



T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

< Cilt/Vol 74< Sayı/Number 2 Yıl/Year 2017



T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

REPUBLIC OF TURKEY
THE MINISTRY OF HEALTH
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)
ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 74 ■ Sayı/Number 2 ■ Yıl/Year 2017

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına

On behalf of Public Health Institution of Turkey

İrfan ŞENCAN, Başkan (President)

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey

Destek Hizmetleri / Supportive Services

Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /

Purchasing and Administrative Affairs Department

Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Azim Matbaacılık

Büyük Sanayi 1. Cad. No: 99/33 İskitler-ANKARA

Tel: +90 312 342 03 71-72

e-posta: info@azimmatbaacilik.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2017

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, İsveç

Anna PAPA, Yunanistan

Aziz SANCAR, ABD

Cristina DOMINGO, Almanya

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül GÖZALAN, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Emrah RUH, Kıbrıs

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fehminaz TEMEL, Ankara

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnur TARHAN, Adıyaman

Hakan ABACIOĞLU, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hayrettin AKDENİZ, Bolu

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hülya ŞİMŞEK, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

İrfan EROL, Ankara

İrfan ŞENCAN, Ankara

İsmail CEYHAN, Ankara

Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Koray ERGÜNAY, Ankara

Levent AKIN, Ankara

Mahinur AKKAYA, Ankara

Mehmet Ali ONUR, Ankara

Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum

Mestan EMEK, Antalya

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Mustafa AKSOY, Ankara

Mustafa ERTEK, Ankara

Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir

Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazime MERCAN, Denizli

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Kayseri

Sarp ÜNER, Ankara

Seçil ÖZKAN, Ankara

Seda KARASU YALÇIN, Bolu

Seda TEZCAN, Mersin

Selçuk KAYA, Trabzon

Selçuk KILIÇ, Ankara

Selim KILIÇ, Ankara

Selin NAR ÖTGÜN, Ankara

Sema BURGAZ, Ankara

Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum

Sercan ULUSOY, İzmir

Sultan ESER, İzmir

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Turan BUZGAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Van

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazılar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular www.turkhijyen.org adresinden “Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı” aracılığıyla on line olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallara uyum aranır. Kurallara uymayan yazılar daha ileri bir incelemeye gerek görülmezsiniz yazarlarına iade edilir.

1. “Telif Hakkı Devir Formu” tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra dergimizin makale kabul sistemine yüklenmelidir.

2. Makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çatışılan kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

- Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

d. Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa sunum türü ile birlikte dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

3. Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve Türk Dil Kurumu'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Öz Türkçe'ye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

4. Metin içinde geçen mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımlarda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri italik yazılmalıdır: Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* gibi. Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilokok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalı; uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmamalıdır.

5. Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri Uluslararası Birimler Sistemi (SI)'ne göre verilmelidir.

6. Yazılar bir zorunluluk olmadıkça “geçmiş zaman edilgen” kip ile yazılmalıdır.

7. Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıklı yazılmalı ve sayfa kenarlarından 2,5 cm boşluk bırakılmalıdır.

8. Yazarlar araştırma ve yayın etiğine uymalıdır. Klinik araştırmalarda, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olur alındığının gereği ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yazarlar Helsinki Bildirgesi'nde ana hatları çizilen ilkeleri izlemelidir. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve yürürlükte olan tüm mevzuatta belirtilen hükümlere uymalı ve “Etik Kurul Onayı”nı göndermelidir.

9. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izinler alınmalı; yazıda deneklere ağır, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir.

10. Hasta kimliğini tanıttıkça fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

11. Araştırma yazıları;

Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Teşekkür (varsa) ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölüm başlıkları sola yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde de Türkçe başlık, kısa başlık ve özet bulunmalıdır.

a) **Türkçe Özet:** Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç, alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir.

b) **İngilizce Özet (Abstract):** Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde “Objective, Method, Results, Conclusion” olarak yapılandırılmalıdır.

c) **Anahtar Kelimeler:** 3-8 arasında olmalı ve Index Medicus Medical Subject Headings-(MeSH)'de yer alan kelimeler kullanılmalıdır. Türkçe anahtar kelimelerinizi oluşturmak için <http://www.bilimterimleri.com/> adresini kullanınız.

d) **Giriş:** Araştırmanın amacı ve gerekçesi güncel literatür bilgisi ile desteklenerek iki sayfayı aşmayacak şekilde sunulmalıdır.

e) **Gereç ve Yöntem:** Araştırmanın gerçekleştirildiği kurum/kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem sunulmalı; istatistiksel yöntemler açıkça belirtilmelidir.

f) **Bulgular:** Sadece araştırmada elde edilen bulgular belirtilmelidir.

g) **Tartışma:** Araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

h) **Teşekkür:** Ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalıdır. Teşekkür bölümünde çalışmaya destek veren kişi, kurum/kuruluşlar yer almalıdır.

i) **Kaynaklar:** Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımlı ile ilgili aşağıda örnekler verilmiştir. Daha detaylı bilgi için “Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals” (J Am Med Assoc 1997; 277: 927-934) (<http://www.nejm.org/>) bakılmalıdır.

Süreli yayın: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk altısını yazıp “et al.” veya “ve ark.” eklenmelidir). Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

• Standard dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A case of hydatid lung cyst diagnosed by kinyoun staining of bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

• Yazarı verilmemiş makale için örnek: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283: 628.

• Dergi eki için örnek: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

Kitap: Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçınca baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

• Örnek: Eisen HN. Immunology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

Kitap bölümü: Bölüm yazar(lar)ın soyadı adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın adı. Kaçınca baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Bölümün ilk ve son sayfa numarası.

• Örnek: Weinstein L, Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiology: Mechanism of Disease. Philadelphia. WB Saunders, 1974: 457-72.

Web adresi: Eğer doğrudan “web” adresi referans olarak kullanılacaksa adres ile birlikte parantez içinde bilgiye ulaşılan tarih de belirtilmelidir. Web erişimli makalelerin referans olarak metin içinde verilmesi gerektiğinde DOI (Digital Object Identifier) numarası verilmesi şarttır.

Kongre bildirisi: Entrala E, Mascaró C. New structural findings in Cryptosporidium parvum oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

Tez: Bilhan Ö. Labirent savakların hidrolik karakteristiklerinin deneysel olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

GenBank/DNA dizisi analizi: Gen kalıtım numaraları ve DNA dizileri makale içinde kaynak olarak gösterilmelidir. Konuyla ilgili ayrıntılı bilgi için “National Library of Medicine” adresinde “National Center for Biotechnical Information (NCBI)” bölümüne bakınız.

Şekil ve Tablolar: Her tablo veya şekil ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, “Tablo 1.” şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnota yer verilmeli, uygun simgeler (*, +, ++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar “jpeg” formatında ve en az 300 dpi olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir.

12. Araştırma Makalesi türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 40 olmalıdır.

13. Derleme türü yazılarda tercih eden yazar sayısı ikiden fazla olmamalıdır. Yazar(lar) daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalı; bu deneyimlerini derleme yazısında tartışmalı ve kaynak olarak göstermelidir. Derlemelerde Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 250, en fazla 400 kelime içermelidir) ve anahtar kelimeler bulunmalıdır. Derleme türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 60 olmalıdır.

14. Olgular sunularında metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar kelimeler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgular sunumu türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 20 olmalıdır.

15. Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesini amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulu'nun inceleme ve değerlendirmesinin ardından yayınlanır. Editöre Mektup bir sayfayı aşmamalı ve kaynak sayısı en fazla 10 olmalıdır.

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 55 91

e-posta : thsk.thdbd@saglik.gov.tr

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org through the Online "Manuscript Submission, Tracking, Evaluation Program".

Manuscripts are checked according to the following rules. If the rules are not adhered to, manuscripts will be returned to the author.

1. The "Copyright Transfer Form" (Copyright Release Form) after being signed by all authors should be uploaded using the article accepting system of the journal.

2. The title of article, short title, author name(s), names of institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (landline and mobile) and e-mail address should be given:

- The title should be short and written in lower case.
- The short title should not exceed 40 characters.
- The study supported by a fund or scientific organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.
- The study presented in a conference/symposium must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3. For Turkish studies; Terms used in articles should be in Turkish and Latin as much as possible, according to the latest dictionary of the "Turkish Language Institution". Importance should be given to use pure Turkish language and as many as Turkish references.

4. Latin names of microorganisms used for the first time in the text have to be written in full. If these names are used later, they should be abbreviated in accordance to international rules. The original Latin names of microorganisms should be written in *italic*: for example, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*. Names of antibiotics should be abbreviated in accordance with international standards.

5. Symbols of the units mentioned in the text should be according to "The Système International (SI).

6. Articles should be written in one of the "past perfect, present perfect and past" tenses and in the passive mode.

7. Only one side of A4 paper should be used and should have a 2.5 cm margin on each side. 12 pt, Times New Roman font and double line space should be used.

8. The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology expects the authors to comply with the ethics of research and publication. In human research, a statement of the informed consent of those who participated in the study is needed in the section of the "Materials and Methods". In case of procedures that will apply to volunteers or patients, it should be stated that the study objects have been informed and given their approval before the study started. In case the authors do not have a local ethics committee, the principles outlined in the "Declaration of Helsinki" should have been followed. Authors should declare that they have followed the internationally accepted latest guidelines, legislation and other related regulations and should send "Approval of the Ethics Committee".

9. In case animal studies, approval also is needed; it should be stated clearly that the subjects will be prevented as much as possible from pain, suffering and inconvenience.

10. In case patient photos are used which shows his/her ID, a written informed consent of the patient on the use of the photos must be submitted.

11. Research Articles;

Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References sections. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish. (If the all of the authors from abroad the manuscript and abstract can be write English language).

a) Turkish Abstract should consist of the subheadings of Objective, Methods, Results and Conclusion (Structured Abstract). It should be between 250 and 400 words.

b) English Abstract: The abstract should be structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion). It should be between 250 and 400 words.

c) Key words The number of keywords should be between 3-8 and the terminology of the Medical Subjects Headings (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH) should be used.

d) Introduction: The aim of the study, and references given to similar studies should be presented briefly and should not exceed more than two pages.

e) Materials and Methods: The date of the study, institution that performed the study, and materials and methods should be clearly presented. Statistical methods should be clearly stated.

f) Results: The results should be stated clearly and only include the current research.

g) Conclusions: In this section, the study findings should be compared with the findings of other researchers. Authors should mention their comments in this section.

h) Acknowledgements should be placed at the end of the main text and before the references. In this section, the institutions/departments which supported the research should be stated.

i) References: Authors are responsible for supply complete and correct references. References should be numbered according to the order used in the text.

Numbers should be given in brackets and placed at the end of the sentence. Examples are given below on the use of references. Detailed information can be found in "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997 277: 927-934) and at <http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>.

Periodicals: Author(s) Last Name initial(s) name of author(s) (if there are six or fewer authors, all authors should be written; if the number of authors are seven or more, only the first six of the authors should be written and the rest as "et al"). The title of the article, the abbreviated name of the journal according to the Index Medicus, Year; Volume (Issue): The first and last page numbers.

- Example of standard journal article: Demirci M, Unl  M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.
- Example of an article with authors unknown: Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.
- Example of journal supplement: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

Books: Surname of the author(s) initial name(s) of author(s). The name of the book. The edition number. Place of publication: Publisher, Publication year. Example: Eisen HN. Immunology: an Introduction to the Principles of Molecular and Cellular Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974.

Book chapters: The author(s) surname of the chapter initial(s) letter of the name. Section title. In: Surname of editor(s) initial (s) letter of first name(s) ed / eds. The name of the book. Edition number. Place of publication: Publisher, year of publication: The first and last page numbers of the chapter.

- Example: Weinstein L. Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic Physiology: Mechanism of Disease*. Philadelphia. WB Saunders, 1974:457-72.

Web address: If a "web" address is used as the reference address, the web address date should be given in brackets with the address. The DOI (Digital Object Identifier) number must be provided, when a web access article used in the text as a reference.

Congress papevars: Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, Izmir-Turkey. 1994.

Thesis: Bilhan  . Experimental investigation of the hydraulic characteristics of labyrinth weir. Master Thesis, Science Institute of Firat University, 2005.

GenBank / DNA sequence analysis: DNA sequences of genes and heredity numbers should be given as references in the article. For more information, check "National Library of Medicine" and "National Center for Biotechnical Information (NCBI)".

Figure and Tables: Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included.

Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (*, +, ++, etc.) should be used.

Photos should be in "jpeg" format. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

12. Research articles should have up to 40 references.

13. In reviews, it is preferred to have not more than two authors. Author(s) must have done research and published articles previously on this subject; they should discuss their experience and use as reference in the review. Reviews should have Turkish and English titles, abstracts (it should contain minimum 250, maximum 400 words) and key words. Reference numbers for the review should be maximum 60.

14. Case reports should have a maximum of seven pages of text.

Case report should have a Turkish and English title, abstract, keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given. Number of references should be maximum 20.

15. Letters to Editor: Written to make criticisms, additions to previously published articles or scientific updates are published after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to 10 references.

16. The articles which do not comply with the journal rules are not accepted.

17. Authors should keep a copy of the article that they submit.

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 55 91

e-mail : tthsk.thdbd@saglik.gov.tr

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide biyoloji, mikrobiyoloji, enfeksiyon hastalıkları, farmakoloji, toksikoloji, immünoloji, parazitoloji, entomoloji, kimya, biyokimya, gıda, beslenme, çevre, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji, genetik, biyoteknoloji ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki yazılar Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergiye, daha önce başka yerde yayımlanmamış ve yayımlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan yazılar kabul edilir.
- Dergi Yayın Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüş alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlara aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayımlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
 - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
 - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
 - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
 - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
 - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
 - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH ve Türk Tıp Terimleri Sözlüğü'ne uygun) verildi.
 - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standard olmayan kısaltmalar düzeltildi.
 - Metin içerisinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.
 - Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri the Système International (SI)'e göre verildi.
 - Yazılar "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazıldı.
 - Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıkla yazıldı.
 - Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 2,5 cm boşluk bırakıldı.
 - Tablolar, şekiller yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
 - Fotoğraflar JPEG formatında aktarıldı.
 - Kaynaklar cümle sonlarında parantez içinde ve metin içinde kullanım sırasına göre ardışık sıralandı.
 - Kaynaklar, makale sonunda metin içinde verildiği sırada listelendi.
 - Kaynaklar gözden geçirildi ve tüm yazar adları, ifade ve noktalamalar yazım kurallarına uygun hale getirildi.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız.
- Etik kurul onayı alındı.
 - Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
 - Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.
 - Varsa teşekkür bölümü oluşturuldu.

EDITORIAL POLICY

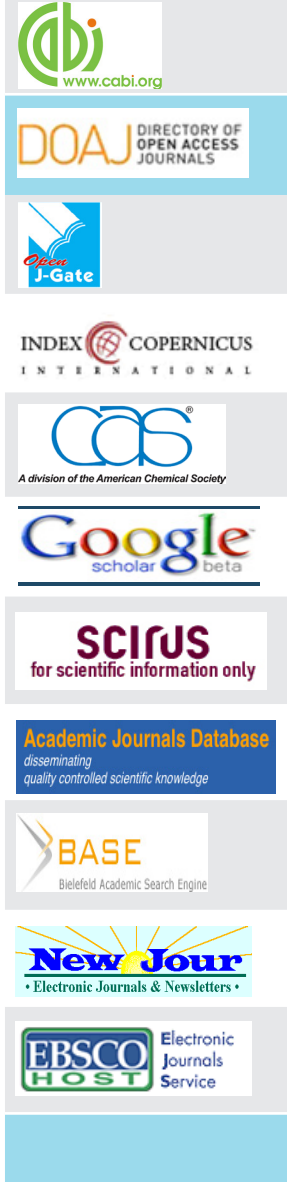
- The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology is a publication of the “Public Health Institute of Turkey (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)” of Ministry of Health. The Journal is published every three months and one volume consists of four issues.
- The journal publishes biology, microbiology, infectious diseases, pharmacology, toxicology, immunology, parasitology, entomology, chemistry, biochemistry, food safety, environmental, health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology, genetics, biotechnology in the field of original research, case report, reviews and letters to the editor are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or not currently under evaluation elsewhere can be accepted for the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released after receiving at least two positive opinions from the Scientific Committee members. Those committees have the authority to make all corrections and abbreviations but not to change the content of the article.
- The authors have the all the scientific and legal responsibilities of the articles.
- The authors must fully obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology belongs to the Journal. Copyright fee is not paid to the authors.

CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

- Copyright transfer form is completed in full and signed by all authors according to the name order.
 - Author names are written clearly.
 - Affiliated institutions of the all authors are given on the title page by the number stated after the author's name.
 - The name, address, phone-fax numbers and mail address of the author responsible for correspondence are given.
 - Turkish, English titles and short title are written.
 - The number of words in Turkish and English abstracts (between 300-500) is checked.
 - Turkish and English keywords (according to MeSH) are given.
 - All abbreviations are reviewed and non-standard abbreviations are corrected
 - Original Latin names of microorganisms are written in italic.
 - Symbols are mentioned according to the units in the Système International (SI).
 - The article is written in passive mode and given one of the “past perfect, present perfect or past ” tenses.
 - Text is written in 12 pt Times New Roman characters and with double line spacing.
 - Text is written only on one side of the page and has 2.5 cm space at each side.
 - Tables and figures are given on each separate page according to the writing rules.
 - Photos are in JPEG format.
 - References are given at the end of the sentence in brackets and are listed in order of use in the text.
 - References are listed at the end of the article in the order given in the text.
 - References are reviewed, and the name of all authors, spelling and punctuation are controlled according the writing rules.
- Furthermore, please check.**
- “Ethics Committee Approval” is given.
 - Support to a study by a fund or organization is mentioned.
 - Congress / Symposium presentations and the type of presentation are stated.
 - Acknowledgement is given, if there is.

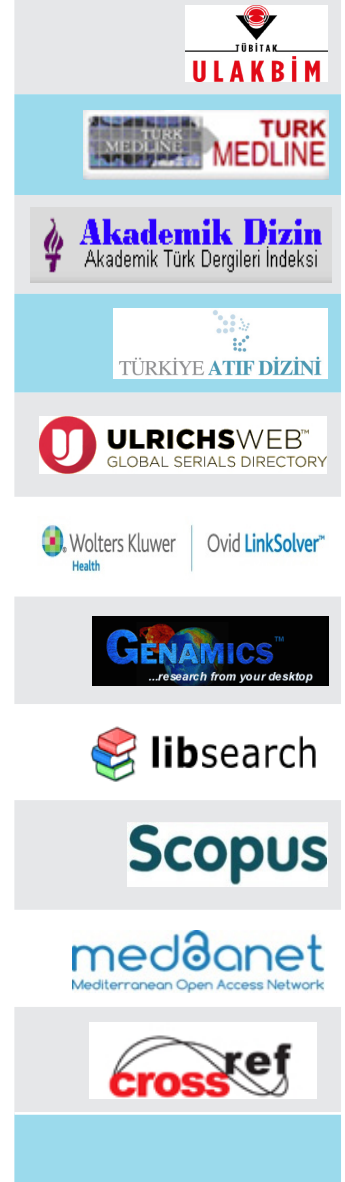
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne
www.turkhijyen.org adresinden online olarak makale gönderilebilir.

Submissions can be made online at the address www.turkhijyen.org
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.



Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (Türk Hij Den Biyol Derg); CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Akademik Türk Dergileri İndeksi, Türk - Medline ve TUBITAK-ULAKBİM Türk Tıp Dizini'nde dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Türk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and Poisoning), DOAJ (Directory of Open Access Journals), Index Copernicus, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Ovid Link Solver, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Libsearch, Medoanet, SCOPUS, CrossRef, Türkiye Atıf Dizini, Turkish Academic Journals Index, Türk - Medline, and TUBITAK - ULAKBİM Türk Tıp Dizini.



İLETİŞİM

CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Public Health Institution of Turkey
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA - TÜRKİYE

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 55 91

e-posta: thsk.thdbd@saglik.gov.tr

<http://www.thsk.gov.tr>

www.turkhijyen.org

■ Araştırma Makalesi / Original Article

- 1. Efficient transduction of melanoma cells with Sendai viral vectors**
Melanoma hücrelerinin Sendai viral vektörleri ile verimli transdüksiyonu
Açelya YILMAZER-AKTUNA, Hadiseh TAHERİ, Alp CAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.98705 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
113 - 120

- 2. Tick attachment sites in humans living in the Tokat province of Turkey**
Tokat ilinde yaşayan insanlardaki kene tutunma bölgelerinin değerlendirilmesi
Adem KESKİN, Yunus Emre BULUT, Aysun KESKİN, Ahmet BURSALI
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.24993 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
121 - 128

- 3. Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı**
Awareness of laboratory staff of biochemistry and microbiology laboratories in medical waste management
Merve ERGİN, Serpil ERDOĞAN, Özcan EREL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.56244 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
129- 138

- 4. Hand hygiene attitudes of healthcare staff working in intensive care unit of a state hospital**
Bir devlet hastanesinin yoğun bakım ünitesinde çalışan sağlık personelinde el hijyeni davranışları
Aliye BULUT, Aziz BULUT, Çağla YİĞİTBAŞ, Suat TUNCAY
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.43815 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
138 - 146

- 5. Evde sağlık hizmetleri çalışanlarının eğitim ihtiyacının belirlenmesi**
Identification of training needs of home health care workers
Sinan BULUT, Özlem YİĞİTBAŞIOĞLU, Kanuni KEKLIK, Alev YÜCEL, Savaş Başar KARTAL, İrfan ŞENCAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.70437 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
147 - 154


■ Olgu Sunumu / Case Report

- 6. Piyojenik karaciğer apsesi: olgu sunumu**
Pyogenic liver abscess: case report
Duygu MERT, Muret ERSÖZ-ARAT, Öznur GÜNEŞ, Mustafa ERTEK
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.67625 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
155 - 160


■ Derleme / Review

- 7. Nitrik oksitin kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri**
The effects of nitric oxide on cancer development and metastasis
Mehmet Kürşat DERİCİ, Emine DEMİREL-YILMAZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.00378 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
161 - 174

- 8. Akciğer kanseri tedavisinde farmakogenomik**
Pharmacogenomics in lung cancer treatment
Nil KILIÇ, Demet CANSARAN-DUMAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2017.21703 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
175 - 184


Efficient transduction of melanoma cells with Sendai viral vectors

Melanoma hücrelerinin Sendai viral vektörleri ile verimli transdüksiyonu

Açelya YILMAZER-AKTUNA¹, Hadiseh TAHERİ³, Alp CAN²

ABSTRACT

Objective: Various viral vectors have been developed in order to delivery genes to living cells. Sendai virus (SeV) vectors are important viral vectors due to their properties suitable for gene delivery including transient gene expression, wide host cell specificity, low pathogenicity and strong immunogenicity. SeVs vectors are highly used in molecular medicine in gene therapy, vaccine technology and regenerative.

Methods: It was evaluated the gene delivery efficiency of SeV particles in various melanoma cell lines by using fluorescence microscope and confocal laser scanning microscope imaging techniques. A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 cells have been transduced with SeV vectors expressing green fluorescent protein (GFP) at different multiplicity of infections (MOI): 1, 3, and 9. GFP expression was checked at 24 and 48 hours later following transduction. Confocal laser scanning microscopy imaging was calculated to gene delivery efficiency.

Results: It was showed that A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 cells are efficiently transduced by seV even at low virus concentration with fluorescence microscopy imaging. GFP reporter gene activity started to be observed in 24 hours and peaked in 48 hours following viral transduction. Slight toxicity was observed

ÖZET

Amaç: Yaşayan hücrelere gen salımı yapmak üzere pek çok viral vektör geliştirilmiştir. Sendai viral (SeV) vektörleri geçici gen ifadesi, geniş konak özgülüğü, düşük patojenite ve yüksek immünojenite gibi özellikleri sayesinde gen aktarımı için önemli vektörlerdir. SeV vektörleri gen tedavisi, aşı teknolojileri ve rejeneratif amaçlı moleküler tıpta sıklıkla kullanılır.

Yöntem: Bu çalışmada, farklı melanoma hücre dizilerinde SeV vektörlerinin gen aktarım verimlilikleri floresan mikroskop ve konfokal lazer taramalı mikroskop görüntüleme teknikleri ile değerlendirilmiştir. A375, MDA-MB-435, G361 ve WM115 hücreleri yeşil floresan proteini (GFP) ifade eden SeV vektörleri tarafından farklı virüs derişimlerinde (enfeksiyon çarpanı (MOI): 1, 3 ve 9) transdükte edilmiştir. GFP ifadesi virüs inkübasyonundan 24 ve 48 saat sonrasında kontrol edilmiştir. Konfokal lazer taramalı mikroskop görüntüleme ile gen salım verimliliği hesaplanmıştır.

Bulgular: Floresan mikroskop görüntüleme ile düşük virüs derişimlerinde dahi (enfeksiyon çarpanı: 1), A375, MDA-MB-435, G361 ve WM115 hücrelerinin SeV tarafından verimli şekilde transdükte edildiği gösterilmiştir. Viral transdüksiyonu takiben, GFP kontrol gen aktivitesi 24 saat içerisinde gözlemlenmeye başlanmış ve 48 saatte artış göstermiştir. Transdüksiyondan 24 saat sonrasında

¹Ankara University, Faculty of Engineering, Biomedical Engineering Department, Ankara

²Ankara University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara

³Ankara University, Biotechnology Institute, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Açelya YILMAZER - AKTUNA

Ankara University, Biomedical Engineering Department, Gölbaşı, Ankara - Turkey

Tel : +90 533 778 76 91 E-posta / E-mail : ayilmazer@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 21.11.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 20.12.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.98705

Yilmazer-Aktuna A, Taheri H, Can A. Efficient transduction of melanoma cells with Sendai viral vectors. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 113-120

following viral transduction in all cell 24 hours later; however, cells recovered and proliferated resulting in efficient gene expression 48 hours later. According to the confocal laser scanning microscopy imaging, more than 80% of all cell lines expressed GFP 48 hours after viral transduction.

Conclusion: In conclusion, SeV vectors successfully transduced and expressed GFP reporter gene in various melanoma cell lines with high efficiency. This study discovered the use of SeV vectors in melanoma-originated cells and it can open up wide range of studies involving SeV vectors in cancer therapy and cellular reprogramming fields.

Key Words: Melanoma, Sendai virus particles, GFP, transduction, gene delivery

hücrelerde hafif toksisite gözlemlenmiş olsa da 48 saat sonrasında hücreler toksisite etkisinden kurtularak çoğalmış ve verimli şekilde gen ifadesi göstermişlerdir. Konfokal lazer taramalı mikroskop görüntüleme sonucuna göre 48 saat sonunda tüm hücre dizilerinde hücrelerin %80'inden fazlası başarılı bir şekilde GFP genini ifade etmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, SeV vektörleri melanoma hücrelerini yüksek verimlilikle transdükte edip gen ifadesini sağlamıştır. Bu çalışma SeV vektörlerinin melanoma orijinli hücrelerdeki kullanımını açığa çıkarmış ve SeV vektörlerinin kullanımını içeren kanser tedavi ve hücre programlama alanındaki gelecek çalışmalarına destek sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Melanoma, Sendai virüsleri, GFP, transdüksüyon, gen aktarımı

INTRODUCTION

Sendai virus (SeV) belongs to the *Paramyxoviridae* family of viruses and it is a respiratory virus of mouse and rat, classified as mouse parainfluenza virus type I. Virus particles are enveloped and 150-250 nm in diameter. Its genome is a single chain RNA (15,384 bases) in the minus sense (1). SeV enters the cells by attaching itself to the sialic acid receptor present on the host cell membrane, therefore it can transduce a variety of cell types (2). The presence of a ubiquitous secondary receptor indispensable for membrane fusion has also been suggested (3). After the activation of fusion protein by a protease, virus and host cell fusion process takes place. This is followed by genome replication and protein synthesis, and finally daughter virus particles are assembled and released to extracellular space. In addition, these vectors rely for their gene expression only on virus-encoded RNA polymerase and tubulin, a ubiquitously conserved cytoskeletal protein (4).

Lung/airway epithelium is the main target of

SeV particles (5), however recombinant SeV vectors can also induce strong transgene expression in cardiovascular system (6), retinal epithelium (7), hepatocytes (8), colon epithelium (9), neurons (2), dendritic cells (10), and in human hematopoietic stem cells (11).

Thanks to their powerful but transient gene expression, wide host cell specificity, low pathogenicity and strong immunogenicity, SeVs are highly used in molecular medicine with different purposes in gene therapy, vaccine technology and regenerative medicine (12-14). Until now, the feasibility for using SeV particles clinically has been recently applied in the following areas: 1) as a live attenuated vaccine; 2) in gene therapy for critical limb ischemia; and 3) in cancer gene therapy (15).

In the present work, we aimed to investigate the gene delivery efficiency of SeV particles in various melanoma cell lines including A375, MDA-MB-435,

G361 and WM115. This study examines the use of these vectors in melanocyte-originated cells and it can open up wide range of studies involving SeV vectors in cancer therapy and cellular reprogramming fields.

MATERIAL and METHOD

Cell Lines

Human melanoma cell lines (A375, MDA-MB-435, G361 and WM115) cells were purchased from ATCC (Rockville, MD, USA). A375, MDA-MB-435 and G361 cells were maintained in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Life Technologies, USA), WM115 maintained in Minimum Essential Medium (MEM, Life Technologies, USA), supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS, Life Technologies, USA), 50 U/mL penicillin (Life Technologies, USA), 50 µg/mL streptomycin (Life Technologies, USA), 1% L-glutamine (Life Technologies, USA) and 1% non-essential amino acids (Life Technologies, USA) at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂.

Sendai Virus Transductions

A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 melanoma cells were plated into a 24-well culture plate at a density of 1x10⁴ cells per well and incubated at 37°C, 5% CO₂, overnight. SeV vectors (CytoTuneEmGFP Sendai Fluorescence Reporter, Thermo Fisher Scientific) expressing emerald green fluorescent protein (EmGFP) were added at different multiplicity of infections (MOI): 1, 3, and 9. After 24 hours of incubation period, transduction medium was removed and cells were washed with PBS (Life Technologies, USA). Fresh complete medium was added and plates were returned to the incubator. GFP expression was analyzed via confocal laser scanning microscopy (CLSM) and fluorescence microscopy.

CLSM Imaging

Reporter gene activity was assessed in cells transduced at MOI 9 concentration at 24 and 48 h of

culture. Healthy cells on 24-well plates were observed under CSLM, (Zeiss LSM 510 Meta laser scanning confocal microscope, Germany), equipped with a 30 mW argon, a 1 mW, 543 nm HeNe, and a 5 mW, 633 nm HeNe laser lines. Samples were analyzed to obtain a DIC image combined with a GFP fluorescence image. Representative images were taken at 40 x magnification.

Fluorescence Microscopy

At 48 hours of culture, cells were washed with PBS buffer and fixed with 4% formaldehyde. Samples were imaged under fluorescence microscope (EVOS FL, Thermo Fisher Scientific) in order to determine the optimum MOI concentration. Representative images were obtained using two channels (DIC-phase contrast and GFP channels) at 20 x magnification.

Image Analysis

The number of GFP positive and negative cells was analyzed in five different regions of a well (3 wells per condition and time point) by using ImageJ 1.48 software. The percentage of GFP positive cells were plotted for each condition.

RESULTS

In an attempt to determine the gene delivery efficiencies of SeV vectors in melanoma cells, various cell lines of melanoma origin were transduced with SeV particles at different MOI concentrations. GFP expression was used in order to assess the reporter gene activity. Fluorescence microscopy imaging of GFP expressing cells demonstrated that all cell lines were shown to be transduced by SeV particles at 48 hour time point (Figure 1). The fluorescent signals were both detected in nuclear and cytoplasmic regions. Furthermore, increasing the MOI concentration increased the number of cells transduced after viral incubations, as expected. Therefore, according to findings illustrated in Figure 1, we assumed that SeV vectors can be used in all studied cell lines, preferably between MOI 3 and 9.

