokulu'na göre değişim istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05); O₃:Ozon, SO₂:Sülfür dioksit, NO₂:Azot dioksit.

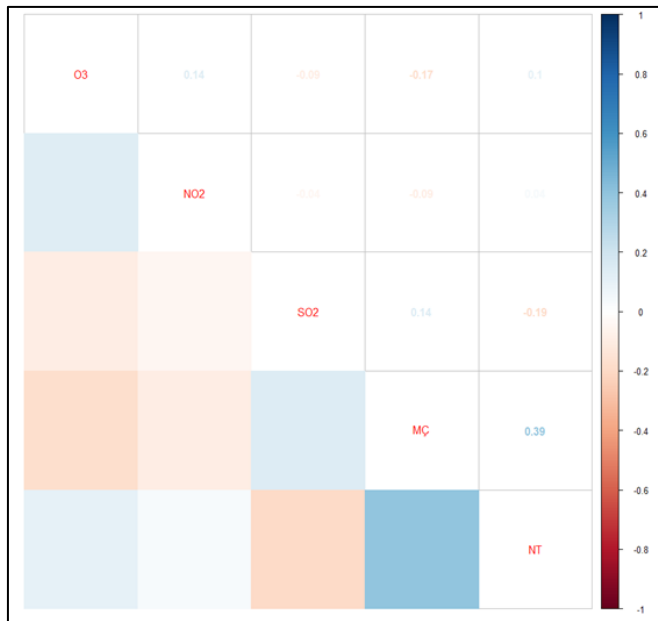
Tunçbilek bölgesinde bireysel örnekleyici verileri ile MÇ ve NT arasındaki olup olmadığını araştırmak için oluşturulan korelasyon matrisinde MÇ ile sadece O₃ arasında (r=0.23) istatistiksel olarak anlamlı aynı yönlü bir ilişki olduğu %95 güven düzeyinde gözlenebilir. MÇ ile NT arasında (r=0.26) da anlamlı ilişki vardır (p<0.05). (Şekil 4.11). Kütahya Merkez Bölgesine ait aşağıda verilen korelasyon matrisinde ise sadece MÇ ve NT arasında istatistiksel olarak anlamlı olan aynı yönlü bir ilişkinin varlığı %95 güven ile söylenebilir (Şekil 4.12).

Şekil 4.11. Tunçbilek bölgesinde; bireysel örnekleyici verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi.



O₃:Ozon, SO₂:Sülfür dioksit, NO₂:Azot dioksit, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk.

Şekil 4.12. Kütahya merkez bölgesinde; bireysel örnekleyici verilerinin MÇ ve NT ile ilişkisi



O₃:Ozon, SO₂:Sülfür dioksit, NO₂:Azot dioksit, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk.

4.4. Çocuklarda Demografik Özelliklere Göre Mikroçekirdek Sitom Göstergeleri, Solunum Fonksiyon Test Değerleri ve Bireysel Örneklem Verileri

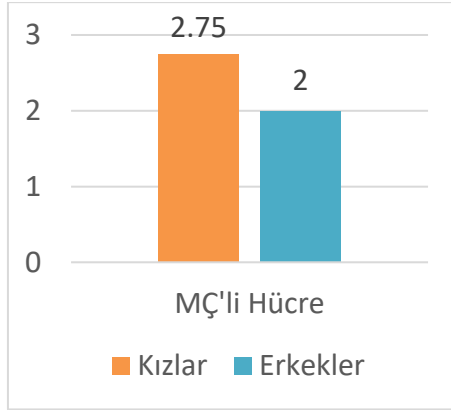
Cinsiyet

Araştırmaya katılan kız (n=76) ve erkek çocukların(n=72) verileri karşılaştırılmıştır.

Kromozom hasar göstergelerinde, MÇ'li hücre sıklığı kızlarda anlamlı yüksektir (sırasıyla,

2.75 [1.50;3.62] 2.00 [1.50;3.12], $p=0.04$) (Şekil 4.13). SFT ve bireysel örnekleyici verileri ise kızlarla erkekler arasında farklı değildir.

Şekil 4.13. MÇ'li hücre sıklığının cinsiyete göre dağılımı



MÇ'li hücre: Mikroçekirdek'li hücre

Tunçbilek'te ve Kütahya Merkez'de sitom göstergeleri, SFT ve bireysel örnekleyici verileri için kız ve erkekler karşılaştırıldığında fark bulunmamıştır ($p<0.05$). Sadece Tunçbilek'te, SFT verilerinden FVC, kızlara göre erkeklerde anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla, ort(SS), 2.13 (0.42), 2.31 (0.35), $p=0.04$).

Araştırmaya katılan kız çocuklar, T (n=50) ve KM'de (n=26) sitom göstergeleri için karşılaştırıldığında, KK (T med[min;maks], KM med[min;maks]) (3.00 [1.00;4.00] 1.50 [0.00;3.00]), KH(4.00 [2.00;6.00] 2.00 [1.00;5.25]), P(6.00 [4.25;10.0] 3.00 [1.25;3.75]) ve BN (21.5 [16.0;30.0] 18.5 [15.0;21.8]) hücre sıklıkları, T'de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla, p ; 0.02, 0.007, <0.001 , 0.04). SFT değerleri için farklılık gözlenmemiştir($p>0.05$).

Kız çocuklar bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler için karşılaştırıldığında ise O_3 değeri (48.0 [37.9;65.8], 37.5 [32.2;39.6]) ve SO_2 değeri (36.4 [31.3;49.4] 28.0 [25.7;31.9]) T'de anlamlı yüksek iken (sırasıyla, p ; 0.001, <0.001), NO_2 değeri (7.35 [6.19;10.6] 15.2 [12.6;16.6]) anlamlı düşüktür ($p<0.001$).

Kız çocuklara ait sitom göstergeleri, örneklemenin yapıldığı okullara göre de Çizelge 4.11'de değerlendirilmiştir. G'de, BN ve P hücre sıklıkları L'ye göre anlamlı artış göstermiştir. G'de; BN, MÇ'li hücre ve MÇ sıklıkları, I'ya göre, MÇ'li hücre ve MÇ

sıklıkları A'ya göre anlamlı artmıştır. A ve I'da da P hücre sıklığı L'ye göre anlamlı artmıştır. L'de ise I'ya göre MÇ sıklığı anlamlı artmıştır.

Çizelge 4.14. Kız çocuklarına ait yanak epitel hücrelerindeki mikroçekirdek sitom göstergelerinin okullara göre dağılımı

	Tunçbilek			Kütahya
	Gürağaç (n=27)	Atatürk (n=9)	60.yıl (n=14)	Linyit (n=26)
BH				
Ortalama (SS)	2.33 (1.92)	2.11 (1.83)	2.57 (1.91)	2.81 (2.17)
Medyan [Min, Maks]	2.00 [0.00, 7.00]	1.00 [0.00, 4.00]	2.50 [0.00, 6.00]	2.00 [0.00, 8.00]
KK				
Ortalama (SS)	2.78 (1.99)	1.78 (1.09)	2.86 (2.38)	1.54 (1.39)
Medyan [Min, Maks]	3.00 [0.00, 8.00]	2.00 [0.00, 3.00]	3.00 [0.00, 7.00]	1.50 [0.00, 4.00]
KL				
Ortalama (SS)	24.6 (16.1)	17.9 (12.9)	18.4 (14.1)	15.5 (11.2)
Medyan [Min, Maks]	22.0 [1.00, 61.0]	17.0 [5.00, 47.0]	17.0 [4.00, 59.0]	11.0 [0.00, 44.0]
KH				
Ortalama (SS)	4.33 (2.56)	6.22 (5.21)	4.14 (3.01)	2.85 (3.02)
Medyan [Min, Maks]	4.00 [0.00, 11.0]	4.00 [1.00, 17.0]	4.00 [0.00, 11.0]	2.00 [0.00, 12.0]
BN				
Ortalama (SS)	26.1 (10.3)	24.1 (9.43)	16.4 (5.69) ^a	18.0 (4.81) ^a
Medyan [Min, Maks]	24.0 [11.0, 54.0]	22.0 [10.0, 37.0]	16.0 [6.00, 30.0]	18.5 [7.00, 27.0]
P				
Ortalama (SS)	6.48 (3.48)	7.00 (4.50)	8.36 (2.87)	3.00 (2.53) ^{a,b,c}
Medyan [Min, Maks]	5.00 [1.00, 13.0]	6.00 [2.00, 16.0]	10.0 [4.00, 13.0]	3.00 [0.00, 10.0]
DH				
Ortalama (SS)	933 (22.6)	940 (16.4)	947 (15.6)	957 (11.7)
Medyan [Min, Maks]	942 [889, 971]	943 [910, 957]	947 [914, 973]	957 [918, 978]
MÇ'li hücre				
Ortalama (SS)	3.85 (1.97)	1.72 (0.905) ^a	2.29 (1.19) ^a	2.92 (1.83)
Medyan [Min, Maks]	3.50 [1.00, 8.00]	1.50 [0.500, 3.00]	2.25 [0.500, 4.50]	2.50 [0.500, 9.50]
MÇ				
Ortalama (SS)	5.37 (2.64)	2.17 (1.44) ^a	2.96 (1.87) ^a	4.08 (2.37) ^b
Medyan [Min, Maks]	5.50 [1.00, 10.5]	1.50 [0.500, 4.50]	2.50 [0.500, 6.00]	3.75 [0.500, 11.5]
NT				
Ortalama (SS)	2.65 (1.56)	1.83 (1.39)	2.07 (1.21)	1.79 (0.827)
Medyan [Min, Maks]	2.00 [1.00, 6.50]	1.50 [0.00, 4.00]	1.75 [0.500, 4.50]	2.00 [0.500, 3.50]

^a, Gürağaç İlkokulu'na göre; ^b, Atatürk İlkokulu'na göre; ^c, 60.yıl Işık İlkokulu'na göre değişim istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05). Proliferasyon göstergeleri; BH:Bazal hücre , BN:Binükleer hücre Hücre ölümü göstergeleri; KK:Kondens kromatin , KL:Karyolitik , KH:Karyohektik , P:Piknotik , DH: Differansiye hücre , MÇ'li hücre:Mikroçekirdekli hücre, MÇ:Mikroçekirdek , NT:Nükleer tomurcuk. SS:Standart Sapma , Min: Minimum değer , Maks : Maksimum değer

Erkek çocuklara ait bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler, okullara göre Çizelge 4.12’te değerlendirilmiştir. O₃ ve SO₂ değeri, G’de, L’ye göre anlamlı yüksek iken, NO₂ değeri anlamlı düşüktür. O₃ ve SO₂ değeri, G’de, A’ya göre de anlamlı yüksektir. NO₂ değeri, I ve A’da da KM’deki Linyit İlkokuluna göre anlamlı olarak düşmüştür.