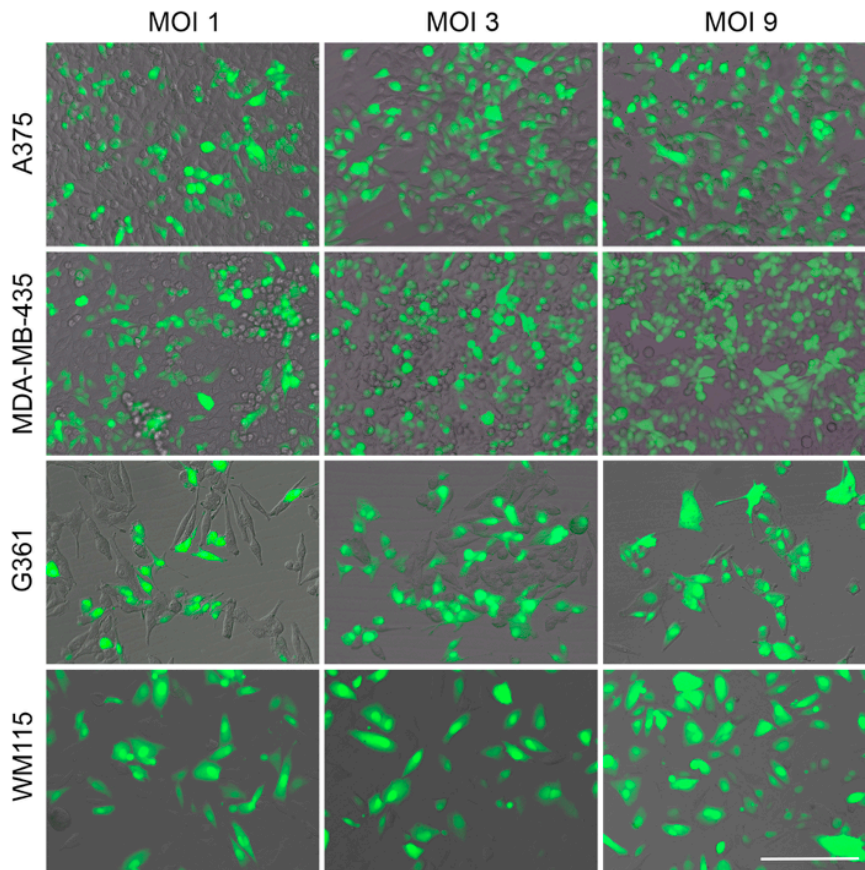


Figure 1. SeV transductions of different melanoma cell lines at different MOI concentrations. A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 cell lines were transduced with SeV vectors expressing GFP (MOI: 1, 3 and 9) for 24 h in complete media. GFP expression (green signal) was observed after 48 h under fluorescence microscopy. Scale bar = 400 μ m

Transgenes carried via SeV vectors are not inserted into the host genome as in the case of lentiviral or retroviral vectors; therefore transgene expression profiles should be carefully studied. Fluorescence over 48 hour time interval was then evaluated by CLSM in order to determine the kinetics of gene expression. As shown in Figure 2, in all cell lines at MOI 9, GFP expression started as early as 24 hours and increased further at 48 hours (Figure 2). Cells observed at 48 hours showed the highest amount of fluorescence; therefore we concluded that GFP expression peaks around 48 hours following viral transduction, after which the mRNA and protein levels were started to decrease within the cells.

In order to determine whether any difference is concerned between the transduction efficiencies; the number of GFP-positive cells were analyzed by Image J. As shown in Figure 3, at 24 hours, transduction efficiency was around 40% for the A375 cells, whereas higher efficiencies were noted in other cell lines showing 60%, 70% and 80% expression efficiency in MDA-MB-435, WM115 and G361 cells, respectively (Figure 3). Furthermore, the transduction efficiency showed higher degree of variation throughout plates at 24 h time point, however after 48 h, there were more homogenous distribution of GFP-positive cells in all cell lines. After 48 h, more than 80% of all cell lines expressed GFP when analyzed by CLSM.

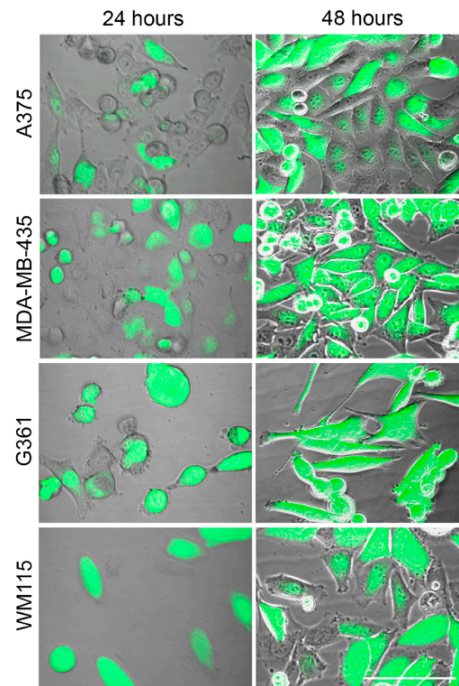


Figure 2. GFP expression over time following SeV transductions. A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 cells were transduced with SeV vectors expressing GFP (MOI:9). GFP expression was observed by CLSM at 24 and 48 h. Scale bar = 100 μ m

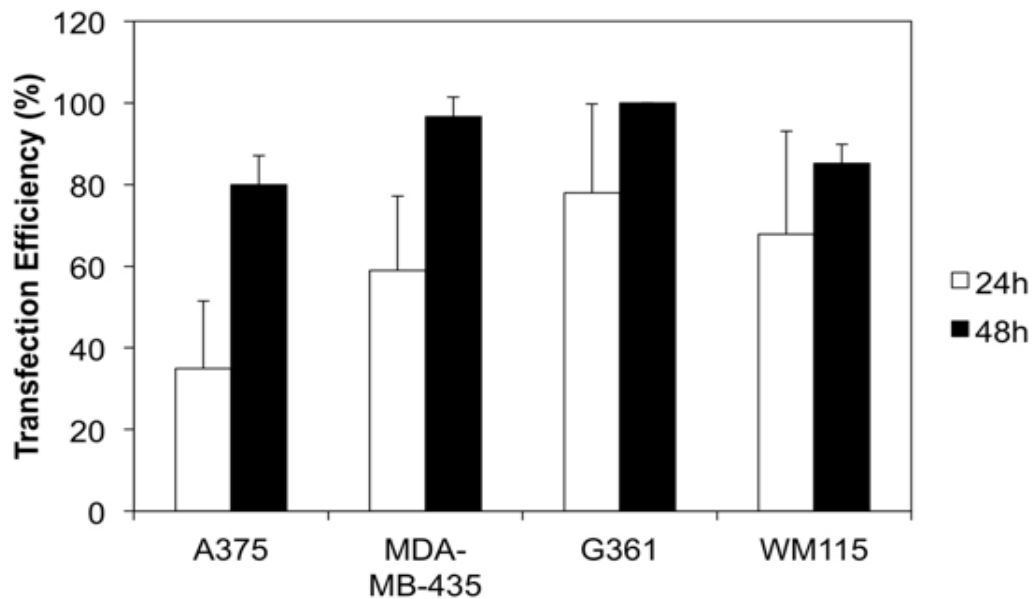


Figure 2. SeV transduction efficiencies in melanoma cell lines. A375, MDA-MB-435, G361 and WM115 cells were transduced with SeV vectors expressing GFP (MOI:9). GFP expression was imaged by CLSM and then quantified using Image J. Percentage of transduction efficiencies for all cell lines were plotted

We also observed slight toxicity at 24 h following viral transductions in all cell lines, as evident by the presence of round GFP-positive cells. As discussed by Oishi et al., this is an indication of higher degree of viral uptake (16). However, by 48 h, cells recovered and proliferated resulting in efficient gene delivery via SeV vectors.

DISCUSSION

In this study, SeV vectors successfully transduced and expressed GFP reporter gene in various melanoma cell lines with high efficiency. These results suggest that this vector has great potential for use in gene delivery and cellular reprogramming studies in cancer. For example, one of the areas where these vectors can be applied effectively is cancer cell reprogramming. In cellular reprogramming, induced pluripotent stem (iPS) cells are generated by a forced expression of reprogramming transcription factors (17). Currently, it is achieved mostly by using classical retro/lentivirus-based vectors. Unfortunately, low reprogramming efficiency and chromosomal integration of exogenous reprogramming factors limit the translation of these

viral vectors into clinical settings (18). Thanks to their safer nature, SeV vectors can overcome these limitations. Until now, SeV vectors have been already used to generate iPS cells from somatic cells involving fibroblasts (19), peripheral blood mononuclear cells (20), T and B cells (21), mesenchymal stem cells (22). These studies showed that integration free iPS cells can be obtained fast and efficiently from a variety of cell types. With the help of SeV vectors, cellular reprogramming of cancer cells may also provide a powerful tool to better understand both regenerative and cancer-fate processes, with a potential to develop novel therapeutic approaches or disease modeling (23).

In conclusion, we demonstrated that exogenous genes carried by SeV vectors can be efficiently expressed in various melanoma cell lines, even at low MOI concentrations. The reporter gene expression could be detected as early as 24 hours following transduction. Therefore the SeV vectors are important candidates for gene transfer to melanoma cells due to its potential for superior and safer gene delivery.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors acknowledge support by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK, grant number 113S897). Authors confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication.

REFERENCES

1. Lamb RA, Kolakofsky D. Paramyxoviridae: The Viruses and Their Replication In: D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman, and S. E. Straus (eds.), *Fields virology*, 4th ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001:1305-40
2. Li H-O, Zhu Y-F, Asakawa M, Kuma H, Hirata T, Ueda Y, et al. A Cytoplasmic RNA Vector Derived from Nontransmissible Sendai Virus with Efficient Gene Transfer and Expression. *J Virology*, 2000;74(14):6564-9.
3. Eguchi A, Kondoh T, Kosaka H, Suzuki T, Momota H, Masago A, et al. Identification and Characterization of Cell Lines with a Defect in a Post-adsorption Stage of Sendai Virus-mediated Membrane Fusion. *J Biol Chem*, 2000;275(23):17549-55.
4. Bitzer M, Armeanu S, Lauer UM, Neubert WJ. Sendai virus vectors as an emerging negative-strand RNA viral vector system. *J Gene Med*, 2003;5(7):543-53.
5. Yonemitsu Y, Kitson C, Ferrari S, Farley R, Griesenbach U, Judd D, et al. Efficient gene transfer to airway epithelium using recombinant Sendai virus. *Nat Biotech*. 2000;18(9):970-3.
6. Masaki I, Yonemitsu Y, Komori K, Ueno H, Nakashima Y, Nakagawa K, et al. Recombinant Sendai virus-mediated gene transfer to vasculature: a new class of efficient gene transfer vector to the vascular system. *FASEB J*, 2001;15(7):1294-6.
7. Murakami Y, Ikeda Y, Yonemitsu Y, Tanaka S, Kondo H, Okano S, et al. Newly-developed Sendai virus vector for retinal gene transfer: reduction of innate immune response via deletion of all envelope-related genes. *J Gene Med*, 2008;10(2):165-76.
8. Fujita S, Eguchi A, Okabe J, Harada A, Sasaki K, Ogiwara N, et al. Sendai Virus-Mediated Gene Delivery into Hepatocytes via Isolated Hepatic Perfusion. *Biol Pharm Bull*, 2006;29(8):1728-34.
9. Goto T, Morishita M, Nishimura K, Nakanishi M, Kato A, Ehara J, et al. Novel Mucosal Insulin Delivery Systems Based on Fusogenic Liposomes. *Pharmaceut Res*, 2006;23(2):384-91.
10. Shibata S, Okano S, Yonemitsu Y, Onimaru M, Sata S, Nagata-Takeshita H, et al. Induction of Efficient Antitumor Immunity Using Dendritic Cells Activated by Recombinant Sendai Virus and Its Modulation by Exogenous IFN- β Gene. *J Immunol*, 2006;177(6):3564-76.
11. Nishimura K, Sano M, Ohtaka M, Furuta B, Umemura Y, Nakajima Y, et al. Development of Defective and Persistent Sendai Virus Vector: A unique gene delivery/expression system ideal for cell reprogramming. *J Biol Chem*, 2011;286(6):4760-71.
12. Mochiduki Y, Okita K. Methods for iPS cell generation for basic research and clinical applications. *Biotechnol J*, 2012;7(6):789-97.
13. Saga K, Kaneda Y. Virosome Presents Multimodel Cancer Therapy without Viral Replication. *Biomed Res Int*, 2013;2013:764706.
14. dUra T, Okuda K, Shimada M. Developments in Viral Vector-Based Vaccines. *Vaccines*, 2014;2(3):624.
15. Mahito N, Makoto O. Development of Sendai Virus Vectors and their Potential Applications in Gene Therapy and Regenerative Medicine. *Curr Gene Ther*, 2012;12(5):410-6.
16. Oishi K, Noguchi H, Yukawa H, Inoue M, Takagi S, Iwata H, et al. Recombinant Sendai Virus-Mediated Gene Transfer to Mouse Pancreatic Stem Cells. *Cell Transplant*, 2009;18(5):573-80
17. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 2006;126(4):663-76.
18. de Lázaro I, Yilmazer A, Kostarelou K. Induced pluripotent stem (iPS) cells: A new source for cell-based therapeutics? *J Control Release*, 2014;185:37-44.
19. Choi J, Lee S, Mallard W, Clement K, Tagliazucchi GM, Lim H, et al. A comparison of genetically matched cell lines reveals the equivalence of human iPSCs and ESCs. *Nat Biotech*, 2015;33(11):1173-81.

20. Zhang X-B. Cellular Reprogramming of Human Peripheral Blood Cells. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2013;11(5):264-74
21. Bueno C, Sardina JL, Di Stefano B, Romero-Moya D, Munoz-Lopez A, Ariza L, et al. Reprogramming human B cells into induced pluripotent stem cells and its enhancement by C/EBP[alpha]. *Leukemia*, 2015;30(3):674-82.
22. Miere C, Devito L, Ilic D. Sendai Virus-Based Reprogramming of Mesenchymal Stromal/Stem Cells from Umbilical Cord Wharton's Jelly into Induced Pluripotent Stem Cells. In: Turksen K, Nagy A, editors. *Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells. Methods in Molecular Biology*. 1357: Springer New York; 2016:33-44
23. Yilmazer A, de Lázaro I, Taheri H. Reprogramming cancer cells: A novel approach for cancer therapy or a tool for disease-modeling? *Cancer Lett*, 2015;369(1):1-8.

Tick attachment sites in humans living in the Tokat province of Turkey

Tokat ilinde yaşayan insanlardaki kene tutunma bölgelerinin değerlendirilmesi

Adem KESKİN¹, Yunus Emre BULUT², Aysun KESKİN¹, Ahmet BURSALI¹

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the attachment sites of ticks and the demographic properties of patient infested by ticks in Tokat province, a Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) endemic region in Turkey.

Methods: In 2009, 5,089 patients with tick bites admitted to hospitals of Tokat province. A standard questionnaire, including the name, age, gender, profession, date, living area, and travel history of patients, was filled by health personals for each patient with a tick bite. Attachment sites of ticks were divided into 9 groups: abdomen, arms, axilla, back, chest, head and neck, hip, legs, and perineum, while the age-group of patients were as follows: 0-9, 10-19, 20-39, 40-64 and ≥65.

Results: The majority of the patients applied (n=1,051, 23.3%) were found ticks on the legs of them. 20-39 year age group tick-infested were the highest proportion (n=1228, 27.24%), while 2,825 (62.67%) of patients were male, and 1,683 (37.33%) were female. In addition, it was determined that 2,740 (60.78%) of patients were living in rural, while 1,768 (39.22%) were living in urban areas. A total of 20 tick taxa were identified, comprising 6 genera: *Argas* (1 species), *Dermacentor* (2 species), *Haemaphysalis* (3 species) and

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Türkiye'de Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) açısından endemik olan bir bölgede kene enfestasyonu olan kişilerin demografik özelliklerinin ve kenelerin tutunma bölgelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: 2009 yılında Tokat ilinde 5,089 kişi kene enfestasyonu şikayeti ile hastanelere başvurmuştur. Kene tutunması olan her hasta için sağlık personelleri tarafından doldurulan hastaların isim, yaş, cinsiyet, meslek, tarih, yaşadığı alan, seyahat bilgisi ve ek notları içeren standart formlar incelenmiştir. Kene tutunma bölgeleri karın, kollar, koltuk altı, sırt, göğüs, baş ve boyun, kalça, bacaklar ve perine olmak üzere 9 gruba, hastaların yaşları da 0-9, 10-19, 20-39, 40-64 ve ≥65 olmak üzere 5 gruba ayrılarak incelenmiştir.

Bulgular: Başvuran kişilerin büyük bir kısmında (n=1,051, %23,3) kenelerin bacaklara tutunduğu tespit edilmiştir. 20-39 yaş grubundaki kişiler (n=1.228, %27,24) kene tutunması oranının en yüksek olduğu grup olarak belirlenmiştir. Hastalardan 2.825 (%62,67)'inin erkek, 1.683 (%37,33)'ının kadın olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 2.740 (%60,78) hastanın kırsal alanlarda, 1.768 (%39,22) hastanın kentsel alanlarda yaşadığı belirlenmiştir. İnsanlar üzerinden toplanan kenelerin tür teşhisleri yapıldığında, örneklerin *Argas* (1 tür), *Dermacentor*

¹Department of Biology, Faculty of Science and Art, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

²Department of Public Health, Faculty of Medicine, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey



İletişim / Corresponding Author : Adem KESKİN

Department of Biology, Gaziosmanpaşa University, Faculty of Science and Art, Tokat - Turkey
Tel : +90 553 644 48 12 E-posta / E-mail : ademkeskin@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 08.04.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 31.10.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.24993

Keskin A, Bulut YE, Keskin A, Bursalı A. Tick attachment sites in humans living in the Tokat province of Turkey.
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 121-128

1 subspecies), *Hyalomma* (4 species), *Ixodes* (5 species) and *Rhipicephalus* (4 species).

Conclusion: In the present study, attachment sites of ticks and the demographic properties of patients were evaluated for the first time in Tokat province, a CCHF endemic region. In addition, it was reported people infestations by *argas vespertilionis* and *Ixodes gibbosus* ticks for the first time in Turkey.

Key Words: CCHF, human infestation, tick, Tokat, Turkey

(2 tür), *Haemaphysalis* (3 tür ve 1 alttür), *Hyalomma* (4 tür), *Ixodes* (5 tür) ve *Rhipicephalus* (4 tür) cinsleri içerisinde toplam 20 taksona ait olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmayla birlikte, KKKA endemik Tokat bölgesinde kene enfestasyonu olan hastaların demografik özellikleri ve kenelerin tutunma bölgeleri ilk kez değerlendirilmiştir. Ayrıca, Türkiye’de insanların *Argas vespertilionis* ve *Ixodes gibbosus* türü keneler tarafından enfeste edildikleri ilk kez tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: KKKA, insan enfestasyonu, kene, Tokat, Türkiye

INTRODUCTION

Ticks are one of the most encountered human parasites throughout the world. They may play an important role in the transmission of several zoonotic diseases to humans, such as Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), Lyme diseases, rickettsiosis, tick-borne encephalitis (TBE), ehrlichiosis and babesiosis (1-3). Every year thousands of people are affected by tick bites, while hundreds of them are infected with CCHF in Turkey (4-6). According to the Ministry of Health, 9,046 CCHF cases, and 440 deaths were recorded in Turkey between 2002 and 2014. Transmission of CCHF virus generally occurs through tick bites, however the virus can be transmitted by direct contact with blood, tissue or body fluids of patients or viremic animals (7, 8). Mortality rates may reach up to 40% and there is no currently safe and effective CCHF vaccine for humans (9).

In Turkey, CCHF virus has been detected from 7 hard ticks, namely *Haemaphysalis concinna*, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma scupence*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus* and *Ixodes ricinus* ticks (2), however it is believed that *H. marginatum* is playing a major role in the transmission of CCHF virus (2, 5,

8, 10). The virus has been also detected in several small mammals such as hares and hedgehogs. In addition, antibodies against CCHF virus have been determined in the sera of domestic animals such as horses, donkeys, goats, cattle, sheep, and pigs (11).

Accurate and immediate tick removal from the human skin may be critical because transmission of tick-borne pathogens may occur during the first few hours of the tick attachment (12, 13). For example, *Anaplasma* and *Rickettsia* species are transmitted within 3-6 hours after the tick attachment, whereas *Borrelia burgdorferi* transmission can require 24-48 hours of feeding before a host is infected (14,15). To the best of our knowledge, there is no information regarding the feeding time required for the transmission of CCHF virus from a tick to its host. On the other hand, it is known that certain tick-borne pathogens, such as TBE virus and Powassan virus, are transmitted to the host during the initial minutes of tick attachment or feeding (15, 16). Therefore, knowledge of attachment sites of ticks, duration of tick bites and demographic properties of patients may provide important information for an effective control of ticks and tick-borne diseases (17).

Though many studies on the attachment sites of ticks, duration of tick bites and demographic properties of patients have been conducted (17, 18), there is limited information about these parameters in Turkey (19, 20). The aim of this study was to investigate the species composition of ticks collected from humans in Tokat province in 2009 and to compared the data with previous studies. In addition, attachment sites of ticks and demographic properties of patients should be evaluated for the first time in this CCHF endemic region.

MATERIAL and METHOD

Ticks were collected from humans in Tokat province and its districts in 2009. The ticks were removed from the skin of patients by physicians, nurses, or health technicians (non-attached ticks on the clothes or skin of humans were excluded). Collected ticks were placed in vials with 70% alcohol and sent to the Acarology Laboratory, Department of Biology, Gaziosmanpaşa University (Tokat, Turkey) for identification. Ticks were identified to species based on morphological characteristics using taxonomic keys and descriptions of Filippova (21, 22), Estrada-Peña et al. (23) and Apanaskevich and Horak (24).

A standard questionnaire including name, age, gender, profession, date, living area, and travel history of patients, was filled in for each patient with a tick bite. Questionnaires belonging to 4,508 patients were analyzed statistically, while 581 (11.41%) questionnaires could not be evaluated due to missing data. Informed consent was obtained for all patients.

Chi-square test was used for comparisons of different groups. One variable was tested versus the others in two by two tables. A $p < 0.05$ was considered as statistically significant. Odds ratios are shown with the corresponding 95% confidence intervals. All statistical analyzes were performed using the SPSS software, Version 15.0 (SPSS Inc., USA).

RESULTS

Demographic characteristics of the patients

Out of 4,508 patients 2,825 (62.67%) were male and 1,683 (37.33%) were female. The number of patients living in rural areas was 2,740 (60.78%) while of those living in urban areas was 1,768 (39.22%). Patients living in urban areas were mainly infested in crop fields, gardens, picnic areas or farms. The youngest patient was a one-month-old while the oldest patient was 104-years-old (mean age: 32.71 ± 20.56). The largest proportion of tick bites were seen in 40-64 (n=1,346, 29.86%), 20-39 (n=1,228, 27.24%) and 10-19 (n=949, 21.05%) age groups (Table 1).

Species composition of ticks infesting humans

In 2009, a total of 6,576 ticks were collected from 5,089 patients in Tokat province; however, only 4,508 patients gave accurate information for the questionnaires. A total of 20 tick taxa were identified, comprising 6 genera: *Argas* (1 species), *Dermacentor* (2 species), *Haemaphysalis* (3 species and 1 subspecies), *Hyalomma* (4 species), *Ixodes* (5 species) and *Rhipicephalus* (4 species) (Tables 2 and 3). *Hyalomma marginatum* comprised 70.9% (n=3,198) of all ticks removed from patients. Other common ticks infesting humans were *Rhipicephalus bursa* 5.06% (n=228), *Haemaphysalis parva* 4.7% (n=212) and *Rhipicephalus turanicus* 3.88% (n=175) (Table 2).

Attachment sites of ticks

It was shown that *H. marginatum* infests legs 1.45 times (OR: 1.45, CI: 1.23 - 1.69), and *Hyalomma* spp. nymphs infest perineum 2.14 times (OR: 2.14, CI: 1.49 - 3.00) more than other anatomical sites of patients. *Haemaphysalis parva* was mainly detected on head and neck area 6.24 times (OR: 6.24, CI: 4.71 - 8.29), more than other anatomical sites, whereas *Dermacentor marginatus* was mainly detected on legs (1.79 times more than other parts of body) (OR: 1.79, CI: 1.17 - 2.71). *Rhipicephalus turanicus* was found on arms 2.82 times (OR: 2.82, CI: 2.00 - 9.94) more than other parts of the body (Table 3). o

Table 1. Demographic characteristics of patients (n=4508) with tick bites

	Gender	Male	Female	Total	%
Living area	Rural	1,713	1,027	2,740	60.78
	Urban	1,112	656	1,768	39.22
Age groups	0-9	375	241	616	13.66
	10-19	666	283	949	21.05
	20-39	760	468	1,228	27.24
	40-64	776	570	1,346	29.86
	≥ 65	248	121	369	8.19
Attachment sites	Abdomen	267	189	456	10.12
	Arms	432	170	602	13.35
	Axilla	250	95	345	7.65
	Back	236	151	387	8.58
	Chest	110	77	187	4.15
	Head and neck	404	373	777	17.24
	Hip	125	120	245	5.44
	Legs	693	358	1,051	23.31
	Perineum	308	150	458	10.16

DISCUSSION

Ticks are obligate blood-sucking ectoparasites of terrestrial vertebrate hosts. Most of the tick species have only limited host specificity; however it is known that there is a variety of factors which influence the host predilection of ticks (25). Although humans are accidental or incidental hosts of ticks (26), tick-bites are frequently seen among farmers, livestock handlers, s^hepherds, slaughterhouse workers, military personnel, picnickers, butchers, veterinarians, and naturalists (6,8,20). The risk of exposure to tick bites is highest especially in edges of forest and in areas with tall grasses and bushes (27). The Tokat province is an endemic region for CCHF (2, 28, 29) and every year over 5,000 tick bite cases have been reported from this province (30,31). By the end

of 2014, 1,908 CCHF cases and 85 deaths (4.45%) were documented in this area. The CCHF cases/deaths were as follows: 2002-2003: 74/5, 2004: 101/4, 2005: 71/4, 2006: 89/4, 2007: 139/7, 2008: 209/6, 2009: 211/10, 2010: 162/6, 2011: 258/13, 2012: 168/3, 2013: 209/10, and 2014: 217/13). Bites of *H. marginatum* are common in this region, accounting for 50-70% of all tick bites (28, 32).

In a study conducted by Bursali et al. (30), a total of 5,999 ticks were collected from humans in Tokat province. Out of 5,999 adult ticks collected in 2008, 800 were identified to species level, while the remaining was identified to genus level. Initially, 24 hard ticks infesting humans were found in Tokat province; however, afterwards some specimens detected in their study were re-examined and the

Table 2. Distribution of ticks species related to the age groups of patients

Ticks / age groups	0-9	10-19	20-39	40-64	≥ 65	Total
<i>Argas vespertilionis</i>				1		1
<i>Dermacentor marginatus</i>	14	24	28	28	6	100
<i>Dermacentor niveus</i>		2	4	3		9
<i>Dermacentor</i> nymphs	10	5	6	4	1	26
<i>Hyalomma aegyptium</i>	3	12	17	19	5	56
<i>Hyalomma excavatum</i>	5	16	35	41	10	107
<i>Hyalomma marginatum</i>	324	660	897	1,027	290	3,198
<i>Hyalomma rufipes</i>		1		1		2
<i>Hyalomma</i> larvae	4					4
<i>Hyalomma</i> nymphs	59	38	57	55	21	230
<i>Haemaphysalis erinacei taurica</i>	4		5	2		11
<i>Haemaphysalis parva</i>	89	44	50	25	4	212
<i>Haemaphysalis punctata</i>	12	13	11	17	4	57
<i>Haemaphysalis sulcata</i>	2		2			4
<i>Ixodes frontalis</i>			1			1
<i>Ixodes gibbosus</i>	2	4	1	3		10
<i>Ixodes laguri</i>	1		1			2
<i>Ixodes redikorzevi</i>	3	2	9	12	2	28
<i>Ixodes ricinus</i>	5	6	7	11	6	35
<i>Rhipicephalus annulatus</i>	3		2	3		8
<i>Rhipicephalus bursa</i>	39	60	62	53	14	228
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	2	1				3
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	34	61	33	41	6	175
<i>Rhipicephalus</i> nymphs	1					1
Total	616	949	1,228	1,346	369	4,508

total number of ticks infesting humans was corrected as 18 (32). In the present study, a total of 20 tick species infesting humans were identified. It was also found that 62.67% of the patients were males, while 37.33% were females. Similar rates have been found by Sumer (33) (51.8% and 48.2%, respectively); by Erol et al. (20) (54.5% and 45.5%, respectively) and by Over et al. (34) (52.1% and 47.9%, respectively). Previous studies reported that tick bites in children are more common than adolescents, adults and older

person (35,36). In this study, however, we observed that the largest proportion of tick bites were seen in 40-64 age groups (n=1,346, 29.86%), followed by 20-39 years old age group (n=1,228, 27.24%).

Our findings are partially consistent with studies of Erol et al. (20) and Sumer (33). We believe that these findings are most likely associated with the number of residents of Tokat Province in the 40-64 age groups or their intensive agricultural activities.

Table 3. Attachment sites of ticks on the patients

Ticks/Attacment sites	Abdomen	Arms	Axilla	Back	Chest	Head and neck	Hip	Legs	Perineum	Total
<i>Argas vespertilionis</i>						1				1
<i>Dermacentor marginatus</i>	7	22	1	5	2	20	3	35	5	100
<i>Dermacentor niveus</i>	3	1				2	1	2		9
<i>Dermacentor nymphs</i>	2	3	3		2	7	2	3	4	26
<i>Hyalomma aegyptium</i>	4	3	2			2	3	40	2	56
<i>Hyalomma excavatum</i>	8	19	12	8	2	10	2	34	12	107
<i>Hyalomma marginatum</i>	343	377	264	296	136	428	197	804	353	3,198
<i>Hyalomma rufipes</i>				1				1		2
<i>Hyalomma larvae</i>			1			3				4
<i>Hyalomma nymphs</i>	13	31	29	16	20	43	8	27	43	230
<i>Haemaphysalis erinacei taurica</i>	1	4	1			4		1		11
<i>Haemaphysalis parva</i>	14	29	8	10	7	113	3	19	9	212
<i>Haemaphysalis punctata</i>	1	10	1	9	2	23	2	8	1	57
<i>Haemaphysalis sulcata</i>	1	1				1		1		4
<i>Ixodes frontalis</i>								1		1
<i>Ixodes gibbosus</i>		4			1	4			1	10
<i>Ixodes laguri</i>		1						1		2
<i>Ixodes redikorzevi</i>	1	3	3		2	9	1	6	3	28
<i>Ixodes ricinus</i>	4	11		3	4	2	2	7	2	35
<i>Rhipicephalus annulatus</i>		3				4	1			8
<i>Rhipicephalus bursa</i>	34	29	14	26	3	49	18	41	14	228
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>						2			1	3
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	20	51	6	13	6	49	2	20	8	175
<i>Rhipicephalus nymphs</i>						1				1
Total	456	602	345	387	187	777	245	1,051	458	4,508

Ticks may be found on several anatomical sites of humans but mainly on and around the head and neck area as well as in perineum (37). In the present study it was observed that most of the ticks were found on legs (n=1,051, 23.31%), followed by head and neck (n=777, 17.24%) and arms (n=602, 13.35%). These findings are partially consistent with studies of Gunduz et al (19), Erol et al. (20) and Sumer (33).

There are several studies about the evaluation of tick bites from the different parts of Turkey (19, 20, 33); however, only limited numbers of patients with tick bites were evaluated, e.g., 67 cases in Gunduz et al., (19), 168 cases in Sumer, (33), 161 cases in Erol et al. (20), and 273 cases in Over et al. (34). Only, in a recent study by Kar et al. (38), 1,816 patients were analyzed from the Istanbul province for tick bites. The authors reported that predilection sites of attachment

for *Hyalomma aegyptium* and *D. marginatus* were the extremities and scalp, respectively, while *H. marginatum* and *Ixodes ricinus* were found mainly on the trunk. In the present study, *D. marginatus*, *H. excavatum*, and *H. marginatum* ticks were mainly found on legs, *H. parva* and *R. bursa* on head and neck, and *R. turanicus* on arms. *Argas vespertilionis* and *Ixodes gibbosus* ticks were reported on humans for the first time in Turkey.