Çizelge 4.15. Erkek çocuklarına ait bireysel örnekleyici verilerinin okullara göre dağılımı

	Tunçbilek			Kütahya
	Gürağaç (n=10)	Atatürk (n=9)	60.yıl (n=19)	Linyit (n=34)
O₃ µg/m³				
Ortalama (SS)	55.4 (12.8)	38.7 (6.85) ^a	48.1 (23.5)	41.2 (14.1) ^a
Medyan [Min, Maks]	52.9 [38.6, 75.9]	40.3 [26.7, 50.7]	43.8 [9.91, 102]	38.2 [21.5, 83.2]
NO₂ µg/m³				
Ortalama (SS)	8.29 (6.10)	9.46 (4.70)	8.03 (2.44)	15.1 (5.57) ^{a,b,c}
Medyan [Min, Maks]	6.25 [3.02, 22.0]	8.67 [3.26, 18.7]	7.35 [4.63, 12.6]	14.6 [4.16, 24.7]
SO₂ µg/m³				
Ortalama (SS)	45.4 (20.2)	31.1 (4.97) ^a	34.4 (9.59)	32.5 (12.5) ^a
Medyan [Min, Maks]	37.0 [29.9, 97.8]	30.1 [24.9, 40.5]	32.5 [16.0, 57.3]	28.8 [21.1, 89.0]

^a, Gürağaç İlkokulu’na göre; ^b, Atatürk İlkokulu’na göre; ^c, 60.yıl Işık İlkokulu’na göre değişim istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05). O₃:Ozon , SO₂ :Sülfür dioksit , NO₂:Azot dioksit, SS:Standart Sapma , Min: Minimum değer , Maks : Maksimum değer

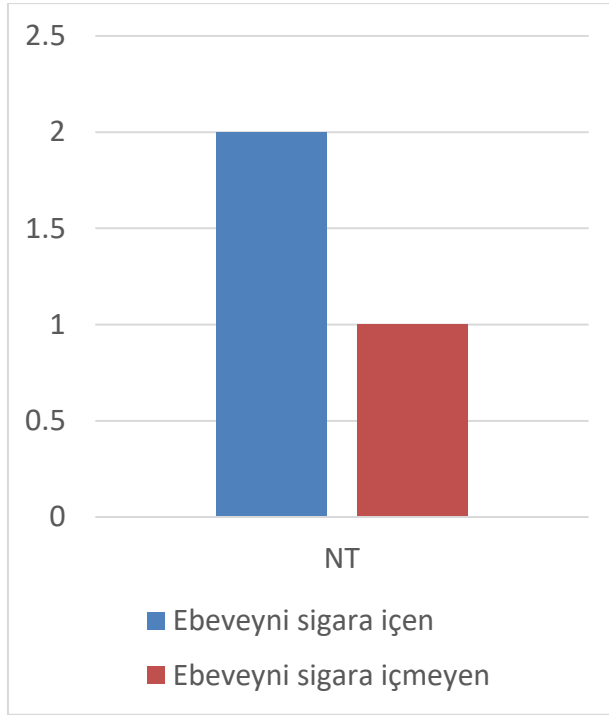
Ebeveyn sigara içimi

Ebeveyni sigara içen (n=95) çocuklarla, içmeyenler (n=53) sitom göstergeleri, SFT değerleri ve bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler için karşılaştırıldığında farklılık gözlenmemiştir(p>0.05).

Tunçbilek’te, ebeveyni sigara içen (n=63) çocukların, ebeveyni sigara içmeyen (n=25) çocuklara göre NT sıklıkları anlamlı olarak yüksektir (sırasıyla, (med[min;maks]), 2.00 [1.50;3.25], 1.00 [1.00;2.00], p=0.04) (Şekil 4.14). SFT göstergeleri ve bireysel örnekleyicilerinden elde edilen verilerin ise farklılık göstermediği gözlenmiştir(p>0.05).

Kütahya Merkez’de yaşayan çocuklarda ise, ebeveyni sigara içen (n=32) çocukların sitom göstergeleri ve bireysel örnekleyicilerinden elde edilen veriler farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). SFT göstergelerinden ise $FEF_{25/75}$ düzeyi ebeveyni sigara içen çocuklarda [Ort(SS), 2.32(0.56)], ebeveyni sigara içmeyen çocuklara göre [1.83(0.85)] anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.02$).

Şekil 4.14. NT sıklığının ebeveynin sigara içme durumuna göre dağılımı



NT: Nükleer tomurcuk

Okula ulaşım

Araştırmaya katılan bütün çocuklar göz önünde bulundurulduğunda, okula ulaşımı motorlu taşıtlarla sağlanan çocuklarla (MT) (n=59), okula ulaşımı yaya (Y) olan (n=73) çocuklar sitom göstergeleri için karşılaştırıldığında, KL (MT med[min;maks], Y med[min;maks]) (11.0 [7.00;17.5], 20.0 [10.0;33.0]), BN (17.0 [13.0;21.5], 21.0 [16.0;26.0]), MÇ’li hücre (2.00 [1.50;3.00], 3.00 [1.50;4.00]) ve MÇ (2.50 [1.50;4.25] 4.00 [2.50;6.50]) sıklıkları yaya ulaşımı olanlarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla, p ; 0<001, 0.01, 0.002, 0.002). SFT göstergelerinden FEV_1/FVC de yaya ulaşımında (0.86 [0.83;0.90]), motorlu taşıt ile ulaşımı sağlanan çocuklara (0.85 [0.80;0.88]) göre anlamlı artış göstermiştir ($p=0.045$).

Bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler için karşılaştırıldığında ise farklılık gözlenmemiştir($p>0.05$).

Tunçbilek'te yaşayan çocuklarda, MT (n=33) ile Y (n=44) sitom göstergeleri için karşılaştırıldığında, yaya ulaşımı olanlarda KL (11.0 [6.00;20.0], 22.0 [16.0;33.2]), BN (18.0 [13.0;20.0], 23.0 [17.8;29.2]), MÇ(2.00 [1.50;4.00], 4.00 [2.50;6.50]), MÇ'li hücre([1.00;2.50], 3.00 [2.00;4.12]) sıklıkları, anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla, p ; 0.001, 0.008, 0.002, 0.001). P hücre sıklığı ise MT'de anlamlı artış göstermiştir (MT ort(SS), Y ort(SS))(8.88(3.14), 6.98 (3.03)) ($p=0.01$). SFT göstergelerinden FEV₁/FVC de Y'de (0.86 [0.84;0.89]), MT'ye (0.85 [0.80;0.87]) göre anlamlı artış göstermiştir ($p=0.045$). Bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler için karşılaştırıldığında ise O₃ düzeyleri MT'ye göre Y'de (38.4 [33.5;63.1], 49.6 [41.9;69.0]) anlamlı artış göstermiştir ($p=0.03$).

5. TARTIŞMA

Hava kirliliği kentleşme, endüstriyel faaliyetler ve motorlu taşıt trafiğinin artışı ile oluşan toksisitesi yüksek (Ceretti ve diğerleri, 2014; Silva da Silva ve diğerleri, 2015) gaz ve partikül bileşiklerin kompleks karışımıdır (Carere ve diğerleri, 2002) ve aralarında genotoksisitesi yüksek olanlar, aynı zamanda insan karsinojeni olarak belirlenmiş olanlar bulunmaktadır. Küresel bir sağlık problemi olan hava kirliliğine maruziyet sonucu kanser (Ortega-Garcia ve diğerleri, 2017), solunum sistemi (Sram ve diğerleri, 2013), kardiyovasküler sistem hastalıklarının morbidite ve mortalitesinde artış görülmektedir (Brook ve diğerleri, 2010). Kendilerine özgü ve farklı maruziyet şekilleri, dinamik gelişimsel fizyolojileri ve uzun hayat beklentilerinden dolayı yüksek risk gruplarından olan çocukların hava kirliliği ile birlikte toprak, su ve yiyeceklerde bulunan etkenlere maruziyette yetişkinlere kıyasla oldukça duyarlı oldukları bilinmektedir (Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Neri ve diğerleri, 2006; Ceretti ve diğerleri, 2014; Sisenendo ve diğerleri, 2012, Huen ve diğerleri, 2006; Villarini ve diğerleri, 2018). Araştırmalar, çocukluk çağındaki maruziyetlerden ortaya çıkan erken genetik hasar nedeniyle, ilerleyen yaşlarda kanseri de içine alan pek çok kronik hastalığın oluşumunu göstermektedir (Ceretti ve diğerleri, 2014; Villarini ve diğerleri, 2018). Çocukluk çağı maruziyetlerinin, özellikle hava kirliliği gibi çevresel olanların, olası kanser gelişimine neden olup olmayacağını anlamak üzere çeşitli genotoksiste yöntemlerinin etki biyogöstergesi olarak kullanımı vardır ve yaygınlaşmaktadır.

Yöntemlerden biri olan sitokinezin durdurulduğu mikroçekirdek yönteminde, periferik kan lenfositlerinde MÇ sıklığı artışının, insanlarda kanser gelişimini öngördüğü kanıtlanmıştır ve değerli bir biyogösterge olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Bonassi ve diğerleri, 2007). Ancak, araştırmalarda hedef doku kullanımı da önemlidir. Söz konusu olan hava kirliliği olduğunda ise solunum sistemini temsil eden yanak epiteli, burun epiteli gibi hücreler akla gelmektedir. Çocukların nefes alma alışkanlıkları yetişkinlerden farklıdır. Dinlenme sırasında yetişkinler burundan nefes alırken çocuklar daha çok ağızdan nefes almaktadır (Bateson ve Schwartz 2008). Bu nedenle, dış ortam hava kirleticilerinin etkilerini incelemek için özellikle çocuklarda birincil maruziyet dokusunu temsil edebilen, hedef doku özelliğindeki YEH kullanılabilir (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014). Ayrıca kirleticilerin bu dokuda karsinojenlere metabolize olabileceği de gösterilmektedir (Holland

ve diğerleri, 2008). YEH’de mikroçekirdek yöntemi ve bir adım ilerisi olan ve daha fazla bilgi veren mikroçekirdek sitom yöntemi (Thomas P. ve Fenech, M. 2011) çocuklarda yaşam tarzı, çevresel ve endüstriyel kirlleticiler, radyasyon, çeşitli klinik durumlar ve tedaviler için moleküler epidemiyoloji araştırmalarında kullanılmaktadır (Holland ve diğerleri, 2011). Yöntem daha basit, girişimsiz ve acısız olması (Ceretti ve diğerleri, 2014; Villiarini ve diğerleri, 2018), örnek hazırlanmasının ve saklanması kolaylığı nedeniyle tercih edilmektedir (Bonassi ve diğerleri, 2007). Ayrıca DNA hasarı, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve hücre ölümü gibi biyogöstergelerinin değerlendirilmesine olanak vermektedir (Bolognesi ve diğerleri, 2015; Bolognesi ve diğerleri, 2013).

Hava kirliliğinin genotoksisitesine yönelik YEH-MÇ ya da YEH-MÇST yönteminin kullanıldığı moleküler epidemiyoloji çalışmaları çizelge 5.1’de özetlenmiştir (Huen ve diğerleri, 2006; Chen ve diğerleri, 2006; Sisenando ve diğerleri, 2012; Silva da Silva, 2015; Ceretti ve diğerleri 2014; Marcon ve diğerleri, 2014; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014 ; Cavalcante ve diğerleri, 2017; Villarinini ve diğerleri, 2018). Araştırmaların çoğunlukla ilkökul çağındaki çocukları ele aldığı ve özellikle endüstriyel ve trafik kaynaklı hava kirliliğine maruziyete yönelik olduğu göze çarpmaktadır ve son on beş yıl içerisinde gerçekleştirilmiştir. Burada, çalışmamızın adı geçen araştırmalar arasındaki yerini ve bilimsel literatüre katkısını belirlemeye çalışacağız.

Çizelge 5.1. Tarihsel dizilime göre günümüze dek çocuklarda YEH’de yapılan genotoksisite çalışmalarının özeti

Maruziyet Kaynağı (Çalışma Yeri)	Hava Kirliliği Bileşenleri, Parametreleri	Çalışma Grubu -Erkek/Kız çocuk; yaş; aralık (ort±SS)	Kontrol Grubu -Erkek/Kız çocuk; yaş; aralık (ort±SS)	Yöntem	Sonuç Çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı artış/ istatistiksel anlamlı ilişki (+), anlamlı azalış/ilişki(-) YEH-MÇ sıklığı=(%ort±SS)	Kaynaklar
Trafik (ABD;Oakland, Kaliforniya)	O ₃ (0,01-0,03 ppm, 8 saat ortalaması)	-29/36; 4-12 (7,3)	-	YEH-MÇ ve PKL-MÇ	-O ₃ ve trafik kirliliğine maruziyet ile YEH-MÇ sıklığı (0,67±0,44) arasında (+) -Sigara dumanına maruziyet ile PKL-MÇ (+)	Huen ve diğerleri, 2006
Endüstri ve biyokütle yakılması (Brezilya; Tangará da Serra (TS), Porto Velho (PV) Chapada dos Guimarães (CH))	PM _{2,5} (2008-2009 yılları) (TS;21 ve 22 µg/m ³ ; PV; 19 ve 16 µg/m ³ ; CH;10 ve 12 µg/m ³)	TS, PV; 218/228; 6-16	CH; 54/74; 6-16	YEH-MÇ	-TS (1,43 ± 0,84) ve PV(1,13 ± 0,63)’de CH(0,29 ± 0,41)’ye göre (+)	Sisenando ve diğerleri, 2012

Çizelge 5.1. (devam) Tarihsel dizilime göre günümüze dek çocuklarda YEH'de yapılan genotoksisite çalışmaların özeti

Endüstri ve trafik (İtalya; Brescia)	PM _{2,5} , PM ₁₀ ve NO ₂ ; AB sınır değerlerinden yüksek. SO ₂ , CO, Benzen, O ₃ ise AB limitlerinden düşük (yıllık ort.)	103/78 3-6 (4,3±0,9)	-	YEH-MÇST	-PM _{2,5} ; PM ₁₀ ; NO ₂ ile MÇ (2,9±1,3), NT(0,2±0,4), BN(1,1±0,8) ve BH(7,2±11,15) arasında (+)	Ceretti E. ve diğerleri, 2014
Sunta endüstrisi (İtalya; Viadana)	Formaldehit; 2,5±0.3 µg/m ³ , NO ₂ ; 16,0±3,5 µg/m ³	231/181 6-12	-	YEH-MÇST Comet testi	-Formaldehit ile NT (2,3±2,3) ve Comet verileri arasında (+) -NO ₂ ile BN (18,3±6,4) ve NT arasında (+)	Marcon ve diğerleri, 2014
Kentsel ve endüstriyel hava kirliliği, mevsimsel farklılık (Türkiye; Eskişehir) A okulu (şehir merkezine uzak) B okulu (trafik yoğun)	O ₃ ; A okulu çevresinde yaz dönemi (122 µg/m ³) AB limitlerinden (120 µg/m ³) çok az yüksek. NO ₂ , SO ₂ , AB limitlerinden limitlerinden düşük, PM ₁₀ ve PM _{2,5} yüksektir.	B okulu; Yaz; 26/25 Kış; 24/23 (10.00±0.28)	A okulu; Yaz; 20/30 Kış; 19/27 (10.32±0.59)	YEH-MÇ SFT (FVC, FEV ₁ , FEF ₂₅₋₇₅ , PEF, FEV ₁ /FVC)	-Yaz MÇ _{A+B} (2,78±2,00), MÇ'li hücre _{A+B} (2,78±2,00), Kış MÇ _{A+B} (2,11±1,70), MÇ'li hücre _{A+B} (1,87±1,42) (+) -MÇ sıklığı ve MÇ'li hücre sıklığı ile FEF ₂₅₋₇₅ (-) -Yazın A'daki çocuklarda bireysel O ₃ , B'deki çocuklara göre (+)	Çakmak ve diğerleri, 2014
Kentsel , endüstriyel aktiviteler ve trafik (Brezilya; Santo Antônio da Patrulha ve Rio Grande do Sul)	PM _{2,5} (25,89-64,71 µg/m ³) PAH (en yüksek 3,8 ng/m ³)	22/23 5-11 (9,97±1,54)	-	YEH-MÇST, PKL-Comet Ve Ames testi	-PM ₂ içerisinde PAH mevcuttur ve mutajenik etki ames testi ile (+) -Pasif içicilerde, pasif içici olmayanlara göre MÇ (+)	Silva da Silva ve diğerleri, 2015
Kentsel hava kirliliği, trafik (Brezilya; Dourados – Mato Grosso do Sul) B okulu (trafik az bölge) A okulu (trafik yoğun bölge)	Okul çevrelerindeki saatlik araç sayısı hesaplanmıştır. B okulu: 194 toplam araç;13 büyük araç A okulu:1628,6 toplam araç; 170,33 büyük araç A okulu toplam araç yoğunluğu B okuluna göre 8 kat; büyük araç yoğunluğu 13 kat fazladır.	7/12 (10-14)	13/11 (10-14)	YEH-MÇST Gİ Mİ	-MÇ _A (1,43±1,0), MÇ _B (0,12±0,78)(+) -Kızlar erkeklere göre ; KL ve Gİ için(+) -Pasif içici olmayan kızlarda Mİ, pasif içici K'lara göre (+) -pasif içicilerde, A okulunda B okuluna göre KH (+)	Cavalcante ve diğerleri, 2017
Endüstriyel, trafik, mevsimsel farklılık (İtalya;Brescia, Turin, Pisa, Perugia ve Lecce) -Brescia ve Torino; (Po Valley, Kuzey İtalya) endüstriyel bölge , hava kirliliği yüksek -Pisa ve Perugia;(İtalya merkez) hava kirliliği orta düzey -Lecce (Güney İtalya) hava kirliliği düşük	PM ₁₀ , PM _{2,5} , PM _{2,5} , NO _x , PAH ve nitro-PAH -2015 yılı ort. Brescia; PM _{2,5} (29 µg/m ³), NO ₂ (68µg/m ³) -Pisa; PM _{2,5} (17 µg/m ³), NO ₂ (37 µg/m ³) -Perugia; PM _{2,5} (20 µg/ m ³), NO ₂ (28 µg/ m ³) -Lecce PM _{2,5} (13 µg/m ³), NO ₂ (30 µg/m ³)	-1046 (her şehirden yaklaşık 200 ilkokul öğrencisi) 526/520 -6-8 (6,83 ± 0,90)	Lecce bölgesi 213 106/107	YEH-MÇST	-MÇ değeri kış döneminde (0,42 ± 0,54) bahar sonundan (0,22 ± 0,34) daha (+) Beş şehir karşılaştırıldığında; İki mevsimde de Brescia'da MÇ en yüksek Kış mevsimi Lecce'de MÇ en düşük Geç baharda Perugia'da MÇ en düşük	Villarini ve diğerleri, 2018

Çizelge 5.1. (devam) Tarihsel dizilime göre günümüze dek çocuklarda YEH’de yapılan genotoksisite çalışmalarının özeti

Endüstriyel, trafik	Bireysel O ₃ , NO ₂ , SO ₂ düzeyleri	KM; 34/26	-	YEH- MÇST ve SFT	İki bölgede MÇ ve NT sıklıkları(+/-)	Tez çalışmamız, 2019
(Türkiye, Kütahya) Kent merkezi (KM) trafik yoğun, kentsel bölge	O ₃ (46,9±18,5µg/m ³) NO ₂ (11,4±6,10µg/m ³)	7,67-9,98 (8,56±0,44) T; 38/50		(FVC, FEV ₁ , FEF _{%25/75} , PEF, FEV ₁ /FVC)	T’de KM’ye göre KL, KH, BN, P sıklıkları (+) MÇ’li hücre sıklığı kızlarda erkeklerle göre(+)	
Tunçbilek/Gürağaç (T) endüstriyel,kırsal bölge	SO ₂ (36,8±15,2µg/m ³)	7,45-10 (8,75±0,73)				

PBL_MÇ:Periferik kan lenfositlerinde mikroçekirdek yöntemi, YEH-MÇ:Yanak Epitel Hücrelerinde Mikroçekirdek, YEH-MÇST: Yanak epitel hücresinde mikroçekirdek sitom MÇ:Mikroçekirdek, MÇ’li hücre:Mikroçekirdek içeren hücre, KL:Karyolitik , KH:Karyohektik, BN:Binükleer. P:Piknotik, BH:Basal Hücre, NT: Nükleer Tomurcuk. Gİ: Genotoksisite indeksi, MI:Mutajenesite İndeksi, SFT:Solunum foksiyon testi, FVC (Zorlu Vital Kapasite-Forced Vital Capacity), FEV₁ (Birinci Saniyedeki Zorlu Ekspirasyon Hacmi-Forced Expiratory Volume in 1 s), FEF_{%25-75} (Ekspiryum ortası hava akımı - Forced Expiratory Flow between 25 and 75% expired volumes), PEF (Zirve ekspiratuar akım hızı - Peak Expiratory Flow), AB:Avrupa Birliği, E:Erkek, K:Kız, h : saat, ort:ortalamaF

Çalışmamızda Kütahya il sınırları içindeki iki bölgede; endüstriyel, trafik ve ısınma kaynaklı hava kirliliğine maruziyetin okul çağı çocuklarında neden olabileceği genotoksisite YEH-MÇST yöntemi ile araştırılmıştır. Araştırma, yörenin ve çalışmaya dahil edilen çocukların pek çok defa ziyaret edilmesini öngören bir projenin parçasıdır (Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi No: 1407F398). Proje kapsamında, ön değerlendirmeler ve ilk ziyarette, örneklem büyüklüğü her iki bölgede de [KM (kentsel, trafik yoğun bölge) ve T(kömür yakıtlı aktif iki termik santralin etkisi altında olan endüstriyel/kırsal bölge)] 100’er çocuk olarak belirlenmiştir. Araştırmaya dahil olduğumuz son örneklem dönemi olan Haziran 2016’da, çocukların yaşadıkları yerlerdeki değişiklikler, ziyaret sırasında okulda bulunmama, hasta olma, teknik sorunlar gibi nedenlerle toplamda 148, KM’de 60 ve T’de 88 çocukta YEH toplanmıştır. Yanı sıra, proje paydaşlarının daha önceki ziyaretlerde de gerçekleştirdikleri ölçümler yapılmıştır. YEH-MÇST yöntemi ile genotoksisite (MÇ, MÇ’li hücre ve NT), proliferasyon (BH ve BN) ve hücre ölümü/apoptosis göstergelerinin (KK, KH, P, KL) sıklığı değerlendirilmiştir.