CONCLUSION

In the present study, we found that 20 tick taxa (19 species and 1 subspecies) can be infest on humans in the study area. Results of this study also showed that preferred attachment sites of ticks may be changed by demographic properties and age groups of patients. Tick bites are one of the important public

health problems in Turkey, especially in CCHF endemic regions. Accurate and immediate tick removal from the human skin is very crucial to prevention of tick-borne diseases. Despite farmers, livestock handlers, shepherds, slaughterhouse workers, military personnel, picnickers, butchers, veterinarians, and naturalists are at increased risk of tick bites, and subsequently tick-borne disease, anyone who spends any amount of time outdoors in suitable tick habitats, can potentially be exposed to ticks.

For those people it is advised to: (I) wear protective and light colored clothing; (II) use of repellents containing 20-30% DEET (N, N-diethyl-m-toluamide) on the exposed skin areas or 0.5% permethrin on clothing; (III) regularly check clothing and skin and promptly remove attached ticks; and (IV) avoid habitats where ticks are abundant and most active (39,40).

ACKNOWLEDGMENTS

We are mostly grateful to Dr. Yalcin Onder and Dr. Soner Sorhan (Department of Public Health, Gaziosmanpasa University, Turkey) for their valuable comments on this paper. This study has been partially supported by Gaziosmanpasa University Scientific Research Fund (Project No: 2013/42).

REFERENCES

1. Williamson PC, Billingsley PM, Teltow GJ, Seals JP, Turnbough MA, Atkinson SF. *Borrelia*, *Ehrlichia* and *Rickettsia* spp. in ticks removed from persons, Texas, USA. *Emerg Infect Dis*, 2010; 16: 441-6
2. Tekin S, Bursali A, Mutluay N, Keskin A, Dundar E. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in various ixodid tick species from a highly endemic area. *Vet Parasitol*, 2012; 186: 546-52.
3. Oteo JA, Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks Tick Borne Dis*, 2012; 3: 271-8.
4. Gargili A, Kar S, Yilmazer N, Cerit C, Sonmez G, Sahin F, Alp H, Vatansever Z. Evaluation of ticks biting humans in Thrace Province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010; 16: 141-6.
5. Bursali A, Tekin S, Keskin A, Ekici M, Dundar E. Species diversity of ixodid ticks feeding on humans in Amasya, Turkey: seasonal abundance and presence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Med Entomol*, 2011; 48: 85-93.
6. Bakirci S, Aysul N, Eren H, Unlu AH, Karagenc T. Diversity of ticks biting humans in Aydin province of Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 2014; 61: 93-8.
7. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*, 2004; 64: 145-60.
8. Yilmaz GR, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R, Cevik MA, Torunoglu MA. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002-2007. *Int J Infect Dis*, 2009; 13: 380-6.
9. World Health Organization (WHO) 2015. Crimean-Congo haemorrhagic fever, Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs208/en>.
10. Tonbak S, Aktas M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y, Dumanli N, Ozdarendeli A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. *J Clin Microbiol*, 2006; 44: 4120-4
11. Hoogstraal H. The Epidemiology of Tick-Borne Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*, 1979; 15: 307-417.
12. Piesman J. Transmission of Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*). *Exp Appl Acarol*, 1989; 7: 71-80

13. Otranto D, Dantas-Torres F, Giannelli A, Latrofa MS, Cascio A, Cazzin S, Ravagnan S, Montarsi F, Zanzani SA, Manfredi MT, Capelli G. Ticks infesting humans in Italy and associated pathogens. *Parasit Vectors*, 2014; 7: 328
14. des Vignes F, Piesman J, Heffernan R, Schulze TL, Stafford KC 3rd, Fish D. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis*, 2001; 183: 773-8
15. Ebel GD, Kramer LD. Duration of tick attachment required for transmission of Powassan virus by deer ticks. *Am J Trop Med Hyg*, 2004; 71(3): 268-71
16. Lane RS. Competence of ticks as vectors of microbial agents with an emphasis on *Borrelia burgdorferi*. In: Sonenshine, D.E., Mather, T.N., (Eds.), *Ecological dynamics of tick-borne zoonoses*. New York: Oxford University Press, 1994; 45-67
17. Staff M, Newton NH. Location of tick (Acari: Ixodidae) attachment sites on humans in North Carolina. *J Med Entomol*, 1993; 30: 485-8.
18. Felz MW, Durden LA. Attachment sites of four tick species (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in Georgia and South Carolina. *J Med Entomol*, 1999; 36: 361-4
19. Gunduz A, Turkmen S, Turedi S, Nuhoglu I, Topbas M. Tick attachment sites. *Wilderness Environ Med*, 2008; 19: 4-6
20. Erol S, Yeniolak A, Toros GY, Albayrak A. Evaluation of the tick bites in a Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) endemic area in Turkey. *Turk J Med Sci*, 2011; 41: 131-6
21. Filippova NA. Ixodid ticks (Ixodinae). *Fauna USSR New Ser.* 4 (4), Moscow, Leningrad: Nauka Publishing House, 1977
22. Filippova NA. Ixodid ticks of subfamily Amblyomminae. *Fauna of Russia and neighbouring countries*. St. Petersburg: Nauka Publishing House, 1997
23. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. Ticks of veterinary and medical importance: the mediterranean basin. *A guide of identification of species*. Zaragoza: University of Zaragoza Press, 2004
24. Apanaskevich DA, Horak IG. The Genus *Hyalomma* Koch, 1844: V. re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the *H. (Euhyalomma) marginatum* Koch complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. *Int J Acarol*, 2008; 34: 13-42
25. Hoogstraal H, Aeschlimann A. Tick-host specificity. *Bull Societe Entomol Suisse*, 1982; 55: 5-32
26. Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol*, 2012; 28: 437-46
27. Vatanserver Z, Uzun R, Estrada-Pena A, Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. In: Ergonul, O., Whitehouse, C.A., (Eds.), *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*. Netherlands: Springer, 2007: 59-74
28. Gunes T, Poyraz O, Vatanserver Z. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks collected from humans, livestock, and picnic sites in the hyperendemic region of Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2011; 11(10): 1411-6.
29. Duygu F, Kaya T, Baysan P. Re-evaluation of 400 Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in an endemic area: is ribavirin treatment suitable?. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2012; 12: 812-6
30. Bursali A, Tekin S, Orhan M, Keskin A, Ozkan M. Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) infesting humans in Tokat province of Turkey: species diversity and seasonal activity. *J Vector Ecol*, 2010; 35: 180-6
31. Keskin A. Systematic investigation of hard ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in Tokat region and determination of rickettsiae in these ticks. PhD dissertation. Tokat: Gaziosmanpasa University Institute of Science, 2014
32. Bursali A, Keskin A, Tekin S. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. *Exp Appl Acarol*, 2012; 57: 91-104
33. Sumer A. Kene Isırığı Nedeniyle Kaş Devlet Hastanesi Acil Servisine Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010; 16: 49-53
34. Over L, Inceboz T, Yapar N, Bakirci S, Gunay T, Akisu C. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne Kene Tutması Yakınması ile Başvuran Olguların Araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2012; 36: 75-81
35. Falco RC, Fish D, Piesman J. Duration of tick bites in a Lyme disease-endemic area. *Am J Epidemiol*, 1996; 143: 187-92
36. Robertson JN, Gray JS, Stewart P. Tick bite and Lyme borreliosis risk at a recreational site in England. *Eur J Epidemiol*, 2000; 16: 647-52
37. Parola P, Raoult D. Ticks and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*, 2001; 32: 897-928
38. Kar S, Dervis E, Akın A, Ergonul O, Gargili A. Preferences of different tick species for human hosts in Turkey. *Exp Appl Acarol*, 2013; 61: 349-55
39. Stafford KC 3rd. *Tick Management Handbook: An Integrated Guide for Homeowners, Pest Control Operators, and Public Health Officials for the Prevention of Tick-Associated Disease*. Connecticut: The Connecticut Agricultural Experimental Station, 2007
40. Piesman J, Eisen L. Prevention of Tick-Borne Diseases. *Annu Rev Entomol*, 2008; 53: 323-43.

Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı

Awareness of laboratory staff of biochemistry and microbiology laboratories in medical waste management

Merve ERGİN¹, Serpil ERDOĞAN², Özcan EREL²

ÖZET

Amaç: Hatalı tıbbi atık yönetimi çevre ve sağlık için risk oluşturmaktadır. Bununla birlikte tıbbi atıkların diğer atıklardan ayrı toplanması ve geri kazanılabilir atıkların değerlendirilmesi sağlık kuruluşlarının ekonomik kayıp yaşamaması bakımından önemlidir. Bu çalışmanın amacı laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimindeki bilgi ve tutumlarını değerlendirmektir.

Yöntem: Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde laboratuvar personeline anket uygulanarak kesitsel bir çalışma yapıldı. Laboratuvar uzmanı, hemşire, laboratuvar teknisyeni, acil tıp teknisyeni, sekreter ve temizlik personelinin oluşan 102 katılımcı çalışmaya dahil edildi. Veriler bir anket yoluyla yüz yüze görüşme yöntemiyle toplandı. Toplam katılımcıların %27,5'i erkek, %72,5'i kadındı; %44,1'i 30 yaş altında, %55,9'u 30 yaş üstündeydi. Anket formunda çalışanların tıbbi atık bilgi ve farkındalıklarını değerlendirmek amacıyla hazırlanan sorular yer almaktaydı.

Bulgular: Sonuçlar katılımcıların neredeyse tamamının kendi birimlerinde üretilen atıkların çeşidini (enfeksiyöz atık, kesici delici atık, ambalaj atıkları) bildiğini gösterdi. Çalışmaya katılanların

ABSTRACT

Objective: Incorrect management of medical waste brings risk for health and environment. On the other hand the collection of medical wastes separate from other wastes and to make use of recyclable wastes are important in preventing economic loss in health institutions. The aim of the study is to evaluate knowledge and attitude of health care workers in medical waste management.

Methods: A cross-sectional study was conducted using a questionnaire in laboratory staff in Atatürk Training and Research Hospital. A total of 102 participant (laboratory specialists, nurses, laboratory technicians, emergency medical technicians, secretaries and cleaners) were included in the study. Data were collected using a face to face questionnaire. Amongst the total respondents 27.5% were males and 72.5% were females; 44.1% were under thirty years of age and 55.9% were over thirty years of age. The questionnaire was used to assess their knowledge and awareness of medical waste.

Results: The results show that almost all of the participants were aware of the different categories of the waste (infectious, sharps and packing waste) generated in their department. According to the

¹25 Aralık Devlet Hastanesi, Biyokimya Bölümü, Gaziantep
²Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Merve ERGİN

25 Aralık Devlet Hastanesi, Biyokimya Bölümü, Gaziantep - Türkiye
Tel : +90 553 253 42 34 E-posta / E-mail : erginmerve@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.04.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 05.01.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.56244

Ergin M, Erdoğan S, Erel Ö. Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı.
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 129-138

büyük kısmı atıkların uzaklaştırılmasında kullanılan renk kodlarını doğru uyguluyordu (tıbbi atık için kırmızı torba %99, geri dönüştürülebilir atık için mavi torba %96,1, evsel atık için siyah torba %96,1). En az bilinen parametre ise tıbbi atık torbalarının önerilen dolum oranıydı (%76,5). Çalışmaya katılanların %95'i uluslararası biyotehlike ambleminin farkındaydı. Çalışmaya katılan kadınların %44,6'sı erkeklerin %25'i tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim alma isteklerini ifade etti.

Sonuç: Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi laboratuvar personeli arasında tıbbi atık yönetimi farkındalığının yeterli olduğu sonucuna varıldı. Bu kapsamda, Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği doğrultusunda gerekli tedbirlerin alınması ve verilen eğitimlerin sürdürülmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tıbbi atık, laboratuvar personeli, anket, farkındalık

findings nearly totally of responders practiced accurate color code to dispose the waste (red bag for collection of medical waste 99%, blue bag for recyclable waste 96.1% and black bag for domestic waste 96.1%). The least known parameter was proposed filling rate of medical waste bag (76.5%). About 95% of practitioner were aware of the international biohazard logo. 44.6% of men and 25% of the women who participated in the study have expressed their willingness to take training on medical waste management.

Conclusion: The study concluded that the awareness regarding medical waste management was satisfying among laboratory staff in this hospital. Thus, taking measures and carrying on training in accord with the Regulation on Control of Hazardous Wastes is recommended.

Key Words: Medical waste, laboratory staff, questionnaire, awareness

GİRİŞ

Dünya nüfusundaki hızlı artış ve sanayileşmenin gelişmesiyle atıkların miktarında da artış izlenmiştir. Diğer kuruluşlarda olduğu gibi sağlık kuruluşlarında da her geçen gün verdikleri hizmet ölçüsünde atık miktarı hızla artmaktadır. Fakat bu artışın neden olabileceği risklerin ortadan kaldırılması için gerekli önlemlere geçiş aynı hızda olmamaktadır.

Tıbbi atıkların yönetimi ve bertarafı, Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerin ortak sorunlarından birisidir. Ülkemizde tıbbi atıkların yönetimiyle ilgili esaslar, Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından hazırlanan ve 22 Temmuz 2005 tarih ve 25883 sayılı Resmi Gazete 'de yayımlanarak yürürlüğe giren "Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği" ile belirlenmiştir. Bu yönetmeliğe göre, sağlık tesislerinden (hastaneler, aile hekimleri, laboratuvarlar, veteriner klinikleri, özel muayenehaneler vb.) kaynaklanan atıklar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün genel sınıflandırmasına

uygun olarak evsel (genel) atıklar, tıbbi (enfeksiyöz, patolojik ve kesici delici atıklar), tehlikeli (kimyasal ve farmasötik atıklar gibi) ve radyoaktif atıklar olmak üzere dört ana gruptan oluşmaktadır (1) (Tablo 1).

Tıbbi atıkların miktarı, kuruluşların atık yönetim politikası, kuruluşların çeşitleri, hastanelerin özellikleri, tek kullanımlık ürünlerin kullanım oranları ve günlük hasta sayısı gibi birçok faktörlere bağlıdır. Atıkların üretim miktarları ülkelerden ülkelere farklılık gösterdiği gibi ülke içindeki bölgelerde de farklılık göstermektedir (2). Sağlık kuruluşlarında oluşan atık miktarları ülkelerin gelişmişlik derecesiyle doğru orantılıdır. Gelişmekte olan ülkelerdeki hastanelerin atık miktarları gelişmiş ülkelere göre daha azdır (3). Örneğin ve ABD ve Kanada'nın günlük yatak başına düşen tıbbi atık(kg) üretim oranı sırasıyla 4,40 ve 4,10 iken Türkiye için

Tablo 1. Sağlık kuruluşlarından kaynaklanan atıkların sınıflandırılması

EVSEL NİTELİKLİ ATIKLAR	A: Genel Atıklar	B: Ambalaj Atıkları	
	Sağlıklı insanların bulunduğu kısımlar, hasta olmayanların muayene edildiği bölümler, ilk yardım alanları, idari birimler, temizlik hizmetleri, mutfaklar, ambar ve atölyelerden gelen atıklar: B, C, D, E, F ve G gruplarında anılanlar hariç, tıbbi merkezlerden kaynaklanan tüm atıklar.	Tüm idari birimler, mutfak, ambar, atölye v.s den kaynaklanan tekrar kullanılabilir, geri kazanılabilir atıklar: - kağıt, karton, mukavva, plastik, cam, metal v.b.	
TIBBİ ATIKLAR	C: Enfeksiyöz Atıklar	D: Patolojik Atıklar	E: Kesici Delici Atıklar
	Enfeksiyöz ajanların yayılımını önlemek için taşınması ve imhası özel uygulama gerektiren atıklar: Başlıca kaynakları; <ul style="list-style-type: none"> Mikrobiyolojik laboratuvar atıkları, kültür ve stoklar, enfeksiyöz vücut sıvıları, serolojik atıklar, diğer kontamine laboratuvar atıkları (lam-lamel, pipet, petri v.b) Kan kan ürünleri ve bunlarla kontamine olmuş nesnelere Kullanılmış ameliyat giysileri (kumaş, önlük ve eldiven v.b) Diyaliz atıkları (atık su ve ekipmanlar) Karantina atıkları Bakteri ve virüs içeren hava filtreleri Enfekte deney hayvanı leşleri, organ parçaları, kanı ve bunlarla temas eden tüm nesnelere 	Anatomik atık dokular, organ ve vücut parçaları ile ameliyat, otopsi v.b. tıbbi müdahale esnasında ortaya çıkan vücut sıvıları: <ul style="list-style-type: none"> Ameliyathaneler, morg, otopsi, adli tıp gibi yerlerden kaynaklanan vücut parçaları, organik parçalar, plasenta, kesik uzuvlar v.b (insani patolojik atıklar) Biyolojik deneylerde kullanılan kobay leşleri 	Batma, delme sıyrık ve yaralanmalara neden olabilecek atıklar: <ul style="list-style-type: none"> enjektör iğnesi, iğne içeren diğer kesiciler bistüri lam-lamel cam pastör pipeti kırılmış diğer cam v.b
TEHLİKELİ ATIKLAR	F: Tehlikeli Atıklar		
	Fiziksel veya kimyasal özelliklerinden dolayı ya da yasal nedenler dolayısı ile özel işleme tabi olacak atıklar <ul style="list-style-type: none"> Tehlikeli kimyasallar Sitotoksik ve sitostatik ilaçlar Amalgam atıkları Genotoksik ve sitotoksik atıklar Farmasötik atıklar Ağır metal içeren atıklar Basınçlı kaplar 		
RADYOAKTİF ATIKLAR	G: Radyoaktif Atıklar		
	Türkiye Atom Enerjisi Kurumu mevzuatı hükümlerine göre toplanıp uzaklaştırılır.		

bu oran 1,53' tür (4, 5). Türkiye'de atıkların miktarını belirlemek ve atık yönetimini değerlendirmek amacıyla pek çok araştırma yürütülmüştür (6-9).

Tıbbi atıkların, atıklara direk veya indirek maruz kalınmasıyla kanserojenik, teratojenik ve mutajenik etkileri gibi birçok zararlı etkileri vardır. Sağlık kurumlarından kaynaklanan tıbbi atıklarda vücut sıvı ve dokuları yer alacağı gibi patojen mikroorganizmalarda bulunabilir. Atıklar kan ve kan atıklarını içerdiklerinden dolayı özellikle Hepatit hastalıkları ve AIDS başta olmak üzere birçok hastalığın bulaşma riskini taşımaları nedeniyle ciddi tehlike göstermektedirler (10).

Tıbbi atıklar, atıklarla direk teması olan doktor, hemşire, biyologlar, yardımcı sağlık personeli, veterinerler, kurum içinde atıkları toplayıp taşıyan hizmetli personeller, atıkların bertaraf alanına taşınmasında görevli kişiler ve bertaraf sahasında çalışan kişilere büyük risk oluşturmaktadır. Ayrıca yatan hastalar ve hasta ziyaretçileri için de risk taşımaktadır. Tıbbi atıkların sağlık çalışanlarına ve hastalara oluşturduğu risklerin yanı sıra atıklarla çevrenin kirlenmesiyle halk sağlığına olumsuz etkileri de göz ardı edilmemelidir (11).

Tıbbi atıkların toplanması, ayrıştırılması ve bertarafı hem sağlık kuruluşlarına hem de ülke ekonomisine finansal bir yük getirmektedir. Tıbbi atıkların yönetimi için harcanan kaynaklar ise oldukça kısıtlıdır.

Hem sağlık çalışanları ve halk sağlığı için getirdikleri risk hem de ülke ekonomisine kayıp yaşatması bakımından tıbbi atıkların uygun yönetimi oldukça önemlidir. Tıbbi atık yönetim politikalarının etkin ve sürdürülebilir olması açısından atıkların minimizasyonu, doğru ayrıştırılması ve geri dönüşümü için personel alışkanlıklarını değiştirmek amacıyla eğitim ve bilinçlendirme çalışmaları oldukça önem arz etmektedir. Biz de bu çalışmada laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimindeki bilgi ve tutumlarını değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tanımlayıcı kesitsel çalışma Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde gerçekleştirildi. Çalışma için yerel etik kurula başvuruldu ve onay alındı. Çalışmaya katılanlar hem merkez laboratuvarında hem de semt polikliniklerinde çalışan laboratuvar personelinden oluştu. Biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışan uzman ve asistan, hemşire, laboratuvar teknisyeni, acil tıp teknisyeni, sekreter ve temizlik personelinden oluşan toplam 111 laboratuvar personelinden 102'sine ulaşılarak çalışmaya dahil edildi. Veriler yüz yüze görüşme yöntemi ile bir anket uygulanarak toplandı. Anketler biyokimya laboratuvarında çalışan bir uzman ve bir asistan tarafından uygulandı. 18 sorudan oluşan anketler laboratuvar personelinin tıbbi atık konusundaki bilgi ve farkındalıklarını değerlendirmek için yapıldı. Sorular 3 ana grupta toplandı: a) ilk 6 soru laboratuvar personelinin tanımlayıcı özelliklerinden oluşuyordu, b) 7-11. sorular katılımcıların tıbbi atıkların ayrıştırılması, renk kodları gibi başlıklardaki doğrudan bilgilerini ölçüyordu, c) 12-18. sorular ile laboratuvar personelinden kendi birimlerini tıbbi atık yönetimi konusunda değerlendirmeleri bekleniyordu. Anketler sonucunda elde edilen veriler SPSS programı (versiyon 20) kullanılarak analiz edildi. Oranlar arasındaki farklılıkları araştırmak için Ki kare ve Fisher testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya katılan laboratuvar personelinin demografik özellikleri Tablo 2'de gösterildi. Katılımcıların %27,5' i erkek, %72,5' i kadındı; %44,1' i 30 yaş altında, %55,9' u 30 yaş ve üstündeydi. Laboratuvar personelinin yaşları, cinsiyetleri, meslek grupları, çalışma süreleri, eğitim düzeyleri, birimleri temel alınarak tıbbi atık yönetimi konusundaki bilgi düzeyleri ve farkındalıkları arasında istatistiksel açıdan fark olup olmadığı incelendi.

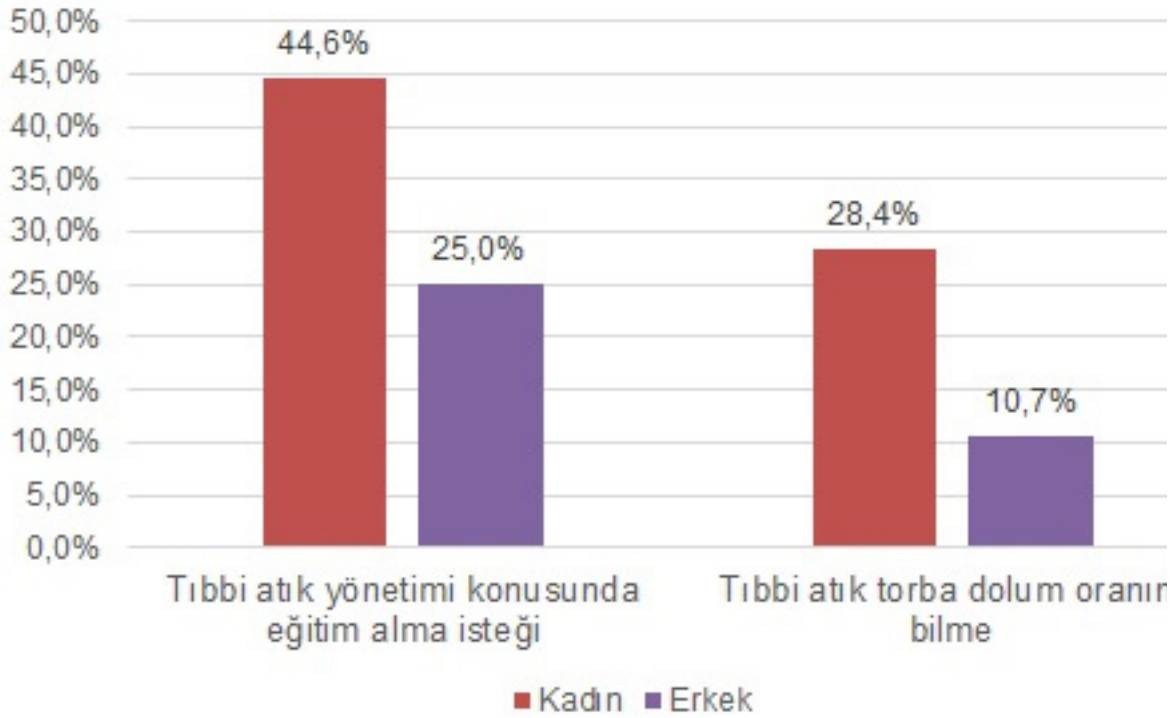
Tablo 2. Katılımcıların sosyo-demografik özellikleri

		Sayı	Yüzde
Yaş	≤ 30	42	% 41,2
	> 30	60	% 58,8
Cinsiyet	E	28	% 27,5
	K	74	% 72,5
Öğrenim durumu	Lisans ve altı	38	% 37,3
	Lisansüstü	64	% 62,7
Meslek	Doktor	15	% 14,7
	Hemşire	3	% 2,9
	Laboratuvar teknisyeni	48	% 47,1
	Acil tıp teknisyeni	15	% 14,7
	Sekreter	18	% 17,6
	Temizlik personeli	3	% 2,9
Çalıştığı birim	Merkez laboratuvarı	79	% 77,5
	Semt polikliniği	23	% 22,5
Çalışma süresi	≤ 5 yıl	49	% 48
	> 5 yıl	53	% 52

Verilere göre laboratuvar personelinin %96,1'i evsel atıkların siyah, %99'u tıbbi atıkların kırmızı, %96,1'i geri dönüştürülebilir atıkların mavi torbalarda toplanması gerektiğini bilmekteydi. Kesici delici atık türlerinin ayrı kutularda toplanması gerektiği, tıbbi atık torba renginden sonra en iyi bilinen ifade oldu (%98). Tıbbi atık türlerinden (enfeksiyöz atık, kesici delici atık, ambalaj atığı) sadece enfeksiyöz atığı tanıma açısından öğrenim durumuna göre (lisans altı / lisansüstü) fark bulundu ($p = 0,049$). Öğrenim durumu lisansüstü olanlar enfeksiyöz atığı daha yüksek oranda tanıyordu. Uluslararası biyotehlike amblemini laboratuvar uzman-asistanları ve laboratuvar teknisyenlerinin tamamı tanırken acil tıp teknisyenlerinin %6,7'si tanııyordu. Tıbbi atık yönetmeliğine göre tıbbi atık torbalarının olması gereken en fazla doluluk oranı ($\frac{3}{4}$), çalışmaya katılanlar arasında en az bilinen parametre oldu (%76,5). Kadınların %28,4'ü, erkeklerin %10,7'si tıbbi atık torba doluluk oranını bilmesine rağmen, tıbbi atık torba doluluk oranını bilme açısından cinsiyetler arasında fark yoktu ($p = 0,061$) (Şekil 1). Merkez laboratuvarı ve semt

polikliniğinde çalışma arasında tıbbi atık torba doluluk oranını bilme bakımından anlamlı fark bulundu ($p = 0,010$). Merkez laboratuvarında çalışanların %82,3'ü, semt polikliniklerinde çalışanların %56,5'i tıbbi atık torba doluluk oranını biliyordu. Merkez laboratuvarı aylık tıbbi atık üretim miktarı yaklaşık 37.000 kg, 5 adet semt polikliniğinin toplam aylık ortalama tıbbi atık üretim miktarı 1000 kg'dı.

Meslek gruplarına göre analiz edildiğinde, atık kovalarının düzenli aralıklarla toplanması ve temizlenmesi konusunda bilgi düzeyleri incelendiğinde laboratuvar teknisyenlerinin farkındalığının %97,9, acil tıp teknisyenlerinin farkındalığının %80 olduğu gözlemlendi ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p = 0,039$). Laboratuvar personelinin yaşları temel alınarak yapılan analiz neticesinde (Tablo 3), birimlerinde atıklar için geri dönüşüm uygulanıp uygulanmama farkındalığı açısından yaşa göre fark vardı ($p = 0,016$). 30 yaş altındakilerin %66,7'si, 30 yaş ve üstündekilerin %86,7'si birimlerinde atıklar için geri dönüşüm uygulandığını düşünüyordu. Tıbbi atık personelinin özel kıyafet giyip giymediği konusunda



Şekil 1. Cinsiyete göre tıbbi atık torba dolum oranını bilmenin ve tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim alma isteğinin grafik ile gösterimi

Tablo 3. Laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi açısından farkındalıklarının yaşa göre değerlendirilmesi

	Yaş	Sayı	Yüzde	CI	p değeri
Çalışılan birimde atık geri dönüşümü uygulanmaktadır.	≤ 30	28	% 66,7	0,115-0,822	$p^a = 0,016$
	> 30	52	% 86,7		
Tıbbi atık personeli özel kıyafet giymektedir.	≤ 30	34	% 81	0,056-0,901	$p^b = 0,047$
	> 30	57	% 95		
Atık kovaları düzenli aralıklarla toplam temizliği yapılmaktadır.	≤ 30	28	% 66,7	0,085-1,085	$p^b = 0,068$
	> 30	52	% 86,7		

^a, Ki-kare testi

^b, Fisher testi

CI, güven aralığı

laboratuvar personelin farkındalığı açısından yaşa göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p = 0,047$). 30 yaş ve üstündekilerin %95'i, 30 yaş altındakilerin %81'i tıbbi atık personelinin özel kıyafet giydiğinin farkındaydı.

Araştırmaya katılan personelin çalıştıkları birim (merkez laboratuvarı / semt poliklinikleri) esas alındığında (Tablo 4), tıbbi atık personelinin özel kıyafet giyip giymediği konusunda laboratuvar personelin farkındalığı açısından anlamlı fark bulundu ($p = 0,002$). Merkez laboratuvarında çalışanların %94,9'u tıbbi atık personelinin özel kıyafet giydiğini ifade ederken, semt polikliniklerinde çalışanların %69,6'sı giymediğini ifade etti. Çalışılan birimlerde yeterli sayıda tıbbi atık torbası bulunup bulunmaması açısından merkez laboratuvarı / semt polikliniklerine göre fark vardı ($p = 0,049$). Merkezde çalışanların tamamı yeterli sayıda tıbbi atık torbası bulunduğunu belirtirken, semt polikliniklerinde çalışanların %8,7'si yeterli sayıda tıbbi atık torbası bulunmadığını ifade etti. Atıklar için geri dönüşüm uygulanıp uygulanmama konusunda laboratuvar çalışanlarının farkındalıkları

incelendiğinde, merkez laboratuvarında çalışanların farkındalığının %83,5, semt polikliniklerinde çalışanların farkındalığının %60,9 olduğu gözlemlendi ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p = 0,040$).

Çalışmaya katılan personelin çalıştıkları süre açısından tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim alıp almamaları arasında fark vardı ($p=0,007$). Buldukları birimde 5 yıldan az çalışanların %69,4'ü, 5 yıldan uzun çalışanların %90,6'sı tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim almış olduklarını ifade ettiler. Ayrıca tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim almış olma durumu ile yaşa göre anlamlı fark bulundu ($p = 0,016$). 30 yaş altındakilerin %69'u, 30 yaş ve üstündekilerin %88,3'ü eğitim almış olduklarını belirttiler.

Tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim alma isteği açısından cinsiyetler arasında anlamlı fark olmamasına rağmen ($p = 0,070$) kadınların %44,6'sı erkeklerin %25'i eğitim alma isteklerini ifade ettiler (Şekil 1).