YEH-MÇ çalışmaları içinde, örneklemi en fazla çocuk içeren çalışma Villarini ve diğerlerinin çalışmasıdır ve 1046 çocukta yapılmıştır (Villarini ve diğerleri, 2018). Villarini ve diğerleri, İtalya’da farklı kirlilik seviyelerine sahip beş bölgede 6-8 yaş aralığında 1046 çocukta kış ve bahar mevsimlerinde YEH-MÇST sıklıklarını değerlendirmişlerdir. Kış mevsimi MÇ sıklıklarının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Hava kirliliğinin yüksek olduğu bölgede ise MÇ sıklıkları da daha yüksek bulunmuştur (Villarini ve diğerleri, 2018).

Örneklem boyutu en yüksek olan çalışmalardan ikincisi olan Sisenando ve diğerlerinin araştırması, 6-16 yaş aralığında 574 sağlıklı çocuk içermektedir. Bu çalışmada, Brezilya’da göreceli olarak hava kirliliği daha yüksek olan iki bölgesi ve düşük olan bir bölgesinde YEH-MÇ sıklıkları incelendiğinde kirliliğe anlamlı artış saptanmıştır (Sisenando ve diğerleri, 2012). Örneklemi en az olan çalışmalar ise 43 çocukla Cavalcante ve diğerlerinin çalışması (Cavalcante ve diğerleri, 2017) ve 45 çocuk dahil edilen Silva da Silva ve diğerlerinin çalışmasıdır (Silva da Silva ve diğerleri, 2015). Silva da Silva ve diğerlerinin çalışmasında Brezilya’da PM_{2.5}’un toksisitesi hedeflenmiştir ve 5-11 yaş aralığındaki çocuklarda önemli bulgu olarak YEH-MÇ sıklığının pasif sigara içicilerde yüksek olduğu görülmüştür (Silva da Silva ve diğerleri, 2015). Sigara dumanı ve trafik kaynaklı kentsel hava kirliliğine maruziyetin çocuklarda genotoksik ve mutajenik etkilerinin incelendiği, örneklemi 43 kişi olan Cavalcante ve diğerlerinin araştırmasında, yoğun trafik bölgesindeki çocukların MÇ değerleri trafiğin daha az olduğu bölgedeki çocuklara göre daha yüksek çıkmıştır (Cavalcante ve diğerleri, 2017). Bizim çalışmamız ise 9-11 yaş aralığında 148 çocuk içermekte olup, örneklemi göreceli olarak büyük olan çalışmalar arasındadır.

YEH-MÇST yöntemini kullanan araştırma 5 tanedir (Marcon ve diğerleri, 2014; Ceretti ve diğerleri, 2014; Silva da Silva, 2014; Cavalcante ve diğerleri, 2017; Villarini ve diğerleri, 2018). Bu açıdan çalışmamız da yöntem ile ilgili güncel bilgi sağlamaktadır. Benzer çalışmalar arasında Cavalcante ve diğerlerinin çalışmasında her birey için 1000 hücre sayılmıştır (Cavalcante ve diğerleri, 2017). 2000 ve üstü hücre sayan ise 4 çalışma vardır (Marcon ve diğerleri, 2014; Ceretti ve diğerleri, 2014; Silva da Silva, 2015; Villarini ve diğerleri, 2018). Araştırmamızda da, her birey için 2000 hücre sayılmış ve YEH-MÇST yöntemi ile mikroskopik incelemede toplam 296 000 hücre yöntemin metodolojisinin en son gelişmelerine göre değerlendirilmiştir (Thomas P. ve Fenech M. 2011).

Elde ettiğimiz sonuçlara göre bölgeler arası değerlendirme yapıldığında T ve KM’deki çocuklarda genotoksiteyi gösteren, MÇ’li hücre, MÇ ve NT sıklıkları benzer bulunurken; okullar arası değerlendirme yapıldığında, MÇ ve MÇ’li hücre sıklığı T bölgesindeki G ilkokulunda diğer T ilkokulları A ve I ile KM’deki L ilkokuluna göre anlamlı artmıştır. Genotoksite göstergeleri olan MÇ ile NT arasında her iki bölgede de aynı yönde ilişki bulunması, günümüze kadar yaygın kullanımı olan MÇ’nin yanında NT’nin de genotoksite için kullanılabilirliğini destekler niteliktedir.

İki bölgenin farklı kirletici kaynakları vardır ve aynı il sınırları içerisinde. Araştırmamız iki bölgeyi karşılaştırmayı hedeflememektedir ancak, farklı kirletici kaynaklarının farklı ya da benzer genotoksisite nedeni olup olmadığını anlamak için iki bölge arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Hava kirliliğine ait araştırmalarda kontrol grubu olmaksızın benzer yaklaşımın olduğu çalışmalar vardır (Huen ve diğerleri, 2006; Silva da Silva, 2015; Ceretti ve diğerleri, 2014; Marcon ve diğerleri, 2014). Kontrol grubu bulunmaksızın yapılan araştırmalardan, Huen ve diğerlerinin yaptığı çalışmada bölgesel O₃ seviyelerinin çocukların YEH-MÇ sıklıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Huen ve diğerleri, 2006). Ozon düzeyleri ile YEH-MÇ sıklıklarının ilişki gösterdiği bir diğer çalışma da Eskişehir’de gerçekleştirilen araştırmadır (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014). Bizim çalışmamızda da T bölgesinde O₃ seviyeleri ile MÇ sıklığı arasında anlamlı ilişki gözlenmiş olup yukarıda verilen iki çalışmayı (Huen ve diğerleri, 2006; Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014) destekler niteliktedir.

Çalışmamızda elde edilen MÇ sıklıklarının diğer YEH-MÇ araştırmalarındaki değerlere göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Bonassi ve diğerlerinin 0-60 üstü yaş aralığında 5424 sağlıklı katılımcıda elde ettikleri referans MÇ değerinden (0,3-1,7MÇ/1000 hücre aralığında, %0.74) ve önemli maruziyeti olmayan 0-9 yaş aralığındaki 321 çocuk ile 10-19 yaş aralığındaki 511 çocuk ile elde edilen MÇ değerlerinden (sırasıyla, %1.08 ve %1,27) de yüksek bulunurken aynı çalışmada 1150 kişi (20-29 yaş aralığı), 1054 kişi (40-49 yaş aralığı) ve 624 kişide (50-59 yaş aralığı) elde edilen MÇ değerleri ile benzerdir (Bonassi ve diğerleri, 2011). İtalya Brescia kentinde 6 okuldan 3-6 yaş aralığında, hava kirliliğinin yüksek olduğu bölgede yaşayan 181 çocuğun dahil edildiği çalışmada elde edilen MÇ sıklığı ise çalışmamıza benzerdir (Çizelge 5.1) (Ceretti ve diğerleri, 2014). Ayrıca proje paydaşlarımızın yaptığı Eskişehir kentindeki, yaz ve kış döneminde, farklı iki bölgedeki araştırmada yaz dönemi MÇ sıklıkları çalışmamıza yakın değerler göstermiştir (Çizelge 5.1) (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014). Farklılıkların nedeni olarak, her bir çalışma ortamının birbirinden kirleticiler açısından değişiklikler gösterebilmesi, örneklem büyüklüklerinin, değerlendirilen hücre sayılarının, çocukların yaş aralıklarının ve laboratuvarlar arası yöntemlerin değişken olabilmesi önerilebilir.

Çalışmamızda, proliferasyon ve hücre ölümü parametreleri arasında iki çalışma bölgesi arasında farklılıklar bulunmuştur. T bölgesinde proliferasyon ve hücre ölümü gösterge

sıklıklarından KL, KH, BN ve P hücre sıklıkları KM bölgesine göre anlamlı olarak artmıştır. Benzer şekilde Cavalcante ve diğerlerinin çalışmasında KH, BN ve MÇ sıklıkları trafiğin yoğun olduğu bölgede bulunan A okulunda trafiğin daha az yoğun olduğu bölgede bulunan B okuluna göre (Çizelge 5.1) daha yüksek bulunmuştur (Cavalcante ve diğerleri, 2017). Yine Villarini ve diğerlerinin çalışmasında KK, KH, P ve KL sıklıkları kontrol bölgesi olarak kullanılan, hava kirliliğinin en az olduğu şehirde, kirlilik seviyeleri daha yüksek olan diğer şehirlere göre daha düşük saptanmıştır (Villarini ve diğerleri, 2018).

Farklı laboratuvarların karşılaştırıldığı Bolognesi ve diğerlerinin yaptığı çalışmada sağlıklı genç bireylerde farklı üç laboratuvarında farklı P hücre sıklıkları ($\%2.56 \pm 1.15$; $\%1.44 \pm 0.96$; $\%2.44 \pm 2.31$) elde edilmiştir (Bolognesi ve diğerleri, 2015). Sıklıklar iki laboratuvarında KM'deki bulguyla benzer birinde ise düşüktür. YEH-MÇST yöntemini kullanan diğer araştırma olan, Villiarini ve diğerlerinde ise P hücre sıklıkları (Villarini ve diğerleri, 2018) çalışmamızdan ve Bolognesi ve diğerlerinin çalışmasından (Bolognesi ve diğerleri, 2015) oldukça düşüktür. Fakat Silva da Silva ve diğerlerinin çalışmasında elde edilen P hücre sıklığı ise çalışmamıza benzerdir (Silva da Silva ve diğerleri, 2015). Villarini ve diğerlerinin çalışmasında saptanan BN hücre sıklıklarından (Villarini ve diğerleri, 2015) düşük olan araştırmamız, Bolognesi ve diğerlerinin farklı laboratuvarlarda elde ettikleri BN değerlerin arasında kalmaktadır. (Bolognesi ve diğerleri, 2015). Çalışmamızdaki KH değerleri, Cavalcante ve diğerleri ile Ceretti ve diğerlerinin çalışmaları ile benzerken (Sırasıyla, 0.58 ± 0.77 ve 7.44 ± 4.29) (Cavalcante ve diğerleri, 2017; Ceretti ve diğerleri, 2014), Silva da Silva ve diğerleri ile Bolognesi ve diğerleri nin elde ettiği KH değerlerine kıyasla oldukça düşüktür (Silva da Silva ve diğerleri, 2015; Bolognesi ve diğerleri, 2015). Ayrıca elde ettiğimiz BH sıklıkları Ceretti ve diğerleri ve Bolognesi ve diğerlerinin elde ettiği BH sıklıkları ile benzerdir (Ceretti ve diğerleri, 2014; Bolognesi ve diğerleri, 2015).

Bütün mikroçekirdek sitom verileri okulların bulunduğu bölgelere göre incelendiğinde, termik santrallere yakın olan Tunçbilek Bölgesindeki, özellikle Gurağaç'taki değerler diğer iki okula ve KM'e göre yüksektir. Araştırmanın bütün değişkenleri ortak çalışma ile biraraya getirildiğinde, Gurağaç'ın neden öne çıktığı daha iyi anlaşılabilecektir. Ancak, mikroçekirdek sitom verilerine dayanarak belirgin olarak ortaya çıkan sonuç, Tunçbilek'teki her bir okuldaki çocuğun Kütahya Merkez'e göre daha fazla risk taşıdığıdır.

Çocukların kollarına takılan örnekleyicilerle bireysel maruziyet ölçülmüştür. Trafik, elektrik santralleri, endüstriyel faaliyetler, rafineriler, kimyasal tesisler gibi kaynaklarda üretilen azot oksitleri (NO_x) ve UOB gibi kirleticilerin kimyasal olarak tepkimesiyle oluşan O₃ (İnternet, 2019i) ile termik santraller ve diğer endüstriyel faaliyetlerde katı yakıtların yakılması ile meydana gelen SO₂ (İnternet, 2019j) endüstriyel faaliyetlerin daha fazla olduğu T bölgesinde (TO₃=51,2±19,7 µg/m³, TSO₂=40,0±16,4 µg/m³), KM'ye (KMO₃=40,3±14,1 µg/m³, KMSO₂=31,8±11,8 µg/m³) göre yüksek bulunmuştur. Egzoz dumanındaki diğer birçok kirletici ile ilişkili olan NO₂ (Beckerman et al. 2008) değeri ise trafiğin yoğun olduğu KM'de (15,4±5,97 µg/m³) T'ye (8,85±4,61 µg/m³) göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Yani emisyon kaynaklarının yoğun olduğu Kütahya kent merkezinde O₃ seviyeleri düşükken, bu emisyonların zamanla hava hareketleri ile taşınması sırasında meydana gelen tepkimelerin O₃'ü oluşturması nedeniyle, şehir merkezlerinden uzaklaştıkça O₃ seviyeleri de genellikle yükselmektedir. Şehir merkezinde gözlenen düşük O₃ seviyeleri, bu noktalardaki yüksek NO₂ seviyeleri ile ilişkilidir (Gaga ve diğerleri, 2012). Okullara göre değerlendirme yapıldığında, O₃ ve SO₂ değerleri, Gurağaç'ta en yüksektir. Sonuçlar, mikroçekirdek sitom verileriyle de benzerlik göstermektedir.

Çocuklara ait SFT verilerinde bölgeler arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Her bir okuldaki çocuklara ait SFT verileri değerlendirildiğinde okullar arası farklılık sadece, FEV₁/FVC değeri için Gurağaç'ta, Işık İlkokulundaki çocuklara göre anlamlı artmıştır.

Bununla birlikte SFT göstergelerinde düşüşün MÇ ile ilişkisinin Tunçbilek'te bulunuşu, olası solunum yolu fonksiyonlarında düşüşe neden olan durumların genotoksisite ile de ilişkili olabileceği konusunda öneri getirmektedir ancak bu verinin ileride tüm parametrelerin bir arada değerlendirilmesiyle daha anlam kazanacağını söylemek doğru olacaktır.

Maruziyet türü (çevresel ve mesleksi), örneklem büyüklüğü, beslenme, tıbbi işlemler, hastalıklar, cinsiyet, yaş, sigara ve alkol kullanımı, DNA onarım mekanizmalarında genetik bozukluklar gibi faktörler genotoksisite sıklıklarının değişmesinde rol oynayabilmektedir (Fenech, M. ve Bonassi, S., 2011; Holland ve diğerleri, 2011; Cavalcante ve diğerleri, 2017). Çocuklar yetişkinlere göre, organ gelişimi, vücut fonksiyonları ve toksik bileşiklerin absorpsiyonu, metabolizması, eliminasyonundaki farklılıklar gibi çeşitli nedenlerle, hava

kirleticilerine daha duyarlıdırlar (Neri ve diğerleri, 2006, Cavalcante ve diğerleri, 2017). Fakat yetişkinlerde hava kirliliği etkilerinin biyoizlemesinde karıştırıcı olan alkol, sigara kullanımı ve mesleksi maruziyet etkileri çocuklarda yoktur (Cavalante ve diğerleri, 2017). Ayrıca çoğunlukla çocukların yaşadıkları, oynadıkları, okula gittikleri yer ve evleri birbirine yakın konumdadır ki böylece hava kirliliğinin araştırıldığı yerin etkilerini popülasyonda saptamak kolaylaşmakta ve çalışmalarda çocukların tercih edilmesine neden olmaktadır (Neri ve diğerleri, 2006; Sisenando ve diğerleri, 2012; Silva da Silva ve diğerleri, 2015). Eksfoliyel epitel hücrelerde yaş ve cinsiyetin MÇ değerlerine etkisi, periferik lenfositlerde olduğu kadar belirgin değildir (Holland ve diğerleri, 2008). Yapılan her yeni çalışma bu bilgileri açıklamada kaynak oluşturacaktır.

Khelifi ve diğerleri, sigara dumanına maruz kalan ve kalmayan grupları cinsiyet açısından değerlendirdiğinde, maruz kalan grupta kadın bireylerde erkekler göre YEH’de kromozomal değişiklikler daha yüksek bulunmuştur ve bu durum kadınların kirleticilerin mutajenik ve genotoksik etkilerine daha duyarlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Khelifi ve diğerleri, 2013). Cavalcante ve diğerlerinde, kız çocuklarında karyolitik hücre ve genotoksisite indeksi gibi kromozomal değişimler erkek çocuklarına göre daha yüksektir (Cavalcante ve diğerleri, 2017). Araştırmamıza katılan kız (n=76) ve erkek çocukların (n=72) verileri karşılaştırıldığında da, sitom parametrelerinden, MÇ’li hücre sıklığı kızlarda anlamlı yüksektir.

Sigara dumanına maruziyet ile kromozomal değişimlerde (Cavalcante ve diğerleri, 2017; Villarini ve diğerleri, 2018) ve MÇ sıklığında (Huen ve diğerleri, 2006; Silva da Silva ve diğerleri, 2015) artış görülmüştür. Çalışmamızda ise Tunçbilek’teki, ebeveyni sigara içen (n=63) çocukların, ebeveyni sigara içmeyen (n=25) çocuklara göre NT sıklıkları anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Ebeveyni sigara içen (n=95) çocuklarla, içmeyenler (n=53) ile kızlar ve erkekler arasında SFT değerleri ve bireysel örnekleyicilerden elde edilen veriler farklılık göstermemiştir.

Araştırmamız Kütahya bölgesinde çocuklarda hava kirliliğinin genotoksisitesine yönelik yanal epitel hücrelerinde yapılmış ilk çalışmadır. Türkiye’de ise aynı çalışma grubunun Eskişehir’de yaptığı çalışmadan sonra ikincidir (Çakmak Demircigil ve diğerleri, 2014). Ancak Eskişehir çalışmasından, örnekleme daha büyüktür, her birey için değerlendirilen

hücre sayısı iki kat fazladır. Ayrıca Eskişehir çalışmasında YEH-MÇ yöntemi kullanılırken, Kütahya çalışmamızda mikroçekirdek sitom yöntemi kullanılmıştır.

Sonuçlar incelendiğinde endüstriyel bölge olan T bölgesinde proliferasyon ve hücre ölümü göstergelerinin sıklıklarının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Hava kirliliğine hassas grupların önemli kısmını oluşturan çocuk popülasyonunda yapılan çalışmamızda gelecek nesillerin sağlıklı olması için veriler oldukça değerlidir. Çalışma, projeye ait verilerle zenginleştğinde, bütün verilerin bir arada değerlendirilmesiyle, bilimsel literatüre katkısı olacağı düşünülmektedir. Aynı çocuklardan toplanan idrar örneklerinde bir başka tez kapsamında değerlendirilecek olan metal analizleri de verinin kapsamlı değerlendirmesini sağlayacaktır. Araştırmamız, evrensel sorun kabul edilen hava kirliliğinin çocuklardaki etkilerine dikkat çekmek, hava kirliliğini azaltmak ve önlem almak konusunda yasal organlara da bilgi sağlayıcıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmamız ile Kütahya ilinde termik santral ve trafik kaynaklı hava kirliliğinin çocuklardaki genotoksitesi araştırılmıştır ve bölgede ilk olma özelliğindedir. Bu özelliğiyle ülkemiz ve dünya literatürüne önemli katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızın avantajları ve sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

- Sağlıklı ilkokul çağı çocuklarında yaptığımız çalışma 148 çocuk dahil edilerek yapılmış ve toplamda 296 000 hücre sayılmasıyla birlikte örneklem büyüklüğü açısından oldukça önemli bir yere sahiptir.
- Çalışmamızda çocuk popülasyonunun seçilmesiyle, yetişkinlerin olası demografik ve yaşam koşullarından kaynaklanan, karıştırıcı faktörler ortadan kaldırılmıştır.
- Termik santral ve trafik kaynaklı olmak üzere farklı kirletici kaynağına sahip bölgelerde hava kirliliğine oldukça hassas grup olan çocuklarda yanak epitel hücrelerinde genotoksite değerlendirmesine olanak vermiştir.
- Sonuçlar değerlendirildiğinde, endüstriyel bölge olan Tunçbilek bölgesinde sitom gösterge sıklıkları daha yüksek bulunmuştur.
- Hava kirliliğine maruziyet, etki biyogöstergesi olarak genotoksite verileri SFT ile değerlendirilmiş, veriler ozon, kükürt dioksit ve azot dioksit ölçümüne dayanan maruziyet göstergeleri ile desteklenerek güçlendirilmiştir.
- Elde edilen veriler, daha sonra yapılacak prospektif ve retrospektif kohort çalışmaları için değerli birer bilgi kaynağı oluşturacaktır.
- Araştırma farklı bilimsel alanlardan araştırmacıların uzmanlık konularını da harmanladığı için değerlidir ve disiplinlerarası çalışmaları özendirir umulmaktadır.
- Uluslararası bilimsel literatüre vereceği katkı ile çocukların maruziyetlerine yasal organların dikkatini çekmek yönüyle de önemli olacaktır.