Tablo 4. Laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi açısından farkındalıklarının çalıştıkları birime göre değerlendirilmesi

	Çalışılan birim	Sayı	Yüzde	CI	p değeri *
Çalışılan birimde yeterli sayıda tıbbi atık torbası bulunmaktadır.	Merkez laboratuvarı	79	% 100	0,965-1,242	$p=0,049$
	Semt polikliniği	21	% 91,3		
Tıbbi atık personeli özel kıyafet giymektedir.	Merkez laboratuvarı	75	% 94,9	2,144-31,385	$p=0,002$
	Semt polikliniği	16	% 69,6		
Atıklar için geri dönüşüm uygulanmaktadır.	Merkez laboratuvarı	66	% 83,5	1,169-9,115	$p=0,040$
	Semt polikliniği	14	% 60,9		

* Fisher testi
CI, güven aralığı

TARTIŞMA

Atık yönetim sisteminde istenilen başarıya ulaşılabilmesi için atık bileşenleri ile ilgili karmaşıklıkların ortadan kaldırılması gerekir. Özellikle atıklar ayrıştırılırken sağlık çalışanlarının hangi atığın hangi atık sınıfına girdiğini bilmesi oldukça önemlidir (12). Bu kesitsel çalışmada anket sonuçlarından elde edilen verilere göre tıbbi atık torba renginin en iyi bilinen ifade olması ve diğer atık torba renklerinin de oldukça yüksek oranlarda bilinmesi atıkların doğru ayrıştırıldığını göstermektedir. Akbolat ve ark.larının yaptığı çalışmada ise sağlık personeli tarafından tıbbi atıkların kırmızı renkli torbalarda toplanması gerektiği bilinmesine rağmen geri dönüştürülebilir atıkların mavi, evsel atıkların siyah torbalarda toplanması konusunda yeterli bilgi düzeyine sahip olmadıkları görülmüştür (13). Ayrıca Taşçıoğlu tarafından yapılan bir çalışmada servislerin büyük bir bölümünde atıkların niteliklerine göre farklı renkteki torbalarda biriktirmediği gözlemlenmiştir (14).

Kesici delici atık türlerinin ayrı kutularda toplanması gerektiğinin bilinmesi ve tıbbi atık torba renginden sonra en iyi bilinen ifade olması personelin kesici delici yaralanmalarından korunmasında büyük önem arz eder. Terzi ve ark.ları ise çalışmalarında temizlik elemanlarının %27,8'nin çalışma ortamında kesici-delici bir aletle yaralandıklarını belirtmişlerdir (15).

Katılımcılardan alınan cevaplara göre tıbbi atık torba doluluk oranı en az bilinen ifadedir. Merkez laboratuvarında çalışanlarla semt polikliniklerinde çalışanların tıbbi atık torba doluluk oranını bilmeleri açısından fark olması ve tıbbi atık torba doluluk oranını semt polikliniklerinde çalışanların daha düşük düzeyde bilmesi semt polikliniklerinin daha az yoğun olup torbaların merkez laboratuvardaki kadar dolmamasına bağlı olabilir. Bu sonuca hastanenin kalite biriminden alınan merkez laboratuvar ve semt polikliniklerine ait tıbbi atık üretim oranları (merkez laboratuvarı aylık tıbbi atık üretim miktarı

yaklaşık 37.000 kg, 5 adet semt polikliniğin toplam aylık ortalama tıbbi atık üretim miktarı 1000 kg) değerlendirildikten sonra varıldı.

Sağlık çalışanlarının atık sembollerini tanımaları ve atığın çeşidine uygun tedbir almaları hem iş sağlığı ve güvenliği hem de çevre sağlığı açısından büyük önem taşır. Ankete katılanların % 95'inin uluslararası biyotehlike amblemini tanımaları tıbbi atık yönetimi farkındalığı için yeterlidir.

Meslek gruplarına göre yapılan analizde acil tıp teknisyenleri ve laboratuvar teknisyenlerinin tıbbi atık yönetimi konusunda uluslararası biyotehlike amblemini tanıma, atık kovalarının düzenli aralıklarla toplanması temizlenmesi gibi hem bilgi düzeylerinde hem de farkındalıkları arasında farklılıklar elde edildi. Bu sonuçlar farklı meslek gruplarının ihtiyaçlarına göre eğitimin sağlanmasını ve uygulamaların denetlenmesi gerekliliğini ortaya çıkardı.

Araştırmaya katılan personelin çalıştıkları birime göre analizde farklılıklar gözlemlendi. Tıbbi atık personelinin özel kıyafet giyip giymediği konusunda laboratuvar personelin farkındalığı açısından çalışılan birime göre anlamlı fark bulundu. Merkez laboratuvarında çalışanların neredeyse tamamı tıbbi atık personelinin özel kıyafet giydiğini ifade ederken, semt polikliniklerinde çalışanların yaklaşık %70'i giymediğini ifade etti. Çalışma tamamlandıktan sonra kalite birimi, laboratuvar ve temizlik personelleri ile yapılan görüşmeler neticesinde semt polikliniklerinde çalışanların tıbbi atık personeli ile karşılaşmadıkları ve laboratuvardaki atıkları temizlik personelinin geçici tıbbi atık deposuna taşıdığı sonucuna varıldı. Ayrıca atıklar için geri dönüşüm uygulanıp uygulanmama konusunda laboratuvar çalışanlarının farkındalıkları incelendiğinde, merkez laboratuvarında çalışanların farkındalığının, semt polikliniklerinde çalışanların farkındalığından daha yüksek olduğu gözlemlendi. Çalışma sonucunda yapılan araştırmada semt polikliniklerinde geri dönüşüm torbalarının ve kutularının bulunmadığı bilgisine ulaşıldı.

Araştırmaya katılan personelin çalıştıkları süre açısından tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim alıp almama arasında fark görülürken, buldukları birimde 5 yıldan az çalışanların %30'unun, 5 yıldan uzun çalışanların %10'unun tıbbi atık yönetimi konusunda eğitim almamış oldukları görüldü. Ayrıca 30 yaş üstündekilerin atıklar için geri dönüşüm uygulanması ve tıbbi atık personelinin özel kıyafet giymesi konularında 30 yaş altındakilere göre farkındalıklarının yüksek olduğu gözlemlendi. Bu nedenlerle kısa süredir çalışanlara ve daha genç yaştaakilere yönelik eğitim verilmesinin uygun olacağı düşünüldü. Akbolat ve ark. ve Terzi ve ark. ları tarafından yapılan benzer çalışmalarda ankete katılanların sırasıyla %69,6'sının ve % 80,5'inin tıbbi atık konusunda eğitim almış oldukları belirtilmiştir (13,15). İstanbul'da 12 hastanede yapılan kapsamlı bir çalışmada tıbbi atık yönetimi konusunda eğitimin etkisi araştırılmış, eğitim öncesi ve eğitim sonrası test uygulanmıştır. Eğitim alanlarda ön test ve son test arasında anlamlı fark saptanmıştır (16).

Sonuç olarak, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde laboratuvar personelleri arasında tıbbi atık yönetimi farkındalığının yeterli olduğu görüldü. Ancak ifadeler ile gözlem sonuçları her zaman birbirini tutmamaktadır. Bu nedenle çalışanların gözlenerek gerçek oranların saptanmasının doğru olacağı düşünüldü. Ayrıca bu çalışmada sadece laboratuvar personelinin tıbbi atık yönetimi konusundaki farkındalığı araştırıldı. Bu çalışma hastanedeki tüm sağlık çalışanlarını kapsayacak şekilde genişletilebilir. Bu kapsamda, Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği doğrultusunda hastaneler katılımcı bir sürece dayalı uygun tıbbi atık yönetim protokolleri geliştirmelidir. Sağlık personelinin tıbbi atık uygulamalarını izlemek için uygun programlar hazırlanabilir. Bu izleme programları uyum için teşvikleri, yetersiz uyum için cezaları içermelidir. Farklı gruptaki hastane personeli için sürekli bir hazırlık ve eğitim dağılımı tıbbi atık yönetim sonuçlarını iyileştirecektir.

KAYNAKLAR

1. Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2005/07/20050722-16.htm> (Erişim tarihi 14.03.2016).
2. WHO. Safe Management of Wastes from Health-care Activities. In: Prüss A, Giroult E, Rushbrook P, eds. Geneva: World Health Organization, 1999. p.1-230.
3. UNEP (United Nations Environment Programme), Compendium of Technologies for Treatment/ Destruction of Healthcare Waste, United Nations Environment Programme Division of Technology, Industry and Economics International Environmental Technology Centre Osaka, Japan: 2012. p.1-236.
4. Emenike AI. Effectiveness of Healthcare Waste Management Interventions in Developing Countries, Master of Public Health The University of Texas School of Public Health, 2010.
5. 2012 Sağlık Bakanlığı verileri, Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Kamu Hastaneler Kurumu, 2012.
6. Birpınar ME, Bilgili MS, Erdoğan T. Medical waste Management in Turkey: A Case Study of İstanbul. Waste Manag, 2009; 29 (1): 445-8.
7. Uysal F, Tinmaz E. Medical waste Management in Trachea Region of Turkey. Waste Manag Res, 2004; 22 (5): 403-7.

8. Kılıç M. Optimization of The Health-care waste Handling and Final Disposal of The Infectious Wastes of The Hospital-Medical Centers İn The Anatolian Side of İstanbul. Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tezi, Boğaziçi Üniversitesi, 2004.
9. Zeren BA. Health- Care Waste Management of the hospitals in the European of İstanbul. Çevre Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi, Boğaziçi Üniversitesi, 2004.
10. Nessa K, Quaiyum MA, Khuda B. Waste Management in Healthcare Facilities: A Review In: M. Shamsul Islam Khan, ed. Bangladesh: ICDDR, B Centre for Health and Population Research Publisher, 2001.
11. Patil AD, Shektar AV. Health-care waste management in India. J Environ Manage, 2001; 63 (2): 211-20.
12. Ananth AP, Prashanthini V, Visvanathan C. Healthcare Waste Management in Asia. Waste Manage, 2010; 30 (1): 154-61.
13. Akbolat M, Işık O, Dede C, Çimen M. Sağlık Çalışanlarının Tıbbi Atık Bilgi Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2011; 2 (3): 131-40.
14. Taşcıoğlu İ. Lüleburgaz Devlet Hastanesi ve Lüleburgaz 82. Yıl Devlet Hastanelerinde İş ve Çalışma Ortamından Kaynaklanan Riskler Ve Bu Riskleri Hemşirelerin Algılama Düzeylerinin Saptanması. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı, 2007.
15. Terzi Ö, Aker S, Terzi Ö, Sünter AT, Pekşen Y. Hastane Temizlik Elemanları ve Mesleki Enfeksiyon Riski: Bilgi ve Davranışlar Üzerine Bir Çalışma. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009; 16 (1): 7-12.
16. Aclan O, Bahri T, Eker HH, Altındis S, Kocaakman M, Karabay O. Medical waste management training for healthcare managers - a necessity? J Environ Health Sci Eng, 2013; 11 (1): 20.

Hand hygiene attitudes of healthcare staff working in intensive care unit of a state hospital

Bir devlet hastanesinin yoğun bakım ünitesinde çalışan sağlık personelinde el hijyeni davranışları

Aliye BULUT¹, Aziz BULUT², Çağla YİĞİTBAŞ³, Suat TUNCAY¹

ABSTRACT

Objective: The purpose in this research is to evaluate hand hygiene the attitudes of healthcare staff working in intensive care unit of state hospital of a province in Eastern Anatolia Region.

Methods: The research was conducted by applying to a survey to healthcare personnel delivering patient care and treatment services in coronary, anesthesia and internal medicine intensive care clinics of a state hospital located in Eastern Anatolia Region. The universe of the research is comprised of 51 healthcare staff working in this hospital and was conducted on the basis of voluntary participation with whole of the universe of the research (51 people) (Response rate: 100%). Survey form used in the research was developed by researchers in compliance with literature information. Data were evaluated in statistic packaged software.

Results: The average age of the people attending the study is 31,66±7,34 (min: 18, max: 56) and 53% of them is woman and 54,9% is nurse. The most preferred method of hand washing is (at the rate of 68,6%) water and soap and also it was found that 84,3% of the frequency of hand washing is expressed as often. On the other hand, it was detected that 23,5% of the participants could not wash their hands because of deficiency of material, 11,8%

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada amaç, Doğu Anadolu Bölgesindeki bir ilimizin Devlet Hastanesinin Yoğun Bakım Ünitesinde çalışan sağlık personelinin el hijyeni ile ilgili davranışlarının değerlendirilmesidir.

Yöntem: Araştırma, Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan bir Devlet Hastanesinin Koroner, Anestezi ve Dâhiliye Yoğun Bakım Kliniklerinde hasta bakım ve tedavi hizmeti veren sağlık çalışanlarına anket uygulanması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın evrenini bu hastanede çalışan 51 sağlık personeli oluşturmuş, araştırma evreninin tamamı ile (51 kişi) gönüllü katılım esasına göre yürütülmüştür (Cevaplılık oranı: %100). Araştırmada kullanılan anket formu literatür bilgisine uygun olarak araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Veriler istatistik paket programında değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya katılan kişilerin yaş ortalamaları 31,66±7,34 (min: 18, max: 56) şeklinde olup %53,0'ü kadınlardan ve %54,9'u hemşirelerden oluşmaktadır. El yıkamada en çok tercih ettikleri yöntemin (%68,6 oranında) su ve sabun olduğu ayrıca el yıkama sıklıklarının %84,3 oranında sık sık şeklinde ifade edildiği saptanmıştır. Katılımcıların, %23,5'inin malzeme yetersizliği, %11,8'inin yoğun

* This study was submitted as poster declaration in 18th National Public Health Congress between 05-09th of October, 2015.

¹Bingöl University, Faculty of Health Sciences

²Bingöl State Hospital

³Giresun University, Faculty of Health Sciences



İletişim / Corresponding Author : Aliye BULUT

Selahaddin-i Eyyubi Mah. Aydınlık Cad. No: 1, 12000 Bingöl - Turkey

Tel : +90 505 817 31 13 E-posta / E-mail : aliyedemirok@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 29.01.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 23.09.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.43815

Bulut A, Bulut A, Yigitbas Ç, Tuncay S. Hand hygiene attitudes of healthcare staff working in intensive care unit of a state hospital. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 139-146

because of lack of time arising from intense work load, 7,8% because of occurrence of irritation in their hands.

Conclusion: Hand washing behavior of staff working at public hospital in intensive care is not at desirable level, and also the physical conditions are not sufficient for this case. For this reason, it is significant that staff in state hospital rendering service in primary areas such as intensive care unit should be subjected to on-the-job trainings with repetitive applications to maintain the health of both themselves and the individuals they render care service at an optimum level and to gain attitude of hand washing with scientific methods and in this sense, it is important to provide technical and adequate equipment to the hospital.

Key Words: Hand washing, intensive care, healthcare staff

iş yükü nedeniyle zaman yetersizliği, %7,8'inin ise, ellerinin tahriş olmasından dolayı el yıkayamadığı belirlenmiştir.

Sonuç: Araştırmanın yapıldığı Devlet Hastanesi Yoğun Bakımında çalışan sağlık personelinin el yıkama davranışının istendik düzeyde ve şekilde olmadığı öte yandan fiziki koşulların da bu durum için yeterli olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle Devlet Hastanesinde yoğun bakım ünitesi gibi öncelikli alanlarda hizmet verenlerin hem kendileri hem de bakım sundukları bireylerin sağlığını optimum düzeyde sürdürebilmeleri ve bilimsel metotlarla el yıkama davranışı edinmeleri için tekrarlı uygulamalarla hizmet içi eğitimlere tabi tutulmaları, bu manada hastanenin teknik ve yeterli donanımsal araçlara kavuşturulması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: El Yıkama, yoğun bakım, sağlık çalışanları

INTRODUCTION

Progressively gaining importance in the twenty first century, hospital infection is among the most significant problems that modern medicine has to deal with (1). Hand washing is the most substantial precaution that healthcare staff can take regarding the hospital infections that may arise in patients and the risks they are exposed to in workplace environment and once again is a simple procedure that is thought to be critical in control of infections acquired in healthcare staff by occupational means (2, 3). Hand hygiene is the most efficient and substantive factor in prevention of hospital infection (4).

The purpose of hand washing specified by unions such as Center for Disease Control and Prevention (CDC), American Hospital Association (AHA) and Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology (APIC) as an application having vital importance in breaking infection chain by

fecal oral and inhalation means is to clean transient microorganisms, oil and dirt on hand and thus to prevent microorganism transmission to the patients prone to infection by preventing regeneration of microorganisms for a certain period of time (5, 6).

It is known that hospital infections, being one of the significant problems threatening the people staying in the hospital and healthcare staff, cause redundant bed occupation, workforce loss and increase in treatment costs and accordingly place an extra burden to national economy (7-10). The frequency of incidence of hospital infections is known to be affected by the size of the hospital, architectural structure, the number and knowledge level of personnel, the status of the patients accepted, diagnosis applied and treatment methods and control and measures of protection concerning infections (11, 12). It has been emphasized that

change and development in the applications in healthcare in recent years has increased the quality of life and patient safety and extended length of life; notwithstanding, led to generation of new pathogens; changes in resistance and increase in hospital infections (13).

World Health Organization (WHO) reports that more than 190 million of people are hospitalized in the world each year and it is known that hospital infection occurs in 5% of these, that is to say that 10 million, and therefore patients stay in hospitals more than 7 days in average (14-18). It has been expressed in the studies carried out that urinary system (36%), surgical site (22%), lower respiratory tract infections (9%) and bacteremia (12%) are mostly efficient in hospital infections rates, which is between 3.1% and 14.1% in the world and 2% and 16.5% in our country (19-22). It has been determined in a study covering 56 intensive care units of twenty two university hospitals that hospital infection was developed in 115 of 236 patients (48%) (23).

Intensive care units provide substantial opportunities in close surveillance of the patients, not stable in physiological terms. In addition to this, these units establish an environment rich in resistant pathogen bacteria due to the fact that they are areas where broad-spectrum antibiotics are commonly used. Mechanical ventilation, central vein and artery catheterization, total parenteral nutrition, urinary catheter, dialysis, blood products, surgical and medical interventions are required in intensive care patients mostly. Usually, this kind of invasive monetarization and treatment rescues life, while on the other hand causes risks that may create hospital infections. Frequently, immune system of intensive care patient is suppressed because of shock, bleeding, surgical operation, malnutrition or other underlying diseases. For this reason, the greater part of hospital an infection is observed in intensive care patients (24-26).

The aim of this study was to investigate the

practices and knowledge level about hand hygiene among health care working in our hospital of intensive care workers.

MATERIAL and METHOD

The universe of descriptive research is comprised of healthcare staff working in Coronary, Anesthesia and Internal Diseases Intensive Care Clinics of a province in service at Bingöl State Hospital. The study was conducted by way of applying a questionnaire to healthcare staff rendering patient care and treatment service in intensive care units after the permission of the institution and approval of ethical committee are obtained. The data are collected between 18th of June - 18th of July, 2015 and 51 healthcare personnel in total serving in intensive care unit (9 physicians, 28 nurses, 5 medical assistants, 9 auxiliary staff) are included in the study. Any sample choice has not applied in the research and carried out on voluntary basis with whole of the universe of the research (51 people) (response rate: %100). 2 physicians, 8 nurses, 2 medical assistants and 2 auxiliary staff work in internal diseases intensive care; 3 physicians, 11 nurses, 3 medical assistants, 5 auxiliary staff works in anesthesia intensive care; 4 physicians, 9 nurses and 2 auxiliary staff in coronary intensive care.

Survey form used in the research was developed by researchers in association with the literature information. Survey form comprises of the questions questioning socio-demographic features (6 questions), occupational features and status of adoption of the occupation (9 questions) and also knowledge, attitudes and applications of the issue of hand washing (16 questions). Surveys face-to-face interview technique was applied.

Independent variables of the research are variables surveying socio-demographic features and dependent variables are knowledge, attitude and practices on the issue of hand washing. Data were evaluated in statistics package software. The frequencies for defining variables were shown together

with percentages. Averages are shown together with standard deviation and designated as $p < 0.05$ significance level. The study 's results are displayed with frequency and percentage distributions.

RESULTS

51 healthcare staff working in Coronary, Anesthesia and Internal Diseases Intensive Care Clinics attended to the study. The average age of the people participated in the research was determined as 31.66 ± 7.34 (min:18, max: 56). 53,0% (27 personnel) of the healthcare staff attended to the study was woman and 54,9% (28 personnel) was nurse.

45,1% (23) of the staff participated in the study was graduated from associate degree and 19,6% (10) from bachelor's degree. When marital status of them was assessed, it is ascertained that 64,7% (33) is married (Table 1).

When the question of "what is the most efficient way in the decrease of infection?" was asked to the healthcare staff participated in the study, it was determined that 43,1% (22) answered as hand washing. When the method of washing hand they prefer was asked to the participants, 68,6% (35) prefer water and general soap (Table 2).

Table 1. Some socio-demographic features of the participants (N=51)

Some socio-demographic features	Number	Ratio (%)
Age (31.66±7.34; Min:18, Max:56)		
18-27	16	31.4
28-37	27	52.9
38 and older	8	15.7
Gender		
Woman	27	53.0
Man	24	47.0
Profession		
Physician	9	17.6
Nurse	28	54.9
Medical Assistant	5	9.8
Auxiliary Staff	9	17.6
Educational Status		
High School	7	13.7
Associate Degree	23	45.1
Bachelor's Degree	10	19.6
Master Degree	2	3.9
Doctorate Degree	1	2.0
Specialist Physician	8	15.7
Marital Status		
Single	18	35.3
Married	33	64.7

Table 2. Some features of participants about hand washing applications (N=51)

Some features about hand washing applications	Number	Ratio (%)
What is the most efficient way in the decrease of infection?		
Hand washing	22	43.1
Hygiene	18	35.3
Training	6	11.8
No answer	5	9.8
Is hand washing necessary in the case of wearing gloves?		
Yes	36	70.6
No	15	29.4
Is there any method of hand washing?		
Yes	42	82.4
No	7	13.7
No answer	2	3.9
What is the method preferred in hand washing?		
Only water	8	15.7
Water and general soap	35	68.6
Water and liquid soap belong to him/herself	2	3.9
Disinfectant	3	5.9
Alcohol	3	5.9
Frequency of washing hands?		
Often	43	84.3
Occasionally	7	13.7
Before and after eating and going to toilet	1	2.0
Status of washing hands before and after the operations carried out by wearing nonsterile gloves?		
Both before and after	30	58.8
Only beforehand	1	2.0
Only after	18	35.3
No answer	2	3.9
What are the most important obstacles affecting washing hands / application of hand washing suggestions?		
Lack of stuff	12	23.5
Lack of time	6	11.8
Emergence of irritation, itch on hands	4	7.8
There is not any obstacle	4	11.8
No answer	6	45.1
The method preferred in drying hands?		
Hand drying machine	13	25.5
Single use towels	36	70.6
A towel belong to him/herself	1	2.0
Clean piece of paper	1	2.0

DISCUSSION

Hand washing is the process of washing hands with soap and water in hospitals with the aim of preventing transmission of bacteria among patients and health staff. It is the simple, cheap and most efficient way of preventing hospital infections. However, it has been detected in the studies carried out that hand washing is not paid necessary importance despite it has a substantial place in generation of infection (27, 28). This research was carried out with 51 healthcare staff working in Intensive Care Clinics of a state hospital of a province in service in Bingöl State Hospital who accepted participating in the research with the purpose of determination of knowledge and attitudes on hand hygiene.

When individual features of the healthcare staff attended to the research were analyzed; it was detected that age average is 31.66 ± 7.34 (min:18, max: 56), 53.0% is woman, 64.7% is married and 54.9% is nurse. Average of age was found out as $30,31 \pm 4.53$ in the study of use of precede model directed on improvement of hand washing habits of the healthcare staff of Maraş (29). The reason for majority of the sample comprising the group is woman is thought to arise from the fact that nursing, one of the occupational groups attended to the research, is more of a profession of women and their participation in the research is in high numbers. Another reason of this might be the fact that nurses get start in the occupation just after graduation and hospital administrations' desire on creating young and dynamic teams because of high numbers of nurses in intensive care units. The reason for the fact that majority of the health staff attended to the research is married arise from physician and personnel. It is found out that greater part of nurses is single. Also, it is found out in a study carried out by Köse that 59.1% of nurses is single (11).

When the question of "what is the most efficient way in the decrease of infection?" was asked to the healthcare staff participated in the study, the response of 43,1% was hand washing. The significance and necessity of hand washing of healthcare staff before and after treatment-care applications regarding patients in prevent of hospital infections has unequivocally been acknowledged. Supporting this remark, Simmelweis,

Lister and Florence Nightingale expressed that the rate of epidemics and septic deaths in hospitals can be decreased to a great extent by hand washing and suchlike hygienic applications (30, 31). A research conducted in Canada shows that hospital infections in intensive care units can be decreased from 30% to 10% even with only hand washing and this confirms that hand washing is the most efficient method for prevention of these infections (32).

Emergence of hospital infections can be minimized with the use of gloves and hand washing distinctly; however, use of gloves shall never substitute hand washing. it was detected that 70.6% of the participants responded "Yes" to the question of "Is hand washing necessary in the case of wearing gloves". Furthermore, when the status of healthcare staff related to the washing their hands before and after the operations require wearing nonsterile gloves is considered, it was observed that 58.8% (17) stated that hand washing is necessary before and after these operations. The rate of using gloves of healthcare staff was found out as 58.8% in the observations carried out by using Fulkerson Scale as an observation tool in the Internal Diseases service of Pamukkale University by Kuzu et.al in our country (33). It was determined in the study carried out by Keşaplı et.al in Akdeniz University emergency service in 2002 that glove was used in 38.4% of contacts and the frequency of hand washing after these touches was 27.8% (34).

When the method that the participants prefer in hand washing was asked, it was detected that 68.6% prefer water and general soap. In the study of Uzun et.al., it was established that 80.5% use water and soap as hand washing agent (35). As for Karabay et. al., it was found out that soap is more frequently used than other products among nurses (36). The results of the research that we have conducted bear resembles to the results of other researches.

When the frequencies of hand washing of healthcare staff are considered, it was seen that 84.3% replied as frequently. In the study of Esen et. al. in which they observed hand washing habits of 141 health staff, 68% of physicians, 64.9% of nurses and 63.2% of caregivers wash their hand after intervention to the patients (37). The frequency rate of hand washing in our study was found

high among physicians and personnel.

It was designated that 23.5% of the participants cannot wash their hands because of lack of materials, 11.8% because of lack of time originating from intense work load and 7.8% because of irritation on their hands. In the study carried out by Akyıl, 44% of nurses stated that the factor preventing hygienic hand washing is the number of patients is high and the number of nurses is inadequate (38). As for the study carried out by Uzun and Bölükbaşı, it was specified that nurses assert at the rate of 67.6% that they cannot wash their hands frequently as they are too busy (39).

It was detected that 70.6% of healthcare staff dry their hands with hand dryer and 25.5% with single use towels after hand washing. The rightest choice in hand drying is the use of paper towels. Drying hands with paper towels is quicker than hand dryers. Drying hands takes 7-9 seconds in this way. 78.7% of nurses notified in Akyıl's study that usage of single use paper towels is the most accurate method of hand drying (38). In the study carried out by Köse, 47.7% of the group stated that they dry their

hands with heated air and 45.5% with paper towels (11).

It has been observed in the state hospital where the research was carried out that sufficient hand hygiene cannot be provided and it is seen that the habit of hand hygiene could not be gained sufficiently. Findings reveal that physical conditions of healthcare personnel fall short in some occasions. Some interventions targeting all occupational groups directed on improving the attitude of hand hygiene in intensive care units are required.

Within the direction of these results, we suggest that healthcare staff shall be keep informed on the significance of hand washing and methods and materials to be used with training programs to;

- Increase the number of attitudes of hand washing of healthcare staff,
- Increase the time they spare for hand washing,
- Increase their knowledge on hand washing,
- Eliminate the situations preventing their hand washing and decrease their being seen as obstacles,
- Increase the quality of the attitude of hand washing.

REFERENCES

1. Moolenaar RL, Crutcher JM, San Joaquin VH, et al. A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: Did staff fingernails play a role in disease transmission? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000; 21: 80-5.
2. Dokuzoğuz B., Hand washing and hand antiseptics. *ANKEM Journal*, 2003;17(3):154-156.
3. Boyce JM, Pittet D. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HIPAC /SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Am J Infect Control*, 2002; 30: 1-46.
4. Bischoff WE, Reynolds TM, Sessler CN, Edmond MB, Wenzel RP. Handwashing compliance by health care workers. *Arch Intern Med*, 2000; 160: 1017-21.
5. Kanra G., Öncel S., Healthcare Personnel and Hand Washing Applications. *Hospital Infections Journal*, Bilimsel Tıp Publishing House, Ankara, 1997; Volume. 1, No. 2;57-60.
6. Güner S., The effect of surgical hand washing on Gr(-) and Gr(+) bacteria on nurses' hands. *Istanbul University. Institute of Medical Sciences, Master's Thesis*, İstanbul, 2002.
7. Aksoy G. A study on the process of hand washing of health care personnel working in surgery. *National Surgery Congress 90*, Surgery Nursing Department, İstanbul, 1990.
8. Dragos AZ. Hand Washing and Disinfection. *The International Symposium and Workshop on Hospital Hygiene and Hospital Infection Control*. Ege University Pres, İzmir, 1996.
9. Wilson J. Keeping MRSA in Perspective. *Nursing Times*, 1996; Vol:92, No:19: 58-60.
10. Ener B. Role and Training of Medical Proficiency. *Infection control seminar*, İstanbul, 1998.
11. Köse E. Determination of the factors affecting the frequency of hand washing in urgent surgery units. *Istanbul University Institute of Medical Sciences Surgical diseases nursing USA*, Master's Thesis, İstanbul, 1998.
12. Titiz İ. Cost of hospital infections. *Journal of modern hospital administration*, Merajans Ltd. Şti. İstanbul, 2000; Volume:4, Number:1.

13. Duclou G., Fabry J., Nicolle L., Prevention of Hospital-acquired Infections, a practical guide, 2nd edition, World Health Organization, 2002; WHO/ CDC/EPH2002.12.
14. Dramalı A. Functions of nursing on preventing hospital infections, E. Ü. Journal of School of Nursing, 1987; 3:100-109.
15. Çetin ET. The Significance of hospital infections, 1st Turkish Hospital Infection Congress, Congress Book. İstanbul Medical Faculty, 7-10th of January, 1992.
16. Sarasi L., East J. Marketing Infection Control, Nursing Times, 1991; Vol: 87, No: 24.
17. Bal Ç. Infection control studies in various centers in Turkey. Infection control seminar. İstanbul, 1996.
18. Harknes GA., Dinchers J.R. Medical Surgical Nursing, Total Patient Care. Copyright. Mosby. Philadelphia, 1996.
19. Hamzaoğlu O., Kurt Ö. Epidemiology of hospital infections. Incision Surgical Sciences Journal, Bilimsel Tıp Bookstore, Ankara, 2000; Volume:3, Number:4.
20. Topçu AW., Söyletir G., Doğanay M. Infection Diseases. Nobel Bookstores, Ltd. Şti. Alemdar Ofset, İstanbul, 1996.
21. Işık AF. Legal aspect of hospital infections. Hospital infections journal, Bilimsel Tıp Bookstore, Ankara, 2000; Volume:4, Number:4.
22. Yalçın An. Cost-benefit analysis of infection control programs. Hospital Infections Journal, Bilimsel Tıp Bookstore, Ankara, 2000; Volume:4, Number:2.
23. Esen S., Leblebicioğlu H. and Study Group. Prevalence of Nosocomial Infections at Intensive Care Units in Turkey: A Multicentre 1-Day Point Prevalence Study. Scan J Infect Dis, 2004; 36: 144-8.
24. Kampf G., Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. Clinical Microbiology Reviews. 2004; Vol. 17, No. 4: 863-893.
25. Çetinoğlu E.Ç., Canbaz S., Aker S., et. al. Ondokuz Mayıs University Medical Faculty Hospital Assessment of the knowledge of nurses on the issue of hand washing. 4th National Sterilization Disinfection Congress Book, Bilimsel Tıp Publishing House, Ankara, 2005;745.
26. Craven DE., Kunches LM., Lichtenberg DA., et al. Nosocomial Infection and Fatality in Medical and Surgical Intensive Care Unit Patients. Arch Inter Med, 1988; 148:1161-8.
27. Güçlü E, Tuna N, Yahyaoglu M, Çalıcı Utku A, Özcan Ö, Ceylan S, et al Efficacy of education and dissemination of alcoholbased hand antiseptics in the hospital in improving hand hygiene compliance. Flora, 2012; 17:118-25.
28. Özen Ş, Dramalı A. Comparison of knowledge and attitudes of nurses on hand washing and usage of gloves in infection control. 3rd National Nursing Congress. Sivas, 1992.
29. Maraş GB. Use of de Precede model in improvement of hand washing habits of healthcare personnel (Master's Thesis).İzmir: Ege University Institute of Medical Sciences, 2007.
30. Rotter ML. Hand washing and hand disinfection. In: Mayhall CG (ed). Hospital Epidemiology and Infection Control. 3rd ed.Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004; 1727-46.
31. Görak G., Savaşer S. Control methods (Medical asepsis) current approach on hospital infections. N: 42-48, Edi:l. Titiz, D. Şelimen, T. Yatlı. Yeni Ruket, İstanbul, 1997.
32. Conly JM., Hill S., Ross J., Lertzman J., Louite TJ. Handwashing Practices in an Intensive Care Unit: The Effects of an Educational Program and its Relationship to Infection Rates. Am J Infect Control, 1989; 17,330-9.
33. Kuzu N., Özer F., Aydemir S., et. al. Compliance with Hand Hygiene and Glove Use in a University-Affiliated Hospital. Infection Control and Hospital Epidemiology, 2005; 26, 3: 312-315.
34. Keşaplı M., Çete Y., Kartal M., Property of hand washing in emergency service and the factors affecting it. Turkish Clinics Medical Sciences Journal, 2004; 24 (3): 235-242.
35. Uzun G, Erden H, Mert H, Atmaca D. The importance of hand washing in hospitals particularly in surgery clinics. International surgery congress, surgical nursing department, lecture and declarations, İstanbul, 1990; 221-225.
36. Karabay O, Sencan I, Sahin I, Alpteker H, Ozcan A, Oksuz S. Compliance and efficacy of hand rubbing during in-hospital practice. Med Princ Pract., 2005; 14:313-7.
37. Esen Ş, Kumcağız H., Sünbül M., Eroğlu C., Leblebicioğlu H., Point of view and attitude of the habit of hand washing of healthcare personnel in critical units. II. Sterilization Disinfection Hospital Infections congress, Samsun. Congress Book, 25-28 April 2001; 228.
38. Akyıl R. Determination of hand washing status of the nurses working in hospitals, Atatürk University Institute of Medical Sciences, department of surgical diseases nursing, Master's Thesis, Erzurum, 2002.
39. Uzun Ö., Bölükbaş N. a descriptive study on hand washing and drying. Journal of nursing, 1997; 47(6): 14-17.

Evde sağlık hizmetleri çalışanlarının eğitim ihtiyacının belirlenmesi

Identification of training needs of home health care workers

Sinan BULUT¹, Özlem YİĞİTBAŞIOĞLU¹, Kanuni KEKLİK², Alev YÜCEL³,
Savaş Başar KARTAL⁴, İrfan ŞENCAN⁵

ÖZET

Amaç: Birçok ülkede, son yıllarda sağlık hizmetlerinde, hizmetin hastaya ulaştırılmasına yönelik büyük gelişme gösteren evde sağlık hizmetleri, Türkiye’de de Sağlık Bakanlığı’nca üzerinde önemle durulan ve geliştirilmesine yönelik önemli adımlar atılan bir hizmet sunum şekli haline gelmiştir. Hizmetin ekip anlayışı ile sunulduğu evde sağlık hizmetlerinde gerek personel nitelikleri ve gerekse hizmetin çeşitliliği, çalışanlar için eğitim ihtiyaçlarının belirlenmesini ve bu ihtiyaçların giderilmesini gerekli kılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu’na bağlı halk sağlığı müdürlükleri bünyesinde görev yapan ve evde sağlık hizmeti sunumunda görevli personelin bu alanındaki eğitim ihtiyaçlarını saptamak ve daha etkin hizmet sunumunda planlamalara kaynak oluşturmaktır.

Yöntem: Bu araştırmaya, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bünyesinde, evde sağlık hizmeti sunumunda görev yapmakta olan personel dâhil edilmiştir. Araştırmada, ilgili personelin eğitim ihtiyacını belirlemeye yönelik ölçme aracı olarak anket formu kullanılmıştır. Anket formu, literatür taraması ve evde sağlık hizmeti sunum koordinasyonunda görev alan ilgili birimlerin görüşleri

ABSTRACT

Objective: In many countries, in recent years, home health care services gained an important development for delivering the service to the patients have become a service offering which has been overemphasized by the Ministry of Health of Turkey remarkable steps have been taken to improve these services. As home health care services are delivered with a team work perception, both personnel qualifications and diversity of the services require to identify training needs of the staff and to fulfill such needs. In this study, it is aimed to identify the training needs of the home health care service staff of the provincial directorates of the Public Health Institution of Turkey and to be a resource for a more effective service delivery planning.

Methods: It was included the home health care services staff of the Public Health Institution of Turkey in this study. A questionnaire is applied as a measuring tool to determine the training needs of the relevant personnel. The questionnaire was developed in accordance with the opinions of the relevant unit involved in coordination of home health care services

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Aile Hekimliği Eğitim ve Geliştirme Daire Başkanlığı

²Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Toplum Sağlığı Hizmetleri Daire Başkanlığı

³Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi

⁴Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Birinci Basamak Sağlık Hizmetleri Başkan Yardımcılığı

⁵Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı



İletişim / Corresponding Author : Sinan BULUT

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Aile Hekimliği Eğitim ve Geliştirme Dai. Başk. Ankara - Türkiye

Tel : +90 538 577 01 72

E-posta / E-mail : sinan.bulut@thsk.gov.tr

Geliş Tarihi / Received : 06.04.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 28.01.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.70437

Bulut S, Yigitbasoglu Ö, Keklík K, Yücel A, Kartal SB, Şencan İ. Evde sağlık hizmetleri çalışanlarının eğitim ihtiyacının belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 147-154

doğrultusunda geliştirilmiştir. Anket formu, evde sağlık hizmeti sunumunda görev alan personele elektronik posta yolu ile iletilmiştir. Araştırmanın evrenini 1581 personel oluşturmakta olup, çalışmada 1123 (%71) personelden geri bildirim alınmıştır.

Bulgular: Araştırmada katılımcıların %64,7'si (727) kadın, %35,3'ü (396) erkeklerden oluşmaktadır. Katılımcılar çoğunlukla, ebe, pratisyen hekim, hemşire ve sağlık memurlarından oluşmuştur. Katılımcılar hekim ve hekim dışı sağlık personeli olarak iki gruba ayrılmıştır ve özellikle Temel Kavramlar ve Mevzuat, Palyatif Bakım Hastasına Genel Yaklaşım, Yara Bakımı, Halk Sağlığı Bilgi Sistemi (HSBS), Muayene Bilgi Yönetim Sistemi (MBYS) ve Trakeostomi Bakımı konuları her iki grup için de talep önceliği arasında yer almaktadır.

Sonuç: Birinci basamak sağlık hizmetlerinde, hastanın bulunduğu yerden başka bir yere nakledilmesine gerek kalmadan ihtiyaç duyduğu sağlık hizmetinin yeterli ve doğru şekilde verilmesi tedavi sürecinde önemli bir yeri vardır. Evde sağlık hizmeti sunumunda hizmet sunucularının daha verimli çalışabilmeleri için, işin gerekliliklerinin yerine getirilmesi gerektiği gibi her bir çalışanın eğitim ihtiyaçlarının belirlenmesi ve eğitimleri, birincil öncelik olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışanların sundukları hizmet ile ilgili bilgi ve beceri yönünden donanımlı olmaları yaptıkları işi kolaylaştıracağı gibi motivasyonlarını da arttıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Evde sağlık hizmeti, hizmeti içi eğitim, sağlık personeli

and by scanning the literature. Questionnaire forms were delivered to the personnel involved in home health care services via e-mails. The universe of this study consisted of pre-determined 1581 personnel, but 1123 personnel (71% of the pre-determined universe) gave feedback.

Results: 64.7% (727) of the participants are women and 35.3% (396) are men in this study. Majority of the participants consist of midwives, general practitioners, nurses and health officials. Participants are divided into two groups as physicians and non-physician health care providers, and especially basic concepts and legislation, general approach to palliative care patients, wound care, public health information system known as HSBS and information management system of examination known as MBYS and tracheostomy care topics are prior for both groups.

Conclusion: In Primary Health Care Services, it is important to have sufficient and accurate delivery of the health care services that is needed by patients without transferring them another place from where the patient is located in the treatment process. To supply home health care services more effectively, beside the fulfillment of the requirements of the work, it is primarily important to determine the training needs of the staff and train them. The staff who have sufficient knowledge and skills related to the services provided by them both will be a facilitator for their work and increase their motivation.

Key Words: Home health services, in-service training, health workers

GİRİŞ

Birçok ülkede, son yıllarda sağlık hizmetlerinde, hizmetin hastaya ulaştırılmasına yönelik olarak büyük gelişme gösteren evde sağlık hizmetleri, Türkiye'de de Sağlık Bakanlığı'nca üzerinde önemle durulan ve geliştirilmesine yönelik önemli adımlar atılan bir hizmet sunum şekli haline gelmiştir.

Evde sağlık hizmetleri tarihsel süreçte, eğitilmiş aileler başta olmak üzere gönüllüler, sosyal yardım kuruluşları, darülaceze, kiliseler, kamu ya da özel hastane ya da sağlık merkezleri yoluyla verilmiş ve verilmeye devam edilmektedir. Türkiye'de yaşlı, engelli, kronik hastalıkları olan ve uzun dönemli

bakım hastalarının ev ortamında yaşamlarını sürdürebilmeleri için bakım ve sağlık hizmeti verilmesi amacıyla yürütülen hizmetlerin evde bakım hizmeti ayağını Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı gerçekleştirmektedir. Bireylerin evde günlük yaşam aktivitelerinin (beslenme, kişisel bakım, sosyal hayata uyum sağlanması) desteklenmesi ve bireylerin transferi ve engele uygun ev içi düzenlemeleri evde bakım hizmetleri kapsamındadır. Evde sağlık hizmetinde ise Sağlık Bakanlığı'nın evde sağlık birimleri ile profesyonel sağlık ekipleri tarafından sunulan her türlü sağlık hizmetleri yer almaktadır (1).

Evde sağlık hizmetleri, çeşitli hastalıklar nedeniyle evde sağlık hizmeti almaya ihtiyacı olan bireylere evinde ve aile ortamında sosyal ve psikolojik danışmanlık hizmetlerini de kapsayacak şekilde verilen muayene, tetkik, tahlil, tedavi, tıbbi bakım, takip ve rehabilitasyon hizmetlerinin, sunulması olarak tanımlanmaktadır (2). Tanımdan da görüleceği gibi evde sağlık hizmetleri çok fonksiyonlu bir hizmet olarak sunulmakta ve pek çok açıdan sağlık sistemine önemli katkıları olmaktadır.

Özellikle nüfusun yaşlanması, özürüllük ve kronik hastalıklardaki artış, sağlık harcamalarının artması ve maliyet açısından da yeni kaynakların ve yöntemlerin aranması bu hizmet şekline olan yönelimi artırmıştır (3). Bu gereksinimlerden dolayı evde sağlık hizmetleri, kaynakların daha verimli kullanılması, hastaya bulunduğu yerde hizmet sunulması ve kurumlarca giderek yaygınlaştırılmış olması, hastanın kurumsal bir ortamdan ziyade kendi evinde, toplum içinde sağlık hizmeti alması bakımından önemlidir (4).

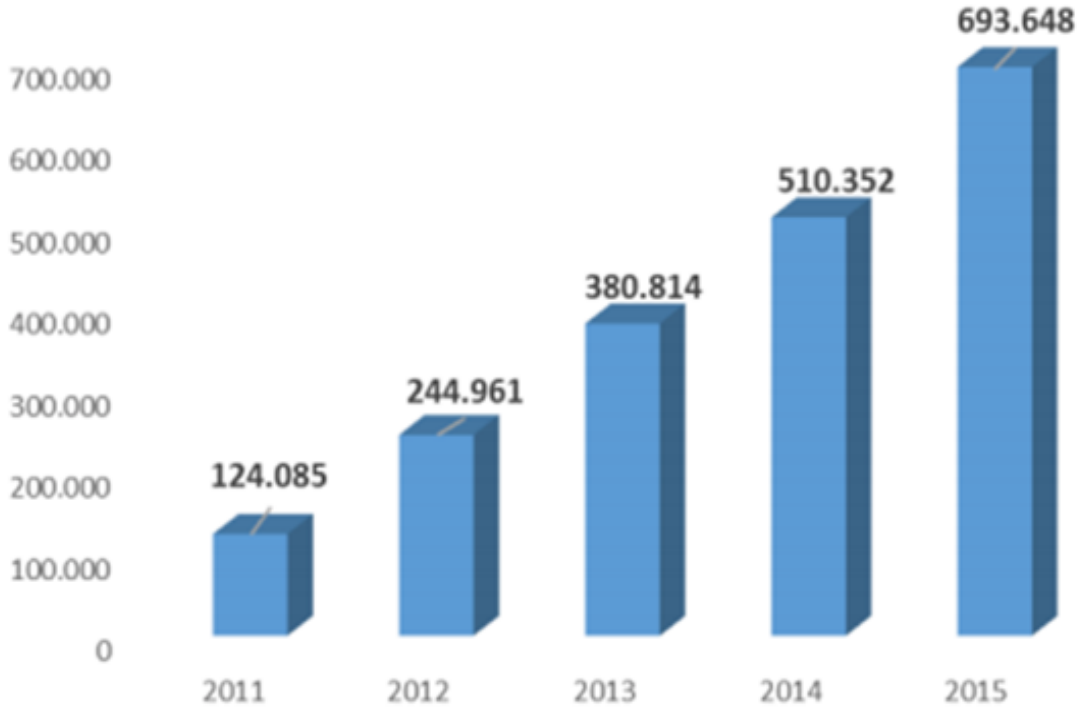
Hastalar ve kurumlar için hizmetin önemimin giderek artması kaçınılmazdır. Woodson (1999), gelecekte evde sağlık hizmetlerini şekillendirecek etmenleri, evde sağlık hizmetlerinden yararlanan hasta sayısının artması, yaşlı nüfusun artması, yaralanan veya sakat genç yetişkinlerin ihtiyaçları, evde sağlık bakımı temelli tedavi seçeneklerinin ve teknolojik gelişmelerin kullanılabilirliğinin artması ve evde bakıma yönelik hasta ve ailesinin isteklerinin artması olarak belirtmiştir (5). Gelecekte

ki durum düşünüldüğünde evde sağlık hizmetlerinin her zamankinden daha fazla dinamik bir tıbbi değerlendirme, izleme ve müdahale gerektireceği ve kurumların planlamalarının da bu durumlara göre şekilleneceği söylenebilir. Türkiye'de de gerek yaşlı nüfusun artması, gerekse ortalama yaşam süresinin artması ve kronik hastalıkların giderek ön plana çıkması ile evde sağlık hizmetlerinin gelecekte ki iş yükünün artacağı öngörülebilir.

Son yıllarda Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) tarafından evde sağlık hizmeti alanında önemli adımlar atılarak ve başarılı uygulamalar yürütülmektedir. Kurumun stratejik planında evde sağlık hizmetlerinin güvenli, etkili ve kaliteli şekilde sunumuna yönelik hedefler belirlenmiş, hizmetin yaygınlaştırılmasına ve ihtiyaç sahiplerine buldukları yerde sağlık hizmeti ulaştırmaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalar neticesinde evde sağlık hizmeti verilen hasta sayısı giderek artmıştır.

Hizmetin yaygınlaştırılması yanında, ayrıca önemli diğer bir husus ise gelişen ve değişen koşulların oluşturduğu bilgi gereksinimlerinin ortaya çıkmasıdır. Bu kapsamda, personele gerekli yeterlilikleri kazandırmak için yapılan eğitimlerin önemi her geçen gün biraz daha artmaktadır. Çalışanların eğitim ihtiyaçlarının karşılanması ve sunulan eğitimin içeriğinin de ihtiyaçları karşılayacak nitelikte olması da oldukça önemlidir.

Evde sağlık hizmetleri, dinamiklik açısından eğitim sürekliliklerinin sağlanması ve hizmet sunumunda görevli kişilere ayrıntılı bir eğitim programı gerektiren bir yapılanma olarak görülebilir. McBride (2011), evde sağlık hizmetlerinde karşılaşılan engellerden birinin hizmet sunucularının eğitimleri konusunda olduğunu belirtmiş ve evde sağlığa yönelik bazı eğitimlerin veriliyor olmasına rağmen, yürütülen hizmetin çeşitliliği ve karmaşıklığı da göz önünde bulundurularak eğitimlerin planlanması gerektiğini vurgulamıştır (7). Bu bağlamda, kişilere verilecek eğitimin içeriği, hem verimliliği ve motivasyonu artıracak, hem de iş görenlerin rahat ve sağlıklı bir şekilde çalışmalarını sağlayacak nitelikte olmalıdır.



Şekil 1. Yıllara Göre Evde Sağlık Hizmetinde Ulaşılan Toplam Hasta Sayısı (6).

Verimin, kalitenin yükseltilmesi, hataların ve kazaların azaltılması, maliyetlerin düşürülmesi amacıyla çalışanlara verilen temel mesleki ve beceri eğitiminin yanında, çalışma hayatı süresince de bilgi, beceri, davranış ve verim düzeyini yükseltici plânlı eğitim etkinlikleri olan hizmet içi eğitimlerin verilmesinin çalışanlar, yöneticiler ve kurumlar açısından birçok artışı olacaktır (8-10).

Çalışanlara yönelik eğitim programı hazırlanmadan önce çalışan kişi için, işin yerine getirilmesinde, bilgi, beceri, tutum ve davranış bakımından duyulan eksikliklerin belirlenmesi planlanacak eğitimler için büyük önem taşımaktadır. Bir veri toplama süreci olan eğitim ihtiyacının belirlenmesi süreci, uygulanacak eğitim programının birim, içerik ve amaçları konusunda karar vermek için gerekli bilgileri sağlamaktadır (11). Eğitim ihtiyaçları konusunda

her düzeyde çalışanların görüşlerini almak, maddi açıdan ve zaman açısından maliyetli olabileceği gibi, eğitim ihtiyacını tespit etmek için daha önce yapılmış iş analizleri ve personel başarı değerlendirme sonuçlarından da yararlanılmaktadır (11).

İhtiyaçların tespiti sonucunda, her ne kadar, kurumlar tarafından çalışanlarına verilecek eğitimler kısa vadede maliyetli olsa da, eğitimler ile sağlanacak faydalar orta ve uzun dönemde kurumların yararına olacaktır (12).

Eğitim ihtiyacının belirlenmesine yönelik bu çalışma ile THSK bünyesinde görev yapmakta olan ve evde sağlık hizmeti sunan personelin, bu hizmeti sunarken ihtiyaç duydukları eğitim konularının tespiti ve bu personele yönelik oluşturulacak eğitim müfredatının hazırlanmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada katılımcıların iş ve işlemlerini yürütürken ihtiyaç duydukları eğitim konularının tespiti amaçlanmıştır. Çalışmada evde sağlık ile ilgili birimlerin görüşleri ve literatür taraması sonucu, bu hizmeti sunan çalışanların, hizmet sunumunda ihtiyaç duyulabilecekleri eğitim konularını içeren bir anket formu geliştirilmiştir. Anket formunda, katılımcılara yedi soru yöneltilmiştir. Form, ilgili personele elektronik posta ile gönderilmiş ve gelen yanıtlar analiz edilmiştir. Çalışmanın evrenini, Ekim 2015 tarihi itibarı ile THSK bünyesinde T tipi evde sağlık hizmet birimi olarak adlandırılan hizmet birimlerinde görev alan uzman hekim, pratisyen hekim, tıbbi sekreter, hemşire, sağlık memuru, acil tıp teknisyeni, sosyal çalışmacı, fizyoterapist, diyetisyen, psikolog ve diğer idari ve yardımcı personel olmak üzere 1581 personel oluşturmaktadır. Çalışma sonucunda 1123 (%71) personel anketi yanıtlamış ve katılımcılardan gelen tüm yanıtlar, hekim ve hekim dışı sağlık personeli olarak iki gruba ayrılarak değerlendirilmiştir.

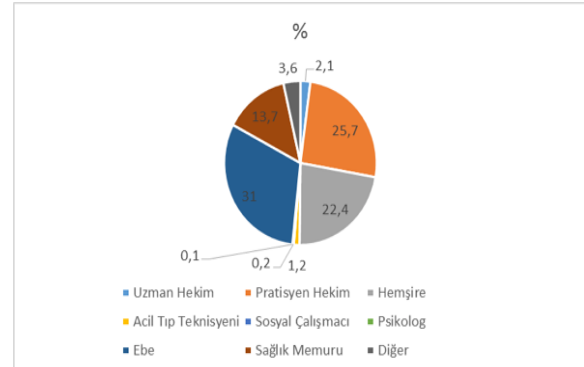
BULGULAR

Çalışmaya, 73 ilden toplam 1123 evde sağlık hizmeti sunumunda görev alan katılımcı dahil olmuştur. Çalışmaya katılımda gönüllülük esas alınmış ve sekiz ilde görev yapan kişilere ulaşamama ve çalışmaya katılmayı reddetme sebebiyle geri bildirim alınamamıştır. Katılımcıların %35,3'ü (396) erkek, %64,7'si (727) kadınlardan oluşmaktadır.

Çalışmaya katılanların, 348' i (%31) ebe, 289'u (%25,7) pratisyen hekim, 252'si (%22,4) hemşire, 154'ü (%13,7) sağlık memuru, 24'ü (%2,1) uzman hekim, 13'ü (%1,2) acil tıp teknisyeni, 2'si (0,2) sosyal çalışmacı, 1'i (%0,1) psikolog olmak üzere 1083 sağlık hizmeti sunan personel ve 40'ı (%3,6) diğer alanlarda görev yapmaktadırlar.

Çalışmada, evde sağlık hizmeti sunumunda görevli olan ve çalışmaya katılan personelin ihtiyaç

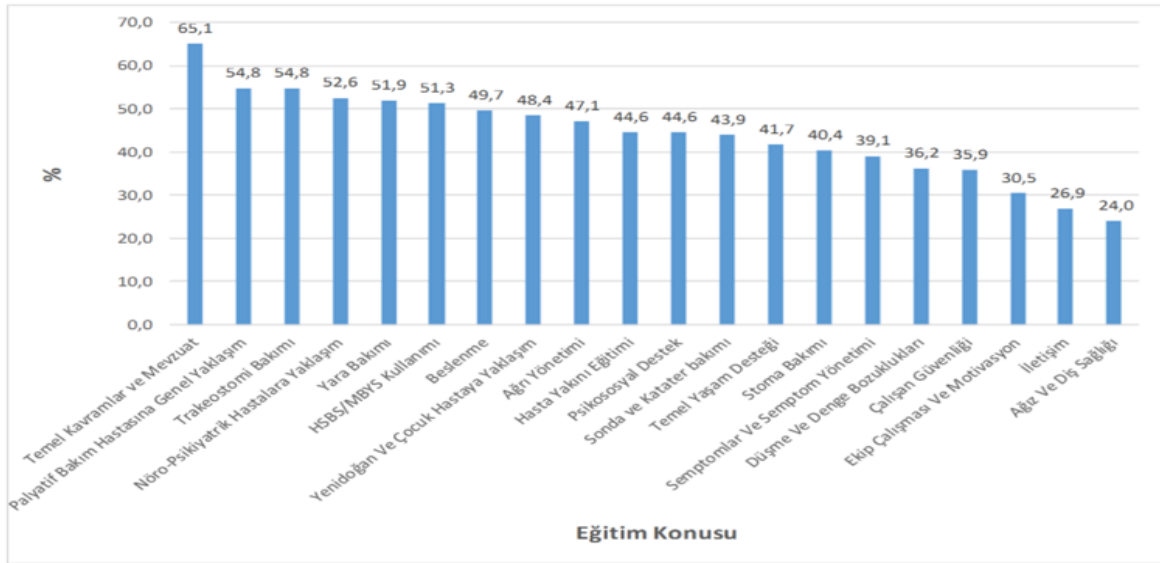
duydukları eğitim konularını belirtmeleri istenmiştir. Talepte bulunulan eğitim konuları hekim ve hekim dışı sağlık personeli (ebe, hemşire, sağlık memuru, ATT) olarak iki gruba ayrılarak değerlendirilmiştir.



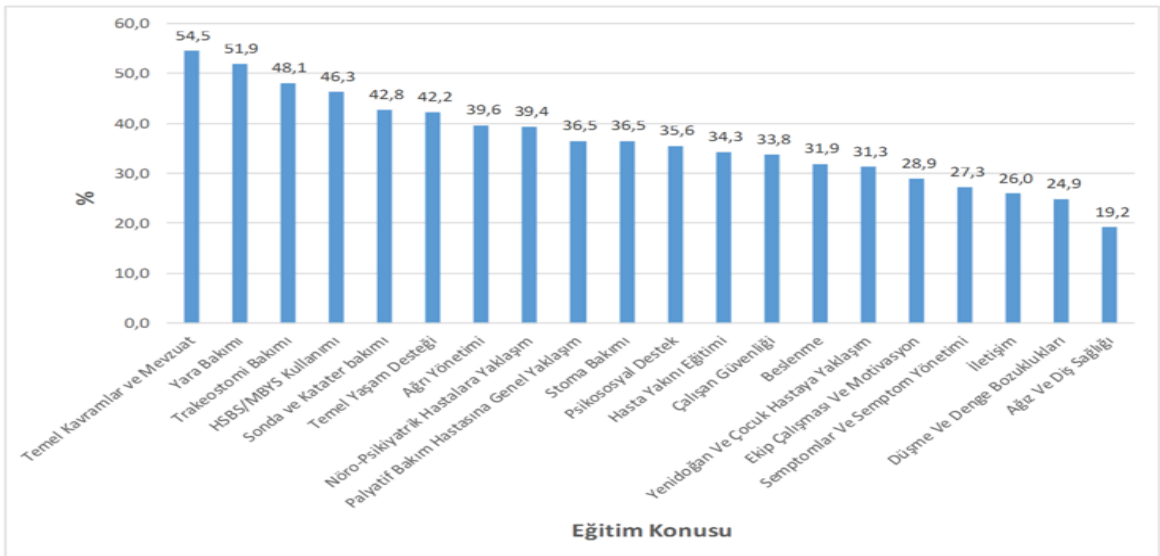
Şekil 2. Çalışmaya katılan çalışanların ünvanlarına göre dağılımı.

Evde sağlık hizmeti sunumunda görev yapan hekimlerin hizmet sunumunda ihtiyaç duydukları eğitim konuları Şekil 3'de verilmiştir. Hekimlerin %65,1'i (203) Temel Kavramlar ve Mevzuat konusunda, %54,8'i (171) Palyatif Bakım Hastasına Genel Yaklaşım, %54,8'i (171) Trakeostomi Bakımı, %52,5'i (164) Nöro-Psikiyatrik Hastalara Yaklaşım konularında sıklıkla eğitim talebinde buldukları görülmüştür. Hekimlerin en az tercih ettikleri eğitimi konuları ise Ağız ve Diş Sağlığı, İletişim, Ekip Çalışması ve Motivasyon ve Çalışan Güvenliği konularında olmuştur.

Evde sağlık hizmeti sunumunda görev yapan, hekim dışı sağlık çalışanlarının evde sağlık hizmeti alanında en çok talepte buldukları eğitim konuları, %54,5'i (418) Temel Kavramlar ve Mevzuat, %51,9'i (398) Yara Bakımı, %48,1'i (369) Trakeostomi Bakımı, %46,3'si (355) HSBS/MBYS Kullanımı olarak bulunmuştur. Ayrıca, hekim dışı sağlık personelinin en az talepte bulunduğu eğitim konuları ise Ağız Diş Sağlığı, Düşme Ve Denge Bozuklukları, İletişim ve Semptomlar Ve Semptom Yönetimi (Bulantı, kusma, kaşıntı, hıçkırık) konularında olmuştur.



Şekil 3. Çalışmaya katılan hekimlerin evde sağlık hizmeti alanında eğitim talepleri dağılımı.



Şekil 4. Çalışmaya katılan hekim dışı sağlık çalışanlarının evde sağlık hizmeti alanında eğitim talepleri dağılımı.

TARTIŞMA

Çalışmada, evde sağlık hizmeti sunan çalışanların eğitim taleplerine bakıldığında, hekimlerin ve hekim dışı sağlık çalışanlarının en çok eğitim almak istedikleri konular birbirleri ile benzerlik göstermektedir. Özellikle Temel kavramlar ve mevzuat, Palyatif Bakım Hastasına Genel Yaklaşım, Yara Bakımı, Halk Sağlığı Bilgi Sistemi (HSBS) ve Muayene Bilgi Yönetim Sistemi

(MBYS) ve Trakeostomi Bakımı konuları her iki grup için de talep önceliği arasında yer almaktadır.

Her iki grubun da öncelik olarak temel kavramlar ve mevzuata yönelik eğitim talep etmeleri, evde sağlık hizmetlerinin yeni bir hizmet sunum şekli olması nedeniyle yasal altyapının hizmet veren ve hasta açısından hangi düzenlemeleri, olanakları ya da sorumlulukları getirdiğinin öğrenilmesi amaçlı

olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda öncelik olarak ifade edilen temel kavramlar, mevzuat konusunda ki eğitim gerekliliği bulgusu, İzmir ilinde 71 evde bakım hemşiresi ile yapılan bir çalışmada da hemşirelerin eğitim almak istedikleri konulardan “evde bakımda hastalık yönetimi” ve “görev tanımları ve sorumlulukları” olarak en çok talep edilen konular ile benzerlik göstermektedir (13).

Hekim ve hekim dışı sağlık personelinin eğitim önceliklerinden biri de HSBS ve MBYS konularında olmuştur. Sağlık Bakanlığı'nca hastaya yapılan işlemlerin girişi ve takibi için oluşturulan bu sistemlerin yeni oluşturulan sistemler olması ve diğer evde sağlık hizmeti sunan birimler ile entegrasyonu konusunda personelce yeterince kullanım bilgisine sahip olamaması nedeniyle eğitim ihtiyacı olarak belirtilmiş olduğu düşünülmüştür.

Öncelikli olarak, talep edilen diğer eğitim konuları olan, Palyatif Bakım Hastasına Genel Yaklaşım, Yara Bakımı ve Trakeostomi Bakımı ise, bu hizmetlerin daha çok 2. ve 3. basamak sağlık kuruluşlarında verilmesi, komplikasyon gelişme risklerinin bulunması ve yatağa bağımlı hastalar olmaları ve birinci basamak hizmetinin çoğunlukla ayaktan hastalara verilen hizmetler olması nedeniyle, bu konuların eğitim ihtiyacı olarak ortaya çıktığı değerlendirilmiştir.

Evde sağlık hizmetleri çoğunlukla ikinci veya üçüncü basamak sağlık kurumlarında tedavi gören hastaların, hastanedeki tedavileri sonrasında ihtiyaç duyduğu sağlık hizmetine yöneliktir. Bu hizmetlerin çoğunluğunun, ameliyat sonrası sağlık hizmeti ihtiyacı olanlar, ortopedi ve travmatoloji hastaları, onkoloji hastaları, kalp damar ve tansiyon hastaları ve felçli hastaların oluşturduğu düşünülürse ve bu hizmetlerin hastane hizmetlerinden farklılık göstermesi nedeniyle, bu hizmeti sunacak sağlık personelinin diğer sağlık personeline kıyasla, evde bakım hizmetleri ve uygulamaları konusunda daha özel ve sürekli hizmet içi eğitim alması gereklidir (14, 15).

Katılımcı personelin ifade etmiş olduğu bir diğer eğitim ağrı yönetimi konusundadır. Ağrı, hastayı sağlık

hizmeti almaya yönelten en önemli semptomların başında gelmektedir. Ağrının kontrol altına alınmaması bireyin fizyolojik ve psikolojik yaşantısını olumsuz etkilemektedir. Yılmaz, (2013) günümüzde sağlık bakımında ki gelişmelere rağmen hala ağrı yönetimi konusunda yeterli düzeye ulaşamadığı ifade etmiş ve hemşirelerin bu konuda eğitim eksiklerinin olduğunu bunun giderilmesi ve ağrı yönetim kılavuzlarının hazırlanması gerektiğini vurgulamıştır (16). Sağlık personeline yönelik yapılan bir diğer çalışmada, uzun dönem bakımda ağrı yönetimine ilişkin eğitimin önemi vurgulanmış ve sağlık personelinin ağrı yönetimi konusunda eğitim ihtiyacı tespit edilmiştir (17).