KAYNAKLAR

- Altuğ, H., Yılmaz, A. Ö., Yay, O. D., Özden Üzmez, Ö., Can, S. B., Döğeroğlu, T., Gaga, E. O. (2015, 7-9 Ekim). *Kütahya'da yaşayan ilkököl çağındaki çocukların hava kirleticilerine kişisel maruz kalımlarının ön değerlendirme çalışması*. 6. Ulusal Hava Kirliliği ve Kontrolü Sempozyumunda sunuldu, İzmir.
- Altuğ, H. (2013). *Bazı hava kirleticilerin ilkököl çocuklarında solunum fonksiyonları ve astım ve allerjik hastalıklarla ilişkili semptom prevalansına etkisi*. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 36-37.
- Aykanat, B. (2010). *Çocuklarda kronik böbrek hastalığı ve böbrek nakli sonrası genotoksik hasarın biyoizlenmesi*. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 97-128.
- Aykanat, B., Demircigil, G. C., Fidan, K., Buyan, N., Gulleroglu, K., Baskin, E., Bayrakci, U. S., Sepici, A., Buyukkaragoz, B., Karakayali, H., Haberal, M., Burgaz, S. (2011). Basal damage and oxidative DNA damage in children with chronic kidney disease measured by use of the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 725(1), 22–28.
- Aykanat, B., Demircigil, G. C., Buyan, N., Baskin, E., Gulleroglu, K., Fidan, K., Bayrakci, U.S., Dalgic, A., Karakayali, H., Haberal, M., Burgaz, S. (2016). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal epithelial cells of children with chronic kidney disease. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 67(4), 317-25.
- Babacanoğlu, E. Ö. (2016). *Talasemi taşıyıcı çocuklarda genotoksisite ve sitotoksisitenin sitom yöntemiyle değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 15-20.
- Baccarelli, A., Zanobetti, A., Martinelli, I., Grillo, P., Hou, L., Giacomini, S., Bonzini, M., Lanzani, G., Mannucci, P.M., Bertazzi, P. A., Schwartz, J. (2007). Effects of exposure to air pollution on blood coagulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(2), 252-260.
- Bateson, T. F., Schwartz, J. (2008). Children's response to air pollutants. *Journal Toxicology Environmental Health*, 71, 238-243.
- Bolognesi, C., Knasmueller S., Nersesyan A., Thomas P., Fenech M. (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 753(2), 100–113.
- Bolognesi, C., Roggieri, P., Ropolo, M., Thomas, P., Hor, M., Fenech, M., Nersesyan A., Knasmuelle, S. (2015). Buccal Micronucleus Cytome Assay: Results of an Intra- and Inter-Laboratory Scoring Comparison. *Mutagenesis*, 30(4), 545–55.

- Bolognesi, C., Knasmueller, S., Nersesyan, A., Roggieri, P., Ceppi, M., Bruzzone, M., Blaszczyk, E., Mielzynska-Svach, D., Milic M., Bonassi S., Benedetti, D., Da Silva, J., Toledo, R., Salvadori, DM., Groot de Restrepo, H., Filipic, M., Hercog, K., Aktas, A., Burgaz, S., Kundi, M., Grummt, T., Thomas, P., Hor, M., Escudero-Fung, M., Holland, N., Fenech, M. (2017). Inter-Laboratory Consistency and Variability in the Buccal Micronucleus Cytome Assay Depends on Biomarker Scored and Laboratory Experience : Results from the HUMNxl International Inter-Laboratory Scoring Exercise. *Mutagenesis*, 32, 257–66.
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M. P., Bolognesi, C., CebulskaWasilewska, A., Fabianova, E., Fucic, A., Hagmar, L., Joksic, G., Martelli, A., Migliore, L., Mirkova, E., Scarfi, M. R., Zijno, A., Norppa, H. Fenech, M. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625-631.
- de Brito, K. C. T., Delemos, C., Vazrocha, J., Mielli A., Matzenbacher, C., Vargas, V., 2013. Comparative Genotoxicity of Airborne Particulate Matter (PM2.5) Using Salmonella, Plants and Mammalian Cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 94, 14–20.
- Brook, R.D., Rajagopalan, C. S., Pope C. A., Brook, J. R., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A. V., Holguin, F., Hong, Y., Luepker, R. V., Mittleman, M. A., Peters, A., Siscovick, A., Smith, S. C., Whitsel L., Kaufman, J. D.. (2010). Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 121(21), 2331-2378.
- Brown, M. S., Sarnat, S. E., DeMuth, K. E., Brown, L. A. S., Whitlock, D. R., Brown, S., Tolbert, P. E., Fitzpatrick A. M. (2012) Residential proximity to a major roadway is associated with features of asthma control in children. *PLoS ONE*, 7(5), 1–9.
- Brunekreef, B., Holgate S. T. (2002). Air pollution and health. *The Lancet*, 360(9341): 1233–1242.
- Burgaz, S., Işcan, A., Büyükbingöl, Z. K., Bozkurt, A., Karakaya, A. E. (1995). Evaluation of Micronuclei in Exfoliated Urothelial Cells and Urinary Thioether Excretion of Smokers. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 335(2), 163–169.
- Burgaz, S., Demircigil, G. C., Yilmazer, M., Ertaş, N., Kemaloglu, Y., Burgaz, Y. (2002). Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521(1), 47–56
- Burgaz, S., Coşkun, E., Demircigil, G. C., Kocabaş, N. A., Çetindağ F, Sunter, O., Edinsel, H. (2011). Micronucleus frequencies in lymphocytes and buccal epithelial cells from patients having head and neck cancer and their first-degree relatives. *Mutagenesis*, 26(2), 351–56.

- Calderón-Garcidueñas, L., Osnaya, N., Rodríguez-Alcaraz, A., Villarreal-Calderón, A., (1997). DNA damage in nasal respiratory epithelium from children exposed to urban pollution. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 30, 11–20.
- Carere, A., Andreoli, C., Galati, R., Leopardi, P., Marcon, F., Rosati, M. V., Rossi, S., Tomei, F., Verdina, A., Zijno, A., Crebelli, R. (2002). Biomonitoring of exposure to urban air pollutants: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 518(2), 215–224.
- Cavalcante, D. N. D. C., Sposito, J. C. V., Crispim, B. D. A., Nascimento, A. V. D., Grisolia, A. B. (2017). Genotoxic and mutagenic effects of passive smoking and urban air pollutants in buccal mucosa cells of children enrolled in public school. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(5), 346–351.
- Ceretti, E., Feretti D., Viola G. C. V., Zerbini I., Limina, R. M., Zani C., Capelli, M., Lamera, R., Donato, F., Gelatti U. (2014). DNA damage in buccal mucosa cells of pre-school children exposed to high levels of urban air pollutants. *PLoS ONE*, 9(5), e96524.
- Chen, R., Hu, B., Liu, Y., Xu, J., Yang, G., Xu, D., Chen, C. (2016). Beyond PM_{2.5}: The Role of Ultra Fine Particles on Adverse Health Effects of Air Pollution. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects*, 1860(12), 2844–55.
- Demirel S, Zamani AG. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg.* 2002; 12(3): 123-127.
- Demirel, S., Zamani, A. G. (2002). Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Dergisi*, 12(3), 123-127.
- Demircigil Çakmak, G., Burgaz, S. (2008, 22-25 Ekim). *Hava kirliliğindeki karsinojenik kimyasallara maruziyette genotoksisite testlerinin önemi*. Hava Kirliliği ve Kontrolü Ulusal Sempozyumunda sunuldu, Hatay.
- Demircigil, G. C., Emerce, E., Ulutaş, O. K. (2009). Genotoxicity tests from biomarker studies to the regulations: national perspective. *FABAD Journal of Pharmaceutical Science*, 34(4), 193-198.
- Demircigil, G. C., Coskun, E., Vidinli, N., Erbay, Y., Yilmaz, M., Cimrin, A., Schins, R. P., Borm, P. J., Burgaz, S. (2010). Increased micronucleus frequencies in surrogate and target cells from workers exposed to crystalline silica-containing dust. *Mutagenesis*, 25(2), 163–169.
- Demircigil, G. Ç. Erdem. O., Gaga, E. O., Altuğ, H., Demirel, G., Özden, Ö., Arı, A., Örnektekin, S., Döğeroğlu, T., van Doorn, W., Burgaz, S. (2014). Cytogenetic biomonitoring of primary school children exposed to air pollutants: micronuclei analysis of buccal epithelial cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 1197–1207.

- Dons, E., Poppel, M. V., Panis L. I., Prins S. D., Berghmans P., Koppen, G., Matheeussen, C. (2014). Science of the total environment land use regression models as a tool for short , medium and long term exposure to traffic related air pollution. *Science of the Total Environment*, 477, 378–386.
- Du, Y., Xu, X., Chu, M., Guo, Y., Wang, J. (2016). Air particulate matter and cardiovascular disease : the epidemiological, biomedical and clinical evidence. *Journal of Thoracic Disease*, 8(1), 8–19.
- Esposito, Susanna et al. Esposito, S., Tenconi, R., Lelii, M., Preti, V., Nazzari, E., Consolo, S., Patria, M. F. (2014). Possible molecular mechanisms linking air pollution and asthma in children. *BMC Pulmonary Medicine*, 14(1), 1–8.
- Farías, P., Álamo-Hernández, U., Mancilla-Sánchez, L., Texcalac-Sangrador, J. L., Carrizales-Yáñez, L., Riojas-Rodríguez, H. (2014). Lead in school children from morelos, mexico: levels, sources and feasible interventions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(12), 12668–12682.
- Farmer, Stephen A, Nelin, T. D., Falvo, M. J., and Wold. L. E. (2014). Ambient and household air pollution: Complex triggers of disease. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 307(4), 467–476.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surrallés, J., Crott, J. W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D. A., Tucker, J. D., Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125–132.
- Fenech, M., Bonassi, S. (2011). The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*, 26(1), 43–49.
- Feretti, D., Ceretti E., De Donno A., Moretti M., Carducci A., Bonetta S., Marrese M. R., (2014). Monitoring air pollution effects on children for supporting public health policy: The protocol of the prospective cohort MAPEC study. *British Medical Journal Open*, 4(9), 1–8.
- Fleck, A. S., Vieira, M., Amantéa, S. L. and Rhoden. C. R. (2014). A comparison of the human buccal cell assay and the pollen abortion assay in assessing genotoxicity in an urban-rural gradient. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8825–8838.
- Gaga, E. O., Döğeroğlu T., Ozden, O., Ari, A., Yay, O. D., Altuğ, H., Akyol, N., Ornektekin, S., Van Doorn, W. (2012). Evaluation of air quality by passive and active sampling in an urban city in Turkey: current status and spatial analysis of air pollution exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(8), 3579-3596.
- Gordon, S. B., Bruce N. G., Grigg J., Hibberd P. L., Kurmi, P., Lam, K. H., Mortimer K., Asante, K. P. (2016). Europe PMC funders group respiratory risks from household air pollution in low and middle income countries. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2(10), 823–60.