Çalışmamızda, katılımcı personelin en az talepte bulunduğu eğitim konusu ise ağız ve diş sağlığı konusunda olmuştur. Evde sağlık hizmetlerinde ağız ve diş sağlığı hizmetleri Türkiye Kamu Hastaneleri Kurumu bünyesinde olan ağız ve diş sağlığı merkezlerinde oluşturulan D tipi evde sağlık hizmet birimlerince sağlanması ve çalışmaya katılan personelin çoğunlukla sunduğu hizmetler kapsamında ağız diş sağlığı hizmetlerinin olmaması nedeniyle tercih edilmediği düşünülmektedir.

Ayrıca, katılımcıların iletişim, ekip çalışması, motivasyon, çalışan güvenliği, gibi konularda eğitim talebinin düşük olması ise Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun bu konularda halihazırda hizmet içi eğitimler ile süregelen eğitim faaliyetlerinin olması sebebiyle personelin eğitim ihtiyacının karşılandığı söylenebilir.

Tüm alternatif hizmetler gibi evde sağlık hizmetleri uygulamasında da bazı sorunlarla karşılaşılmaktadır. Evde sağlık hizmetlerinin gelişmekte olan bir hizmet sunum şekli olması bazı riskleri de beraberinde getirmektedir. Bu hizmetlerin sunumu, detaylı bir eğitim programı ve ciddi bir kontrol mekanizması gerektirmektedir (18, 19). Çalışmamızda bu hizmeti sunan personelin talep ettiği konu başlıklarının tamamı göz önüne alındığında eğitim ihtiyacının giderilmesi, dolayısıyla hizmet kalitesinin artırılması için iyi bir planlama kaçınılmazdır.

Kaliteli hizmet sunumunun unsurlarından olan, hizmet sunan kişilerin tutum, bilgi ve becerisi, evde sağlık hizmetlerinde de temel teşkil etmekte ve hizmetten yararlananlar için kaliteli hizmetin önemli bir yönü olarak görülmektedir (20). Evde sağlık hizmetlerinden yararlanan hastaların sunulan hizmetten memnuniyetinde, hizmet veren kişilerin eğitimi ve tecrübesi de belirleyicidir (1).

Evde sağlık hizmeti sunumunda hizmet sunucularının daha verimli çalışabilmeleri için, işin her türlü gerekliliklerinin yerine getirilmesi gerektiği

gibi her bir çalışanın eğitim gereksinimlerinin de belirlenmesi ve eğitilmeleri birincil öncelik olmalıdır. Çalışanların sundukları hizmet ile ilgili bilgi ve beceri yönünden donanımlı olmaları yaptıkları işi kolaylaştıracağı gibi motivasyonları da arttıracaktır. Eğitim ihtiyaçlarının belirlenmesine yönelik olan bu çalışmanın sınırlılığı olarak ise, katılımcı kişilerin daha önce evde sağlık hizmeti konularına ilişkin eğitim alıp almadıklarının değerlendirilmemesidir, bu durumun tespiti de planlanacak eğitimler konusunda önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Işık O, Kandemir A, Erişen M. A, Fidan C. Evde sağlık hizmeti alan hastaların profili ve sunulan hizmetin değerlendirilmesi. Hacettepe Sağlık İdaresi Dergisi, 2016; 19(2): 171-86.
2. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150227-14.htm> (Erişim tarihi: 07.09.2016).
3. Oğlak S. Uzun süreli evde bakım hizmetleri ve bakım sigortası. Türk J Geriatr, 2007; 10(2): 100-8.
4. Kneepnews MD. The relationship between clinical outcomes and patient satisfaction in home health care, In partial fulfillment of the requirement for the degree doctor of philosophy, Brandeis University, 2001.
5. Woodson CE, Feinglass J, Slavensky R. Physicians' capability in home health practise: Home Health Nurses' Perception, Home Health Care Quarterly, 1999; 17(4): 25-37.
6. http://www.thsk.gov.tr/dosya/birimler/strateji_db/dokumanlar/faaliyet_raporu/THSK_2015_Faaliyet_Raporu.pdf (Erişim tarihi: 03.04.2016).
7. McBride SE, Beer J, Mitzner TL, Rogers WA. Challenges for Home Health Care Providers: A Needs Assessment, Physical & Occupational Therapy in Geriatrics. 2011; 29(1):5-22.
8. Öztürk M, Sancak S. Hizmet içi eğitim uygulamalarının çalışma hayatına etkileri. Journal of Yaşar University, 2007; 2(7): 761-7-94.
9. http://dhgm.meb.gov.tr/yayimler/dergiler/Milli_Egitim_Dergisi/147/aytac.htm (Erişim tarihi: 20.10.2015).
10. <http://www.mevzuatdergisi.com/2010/12a/02.htm>. (Erişim tarihi: 04.04.2016).
11. Can H, Ahmet A, Şahin K. Kamu ve Özel Kesimde Personel Yönetimi. Siyasal Kitapevi, Ankara, 1998.
12. Gospel H. The revival of apprenticeship training in Britain. Brit J Ind Relat, 1998; 36(3): 450.
13. Yurtsever N. İzmir'de çalışan evde bakım hemşirelerinin iş doyumu ve tükenmişlik düzeylerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
14. Karadağ M. Türk Silahlı Kuvvetlerinde görevli hekim öğretim üyelerinin evde bakım hizmetleri konusundaki görüşleri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, 2006.
15. Subaşı N. Ankara İli Çankaya ilçesinde evde bakım durumu araştırması. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
16. Yılmaz F, Atay S. Hemşirelik öğrencilerinin klinik ağrı yönetimi. Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi, 2014; 32-41.
17. Y. Tousignant-Laflamme, M Tousignant, D Lussier, et al. Educational needs of health care providers working in long-term care facilities with regard to pain management. Pain Res Manage, 2012; 17(5): 341-6.
18. Karabağ H. Evde sağlık bakım hizmetlerinin Türkiye'de uygulanabilirliğine ilişkin hekimlerin görüşleri ve kardiyoloji hastaları için hastane destekli evde bakım hizmetleri model önerisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, 2007.
19. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42343/1/WHO_TRS_898.pdf (Erişim tarihi: 07.03.2016).
20. Francis J, Netten A. Raising the quality of home care: A Study of service users' views. Soc Policy Admin, 2004; 34(3): 290-305.

Piyojenik karaciğer apsesi: olgu sunumu

Pyogenic liver abscess: case report

Duygu MERT¹, Muret ERSÖZ-ARAT¹, Öznur GÜNEŞ¹, Mustafa ERTEK¹

ÖZET

Piyojenik karaciğer apsesi (PKA) nadir görülen, drenaj ve uygun antibiyotik tedavisi ile mortalitesi azalan bir hastalıktır. Altmış yaşında erkek hasta yaklaşık iki ay önce sağ üst kadranda ağrı, ateş, halsizlik ve iştahsızlık nedeniyle genel cerrahi servisine yatırıldı. Ultrasonografide 10 cm'lik karaciğer apsesi ile uyumlu bir kitle saptandı. Perkütan kateter ile abse drene edildi. Hasta iki hafta genel cerrahi servisinde yattıktan sonra genel durumunun düzelmesi üzerine taburcu edildi. Fakat sağ üst kadranda ağrı, ateş, halsizlik ve iştahsızlık nedeniyle enfeksiyon hastalıkları servisine yatırıldı. Hastanın fizik muayenesinde batın sağ üst kadranda hassasiyet mevcuttu. Sağ hipokondriumda da perkütan drenaj kateteri bulunmaktaydı. Antibiyotik tedavisine başlandı. Görüntüleme tetkiklerinde karaciğerde multiloküler apse olması nedeniyle hastaya 2. Peruktan kateter dreni takıldı. Klinik ve laboratuvar bulguları düzelen hasta oral antibiyotik tedavisi ile taburcu edildi. Bu olguda piyojenik karaciğer apselerine genel yaklaşım ve tedavi seçenekleri incelendi.

Anahtar Kelimeler : Piyojenik karaciğer apsesi, antibiyotik tedavisi, perkütan drenaj

ABSTRACT

Pyogenic liver abscess (PKA) is a rare disease, which mortality could decrease with drainage and appropriate antibiotic therapy. A sixty year-old male patient was admitted to general surgery inpatient unit with findings of fever, anorexia, fatigue and right upper quadrant abdominal pain about two months ago. Ultrasonography revealed a 10 cm mass which is suitable with liver abscess. Abscess was drained by a percutaneous catheter. The patient was discharged from general surgery inpatient unit when his clinical findings improved after two weeks of inpatient follow-up. The patient was admitted to infectious diseases inpatient unit with findings of fever, malaise, anorexia and right upper quadrant pain. Physical examination of the patient revealed sensitivity in the right upper quadrant of the abdomen. And there was a percutaneous drainage catheter in the right hypochondrium. Antibiotic therapy was started. Second percutaneous drainage catheter was inserted because of the multilocular abscess in the liver imaging. The patient was discharged with oral antibiotic therapy when his clinical and laboratory findings improved. In this case, it was evaluated general approach to pyogenic liver abscess and treatment options.

Key Words: Pyogenic liver abscess, antibiotic therapy, percutaneous drainage

¹Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Duygu MERT

Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği Ankara - Türkiye
Tel : +90 506 648 62 79 E-posta / E-mail : drduygumert@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 24.03.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 16.10.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.67625

Mert D, Ersöz-Arat M, Güneş Ö, Ertek M, Kuşku MA, Midilli K, Kiraz N. Piyojenik karaciğer apsesi: olgu sunumu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 155-160

GİRİŞ

Piyojenik karaciğer absesi (PKA); nadir görülen, görüntüleme yöntemleri ile kolay tanı konulan, drenaj ve uygun antibiyotik tedavisi ile mortalitesi oldukça azalan bir hastalıktır (1, 2). İnsidansı 100.000 de 5-13 olarak bildirilmektedir (3). Beşinci ve altıncı dekatlar da daha sık görülmektedir. En çok karaciğer sağ lobuna yerleşmektedir ve çoğunlukla tekdir (4).

Atrofik gastrit, safra kanal patolojileri, kolon kanseri, divertikülitler ve kriptojenik karaciğer hastalıkları zemininde pyojenik karaciğer absesi gelişebilir (3, 5-8). *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* en sık neden olan mikroorganizmalardır (2, 4, 9, 10). Bulantı, ateş ve sağ hipokondriyal bölgede ağrı en sık görülen klinik bulgulardır.

Piyojenik karaciğer absesinin tanısında kullanılan kontrastlı batın tomografisi (BT) altın standart yöntemdir. Ultrasonografi (USG) yaygın ve kolay olması nedeni ile ilk basamakta tercih edilen görüntüleme yöntemidir (3).

Tedavi; apsenin drenajı ve uygun antibiyotik verilmesidir (3, 11). Genelde ampirik tedavide ampisilin-sulbaktam/ikinci kuşak sefalosporin ile aminoglikozit ve/veya metranidazolden oluşan kombinasyonlar tercih edilmektedir (1, 2, 9).

Bu yazıda karaciğer absesi tanısı ile yatırılan bir olgu sunulmuştur.

OLGU

A Altmış yaşında erkek hasta yaklaşık iki ay önce sağ üst kadranda ağrı, ateş, halsizlik ve iştahsızlık nedeniyle başvurduğu Genel Cerrahi Polikliniği'nden istenen kontrastlı batın tomografisinde karaciğerde sol lobu tamamen kaplayan, segment 4, 5, 8'e uzanım gösteren, süperior kesiminde diyafragma doğru egzofitik uzanım gösteren, sağ ventrikülü ve sağ atriumu hafif basılayan, ana portal veni ve portal ven sağ anterior dalını basılayan, tüm

fazlarda periferik kontrast madde tutulumu gösteren, santrali nekrotik görünümde 188x106x104 mm boyutlarında periferik tarzda kontrast madde tutulumu gösteren lobüle konturlu kitle lezyonu izlenmiştir. Hasta karaciğerde kitle ön tanısı ile Genel Cerrahi Kliniği'ne yatırılmıştır.

Laboratuvar parametrelerinde; lökosit sayısı: 18.860 / mm³ (%86,1 parçalı), hemoglobin: 7,1 g/dl, hematokrit: %23, aspartat aminotransferaz (AST): 20 U/L, alanin aminotransferaz (ALT): 19 U/L, olarak saptanmış. Hastaya kontrol amaçlı özofago-gastro-duodenoskopi ve sigmoidoskopi-kolonoskopi yapılmış, normal olarak değerlendirilmiştir. Kitleden biyopsi almak için yapılan USG de karaciğerde tariflenen yaklaşık 10 cm lezyonun solid kitle değil, apse ile uyumlu olduğu görülmüştür. Hastaya operasyon düşünülmüş ancak yapılan görüntüleme tetkikleri ve karaciğer iğne biyopsisinin patolojik incelemesinde nekrotik doku tespit edilmesi üzerine karaciğerde apse tanısı ile hastaya perkütan drenaj kateteri uygulanmıştır.

Akse materyalinden yapılan aerop kültürde *E. coli* üremesi saptanırken anaerop kültürde üreme saptanmamıştır. Üreyen etken, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde 3. kuşak sefalosporinler, flurokinolonlar ve karbapenemlere duyarlı bulunmuştur. Hastaya ampirik tedavi olarak seftriakson 2x1 g, metranidazol 4x500 mg dozunda intravenöz (İV) olarak başlanmıştır. Hasta iki hafta genel cerrahi servisinde yattıktan sonra genel durumunun düzelmesi üzerine kontrole gelmek üzere taburcu edilmiştir. Taburcu olduktan üç hafta sonra evinde ateşinin olması nedeniyle polikliniğimize yönlendirilmiştir.

Hasta karaciğer absesi tanısı ile servisimize yatırıldı. Üşüme-titremler ile yükselen ateş, halsizlik ve iştahsızlık yakınması olan hastanın fizik muayenesinde ateş, batın sağ üst kadranda

hassasiyet, sağ hipokondriyumda drenaj kateteri mevcuttu. Diğer fizik muayene bulguları normaldi.

Laboratuvar parametrelerinde; lökosit sayısı: 14.600 /mm³ (%83,2 parçalı), hemoglobin:7,9 g/dl, hematokrit: %24,8, eritrosit sedimentasyon hızı: 94 mm/saat, AST:14 U/L, ALT: 10 U/L, C-reaktif protein: 171,4 mg/L, brucella tüp aglütinasyon testi negatif, kist hidatik (indirekt hemaglütinasyon) 1/80 olarak saptandı. Üst batın USG de karaciğer sağ lob anterior segment 8 ve 5'de, kaudat lob, sol lob medial segmente uzanımlı yaklaşık 10,5x8 cm'lik, ekojen organize görünümlü yer yer düzensiz kontürlü lezyon görüldü.

Hastaya ampirik olarak sefoperazon- sulbaktam 3x1 g metranidazol 4x500 mg dozunda intravenöz olarak başlandı. Hastanın ateşi olması nedeniyle üç set kan kültürü alındı. Hastanın yatışının 3.günü ateşinin devam etmesi üzerine mevcut tedavisi kesilerek meropenem 3x1 gr İV. tedavisine geçildi. Yatışının 5. günü ateşi olması nedeniyle tedavisine vankomisin 2x1 gr İV eklendi. Drenden yapılan aerop kültürde *Achromabacter xylosoxidans* ve kan kültüründe *Enterococcus faecalis* üredi. A. xylosoxidans, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde 3. ve 4. kuşak sefalosporinler, flurokinolonlar ve karbapenemlere duyarlı, aminoglikozitlere dirençliydi. E. faecalis ise aminopenisilinler, flurokinolonlar ve glikopeptitlere duyarlıydı.

Tedavisi meropenem 3x1 g İV ve vankomisin 2x1 g İV olarak devam etti. Ateşi düşen hastanın dreninden 50 cc. kadar geleni vardı. İki gün sonra tekrar ateşi olan hastanın tedavisine metranidazol 4x500 mg İV eklendi. Hastanın çekilen kontrol batın USG de karaciğer normal boyutlarda olup parankimi belirgin heterojendi, sağ lob anterior segment, sol lob ve kaudat lob belirgin heterojen, kaba granüler görünümde olup bu seviyelerde yama tarzı alanlar ve konglomere sahalar izlendi. Drene apse loju yaklaşık 115x85 mm çapında izlendi, solidifiye,

hipoekoik natürde, sıvı içeriği saptanmadı. Kontrol dinamik batın BT de karaciğer sol lob hipertrofikti. Karaciğer sol lobu dolduran, sağ lob anterior segmente uzanan, düzensiz konturlu, antero-süperiora diyafragma ve sağ ventrikül komşuluğuna parakardiyak alana uzanan, tüm fazlarda heterojen, periferel, düzensiz kontrastlanan santralde sıvı dansitesinde, ana ve sağ portal venleri basılayan, karaciğer hilus düzeyinde koledoku basılayan, kitle lezyonu izlendi. Batın BT ve USG sonucu ile Genel Cerrahi ve Girişimsel Radyoloji Klinikleri ile konsülte edildi. Karaciğerde bulunan multiloküler apseye bağlı drenajın yetersiz olması ve tedaviye cevabın uzaması nedeniyle yatışının 8. gününde hastaya 2. perkütan kateter dreni takıldı. Mevcut tedavisi devam eden hastanın ateşi düştü. 1. dreninden 50 cc, 2. dreninden 400 cc. hemorajik vasıfta geleni vardı. Hasta yatışının 10. gününde Genel Cerrahi Kliniği' ne devredildi. 19 gün daha yatarak tedavisi devam etti. Taburculuğundan bir gün önce drenleri çekildi. Son çekilen batın USG'de karaciğer uzun aksı 186 mm olup, normalden büyüktü. Parankimi homojendi. Karaciğer segment 4-5 düzeyinde yaklaşık 174 x103 mm boyutlarında, düzensiz kistik alanlar içeren izo-hafif hiperekoik heterojen iç yapılı solid lezyon izlendi. Kontrol lökosit sayısı: 6860 /mm³ (%67,4 parçalı), AST: 16 U/L, ALT: 4 U/L, C- reaktif protein: 16 mg/L saptanan hasta oral antibiyotik tedavisi ile poliklinik kontrolüne gelmek üzere taburcu edildi.

TARTIŞMA

Piyojenik karaciğer apsesi nadir görülür ve mortalitesi yüksektir (3). Son yıllarda yoğun bakım hizmetlerinin kalitesinin artması, görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artması nedeniyle mortalitesi %6-31'e gerilemiştir (1, 2).

50-60 yaş arasındaki erkeklerde sık görülür. Alkolizm, diabetes mellitus, malignensi, immün

yetmezlik ve karaciğer transplantasyonu yatkınlık oluşturan etkenlerdir (2). Atrofik gastrit, safra kanal patolojileri, kolon kanseri, divertikülitler ve kriptojenik karaciğer hastalıkları zemininde piyojenik karaciğer absesi gelişebilir (1, 3, 5). Altmış yaşındaki hastamızda altta yatan hastalık yoktu.

En sık görülen klinik bulgular bulantı, ateş ve sağ hipokondriyal bölgede ağrıdır. Olguların çoğunda laboratuvar tetkiklerinde kan da lökositoz, sola kayma ve transaminaz yüksekliği görülür (2, 12). Kliniğimize yatırılan olguda ateş ve sağ hipokondriyal bölgede ağrı vardı.

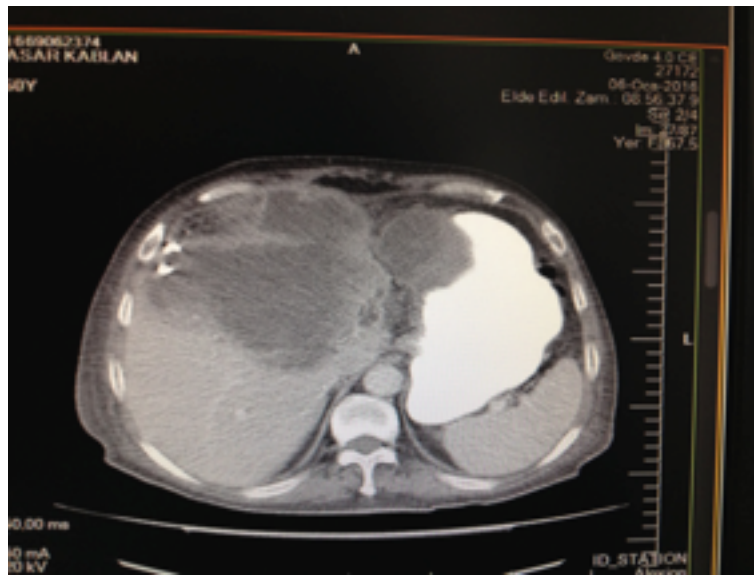
Piyojenik karaciğer apselerinde en sık etken olarak saptanan mikroorganizmalar, E. coli ve K. pneumoniae olmak üzere, Proteus, streptokoklar ve enterekok türleri de etken olarak saptanabilir (2, 4, 9). Olgumuzda apse materyalinden yapılan aerop kültürde E. coli ve A. xylosoxidans üremesi saptandı, anaerop kültürde üreme olmadı.

Piyojenik karaciğer apseli hastalarda kan kültüründe %40-60 oranında etken üremektedir (4). Olgumuzun kan kültüründe E. faecalis üredi.

PKA tanısında kullanılan kontrastlı batın tomografisi (BT) altın standart yöntemdir. Ultrasonografi (USG) ise yaygın ve kolay olması nedeniyle ilk basamakta en sık kullanılan görüntüleme yöntemidir (3). Ultrasonografi (duyarlılığı, %80-90) düzensiz şekilli ve sınırlı hipoekoik kitleleri ortaya koymakta ancak iç septasyon ve boşlukları debris olarak saptayabilmektedir (13).

PKA genelde tek ve sağ loba lokalizedir (4). Olgumuzda batın USG ve kontrastlı batın BT de sol loba lokalize yaklaşık 10 cm çapında apse görünümü saptandı.

PKA'nin etkin tedavisi, apse drenajı ve uygun antibiyotik kullanımınıdır (3, 11). Ampirik tedavi, altta yatan hastalığa ve apsenin kaynağına göre seçilmelidir (1, 2, 9). Tedavi süresi ortalama dört haftadır. Tedavinin ilk iki haftasında antibiyotikler intravenöz, sonrasında oral yolla verilmelidir (1, 2). Olgumuzda apse kültürü ve kan kültürleri alındıktan sonra ampirik olarak sefoperazon-sulbaktam ve metranidazol tedavisi ile başlanmış olup sonrasında meropenem, vankomisin ve metranidazol tedavisi ile devam edilmiştir.



Resim 1.

PKA'de yapılan girişimsel işlemler; cerrahi ve cerrahi dışı yöntemlerdir. Cerrahi olmayan yöntemler; perkütan iğne aspirasyonu ve perkütan kateter drenajıdır. Cerrahi yöntemler ise laparoskopik veya açık drenajdır. Perkütan drenaj hafif sedasyon ve lokal anestezi ile yapılır. Özellikle sağ lobda yerleşen, büyük, tek ve drenaja uygun apselerde kullanılır. Ayrıca fizyolojik ve ciddi hemodinamik değişikliklere neden olmaması en önemli avantajıdır. Bu sebeple uygun olgularda, görüntüleme eşliğinde perkütan drenaj öncelikle tercih edilmelidir (3, 11).

Cerrahi drenaj ise multiloküler apselerde ve komplike biliyer patolojilerle beraber olan büyük karaciğer apselerinde tercih edilir (11). Olgumuzda karaciğer apsesi sol lopta ve büyük olması nedeniyle perkütan kateter drenajı uygulandı. Karaciğerdeki multiloküler apseye bağlı drenajın yetersiz olması ve tedaviye cevabın uzaması nedeniyle hastaya

ikinci perkütan kateter dreni takıldı. Tedavi ile drenaj sıvısı azaldı. Kontrol batın USG de apse görünümü kayboldu. Klinik ve laboratuvar bulguları düzelen hastanın drenaj kateteri çekilerek tedavisi oral olarak düzenlendi. Hasta poliklinik kontrolüne gelmek üzere taburcu edildi.

Bu olguda piyojenik karaciğer apselerinde genel yaklaşım ve tedavi seçenekleri incelenmiştir.

Kontrastlı batın BT de karaciğer de sol lobu tamamen kaplayan, segment 4, 5, 8'e uzanım gösteren, süperior kesiminde diyafragma doğru egzofitik uzanım gösteren, sağ ventrikül ve sağ atriumu hafif basılayan, ana portal veni ve portal ven sağ anterior dalını basılayan, tüm fazlarda periferik kontrast madde tutulumu gösteren, santrali nekrotik görünümde 188x106x104 mm boyutlarında periferik tarzda kontrast madde tutulumu gösteren lobüle konturlu kitle lezyonu.

KAYNAKLAR

1. Wong WM, Wong BC, Hui CK, et al. Pyogenic liver abscess: retrospective analysis of 80 cases over a 10 year period. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002; 17(9): 1001-7.
2. Chan KS, Chen CM, Cheng KC, Hou CC, Lin HY, Yu WL: Pyogenic liver abscess: a retrospective analysis of 107 patients during a 3-year period. *Jpn Infect Dis*, 2005; 58(6): 366-8.
3. Cigarran S, Neches C, Lamas JM, Garcia-Trio G, Alonso M, Saavedra J. A case report of a pyogenic liver abscess caused by *Fusobacterium nucleatum* in a patient with autosomal dominant polycystic kidney disease undergoing hemodialysis. *Ther Apher Dial*, 2008; 12(1): 91-5.
4. Ural O. Batın içi infeksiyonlar. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, ed. *Anaerob Bakteri İnfeksiyonları'nda*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005; 57-66.
5. Mohsen AH, Green ST, Read RC, McKendrick MW. Liver abscess in adults: ten years experience in a UK centre. *QJM*, 2002; 95(12): 797-802.
6. Rockey DC. Hepatobiliary infections. *Curr Opin Gastroenterol*, 2001; 17: 257-61.
7. Koo HC, Kim YS, Kim SG, Tae JW, Ko BM, Lee TI, et al. Should colonoscopy be performed in patients with cryptogenic liver abscess? *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2013; 37(1): 86-92.
8. Lai HC, Lin CC, Cheng KS, Ko JT, Chou JW, Peng CY, et al. Increased incidence of gastrointestinal cancers among patients with pyogenic liver abscess: a population-based cohort study. *Gastroenterology*, 2014; 146(1): 129-37.
9. Chen SC, Wu WY, Yen CH, Lai KC, Cheng KS, Jeng LB, et al. Comparison of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses. *Am J Med Sci*, 2007; 334(2): 97-105

10. Huang WK, Chang JW, See LC, Tu HT, Chen JS, Liaw CC, et al. Higher rate of colorectal cancer among patients with pyogenic liver abscess with *Klebsiella pneumoniae* than those without; an 11-year follow-up study. *Colorectal Dis*, 2012; 14(12): e794-80.
11. Chung YF, Tan YM, Lui HF, Tay KH, Lo RH, Kurup A, et al. Management of pyogenic liver abscesses-percutaneous or open drainage? *Singapore Med J*, 2007; 48(12): 1158-65.
12. Giorgio A, De Stephano G, Di Sarno A, Liorre G, Ferraioli G. Percutaneous needle aspiration of multiple pyogenic abscess of the liver: 13-year single center experience. *Am J Roentgenol*, 2006; 187(6): 1585-90.
13. Fontanilla T, Noblejas A, Cortes C, Minaya J, Mendez S, Van den Brule E, et al. Contrast-enhanced ultrasound of liver lesions related to arterial thrombosis in adult liver transplantation. *J Clin Ultrasound*, 2013; 41(8): 493-500.

Nitrik oksitin kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri

The effects of nitric oxide on cancer development and metastasis

Mehmet Kürşat DERİCİ¹, Emine DEMİREL-YILMAZ²

ÖZET

Nitrik oksit (NO), birçok hücre içi ya da hücreler arası uyarı yolağında görev alan benzersiz bir moleküldür. Farklı kanser hücrelerinde ve dokularında saptanan değişik NO düzeylerinin, farklı düzenleyici etkiler ortaya koyduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Yapısal olarak üretilen NO, kanser hücresi fenotipinin ortaya konmasında önemli rol üstlenmektedir. Bu; kanserin çevre dokulara penetre olmasını, uzak bölgelere yayılmasını ve gelişimi için gerekli olan kaynaklara ulaşabilmesi sağlayacak, en yüksek kan akımını alacağı damarlanma işlevini; kapsamaktadır. Genel olarak, dokuda düşük derişimlerde sentezlenen NO'nin etkileri pro-kanseröz olarak değerlendirilebilir. Çok yüksek derişimlerde ise NO, apoptozu, nekrozu uyararak veya anjiyogenezini inhibe ederek, güçlü bir anti-kanser madde olarak görev yapmaktadır. Öte yandan, NO düzeylerindeki artışın, metastaz basamakları üzerine olan etkileri sebebiyle kanserin farklı lokalizasyonlarda büyümesini ve ilerleyişini arttırabildiği ortaya konmuştur. Metastazda NO'nin oynadığı rol, hücre tipi, NO derişimi, katılan organlar veya NO'nin kanseral sürece katıldığı dönem gibi, farklı faktörlerden etkilenmektedir. NO'nin bu çok yönlü ve farklı etkileri, kanserin büyümesini yavaşlatmak ve kemoterapi/radyoterapi etkinliğini arttırmak amacıyla, kanserin birçok prelinik modellerinde kullanılmaktadır. Bu yaklaşımlar yeni anti-kanser stratejileri olarak ön görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, tümör, metastaz

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is unique molecule involved in many intracellular or intercellular signaling pathways and its importance varies from cell to cell. It is demonstrated that heterogeneous regulating responses to various NO levels have been observed in in different types of tumors. Constitutively expressed NO plays an important role in drawing up the phenotype of tumor cells. The roles of NO in tumor growth cover the tumor penetration into the surrounding tissues to spread to remote areas and the development of the neovascularization to obtain the highest blood flow for the necessary resources. Generally, effects of NO at low concentrations considered as pro-tumoral. In very high concentrations of NO, it serves as a potent anti-tumor agent by inhibiting angiogenesis or inducing apoptosis and/or necrosis. While NOS activation is expected to show anti-tumor effect, it has been demonstrated that NO may increase the progression and propagation of cancer due to the effects on metastasis process. The effect of NO on metastasis is affected by different factors such as cell type, dose, the types of participating organs or the period in which NO involved in the tumor development. These different characteristic effects of NO expression are used therapeutically in many preclinical models of cancer in order to increase the inhibition of tumor growth and chemotherapy/radiotherapy efficiency. These approaches are envisaged as new anticancer strategies.

Key Words: Nitric oxide, neoplasms, metastasis

¹Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Çorum
²Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Mehmet Kürşat DERİCİ

Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Çorum - Türkiye
Tel : +90 532 348 07 67 E-posta / E-mail : mkursatderici@hitit.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 17.11.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.00378

Derici MK, Demirel-Yılmaz E. Nitrik oksitin kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri.
Türk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 161-174

GİRİŞ

Nitrik oksit (NO)'in kanser hücrelerine sitotoksik ve sitostatik etkileri ile ilgili farklı bulgular vardır. Kanser biyolojisinde bulunan hücre proliferasyonu, apoptozis, hücre migrasyonu, invazyonu, anjiyogenezis gibi birçok farklı biyolojik yolda NO'nin etkileri araştırılmakta olup prokanserojen ya da antikanserojen olduğunu iddia eden çalışmalar bulunmaktadır.

NO son yıllarda tanınan ve düz kas gevşemesi, trombosit agregasyonu ve nöronal uyarı iletimi gibi birçok biyolojik olayda önemli rolü olduğu kanıtlanan, çok kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir. NO, L-argininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'ın nöronal (nNOS: NOS-1,) uyarılabilir (iNOS: NOS-2) ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS: NOS3) olmak üzere, farklı üç izoformu tesbit edilmiştir (1). Farklı NOS tipleri, farklı birçok hücre tarafından eksprese edilirler. eNOS ve nNOS hücrelerde yapısal olarak bulunur ve kalsiyum/kalmodulin bağımlıdır. Hücre içi serbest kalsiyum iyonu artışı ile aktive olurlar. Kısa süreli olarak ve az miktarda NO üretimine yol açarlar. nNOS temel olarak sinir hücrelerinde bulunur ve nöronal iletimde rol alır (2). Bunun yanı sıra nNOS enziminin iskelet kası, kalp kası ve akciğer epitel hücreleri gibi nöronal olmayan hücrelerde de eksprese edildiği gösterilmiştir (3, 4). İlk kez damar endotelinde varlığı gösterilen eNOS'un; kardiyak miyositlerde ve hipokampal piramidal hücrelerde de bulunduğu ortaya konmuştur (5). iNOS enzimi, diğer tiplerin aksine transkripsiyonel olarak düzenlenir ve aktivasyonu için, hücre içi kalsiyum artışına gereksinim duymaz. Hücreye TNF-alfa, interferon, interleukin-1, endotoksin, hipoksi, okside LDL ve liposakkaritler gibi farklı inflamatuvar ajanların etkisiyle, ekspresyonu uyarılır (6). Makrofajlar, karaciğer kuffer hücreleri, osteoklastlar, mikroglialar, astrositler, epitelyal hücreler ve miyositler gibi çok değişik hücre tiplerinin iNOS eksprese edebildiği gösterilmiştir (7).

Her üç tip enzim tarafından sentezlenen NO, yağda eriyen bir molekül olduğundan kolayca hücre zarlarını geçer ve hedef hücreleri etkiler. NO'nin hedef hücrede cGMP'yi arttırması ilk ortaya konan etki mekanizmasıdır. Daha sonra, cGMP'den bağımsız etkiler de tanımlanmıştır. Günümüzde NO'nin üç farklı kimyasal tepkime aracılığıyla etki gösterdiği kabul edilmektedir.

1) Nitrozilasyon: Hücrede NO'nin bazı proteinlerin metal çekirdeklerine bağlanmasıdır (metal nitrozilasyonu). Birçok proteinin yapısında bulunan demir, bakır, çinko gibi metallerle tepkimeye girerek, onların işlevlerini değiştirebilmektedir (8, 9). İlk ortaya konan etki mekanizması olan cGMP artışı, NO'nin hücrenin suda çözünen bölümünde bulunan "çözünen guanilat siklaz" (soluble guanylate cyclase: sGC) enziminin aktivasyonu sonucudur. Sitokrom C enziminin NO'le inhibisyonu da, enzimin bakır çekirdeğiyle oluşan tepkime sonucudur (10).

cGMP yolağı, NO'nin etkilerini göstermesinde kullandığı ana mekanizma olup bu yolda NO, çözünebilir Guanilat Siklaz (sGC) enziminin "hem" çekirdeğine bağlanarak GTP'den cGMP'nin sentezlenmesine neden olur. Protein kinaz G (PKG), cGMP'ye seçici bir enzimdir ve cGMP'nin ana hedefi konumundadır. 10 cAMP ve cGMP'yi parçalayan fosfodiesteraz (PDE) enzimleri, cGMP'nin önemli hedefleri arasındadır. PDE enzimleri, dizi benzerliğine, cAMP veya cGMP seçiciliğine ve düzenlenme mekanizmalarına göre 11 farklı gen ailesi olarak gruplandırılmıştır. PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 ve PDE11 hem cAMP hem de cGMP'yi hidrolize edebilen seçici olmayan enzimlerdir. PDE4, PDE7 ve PDE8 yalnızca cAMP'yi; PDE5, PDE6 ve PDE9 ise yalnızca cGMP'yi hidrolize edebilen seçici enzimlerdir. cGMP PDE2'yi aktive ederken, PDE3'ü inhibe etmekte ve böylece hücre içi cAMP düzeylerini de etkilemektedir. cGMP, HCN ve CNG kanallarını da uyarabilmektedir (11,12).

Diğer iki yolak “cGMP’den bağımsız yolak olarak adlandırılmaktadır.

2) Nitrozasyon: NO, proteinlerin tiyol gruplarına bağlanarak S-nitrozotiyolleri oluşturmaktadır. Bu tepkime S-nitrozilasyon olarak da adlandırılmıştır.

3) Nitrasyon İle Oksidasyon: Proteinler, lipidler ve alkollere bir nitrozo grubunun bağlanması nitrasyon olarak bilinmektedir. Ortamın oksijen, karbondioksit ve pH düzeyine bağlı olarak; NO ve süperoksit radikalinin arttığı durumlarda, ortaya çıkan tepkimelerdir. Nitrozatif stres olarak adlandırılan bu durumda, peroksinitrit radikali (ONOO-) en çok suçlanan radikaldır (13). NO’in hangi etki mekanizmasını kullanacağı, ortamın redoks dengesine ve NO derişimine bağlıdır. Ortamdaki NO/süperoksit (O_2^-) oranının, oluşacak tepkimeyi belirlediği söylenmektedir (14,15).

Dokuda bulunan NOS enzimlerinin farklı mekanizmalar ile uyarılması sonucu sentezlenen NO’in sentez hızı ve miktarına, dokunun yapısal özelliklerine (16) ya da dokularda bulunan farklı fosfodiesteraz türlerine bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (17). Bunun yanı sıra, nNOS ve eNOS tarafından sentezlenen NO biyolojik işlevini, cGMP bağımlı yolaklar üzerinden gösterirken; iNOS aktivasyonu sonucu ortaya çıkan NO’in daha çok cGMP bağımsız yolaklar aracılığı ile biyolojik ve patolojik etkiler gösterdiği ortaya konulmuştur (18). Yapısal olan nNOS ve eNOS uyarılması ile üretilen NO, kısa süreli ve nanomolar düzeyleri gibi düşük NO derişimleri ile salgılanmaktadır. Uyarının tipine ve süresine bağlı olmakla beraber iNOS tarafından üretilen NO miktarı ise, uzun süreli (saatler, günler) ve yüksek derişimde (normalin 40 katına kadar çıkabilmekte) salgılanmaktadır (19, 20). Enzimlerin aktivasyonlarından kaynaklanan NO’in salınım farklılıkları da etkinlikte fark yaratan önemli bir unsur olarak karşımıza çıkar. NO’in yapısal NOS enzimleri tarafından düzenli atımlar şeklinde üretilmesi ya da iNOS aktivasyonu sonucunda devamlı ve yüksek miktarlarda üretilmesi, NO’in biyolojik haberci ya da

sitotoksik ajan işlevi görmesi arasındaki belirleyicidir. Örneğin iNOS aktivasyonu sonucu üretilen NO’in, aktive edilmiş fare makrofajları üzerinde anti-proliferatif etkili olduğu gösterilmiştir (21). Buna ek olarak iNOS retiküloendotelyal hücrelerin bakteriostatik etkilerinde ve makrofajlar ile T lenfositlerinin immunojenik ve sitotoksik etkilerinde önemli bir rol oynamaktadır (22).

Kanser Hücresi Gelişimindeki NO’in Rolü

Hücrelerde sentezlenen nitrit ve nitratların bakteriyel hücreler ya da kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkileri ilk olarak fare makrofajlarında gösterilmiştir (23, 24). Öte yandan, kanserli dokularda, özellikle santral sinir sisteminin malign kanserlerinde ve mesane kanserlerinde, NOS enziminin büyük oranda eksprese edildiği ve genellikle up-regüle olduğu (örneğin santral sinir sisteminin malign kanserlerinde ve mesane kanserlerinde) birçok çalışmada ortaya konmuştur (25). Buna ek olarak, artmış iNOS ekspresyonu ile mide ve kolorektal kanserlerin yüksek metastaz insidansı ve kötü prognozu arasında, paralel bir ilişki olduğu da iddia edilmektedir. İnsan meme kanserinde NOS ekspresyonunun ve total NOS aktivitesinin yaklaşık beş kat arttığı gösterilmiştir (26). Ancak NO’in hem pro-kanser hem de anti-kanser aktivite gösterebileceği, birçok farklı çalışmaya ait veri ile ortaya çıkmıştır (27).

NOS ekspresyonu ve kanser cevabı arasında doz bağımlı bir ilişkinin bulunmaktadır. NO ile yüksek derişimlerde anti-neoplastik bir etki dikkati çekerken, düşük derişimlerde pro-anjiogenik ve pro-kanseröz etkiler ağır basmaktadır. Yüksek NO düzeylerinin programlı hücre ölümüne (apoptoz) neden olduğu, düşük NO düzeylerinin ise hücreleri apoptozdan koruduğu, iddia edilmektedir (28).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, kanser dokusunda endojen NO düzeyinin normal dokuya oranla yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Kanser NOS enzimlerinin NOS inhibitörleri ile bloke edilmesi ile

kanser büyümesinin gerilediği görülmüş ve bu da biyolojik olarak anti-tümoral aktivite gösteren ilaçlar için bir mekanizma olarak düşünülmüştür. Aksine NO sentezinin aşırı arttığı durumlar ise hücrelerin yüksek oksidatif strese maruz kalmalarına bağlı olarak hücre ölümü yollarının aktive olmasına neden olmaktadır (29).

Tümoral dokudaki NOS ekspresyonuna dair ilk çalışma insan adeno kanser hücre hattında yapılmıştır. Hem primer kanser hem de metastatik kanserde Ca-bağımsız NOS aktivitesi saptanmış ve NOS aktivitesinin inhibisyonu, primer kanserin metastatik potansiyelini, metastatik kanser düzeyine çıkarmıştır. Bu bilgi NO'in kanser progresyonundaki destekleyici etkisinin ilk kanıtı olmuştur (30).

Solid kanserlerin bulunduğu bölgede gelişimi ve büyümesinde en önemli faktör anjiogenez yani yeni damar oluşumudur. Anjiogenezin yeteri kadar bulunmadığı durumlarda solid kanserler sadece pasif difüzyon ile gelişebilirler. Yapılan çalışmalarda, in vivo kanser implantasyonundan sonra, aktif anjiogenez gelişiminin olmadığı durumlarda kanser büyümesinin ancak 2 mm'ye kadar mümkün olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle NO'in doz bağımlı pro-anjiogenik ve anti-anjiogenik etkisi merak uyandırmıştır. Jones ve ark. çalışmalarında NO donörü olan S-nitro-N-acetyl-penicillamine (SNAP) kullanarak yaptıkları çalışmada, düşük SNAP (0,1-0,3 mM) derişimlerinde %46'ya ulaşan anlamlı anjiogenez artışı, yüksek derişimlerde pro-anjiogenik etkinin bozulmaya başladığı ve yüksek SNAP düzeyinde (4 mM) %80 oranda anjiogenezi inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır (31). Bunun yanı sıra Protein Kinaz C (PKC), Ekstraselluler Signal-regulated Protein Kinaz (ERK) ve Aktivator Protein-1 (AP1) gibi protein kinazların yüksek SNAP derişimlerinde inhibe olduğu, düşük derişimlerde ise up-regule olduğu da gösterilmiştir (32). Bu bulgular kanser gelişiminde ve anjiogenezis üzerinde NO'in doz bağımlı etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

A. NO'in Kanser Oluşumunu ve Gelişimini Arttırıcı Etkileri

GNO'in kanser oluşumu ve prognozu üzerine karmaşık bir rolü bulunmaktadır. NO'in kanser gelişimi üzerine etkisi birçok in vivo, in vitro ve ex vivo kanser modellerinde çalışılmıştır. Bu çalışmalarda kanser dokularında NOS ekspresyonunun düzeyinin yüksek olması, NO'in kanser gelişimini destekleyici etkinliği ile ilişkilendirilmiştir. Son yıllarda gerçekleştirilen bir çalışmada iNOS pozitif kanserlerde kansere bağlı ölümlerin, iNOS negatif kanserlere göre daha fazla olduğu görülmüş ve yüksek iNOS ekspresyonunun kanserden ölüm riskini arttırdığı belirlenmiştir (33). Andrade ve ark. oral L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester, seçici olmayan NOS inhibitörü) uygulanması ile fare adenokanseri ve melanom modeli üzerinde çalışmışlar ve NOS'in farmakolojik olarak inhibisyonu ile tümör kan akımının azaldığını göstermişlerdir. Bu azalma L-arginin verilmesi ile geriye çevrilmektedir (34). Kennovin ve ark. eks vivo kanser preparatında yaptıkları araştırmada, kanserli dokuyu besleyen epigastrik arterden L-NMMA (NOS inhibitörü) perfüzyonu ve artan dozlarda fenilefrin (vazokonstriksiyon yapıcı madde) perfüzyonu uygulamışlardır. NOS inhibitörü uygulanan tümoral dokuyu besleyen arterlerde, normal dokuları besleyen arterlere göre daha yüksek internal perfuzat basıncı değerleri ortaya çıkmış ve bu etki 1 mM L-Arginin (NO öncüsü) perfüzyonu ile kontrol değerlerine geri dönmüştür. Kanser dokusunu ya da normal dokuyu besleyen epigastrik arterler arasında fenilefrine karşı verilen arteriyel cevapta görülen bu farklılık, NO tarafından ortaya çıkarılan vazodilatasyonun kaybı olarak yorumlanmıştır (35). Kanser dokusunu besleyen arterlerin farklı cevaplarına neden olan etkinin, kanser dokusundaki artmış iNOS ekspresyonu olduğu konusunda ön bulgular elde etmişlerdir.

Kanser dokusundaki patolojik iNOS yüksekliğinin, kanserin seçici olarak hedeflenmesinde potansiyel bir mekanizma olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. NOS inhibitörlerinin anti-kanser etkileri, invivo olarak

yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Sıçan p22 karsino-sarkomalarında yapılan bir çalışmada oral olarak L-arginin ve L-NAME kullanılmış ve kanser büyümesi takip edilmiştir. İçme sularına L-NAME katılan fare gruplarında kanser büyümesi kontrol farelere göre anlamlı olarak baskılanmıştır (36). NOS inhibitörleri kullanarak kanser damarlanmasının azaltılması ile ilgili çalışmalar giderek önem kazanmıştır. Değişik L-arginin analogları aracılığıyla NOS inhibisyonu sonucu ortaya çıkan anti-kanser etkiler gösterilmiş olmasına karşın; tek başına etkili bir tedavi yönteminin olduğunu konusunda henüz kesin veriler elde edilmemiştir. Bu nedenle, farklı yöntemlerin kullanımı ile NOS ekspresyonunun inhibisyonu tedavisinin, diğer etkin tedavi edici yöntemler ile kombine edilerek sonuç alınabileceği düşünülmektedir.

NOS inhibisyonu ile kanser gelişiminin baskılanmasının anjiogenezden farklı mekanizmalar yolu ile de olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Orucevic ve Lala'nın çalışmalarında hem normal hem de kanserli hayvanlarda L-NAME uygulamasının kapiller sızıntıyı düzeltici etkisinin olduğu ve bu sayede güçlü bir anti-kanser etkinin ortaya çıktığı gözlenmiştir (37). Bu düzelmenin, IL-2 dağılımı ile ilgili olduğu yapılan çalışma sonucu düşünülmektedir (37). Ortaya çıkan anti-kanser etkinin yalnızca kanseri besleyen damarsal yapılarda görülen bir vazokonstriksiyon nedeniyle olmadığı, buna ek olarak lenfokin ile aktive olan öldürücü (Lymphokine Activated Killer/ LAK) hücrelerin uyarılması ile aktive olan, immün cevap yoluyla ortaya çıkan, bir ikincil etkinin önemi vurgulanmaktadır.

Sıçan izole perfüze organ modelinin kullanıldığı bir başka çalışmada, Tümör Nekroze Edici Faktör (TNF), alkilleyici grup anti-kanser bir ajan olan melphalan ve L-NAME'in farklı kombinasyonlarının etkisi, BN175 sarkom kanserlerinde incelenmiştir (38). Tek başına kullanıldıklarında etkisiz ya da sınırlı etkileri gözlenen L-NAME, TNF ve melphalan infüzyonlarının; aynı anda kullanılması ile hayvanların

%100'ünde kısmi cevaba, %70'inde ise kanserin tamamen gerilemesine yol açtığı; kanıtlanmıştır. L-NAME'in tedavi edici etkinliğinin birinci nedeni, kanseri besleyen damarsal yapılarda ortaya çıkan daralma ve bu nedenle kanserli dokunun ihtiyacı olan besin maddelerinin kısıtlanması olabilir. İkinci nedeni ise, TNF tedavisinin ana kısıtlayıcı komplikasyonu olan hipotansiyonun engellenmesidir. Bu durumda, TNF'nin NOS inhibitörleri ile kombinasyonu, TNF'nin tedavi etkinliğini ciddi olarak arttırmaktadır (38).

Bu faktörlere ek olarak, yakın zamanlı araştırmalarda kanser mikroçevresi üzerinde giderek daha fazla durulmaktadır. Östrojen reseptörü içermeyen meme kanserlerinde, iNOS tarafından düzensiz olarak oluşturulan NO'nin, kanser mikroçevresinde COX-2 aktivitesi artışı ve Hipoksi ile Uyarılan Faktör-1 (HIF-1) proteini stabilizasyonu gibi yollar üzerinden, prognozu kötüleştirdiği ifade edilmektedir (39).

Genel olarak, NO'nin kanser gelişimi üzerindeki destekleyici etkisinin mekanizmaları şu şekilde ifade edilebilir:

1. Apoptozis üzerine olan baskılayıcı etkiler.
 - Kaspaz enzimlerinin (Kaspaz 1,2,3,4, 6,7,8) S-nitrozilasyonu ile inhibisyonu.
 - APAF-1/Kaspaz-9 kompleksinin bozulmasına yol açması.
 - Isı şoku proteini-70 (Heat-shock protein-70: HSP-70) artışı.
 - p53 mutasyonuna neden olması.
 - Siloksijenaz-2 (Cox-2) aktivasyonu.
2. Onkogenlerin aktive olmasına bağlı hücre proliferasyonu.
3. Anjiogenezin uyarılması.
4. Reaktif oksijen radikallerinin neden olduğu DNA hasarı.
5. DNA bazlarının deaminasyonuna bağlı genotoksik hasar.
6. DNA onarım enzimlerinin inhibisyonuna neden

olan biyolojik aminlerdeki nitrosazyon.

7. NO'in ortaya çıkardığı toksik bileşiklerin neden olduğu protein yapıdaki bozulmalar.

B. NO'in Kanser Oluşumunu ve Gelişimini Baskılayıcı Etkileri

Aşırı NO üretiminin anjiogenezi inhibe ederek anti-kanser etkiler gösterdiği, Jones ve ark. tarafından ortaya konmasından sonra, NO'in doğrudan anti-kanser etkileri olabileceği iddia edilmiştir (31). iNOS ekspresyonunun artışı ile anti-kanser etkinlik arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacı ile yüksek metastatik karakterli melanomalar ile non-metastatik tipler karşılaştırılmış ve non-metastatik klonların daha yüksek düzeylerde endojen NOS eksprese ettiğini ortaya konmuştur (40). Buna ek olarak; non-metastatik türlerde kültür medyumunda nitrit düzeylerinin daha yüksek olduğu, metastatik tiplerde ise daha düşük bulunduğu, bu düşüklüğün L-NMA (NG-Methyl-L-arginine, NOS inhibitörü) varlığında ortadan kalktığı gösterilmiştir. Buna ek olarak; RNA ve protein analizleri ve toksisite deneyleri, İnterferon gama uygulanan farelerde iNOS aktivitesinin arttığını ve kanser hücrelerinde apoptoz oranının yükseldiğini göstermiştir. L-NMA uygulaması ile NO'in anti-kanser etkileri tamamı ile ortadan kalkmıştır (41). Kanserde NO düzeylerini dokuda yükseltmek için diğer yaklaşımlar; NO donörü kullanmak ya da fonksiyonel iNOS geninin transfeksiyonudur. Genellikle NO donörünün sistemik yüksek düzeylerde uygulaması hipotansiyona neden olmaktadır. Ancak Glutasyon S-transferaz tarafından aktive edilen NO donörleri kanser tedavisinde umut vadetmektedir (42). Bu ajanlardan JS-K (4ug/mL) intravenöz olarak uygulanması, subkutanöz implantasyon ile oluşturulmuş fare Multiple Myelom kanserini anlamlı olarak baskılamıştır. Bu etkinin altında kanser apoptozisinin yattığı görülmüştür. Xie ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yüksek metastatik tipte ve düşük endojen NO üretimi bulunan K-1735 hücreleri implante edilen farelere, iNOS geni

transfeksiyonu yapıldıktan sonra, kanser büyümesinin yavaşladığı gösterilmiştir (43). Gelişmekte olan bir kanser dokusu için besin kaynağı sağlayan kan damarı gelişiminin hayati önemi bulunmaktadır. Worthington ve ark. fare kuyruk veninde yaptıkları bir araştırmada, kanser gelişimini engellemek için, seçici olarak kanser mikrovasküler yatağının hedeflenmesinin gerektiğini belirtmişlerdir.

Eş zamanlı olarak hipoksik kanser dokusunun tespit edilmesi sağlanarak konvensiyonel fraksiyone radyoterapi uygulanmasının, tedavinin gücünü arttıracakları yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir (44). NO'in kanser hücrelerinde radyosensitiviteyi arttırdığını iddia eden başka çalışmalar da bulunmaktadır. iNOS transfeksiyonu yapılan kanser hücrelerin radyoterapiye daha hassas oldukları gösterilmiştir. RIF-1 ve HT-29 kanser hücreleri ile yapılan fare modeli kullanılan bir çalışmada, WAF1/iNOS gen transfeksiyonu ile beraberinde radyoterapi uygulanmıştır. Hem RIF-1 hem de HT29 kanserlerinde hedefleme ile uygulanan WAF1/iNOS radyosensitizasyon yöntemi ile kanserde istatistiksel anlamlı oranda gerileme görülmüştür (45). Adenovirus kullanılarak uygulanan iNOS gen tedavisinin de benzer şekilde, in vivo kolorektal adenokanser hücrelerini öldürdüğü ve onları radyasyona hassas hale getirdiği gösterilmiştir (46). Transfeksiyon yapılan kanserlerde damarlanma ve apoptozisin arttığı ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada hücre ölüm uyarı yolağının bir bölümünün p53 bağlantılı olduğu gözlenmiştir. Bu bulgulara paralel olarak radyoterapiye karşı görülen bu hassasiyet artışının, anoksik ortamda ve 40 ppM düzeyinde NO derişimlerinde belirginleştiği de gözlenmiştir (47).

iNOS ile p53 bağlantısı, oral kavitede gelişen skuamoz hücreli kanserlerde de araştırılmıştır. Bu çalışma kanser evresi ve patolojik grade ile uyumlu olarak kanser dokusundaki iNOS ve p53 ekspresyonları arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak ilginç olarak kanserin lenf bezi metastazlarından alınan örneklerde bu ilişki görülemez (48).

NO'nin birçok etkisini matriks metalloproteinaz enzimleri (MMP) düzeylerini etkileyerek gösterdiği kanıtlanmıştır. NO aktivitesi ile görülen bu etkinin özellikle metastaz süreçlerinin başlatılması ya da inhibe edilmesine yol açtığı görülmüştür. Bu etkinin mekanizmasının belli MMP enzimlerinin sentezinin artması ya da azalması yolu ile olduğu düşünülmektedir. Phillips ve ark., birlikte kültüre edilen küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücreleri ile insan endotel hücrelerinin, Spermine-NONOate ya da SIN-1 ile muamele edilmesi ile anlamlı olarak anti-tümör etki görüldüğünü rapor etmişlerdir. Bir hücre iskeleti proteini olan Caveolin-1 (Cav-1), çoğu hücre tipinde bulunan plazma zarlarındaki kaveola yapısının ana bileşenidir. eNOS enziminin plazma membranındaki bu kaveola yapısı içinde bulunduğu ve Cav-1 proteini ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (49). Lazer konfokal mikroskopi kullanılarak incelenen preparatlarda normal endojen NO üretimi altında, MMP-9 ve Caveolin-1 (Cav-1) proteininin komşuluk içinde bulunduğu görülmüştür. Ancak artmış NO düzeylerinde doz bağımlı olarak bu iki proteinin birbirinden ayrıldığı ve bunun anjiojenik cevap ile sonuçlandığı tespit edilmiştir (50).

Apopitozun indüksiyonu ile ilişkili olduğu bilinen bir faktör de mitokondriden sitoplazma içerisine Sitokrom C'nin (Sit C) salınımıdır. NO, mitokondride bulunan Mitokondrial Permeabilite Geçiş Porları (Mitochondrial Permeability Transition pore/ MPTP) üzerinde değişikliğe yol açarak, SitC'nin salınımına yol açmaktadır. Bu olay sonrası, Apoptotik Proteaz Aktive-edici Faktor-1 (Apoptotic protease activating factor-1/ APAF-1), ATP varlığında Kaspaz 9 aktivasyonuna neden olan yapısal proteinler veya dATP (deoksiadenozin trifosfat) bağlanması gibi birçok mekanizma yolu ile kaspazlar aktive hale gelir (51). Aktivasyon bir kere başladıktan sonra kaspaz 9, kaspaz 3 ve 7'yi ayırarak aktive olmalarına neden olur. Buna ek olarak salınan Sit-C, İnositol Trifosfat yolu ile (IP3) büyük miktarda hücre salınımına neden olarak hücre ölümü ile sonuçlanır. Sit-C'nin bu kadar önemli rolü olmasına karşın MCF-7 meme

kanseri hücrelerine direkt olarak mikro-injeksiyon yolu ile SitC verilmesinin herhangi bir apoptotik cevaba neden olmadığı gösterilmiştir. Böylece, NO'nin apoptotik etkisindeki tek faktörün Sit-C olmadığı anlaşılmıştır (52). Diğer yandan NO düzeyinin artışı ile aktive olan ve hücre sitoplazmasında bulunan çözünebilir guanilat siklaz (Soluble guanylyl cyclase / sGC) enziminin bradikinin ya da NO donörü sodyum nitroprussid (SNP) tarafından uyarılmasının, kısmen promotör metilasyonu üzerinden insan meme kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını ve yaşam süresini baskıladığı gösterilmiştir (53). Ayrıca östrojen reseptörü içermeyen insan meme kanseri hücrelerinde (MDA-MB-231) NO donörü DEA/NO ile bazı genlerin ifade seviyesinin değiştiği ve bunun ileride tedavi protokolleri açısından önemli olabileceği görüşü ortaya konmuştur (54). İnsan karaciğer kanseri hücreleri (HepG2) üzerine SNP (Sodyum Nitroprussid) uygulanarak NO'nin kanser davranışı üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, SNP'nin HepG2 hücrelerinin apoptoz oranlarını doz bağımlı şekilde yükselttiği ve kanser hücrelerinin migrasyon ve invazyon kapasitelerini efektif olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (55).

NO donörlerinin kanser hücrelerini kemoterapi ilaçlarına hassas hale getirdiği (özellikle alkile edici ajanlar için) ortaya konmuştur (56). Bu etkiden kısmen alkiltransferaz gibi DNA onarımını yapan enzimlerin kritik tiol gruplarının nitrozilasyonu sorumlu tutulmuştur (57).

NO'nin anti-tümoral etkilerinin mekanizmalarını özetleyecek olursak:

1. Apoptozisin uyarılması

- p53 up-regülasyonu
- anti-apoptotik mediyatörlerin proteosomal parçalanması
- Smac salınımının artışı
- Sit-C salınımına yol açan mitokondriyel geçirgenliğin artışı
- p53 seviyelerinde artışa neden olan

perosinitrit radikali (ONOO-) oluşumu

2. Proliferasyonun inhibisyonu

- Makrofajlar tarafından üretilen yüksek NO miktarları nedeniyle kanser hücrelerinde görülen sitotoksite
- Hücre döngüsünün duraklaması (yüksek NO derişimleri gerektirir)
- Nekroz sonucunda hücrelerin ölümü

3. Anjiogenezin baskılanması

4. Kansere komşu mikrodamarlarda NO üretimi ile kanser metastazına karşı koruma

5. Antioksidan etki ile radikallerin etkisinin azalmasına bağlı sitoprotektif etki

Neoplastik gelişim ile iNOS ilişkisi birçok in vivo, ex vivo ve in vitro çalışma gösterilmiş olsa da kanser dokuda normal dokuya göre daha yüksek iNOS aktivitesi gözlenmeyen çalışmalar da bulunmaktadır. İnsan servikal kanserleri üzerinde yapılan bir araştırmada kanser dokuların sadece %25'inde yüksek iNOS aktivitesi gösterilebilmiştir (58).

C. NO'in Kanser Metastaz Süreçİ ile ilişkisi

Kanser metastazı, kanser hücrelerinin ilk olarak gelişim gösterdiği dokudan, farklı organlara doğru invazyonu, kolonizasyonu, proliferasyonu ve anjiogenez olarak tarif edilebilir. Tedavi edilmelerinin zorluğu nedeniyle sıklıkla ölüme neden olurlar. Son yıllarda kanser oluşumu, progresyonu ve metastazında NO'in etkileri yoğun olarak araştırılmaktadır. Örneğin; primer safra kesesi kanserleri üzerinde yapılan bir araştırmada anjiogenez düzeyi ile kanser düzeyi arasında anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir (59). Meme kanserlerinde NO'in, hücre motilitesini inhibe ederek ve hücre adezyonunu güçlendirerek metastatik karakterizasyonu baskıladığı ve meme kanseri saldırganlığını azalttığı gösterilmiştir (60). Farelere iNOS negatif retrovirus transfekte edilmesinin çok sayıda akciğer metastazına ve agresif subkutanöz kanserlere neden olduğu görülmüştür. iNOS-pozitif retrovirus ile yapılan transfeksiyon ise az sayıda metastaz ve düşük agresyona ile sonuçlanmıştır

(61). Buna ek olarak fare metastatik M5076 hücrelerine fonksiyonel iNOS geninin transfekte edilmesi, hepatik lezyonların ve kanser gelişiminin baskılanması ile sonuçlanmıştır (62). Bu çalışmalar, NO'in metastazı büyük ölçüde azaltabileceğini, hatta durdurabileceğini göstermektedir.

Öte yandan, NO'in kanser metastazı üzerinde bu olumlu etkisi organa ve kanser türüne özgü gibi görünmektedir. Fu ve ark. microRNA-335 ve 543 ile eNOS'u hedefleyerek prostat kanserlerinde kemik metastazlarını baskılamayı başarmışlardır (63). Bu etkiyi araştıran başka bir çalışma fare kolon kanserinin akciğer ve karaciğer metastazlarına, eNOS inhibitörü olan L-NAME etkisini gözlemlemiştir. L-NAME uygulanan grupta 24 saat sonrasında daha yüksek sayıda kanser hücresi olduğu, aynı farelerde 18 gün sonra artmış pulmoner metastaz görülmesine karşın, kontrol hücreleri ile aynı sayıda karaciğer metastazı tespit edilmiştir. Böylece eNOS inhibisyonunun pulmoner metastazlar üzerinde anti-kanserojenik etki gösterirken karaciğer metastazları üzerine etkisiz olduğu ortaya konulmuştur. Sonuçlar, NO'in pro-metastatik ya da anti-metastatik olarak ifade edilmesinin, deney düzeneği ve çalışılan organlara göre farklı olabileceğini göstermiştir (64).

Önceki bölümde bahsedildiği gibi NO antikanser etkinliğini, invitro ve invivo koşullarda, sitotoksiteyi ve apoptozisi artırarak göstermekte olup benzer şekilde kanser metastazını da etkilemektedir. Galektin-3, hücre-hücre ve hücre-matriks arası ilişkilerde görev yapan ve kanser metastazında önemi bulunan karbonhidrat bağlayıcı bir proteindir. NO'in Galektin-3 tarafından artırılan metastaz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. İnsan meme kanseri hücrelerinde (BT549) Galektin-3'ün, kanserde metastatik potansiyeli arttırdığı ve kanser hücrelerini iNOS'un sitotoksik etkilerinden koruduğu gösterilmiştir (65). Bir anti-kanserojen ajan olan paklitaksel'in kanser hücrelerindeki sitotoksik etkinliğini HepG2 (insan karaciğer kanseri hücrelerinde) NO üretimini artırarak yaptığı ortaya konmuştur (66). Sitotoksite üzerinden yaptığı anti-kanser etkilere ek olarak, NO'in apoptoz üzerinden de antikanserojen etkiler gösterdiğine ve

metastaz yeteneğini arttırdığına yönelik kanıtlar da vardır. Birçok kanser türü apoptozisi başlatan genleri baskılayarak apoptozise dayanıklılık göstermektedir. Bu dayanıklılık, doku homeostazisini etkileyerek ve tedavinin etkisini azaltarak kötü prognoza yol açmaktadır (67, 68). Bu bilgilerin ışığında NO ekspresyonunun dolaylı olarak kanserin metastatik yeteneğini, trombosit agregasyonunu inhibe ederek, eşzamanlı olarak kapiller yataktaki kanser hücrelerinin embolisini azaltarak veya NO ile indüklenen apoptozis yolu ile direkt olarak azaltabileceği ifade edilse de, NO'nin kanser progresyonu üzerinde iki yönlü bir etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Birçok bulgu hemen hemen kanser metastazının invazyon, anjiogenez, intravazasyon, ekstrasvazasyon ve kolonizasyon gibi her basamağında NO'nin rol oynadığını göstermektedir.