- Gulson, B., McCall, M., Korsch, M., Gomez, L., Casey, P., Oytam, Y., Taylor, A., McCulloch, M., Trotter, J., Kinsley, L., Greenoak, G. (2010). Small amounts of zinc from zinc oxide particles in sunscreens applied outdoors are absorbed through human skin. *Toxicological Sciences*, 118(1), 140-149.
- Hagmar, L., Strömberg, U., Tinnerberg, H., Mikoczy, Z. (2004). Epidemiological evaluation of cytogenetic biomarkers as potential surrogate end-points for cancer. *IARC Scientific Publications*, 157, 207-215.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 659(1-2), 93-108.
- Holland, N., Fucic, A., Merlo, D. F., Sram, R., Kirsch-Volders, M. (2011). Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. *Mutagenesis*, 26(1), 51-56.
- Huen, K., Gunn, L., Duramad, P., Jeng, M., Scalf, R., Holland, N. (2006). Application of a geographic information system to explore associations between air pollution and micronucleus frequencies in African American children and adults. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 47(4), 236-246.
- İnternet: DSÖ (WHO-World Health Organisation), Air Pollution, WHO Global Ambient Air Quality Database (update 2018), URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fairpollution%2Fen%2F&date=2019-04-23>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019a.
- İnternet: OECD, OECD Environmental Outlook to 2050: The Consequences of Inaction, OECD, URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.naturvardsverket.se%2Fupload%2Fmiljoarbete-i-samhallet%2Finternationellt-miljoarbete%2Fmultilateralt%2Foecd%2Foutlook-2050-oecd.pdf&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019b
- İnternet: IARC, Agents Classified By The Iarc Monographs, Volumes 1–109. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fmonographs.iarc.fr%2FENG%2FClassification%2F&date=2014-05-22>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019c
- İnternet: WHO, Air Pollution and Health, Summary. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fairpollution%2Fambient%2Fabout%2Fen%2F+&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019d
- İnternet: WHO, Factsheet: Ambient (outdoor) air quality. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.afro.who.int%2Fhealth-topics%2Fair-pollution+&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019e

İnternet: EEA, Air pollution. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.eea.europa.eu%2Fthemes%2Fair%2Fintro++++&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi:13.04.2019f

İnternet: EPA, Hazardous Air Pollutants. URL:[https://www.epa.gov/haps/hazardous-air-pollutants-sources-and-exposure inter-net](https://www.epa.gov/haps/hazardous-air-pollutants-sources-and-exposure-inter-net)2019, Son Erişim Tarihi:13.04.2019g

İnternet: EPA, Criteria Air Pollutant. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Fcriteria-air-pollutants%23self&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019h.

İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Karbon Monoksit Zehirlenmesi, URL:<http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fhsgm.saglik.gov.tr%2Ftr%2Fcevresagligi-ced%2Fced-birimi%2F407-karbonmonoksit-zehirlenmesi.htm%29+&date=2019-04-13>, Son Erişim Tarihi: 13.04.2019ı .

İnternet: EEA (European Environment Agency). 2014. “Air Pollution Fact Sheet 2014: Belgium.” Web: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ffile%3A%2F%2F%2FC%3A%2FUsers%2Fuser%2FDownloads%2FBelgium%2520air%2520pollution%2520fact%2520sheet%25202014.pdf+&date=2019-04-23>, Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(i).

İnternet: EPA. (2019). Sulfur Dioxide (SO₂) Pollution URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Fso2-pollution%2Fsulfur-dioxide-basics&date=2019-04-23>, Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(j).

İnternet: EPA. (2019). Nitrogen Dioxide (NO₂) Pollution URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Fno2-pollution&date=2019-04-23> Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(k).

İnternet: EPA. (2019). Basic Information about Lead Air Pollution URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.epa.gov%2Flead-air-pollution%2Fbasic-information-about-lead-air-pollution%23how&date=2019-04-23>, Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(l).

İnternet: DSÖ. (2005). Effects Of Air Pollution On Children ' S Health And Development A Review Of The Evidence Special Programme On Health And Environment. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.euro.who.int%2F__data%2Fassets%2Fpdf_file%2F0010%2F74728%2FE86575.pdf+&date=2019-04-23, Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(m)

İnternet: R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.R-project.org%2F.+&date=2019-04-23>, Son Erişim Tarihi: 14.04.2019(o).

KDEU (Kutahya Directorate of Environment and Urbanization) (2015). Kutahya Provincial Environmental Status Reportfor 2014, *Kutahya*, 184.

- Khelifi, R., Trabelsi-Ksibi, F., Chakroun, A. (2013). Cytogenetic abnormality in exfoliated cells of buccal mucosa in head and neck cancer patients in the Tunisian population: impact of different exposure sources. *BioMed Research International*, 905252
- Kim, H. J., Choi, M. G., Park, M. K., Seo, Y. R. (2017). Predictive and prognostic biomarkers of respiratory diseases due to particulate matter exposure. *Journal of Cancer Prevention*, 22(1), 6-15.
- Korten, I., Ramsey, K., Latzin, P. (2017). Air pollution during pregnancy and lung development in the child. *Paediatric Respiratory Reviews*, 21, 38-46.
- Kurt, O. K., Zhang, J., Pinkerton, K. E. (2016). Health effects of air pollution. *Current Opinion Pulmonary Medicine*, 22(2), 138–143.
- Küçükaçıl, G. A., Polat, N., Devrim Y. O., Ozden Ö. Ü., Arı, A., Tuygun, G. T., Elbir T., Altug H., Dumanoglu Y., Döğeroğlu, T., Dawood, A., Odabasi M., Gaga, E. O. (2017). An integrative approach for determination of air pollution and its health effects in a coal fired power plant area by passive sampling. *Atmospheric Environment*, 150, 331–45.
- Lakey, Pascale S.J., Berkemeier, T., Tong H., Arangio A. M., Lucas, K., Pöschl, U. Shiraiwa, M. (2016). Chemical exposure-response relationship between air pollutants and reactive oxygen species in the human respiratory tract. *Scientific Reports*, 6, 1–6.
- Lawson, S. J., Galbally, I. E., Powell, J. C., Keywood, M. D., Molloy, S. B., Cheng, M., Selleck, P. W. (2011). The effect of proximity to major roads on indoor air quality in typical Australian dwellings. *Atmospheric Environment*, 45(13), 2252-2259.
- Levy, R.J. (2016). Carbon monoxide pollution and neurodevelopment: A public health concern. *Neurotoxicology and Teratology*, (212), 31–40.
- Li, R., Kou, X., Tian, J., Meng, Z., Cai, Z., Cheng, F., Dong, C. (2014). Effect of sulfur dioxide on inflammatory and immune regulation in asthmatic rats. *Chemosphere*, 112, 296–304.
- Marcon, A., Fracasso, M.E., Marchetti, P., Doria, D., Girardi, P., Guarda, L., Pesce, G., Pironi, V., Ricci, P., de Marco, R. (2014). Outdoor formaldehyde and NO₂ exposures and markers of genotoxicity in children living near chipboard industries. *Environmental Health Perspectives*. 122(6), 639–645
- Mackay, A. K., Taylor, M. P., Munksgaard, N. C., Hudson-Edwards, K. A., Burn-Nunes, L. (2013). Identification of environmental lead sources and pathways in a mining and smelting town: Mount Isa, Australia. *Environmental Pollution*, 180, 304-311.
- Morales, E., Garcia-Esteban, R., de la Cruz, O. A., Basterrechea, M., Lertxundi, A., de Dicastillo, M. D. (2015). Intrauterine and early postnatal exposure to outdoor air pollution and lung function at preschool age. *Thorax*, 70(1), 64-73.

- Mortimer, K., Neugebauer, R., Lurmann, F., Alcorn, S., Balmes, J., Tager, I. (2008). Air pollution and pulmonary function in asthmatic children effects of prenatal and lifetime exposures. *Epidemiology*, 19(4), 550–57.
- Mustafić, H., Jabre, P., Caussin, C., Murad, M. H., Escolano, S., Tafflet, M., Périer, M.C., Marijon, E., Vernerey, D., Empana, J.P., Jouven, X. (2012). Main air pollutants and myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association*, 307(7), 713-721.
- Nasser, Z., Salameh, P., Nasser, W., Abou Abbas, L., Elias, E., Leveque, A. (2015). Outdoor particulate matter (Pm) and associated cardiovascular diseases in the middle east. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 28(4), 641–661.
- Nelin, T. D., Joseph, A. M., Gorr, M.W., Wold L.E. (2012). Direct and indirect effects of particulate matter on the cardiovascular system. *Toxicology Letters*, 208(3), 293-299.
- Neri, M., Ugolini, D., Bonassi, S., Fucic, A., Holland, N., Knudsen, L. E., Šrám, R. J., Ceppi, M., Bocchini, V., Merlo, D. F. (2006). Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage: II. Results of a comprehensive literature search and meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 612(1), 14-39.
- Ortega-Garcia, J. A., Lopez-Hernandez, F. A., Cárceles-Álvarez, A., Fuster-Solerc, J. L., Sotomayora, D. I. and Ramis R. (2017). Childhood cancer in small geographical areas and proximity to air-polluting industries. *Environmental Research*, 156, 63-73.
- Paffett, M. L., Zychowski, K. E., Sheppard, L., Robertson, S., Weaver, J., W. Selita N. Lucas, S. N. Campen, M. J. (2015). Ozone inhalation impairs coronary artery dilation via intracellular oxidative stress: Evidence for serum-borne factors as drivers of systemic toxicity. *Toxicological Sciences*, 146(2), 244–53.
- Patel, M. M., Miller, R. L., (2010). Air pollution and childhood asthma: recent advances and future directions. *National Institutes and Health*, 21(2), 235–242
- Patel, M. M., Chillrud, S. N., Deepti K. C. Ross J. M., Kinney P. L. (2013). Traffic-related air pollutants and exhaled markers of airway inflammation and oxidative stress in New York City adolescent. *Environmental Resource*, 121: 71–78.
- Peixoto, M. S., Felipe M., Galvao, D. O., Batistuzzo, S. R. (2017). Cell death pathways of particulate matter toxicity. *Elsevier Chemosphere*, 188(32-48).
- Pedersen, M., Vinzents, P., Petersen, J.H., Kleinjans, J. C., Plas, G., Kirsch-Volders, M., Dostál, M., Rössner, P., Beskid, O., Sram, R. J., Merlo, D. F., Knudsen, L. E. (2006). Cytogenetic effects in children and mothers exposed to air pollution assessed by the frequency of micronuclei and fluorescence in situ hybridization (FISH): a family pilot study in the Czech Republic. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 608(2), 112-120.

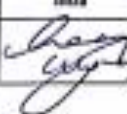
- Pelevina, I.I., Aleshchenko, A. V., Gotlib V.I., Kudriashova, O. V., Noskin, L. A., Semenova, L. P., Sotnikova, E. N., Serebrianyĭ, A. M. (2000). Increased radiosensitivity after irradiation of lymphocytes low adaptive doses. *Radiats Biol Radioecol*, 56(3), 351–357
- Poma, A., Colafarina, S., Aruffo, E., Zarivi, O., Bonfigli A., di Bucchianico, S., di Carlo, P. (2017). Effects of ozone exposure on human epithelial adenocarcinoma and normal fibroblasts cells. *PLoS ONE*, 12(9), 1–14
- Salvi, S. (2007). Health effects of ambient air pollution in children. *Paediatric Respiratory Reviews*, 8(4), 275–280.
- Sharma, G., Goodwin J. (2006). Effect of aging on respiratory system physiology and immunology. *Clinical Interventions in Aging*, 1(3), 253–60.
- Shrey, K., Suchit, A., Deepika, D. Shruti, K. Vibha, R. (2011). Air pollutants: The key stages in the pathway towards the development of cardiovascular disorders. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 31(1), 1–9.
- Silva da Silva, C., Rossatob, J., Rocha, J., Vargas, V. (2015). Characterization of an area of reference for inhalable particulate matter (PM_{2.5}) associated with genetic biomonitoring in children. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 778, 44–55.
- Sisenando, H. A., Batistuzzo de Medeiros, S. R., Artaxo, P., Saldiva, P. H., Hacon, S. de S. (2012). Micronucleus frequency in children exposed to biomass burning in the brazilian legal amazon region: A control case study. *BMC Oral Health*, 12(1), 6.
- Smargiassi, A., Goldberg, M. S., Wheeler, A.J., Plante, C., Valois, M.F., Mallach, G., Kauri, L.M., Shutt, R., Bartlett, S., Raphoz, M., Liu, L. (2014). Associations between personal exposure to air pollutants and lung function tests and cardiovascular indices among children with asthma living near an industrial complex and petroleum refineries. *Environmental Research*, 132, 38–45.
- Smith, Kirk R., Samet, J. M., Romieu, I., Bruce, N. (2000). Indoor air pollution in developing countries and acute lower respiratory infections in children. *BMJ Open Respiratory Resource*, 518–32.
- Sopori, M. (2002). Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2, 372–377.
- Sram, R. J., Binkova, B., Dostal M., Merkerova-Dostalova M., Libalova H., Milcova A., Rossner Jr. P., Rossnerova A., Schmuczerova J., Svecova V., Topinka J., Votavova H. (2013). International journal of hygiene and health impact of air pollution to children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(5), 533–540.
- Sughis, M., Nawrot, T. S., Ihsan-ul-Haque, S., Amjad, A., Nemery, B. (2012). Blood pressure and particulate air pollution in schoolchildren of lahore, Pakistan. *BMC Public Health*, 12(1), 378.

- Thomas, P., Fenech, M. (2011). Buccal micronucleus cytome assay. *Methods in Molecular Biology*, 682, 235-248.
- Tolbert, P. E., Shy, C. M., Allen, J. W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. *Mutation Research*, 271(1), 69-77.
- Tuygun, G. T., Altuğ, H., Elbir, T., Gaga, E. O. (2017). Erratum to: Modeling of Air Pollutant Concentrations in an Industrial Region of Turkey (Environ Sci Pollut Res, 10.1007/S11356-017-8492-9). *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8242.
- Villarini, M., Levorato, S., Salvatori, T., Ceretti E., Bonetta S., Carduc A. (2018). Buccal micronucleus cytome assay in primary school children: a descriptive analysis of the MAPEC_LIFE multicenter cohort study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 221(6), 883–892.
- Vriens, A., Nawrot T., Saenen, N., Provost, E., Kicinski, M., Lefebvre, W., Vanpoucke, C., Van Deun, J., De Wever, O., Vrijens, K., De Boever, P., Plusquin, M. (2016). Recent exposure to ultrafine particles in school children alters miR-222 expression in the extracellular fraction of saliva. *Environmental Health*, 15(1), 80.
- Vrijheid, M., Martinez, D., Aguilera, I., Bustamante, M., Ballester, F., Estarlich, M., Fernandez-Somoano, A., Guxens, M., Lertxundi, N., Martinez, M.D., Tardon, A., Sunyer, J., INMA Project. (2012). Indoor air pollution from gas cooking and infant neurodevelopment. *Epidemiology*, 23(1), 23-32.
- Yang, I., Fong, K. M., Zimmerman, P. V., Holgate, S. T., Holloway, J. W., (2009). Genetic susceptibility to the respiratory effects of air pollution. *Postgraduate Medical Journal*, 85(1006), 428–436.
- Yu, B. F., Hu, Z. B., Liu M., Yang, H. L., Kong, Q. X. Liu, Y. H. (2009). Review of research on air-conditioning systems and indoor air quality control for human health ` mes de conditionnement d ` Air et La Recherches Sur Les Syste ` de l ` Air Inte ` Rieur Dans Le Cadre de La Sante ` Humaine : Qualite Tour d ` horizon. *International Journal of Refrigeration*, 32(1), 3–20.

EKLER

EK-1. Etik kurul onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU					
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06/500 Beşevler/Ankara			
	TELEFON	0312 202 69 58			
	FAKS	0312 202 46 73			
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Endüstriyel ve Kentsel Hava Kirlenmelerin Çocuklarda Maruziyet Etki ve Duyarlılık Bireyselsterejeleri ile İrdelenmesi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Güneş ÇAKMAK DEMİRCİGİL			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi / Toksikoloji AD.			
	DESTEKLEYİCİ (Varı)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Diğer: Girişimsel olmayan yollarla alınan biyolojik örneklerde (idrar, tükürük, yanak sürtenisi) moleküler epidemiyoloji çalışması- Bireysel Araştırma Projesi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	31.10.2014	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	31.10.2014	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	31.10.2014	Ver. 2	☒	
	BIYOLOJİK MATERİYAL TRANSFER FORMU			☐	
	DİĞER			☐	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 512	Toplanış tarihi: 10.11.2014			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gereke amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırmanın dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına G.Ü.Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Ancak araştırma kapsamında, solunum fonksiyon testi normalden farklı çıkan çocukların semptomu olsun/ olmasın bir Çocuk Allerji ya da Göğüs Hastalıkları uzmanına yönlendirileceği bilgisinin hem protokole eklenmesi hem de yazılı olarak etik kurulumuza sunulması gerekmektedir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi TÜBİTAK tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, TÜBİTAK kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.				

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İy Klinik Uygulamaların Kılavuzu					
BASKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Canan ULUOĞLU					
Ünvanı/Adı/Soyadı	Ünvanlık Adı	Kurumu	Classiyet	Araştırma ile ilgili	Katkın *	İmza
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YARD.	Çocuk Sağlığı ve Hast.A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Geneş AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Felena BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Seray AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Elvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etiği A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Sercan AKSOY ÜYE	İç Hastalıkları A.D	H.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.T.A	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile ilgili

** :Toplantıda Bulunma

EK-2. Gönüllü Beyan Formu

GÖNÜLLÜ BEYAN FORMU

Yaşadığınız bölgede olası hava kirliliğinin çocuklar üzerinde oluşturabileceği sağlık etkilerini ve bunların önlenme yollarını değerlendirmek üzere hazırlanan çalışmaya çocuğumun katılmasını gönüllü olarak onaylıyorum. Solunum fonksiyonlarına ve tansiyonlarına bakılmasını, tükürük, idrar ve yanak sürüntüsü örneklerinin projedeki çalışmalarda kullanılmasını kabul ediyorum.

Velinin Adı:

Soyad :

Telefon no:

İmza:

Tarih:

EK-3. Anket Formu

ANKET

Anket tarihi (gün/ay/yıl):/...../.....

1.Çocuğun Adı Soyadı:

2.Doğum tarihi (gün/ay/yıl)/...../.....

3.Okul Adı:

4.Son altı aydır ev değiştirdiniz mi ? Evet..... Hayır.....

5.Cevabınız evet ise aşağıdaki soruları yanıtlar mısınız? Cevabınız hayır ise 6. Soruya geçebilirsiniz)

-Adresiniz:

-Telefon numaranız:

-Çocuğunuz okula nasıl gidiyor?

Yürüyerek	Bisiklet	Otomobil	Servis
Süre:dk.	dk.	dk.	dk.

-Okul ve ev arasındaki mesafe ne kadar?km.

6.İçme suyunuz;

Şebeke suyu () Damacana () Karışık() Taşıma su () Taşıma su ise nereden ?
.....

7.Günde kaç bardak su içiyor?bardak

8.Son bir yılda herhangi bir aşı oldu mu? Evet ☐ Hayır ☐

Cevabınız evet ise ne aşısı oldu?

9.Son 3 ay içinde röntgen çekti mi?(Diş ve diğer) Hangisi?

EK-3. (devam) Anket Formu

10. Anne ya da babanın sigara içme alışkanlığı var mı ?

Anne

Evet.....

Hayır.....

Baba

Evet.....

Hayır.....

-Cevabınız evet ise aşağıdaki soruları cevaplayınız. Cevabınız hayır ise 11. Soruya geçebilirsiniz.

Son altı ayda annenin içtiği sigara sayısında artış oldu mu ? Evet..... Hayır.....

Son altı ayda babanın içtiği sigara sayısında artış oldu mu ? Evet..... Hayır.....

-Cevabınız evet ise aşağıdaki soruları cevaplayınız.

Anne

Günde kaç adet sigara içiyor?

Çocuğun yanında içiyor mu?

Baba

Günde kaç adet sigara içiyor?

Çocuğun yanında içiyor mu?

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZATA, Halise Handan
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 16.04.1991 - Diyarbakır
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0555 443 25 79
 e-mail : ozata.gazii@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji ABD	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Ankara Atatürk Lisesi	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2019-Devam ediyor	Ankara Şehir Hastanesi	Eczacı
2016-2019	Ankara Yüksek İhtisas EAH	Eczacı
2015-2016	Zonguldak Devrek Devlet Hastanesi	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-

Hobiler

Seyahat etmek, müzik dinlemek.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..