İnvazyon, kanser hücrelerinin hücre dışı matrikse (ECM) adezyonunda bir değişiklik sonucunda, kanserli dokunun proteolitik bozulması ve kanser hücrelerinin göçü ile oluşur. İnvazyon sırasında MMP enzimleri ECM'in degradasyonunda başlıca rol alan proteolitik enzimlerdir (69). Malign hücrelerde MMP düzeylerinin normal hücrelere göre yüksek olduğu ve NO'nin MMP ekspresyonunu ve dolayısı ile hücre invazyonunu regüle ettiği bilinmektedir. NO ekspresyonunun, çeşitli MMP aktivasyonu yolu ile kanser gelişimini artırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. İnsan melanoma hücre dizisi ile yapılan bir çalışmada, hücreler, değişen NO düzeylerine maruz bırakılmış ve RT-PCR metodu ile 12 farklı MMP cevabı araştırılmıştır. MMP-1, 3, 10 ve 13 düzeylerinin; değişen SNAP (NO donörü) derişimleri ile arttığı gösterilmiştir. NO tarafından ERK ve p38 yolakları üzerinden MMP-1'in transkripsiyonunu artırdığı ve bu yolakların tümoral inflamasyon gelişiminde etkili olduğu rapor edilmiştir (70). TPA (12-O-tetradekanoylphorbol13-acetate) ile indüklenen MMP-9 ekspresyonu üzerine NO'nin invazyon inhibe edici etkisi, insan meme kanseri hücrelerinde (MCF-7) çalışılmıştır. NO vericisi uygulaması ile MMP-9 mRNA düzeylerinde azalma olduğu ve MMP-9 translasyonunda azalmaya neden olduğu gözlenmiştir (71). Bu farklı bulgular NO'nin MMP ekspresyonu ve invazyon üzerine olan etkilerinin de hücre tipine bağlı

olduğunu göstermektedir.

İntegrinler, hücre-hücre ve hücre- matriks yapışmalarını düzenleyen ve kanser hücre adezyonunu kontrol eden hücre yüzeyi protein ailesidir. Bu özellikleri ile kanser hücre hareketliliğine ve dolayısı ile kanser invazyonuna katkı sağlarlar (72, 73). NO, özellikle a2b1 integrin ile düzenlenen trombosit adezyonunu inhibe ederek kollejeni immobilize etmektedir (74). Bu nedenle, NO'nin, integrin ekspresyonunun inhibisyonu yoluyla kanser yapışmasını azalttığı ve bu nedenle metastaz yeteneğini artırdığı kabul edilmektedir (72-74).

Anjiogenez orjinal vasküler yataktan kaynaklanan yeni kan damarı büyümesi olarak tarif edilir ve kanserin gelişmesi ve metastazı için gerekli olan bir basamaktır (75). Normal karaciğer dokuları ve karaciğer kanseri dokularında yapılmış bir çalışmada iNOS'un MMP-9 ekspresyonunu arttırdığı, bu sayede kanser hücre anjiogenezini, invazyonunu ve metastazını kolaylaştırdığı ortaya konmuştur (76). Benzer durum, baş ve boyun kanserlerinde de gözlenmiştir (77-78). Damarlanmada, düzenleyici bir sitokin olan IL-33'ün endotelial NO tarafından uyarılarak proliferasyonu, migrasyonu, anjiogenezisi ve damar geçirgenliğini artırdığı gösterilmiştir. NO ile uyarılan bu etki ST2/TRAF6 (TNF receptor-associated factor-6) yolağı üzerinden eNOS enziminin aktivasyonu ile ortaya çıkmaktadır (79). Buna ek olarak, NO üretiminin "knock-down" (genin silinmesi) ya da siRNA uygulamaları ile bloke edilmesi, anjiogenezis üzerinde inhibitor etki gösterirken, NO donörleri ile bu etkinin iki kat arttığı rapor edilmiştir (80).

İntravazasyon, kanser hücrelerinin kan damarları ya da lenf damarları bazal membranına invazyonu anlamına gelmektedir. Diğer basamaklara göre daha az araştırılmış olsa da NO'nin bu basamağa da katkıları bulunduğu bilinmektedir. Lökositler kanser hücrelerinin, damar duvarına invazyonuna engel olmak için çalışırlar. NO ve hücreler arası yapışma molekülü-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1/ ICAM-1) etkileri incelendiğinde bunların, kanser damarlardaki endotel üzerinde lökositlerin intravazasyon, adezyon ve etkinliklerini önemli

ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca NO'nin inhibe edilmesi ile kanser dokusunun mikro-damarlardaki lökosit adezyonu kısmen geri döndürülebilmektedir. Bu durum NO'nin intravazasyonu kolaylaştırıcı bir etkisinin olduğunu göstermektedir (81). Bununla birlikte L-NMMA ile eNOS inhibisyonunun, MDA-MB-231 meme kanserinde kanser hücrelerinin mikrodamarlara adezyonunu fizyolojik koşullarda bloke ettiği gösterilmiştir (82).

Ekstravazasyon ve kolonizasyon sürecinde kanser hücreleri endotelial kasılmaya neden olarak kanser hücrelerinin subendotelial ECM'e adezyonunu kolaylaştırırlar. Kanser hücreleri fibrin, trombin ya da fibrinojen gibi koagülasyon faktörlerine yapıştığı zaman bir emboli oluşumu ortaya çıkmaktadır. Daha sonra bu oluşum, E ve P selektinlerin de desteği ile, kapiller yatakta bloke olmaktadır. NO, NF-kappaB inaktivasyonu yolu ile E-selektin ekspresyonunun azalmasına neden olmakta bunun sonucu olarak anti-metastatik bir etki gözlenmektedir (83).

Lenfatik metastaz ve vasküler permeabilite artışı, kanser patogeneğinde ortak ve önemli bir faktördür. Lenf nodları birçok kanser türünde ilk metastaz bölgesidir ve hastanın prognozunun tespit edilmesinde kritik rolü bulunmaktadır (84). Lenfatik metastazları başlatan iki önemli faktör; lenfangiogenezi uyaran Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü-C (VEGF-C) ve lenf nodu metastazına katkısı olduğu gösterilen Kemokin Reseptör-4 (CXCR4) dür. Bir NO donörü olan DETA-NONOate uygulanması ile VEGF-C artmaktadır. Aksine NO üretiminin N-nitro-L-arginine (L-NNA) ile bloke edilmesinin VEGF-C üretimini azalttığı gösterilmiştir (85). Bunun yanı sıra NO insan meme kanseri hücrelerinde yapılan bir çalışmada CXCR4 ekspresyonunu uyarmıştır ve bu etkiler nedeni ile NO'nin lenfatik metastazın olası kolaylaştırıcı bir faktör olduğu iddia edilmiştir (86).

NO'nin süperoksit ile reaksiyonu sonrasında peroksinitrit oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Bu peroksinitrit, artmış vasküler permeabiliteden ve dolayısı ile metastatik potansiyelden sorumlu tutulmaktadır. Wu ve ark. peroksinitritin 50 nmol

üzerindeki derişimlerinde fare sırt derisinde vasküler geçirgenliği arttığını göstermişlerdir (87). Vasküler geçirgenliğin değerlendirildiği bu çalışmada fare sarkomu hücreleri (S-180) kullanılmıştır. Peroksinitrit yakalayıcısı (Ebselen ve Ürik asit) ve MMP inhibitörü uygulandığında, peroksinitrit ile uyarılan geçirgenliğin geri döndüğü gözlenmiştir. Bu nedenle peroksinitrit tarafından aktive edilen MMP'ların, vasküler geçirgenliği artırarak kanser metastazında en azından kısmi etkileri olduğu kabul edilmektedir. Kanser dokuda artmış NO oluşumu, artmış VEGF üretimi ile sonuçlanmaktadır. Serum VEGF ve NO düzeylerinin yüksekliğinin kolorektal kanserlerde prognostik olarak önemli olduğu gösterilmiştir (88). Ayrıca bu üretim artışının sadece hemanjiogenez ile değil aynı zamanda lenfanjiogenez ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda VEGF-3 up-regülasyonu bulunmasının daha yüksek metastaz potansiyeli ve düşük prognoz ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (89).

SONUÇ

Nitrik Oksit (NO) kanser gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. NO'nin kanser hücreleri üzerinde toksik etki göstererek, T lenfosit proliferasyonunu inhibe ederek, metastatik hücre göçünü destekleyerek ve anjiogenezi uyarak kanserin gelişimine yol açtığı bilinmektedir. Ancak NO'nin kanserde hücre ölümünü arttırdığı ya da inhibe ettiği ile ilgili karşı görüşler birçok araştırmanın konusu olmaktadır. Bu farklı etkiler, NO biyolojisinin ileri düzeyde karmaşık olması, kanserogenez mekanizmalarının tam anlaşılabilmesi ve kanser hücrelerinin sınırsız büyüme potansiyelleri temellerinde farklı yorumlanmaktadır. Kanser mikro çevresi, hücrenin yapısal özellikleri, ortamdaki NO'nin miktarı, bulunma süresi gibi birçok değişken, gözlenen bu çelişkili etkileri açıklamakta öne sürülmektedir. Yeni NO donörleri, NOS inhibitörleri ya da hücrel NO seviyesini değiştiren farklı genetik uygulamaların geliştirilmesi ile NO'nin onkolojik süreçlerdeki rolü daha iyi anlaşılacaktır.

KAYNAKLAR

1. Huerta S, Chilka S, Bonavida B. Nitric oxide donors: Novel cancer therapeutics. *Int J Oncol*, 2008; 33: 909-27.
2. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 1992; 8: 3-11.
3. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev*, 2001;81: 209-37.
4. Wang Y, Newton DC, Marsden PA. Neuronal NOS: gene structure, mRNA diversity and functional relevance. *Crit Rev Neurobiol*, 1999; 13: 21-43.
5. Janssens SP, Shimouchi A, Quertermous T, Bloch DB, Bloch KD. Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase. *J Biol Chem*, 1992; 267: 14519-22.
6. Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human diseases. *Clin Exp Immunol*, 1998; 113: 147-156.
7. Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human diseases. *Clin Exp Immunol*, 1998; 113: 147-156.
8. Hanafy KA, Krumenacker JS, Murad F. NO, nitrotyrosine and cyclic GMP in signal transduction. *Med Sci Monit*, 2001; 7(4): 801-19.
9. Gow AJ, Ischiropoulos H. Nitric oxide chemistry and cellular signaling. *J Cell Physiol*, 2001; 187(3): 277- 82.
10. Mocellin S, Bronte V, Nitti D. Nitric oxide, a double edged sword in cancer biology: Searching for therapeutic opportunities. *Med. Res. Rev*, 2007; 27: 317-52.
11. Zaccolo M, Movsesian MA. cAMP and cGMP Signaling Cross-Talk Role of Phosphodiesterases and Implications for Cardiac Pathophysiology. *Circulation Research*, 2007; 8; 100(11):1569-78.
12. Fukumura D, Kashiwagi S, Jain RK. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2006; 6(7), 521-34.
13. Foster MW, Mc Mahon TJ, Stamler JS. S-nitrosylation in health and disease. *Trends Mol Med*, 2003; 9(4): 160 -8.
14. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett*, 2003;140-141:105-112.
15. Blaise GA, Gauvin D, Gangal M, Authier S. Nitric oxide, cell signaling and cell death. *Toxicology*, 2005; 208: 177-92.
16. Demirel-Yilmaz E, Cenik B, Ozcan G, Derici MK. Various phosphodiesterase activities in different regions of the heart alter the cardiac effects of nitric oxide. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2012; 60(3): 283-92.
17. Derici K, Samsar U, Demirel-Yilmaz E. Nitric oxide effects depend on different mechanisms in different regions of the rat heart. *Heart Vessels*, 2012; 27(1): 89-97.
18. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol*, 1997;15: 323-50.
19. Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection - how, why, when and where? *Nitric Oxide*, 1997; 1: 107-120.
20. Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol*, 2001; 2: 149-156.
21. Laurent M, Lepoivre M, Tenu JP. Kinetic modelling of the nitric oxide gradient generated in vitro by adherent cells expressing inducible nitric oxide synthase. *Biochem J*, 1996; 314: 109-113.
22. Brennan PA, Downie IP, Langdon JD, Zaki GA. Emerging role of nitric oxide in cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 1999; 37: 370-73.
23. Stuehr DJ, Marletta MA. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985; 82: 7738-42.
24. Hibbs JB Jr, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 1987; 235: 473-76.
25. Mocellin S, Bronte V, Nitti D. Nitric oxide, a double edged sword in cancerbiology: searching for therapeutic opportunities. *Med Res Rev*, 2007; 27(3): 317-52.
26. Fitzpatrick B, Mehibel M, Cowen RL, Stratford IJ. iNOS as a therapeutic target for treatment of human tumors. *Nitric Oxide*. 2008;19(2):217-24.
27. Bonavida B, Khineche S, Huerta-Yopez S, Garban H. Therapeutic potential of nitric oxide in cancer, *Drug Resist. Updat*. 2006; 9(3):157-173.
28. Chinje EC, Stratford IJ. Role of nitric oxide in growth of solid tumours: a balancing act. *Essays Biochem*, 1997; 32: 61-72.

29. Gauthier N, Arnould L, Chantome A, Reisser D, Bettaieb A, Reveneau S. et al., To stimulate or to inhibit nitric oxide production in mammary tumors? *Bull Cancer*, 2004; 91(9): 705-12.
30. Radomski MW, Jenkins DC, Holmes L, Moncada S. Human colorectal adenocarcinoma cells: differential nitric oxide synthase expression determines their ability to aggregate platelets. *Cancer Res*, 1991; 51(22): 6073-78.
31. Jones MK, Tsugawa K, Tarnawski AS, Baatar D. Dual actions of nitric oxide on angiogenesis: possible roles of PKC, ERK, and AP-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004; 318(2): 520-28.
32. Thomsen LL, Lawton FG, Knowles RG, Beesley JE, Riveros-Moreno V, Moncada S. Nitric oxide synthase activity in human gynecological cancer. *Cancer Res*, 1994; 54: 1352-54.
33. Zafirellis K, Zachaki A, Agrogiannis G, Gravani K. Inducible nitric oxide synthase expression and its prognostic significance in colorectal cancer. *APMIS*, 2010;118(2): 115-24.
34. Andrade SP, Hart IR, Piper PJ. Inhibitors of nitric oxide synthase selectively reduce flow in tumor-associated neovasculature. *Br J Pharmacol*, 1992;107(4):1092-95.
35. Kennovin GD, Flitney FW, Hirst DG. "Upstream" modification of vasoconstrictor responses in rat epigastric artery supplying an implanted tumour. *Adv Exp Med Biol*, 1994; 345: 411-16.
36. Kennovin G.D et al, *Biology of Nitric Oxide*, Portland Press, 1994; 473-79.
37. Orucevic A, Lala PK. Effects of N(g)-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis, on interleukin-2-induced capillary leakage and antitumor responses in healthy and tumor-bearing mice. *Cancer Immunol Immunother*, 1996; 42(1): 38-46.
38. de Wilt JH, Manusama ER, van Etten B, van Tiel ST, Jorna AS, Seynhaeve AL et al. Nitric oxide synthase inhibition results in synergistic anti-tumour activity with melphalan and tumour necrosis factor alpha-based isolated limb perfusions. *Br J Cancer*, 2000; 83(9): 1176-82.
39. Basudhar D, Somasundaram V, de Oliveira GA, Kesarwala A, Heinecke JL, Cheng RY et al. Nitric Oxide Synthase-2-Derived Nitric Oxide Drives Multiple Pathways of Breast Cancer Progression. *Antioxid Redox Signal*, 2016 [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27464521.
40. Dong Z, Staroselsky A.H, Qi X, Xie K, Fidler I.J. Inverse correlation between expression of inducible nitric oxide synthase activity and production of metastasis in K-1735 murine melanoma cells, *Cancer Res*, 1994; 54(3): 789-93.
41. Sarih M, Souvannavong V, Adam A. Nitric oxide synthase induces macrophage death by apoptosis, *Biochem. Biophys. Res Commun*, 1993; 191(2): 503-8.
42. Kiziltepe T, Hideshima T, Ishitsuka K, Ocio EM, Raje N, Catley L et al. JS-K, a GST-activated nitric oxide generator, induces DNA double-strand breaks, activates DNA damage response pathways and induces apoptosis in vitro and in vivo in human multiple myeloma cells. *Blood*, 2007; 110(2):709-18.
43. Xie K, Fidler IJ. Therapy of cancer metastasis by activation of the inducible nitric oxide synthase. *Cancer Metastasis Rev*, 1998;17(1): 55-75.
44. Worthington J, Robson T, Murray M, O'Rourke M, Keilty G, Hirst DG. Modification of vascular tone using iNOS under the control of a radiation-inducible promoter. *Gene Ther*, 2000;7 (13):1126-31.
45. Worthington J, Robson T, O'Keefe M, Hirst DG. Tumour cell radiosensitization using constitutive (CMV) and radiation inducible (WAF1) promoters to drive the iNOS gene: a novel suicide gene therapy. *Gene Ther*, 2002; 9(4): 263-69.
46. Wang Z, Cook T, Alber S, Liu K, Kovesdi I, Watkins SK et al. Adenoviral gene transfer of the human inducible nitric oxide synthase gene enhances the radiation response of human colorectal cancer associated with alterations in tumor vascularity. *Cancer Res*. 2004; 64(4): 1386-95.
47. Wardman P, Rothkamm K, Folkes LK, Woodcock M, Johnston PJ. Radiosensitization by nitric oxide at low radiation doses. *Radiat Res*, 2007; 167: 475-484.
48. Yang L, Wang Y, Guo L, Wang L, Chen W, Shi B. The Expression and Correlation of iNOS and p53 in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Biomed Res Int*, 2015; 637853 doi: 10.1155/2015/637853.
49. García-Cardena G, Fan R, Stern DF, Liu J, Sessa WC. Endothelial nitric oxide synthase is regulated by tyrosine phosphorylation and interacts with caveolin-1. *J Biol Chem*, 1996; 271(44): 27237-40.

50. Phillips PG, Birnby LM. Nitric oxide modulates caveolin-1 and matrix metalloproteinase-9 expression and distribution at the endothelial cell/tumor cell interface. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2004; 286(5): L1055- L1065.
51. Zou H, Li Y, Liu X, Wang X. An APAF-1.cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274(17): 11549-56.
52. Li F, Srinivasan A, Wang Y, Armstrong R.C, Tomaselli K.J, Fritz L.C. Cell- specific induction of apoptosis by microinjection of cytochrome c. Bcl-xL has activity independent of cytochrome c release. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272(48): 30299-305.
53. Wen HC, Chuu CP, Chen CY, Shiah SG, Kung HJ, King KL et al. Elevation of soluble guanylate cyclase suppresses proliferation and survival of human breast cancer cells. *PLoS One.* 2015; 30:10(4): e0125518.
54. Cheng RY, Basudhar D, Ridnour LA, Heinecke JL, Kesarwala AH, Glynn S et al. Gene expression profiles of NO- and HNO-donor treated breast cancer cells: insights into tumor response and resistance pathways. *Nitric Oxide*, 2014; 1(43): 17-28.
55. Zhou L, Zhang H, Wu J. Effects of nitric oxide on the biological behavior of HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016;11 (5): 1875-80.
56. Bonavida B, Garban H. Nitric oxide-mediated sensitization of resistant tumor cells to apoptosis by chemo-immunotherapeutics. *Redox Biol.* 2015; 6: 486-94.
57. Coulter JA, McCarthy HO, Xiang J, Roedel W, Wagner E, Robson T et al. Nitric oxide-a novel therapeutic for cancer. *Nitric Oxide*, 2008;19(2):192-8.
58. Williams EL, Djamgoz MB. Nitric oxide and metastatic cell behaviour, *BioEssays*, 2005;27(12);1228-38.
59. Niu XJ, Wang ZR, Wu SL, Geng ZM, Zhang YF, Qing XL. Relationship between inducible nitric oxide synthase expression and angiogenesis in primary gallbladder carcinoma tissue. *World J. Gastroenterol.*, 2004;10(5): 725-28.
60. Lahiri M, Martin JH. Nitric oxide decreases motility and increases adhesion in human breast cancer cells. *Oncol Rep*, 2009; 21(2): 275-81.
61. Juang SH, Xie K, Xu L, Wang Y, Yoneda J, Fidler IJ. Use of retroviral vectors encoding murine inducible nitric oxide synthase gene to suppress tumorigenicity and cancer metastasis of murine melanoma. *Cancer Biother Radiopharm.* 1997; 12(3): 167-175.
62. Xie K, Huang S, Dong Z, Juang SH, Gutman M, Xie QW et al. Transfection with the inducible nitric oxide synthase gene suppresses tumorigenicity and abrogates metastasis by K-1735 murine melanoma cells. *J Exp Med*, 1995;181(4): 1333-43.
63. Fu Q, Liu X, Liu Y, Yang J, Lv G, Dong S. MicroRNA-335 and -543 suppress bone metastasis in prostate cancer via targeting endothelial nitric oxide synthase. *Int J Mol Med*, 2015;36(5):1417-25.
64. Ishikawa T, Yoshida N, Higashihara H, Inoue M, Uchiyama K, Takagi T et al. Different effects of constitutive nitric oxide synthase and heme oxygenase on pulmonary or liver metastasis of colon cancer in mice. *Clin. Exp. Metastasis*, 2003;20(5): 445-50.
65. Moon BK, Lee YJ, Battle P, Jessup JM, Raz A, Kim HR. Galectin-3 protects human breast carcinoma cells against nitric oxide-induced apoptosis: implication of galectin-3 function during metastasis. *Am J Pathol*, 2001; 159 (3):1055-60.
66. Sayed-Ahmad MM, Mohamad MA. Contribution of nitric oxide and epidermal growth factor receptor in anti-metastatic potential of paclitaxel in human liver cancer cell (HepG2). *J Egypt Natl Canc Inst* 2005; 17(1): 35-41.
67. Fulda S. Apoptosis pathways and their therapeutic exploitation in pancreatic cancer. *J Cell Mol Med*, 2009;13 (7):1221-27.
68. Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, Yeganeh B, Xiao W, Eshraghi M et al. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. *J. Med. Genet.* 2009; 46(8): 497-510.
69. Gupta SK, Vlahakis NE. Integrin alpha9 beta1 mediates enhanced cell migration through nitric oxide synthase activity regulated by Src tyrosine kinase. *J Cell Sci*, 2009;122 (Pt 12):2043-54).
70. Ishii Y, Ogura T, Tatemichi M, Fujisawa H, Otsuka F, Esumi H. Induction of matrix metalloproteinase gene transcription by nitric oxide and mechanisms of MMP-1 gene induction in human melanoma cell lines. *Int J Cancer*, 2003;103(2):161-68.
71. Jespersen C, Doller A, Akool el S, Bachmann M, Muller R, Gutwein P et al. Molecular mechanisms of nitric oxide- dependent inhibition of TPA-induced matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in MCF-7 cells. *J Cell Physiol*, 2009; 219 (2): 276-87.
72. Sun Y, Liu J, Qian F, Xu Q. Nitric oxide inhibits T cell adhesion and migration by down-regulation of beta1-integrin expression in immunologically liver- injured mice, *Int. Immunopharmacol.* 2006; 6(4):616-26.

73. Roberts W, Riba R, Homer-Vanniasinkam S, Farndale RW, Naseem KM. Nitric oxide specifically inhibits integrin-mediated platelet adhesion and spreading on collagen. *J. Thromb Haemost*, 2008; 6(12): 2175-85.
74. Conran N, Gambero A, Ferreira HH, Antunes E, de Nucci G. Nitric oxide has a role in regulating VLA-4-integrin expression on the human neutrophil cell surface. *Biochem Pharmacol*, 2003;1; 66(1): 43-50.
75. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol*, 2002;29 (6 Suppl)16: 15-18.
76. Sun MH, Han XC, Jia MK, Jiang WD, Wang M, Zhang H et al. Expressions of inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinase-9 and their effects on angiogenesis and progression of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2005;14;11(38): 5931-7.
77. Gallo O, Masini E, Morbidelli L, Franchi A, Fini-Storchi I, Vergari WA et al. Role of nitric oxide in angiogenesis and tumor progression in head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1998;15;90(8): 587-96.
78. Jiang T, Yu JT, Zhu XC, Zhang QQ, Tan MS, Cao L et al. Angiotensin-(1-7) induces cerebral ischaemic tolerance by promoting brain angiogenesis in a Mas/eNOS-dependent pathway. *Br J Pharmacol*, 2014; 171(18): 4222-32.
79. Choi YS, Choi HJ, Min JK, Pyun BJ, Maeng YS, Park H et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood*, 2009;1; 114(14): 3117-26.
80. Kolluru GK, Sinha S, Majumder S, Muley A, Siamwala JH, Gupta R et al. Shear stress promotes nitric oxide production in endothelial cells by sub-cellular delocalization of eNOS: A basis for shear stress mediated angiogenesis. *Nitric Oxide*, 2010; 15;22(4):304-15.
81. Bessa X, Elizalde JI, Mitjans F, Piñol V, Miquel R, Panés J, Piulats J, Piqué JM, Castells A. Leukocyte recruitment in colon cancer: role of cell adhesion molecules, nitric oxide, and transforming growth factor beta1. *Gastroenterology*, 2002;122(4):1122-32.
82. Zhang L, Zeng M, Fu BM. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase decreases breast cancer cell MDA-MB-231 adhesion to intact microvessels under physiological flows. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016;310(11): H1735-47.
83. Spiecker M, Darius H, Kaboth K, Hübner F, Liao JK. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants. *J Leukoc Biol*, 1998;63(6):732-9.
84. Cao Y. Opinion: emerging mechanisms of tumour lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2005; 5(9): 735-43.
85. Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yoshidome K, Nakahara M, Nakao K et al. Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res*, 2006; 15; 12(4): 1201-7.
86. Yasuoka H, Tsujimoto M, Yoshidome K, Nakahara M, Kodama R, Sanke T, Nakamura Y. Cytoplasmic CXCR4 expression in breast cancer: induction by nitric oxide and correlation with lymph node metastasis and poor prognosis. *BMC Cancer*, 2008; 23(8): 340.
87. Wu J, Akaike T, Hayashida K, Okamoto T, Okuyama A, Maeda H. Enhanced vascular permeability in solid tumor involving peroxynitrite and matrix metalloproteinases. *Jpn J Cancer Res*, 2001; 92(4): 439-51.
88. Akbulut H, Altuntas F, Akbulut KG, Ozturk G, Cindoruk M, Unal E, Icli F. Prognostic role of serum vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor and nitric oxide in patients with colorectal carcinoma. *Cytokine*, 2002; 24; 20(4):184-90.
89. Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, Yang Q, Tsukiyama A, Imabun S et al. Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor-C in breast carcinoma with long-term follow-up. *Mod Pathol*, 2003;16(4):309-14.

Akciğer kanseri tedavisinde farmakogenomik

Pharmacogenomics in lung cancer treatment

Nil KILIÇ¹, Demet CANSARAN-DUMAN¹

ÖZET

Günümüzde akciğer kanseri erkeklerde en sık rastlanan ve ölümlü sonuçlanan kanser tipleri arasında birinci sırayı almaktadır. Hastalığın tedavisine yönelik çalışmalarda en güncel ve önemli ivme insan genom yapısının belirlenmesi ve tümör biyolojisinin anlaşılması ile olmuştur. Farmakogenomik, tümör bağımlı gen mutasyonlarını inceleyerek ilacın hangi hastada hangi oranda daha etkili olacağını belirler. Farmakogenomik'e dayanan yöntemler ile direkt hastalığa yönelik kişiye spesifik tedavi yöntemleri uygulanarak en az yan etki ile hastayı iyileştirme yoluna gidilmektedir. Bunun yanında kişilerdeki gen mutasyonları detaylı incelenerek tümöre karşı ilaç duyarlılığının belirlenebilmesi tedavi seçiminde ve sonucunda çok önemli rol oynamıştır. Bu derleme kapsamında akciğer kanserinin tedavisinde hastaya özel tedavi yöntemine dayalı farmakogenomik uygulamaları ve hastalığın seyrine etkisi araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, farmakogenomik, gen mutasyonu

ABSTRACT

Lung carcinoma is the most common cause of cancer-related death in men among other cancer types in last years. The most recent and significant step in the treatment of the disease is the determination of the human genome structure and understanding of tumor biology. Pharmacogenomics examines tumor-dependent gene mutations to determine in which patient the drug will be more effective. Personalized treatments that are specified directly to disease by using pharmacogenomics methods are applied to cure patients with minimum side effects. Also, determining sensitivity of drug against tumor by examining gene mutations in patients plays a crucial role in selection and outcome of treatment. Patient-specific pharmacogenetic applications in lung carcinoma treatment and their effects on prognostic of disease were reviewed in this study.

Key Words: Lung cancer, pharmacogenomic, gene mutation

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı Tandoğan Ankara - Türkiye
Tel : +90 533 344 47 44 E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 11.11.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 29.11.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.21703

Kılıç N, Cansaran-Duman D. Akciğer kanseri tedavisinde farmakogenomik.
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(2): 175-184

GİRİŞ

Özellikle son yıllarda tedavi modeli olarak hedefe yönelik ilaç kullanılması ile birlikte farklı hastalık türlerinin yeterli derece de tedavide etkili olup olmadığına yönelik araştırmalar hız kazanmıştır. Bilim dünyasında, ilaç yanıtında genlerin ve gen ürünlerinin rol aldığı saptamasının ardından farmakogenetik ve farmakogenomik terimleri kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle kanser türlerinde ve düşük sağ kalım oranına sahip akciğer kanserinde etkin ve hızlı tedavi yöntemine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derleme kapsamında akciğer kanserine yönelik tedavi yöntemlerinde genetiğe dayalı yöntemlerin tedavi sürecinde nasıl kullanıldığına ilişkin bilgiler sunulmaktadır.

Farmakogenetik ve Farmakogenomik

İlacın kullanımı ve kullanım sonrası etkinliğinin belirlenmesine dayalı yapılan araştırmalar sonucunda her bir ilacın farklı bireylerde farklı etki gösterdiği anlaşılmıştır. Bir ilacın etkinliği bir popülasyonun %50'sinde gösterdiği dozla ifade edilmektedir. Kişiyeye özel farklı bulguların oluşmasının sebebi her bireyin kendine özgü farmakogenetik profili olması esasına dayanır. Bireyselleştirilmiş tıp olarak da ifade edilen farmakogenetik biyokimyasal genetiğin özel bir alanı olup genetik temelli ilaca yanıt değişikliklerini inceleyen bir alandır. Farmakogenomik temelli ilaçların etkinliği genlere bağlı değişiklikler sonucu oluşan farklılığın tespitine yönelik araştırmaları hedefler. Bu bilim dalı insanlığın farklı genetik kodlanması sonucu her insana farklı tedavi etkeninin bulunabilmesi şansı vermektedir. Farmakogenomik, tedavide kullanılan etken maddenin vücuttaki hedef hücreleri etkileyebilmesinde görev yapan proteinleri ve hücre içinde bu etken maddelerle etkileşen proteinleri, ilacın vücuda etkilerini, farmakokinetik ise ilacın metabolize edilmesi ve uzaklaştırılmasını kısaca vücudun ilaca olan etkisini araştırır. Farmakokinetik değiştiğinde ilacın vücuttaki etkisi değişime uğrar, bu durumda etken maddenin vücutta yıkılmasında

gerekli enzimlerin genetik olarak farklı kodlanması maddenin etkinliğini değiştirmesine dayalı olması ile açıklanabilir. Örneğin, etken maddenin yıkılmasında gerekli enzimlerin eksikliği, etken maddenin daha az atılarak etkinliğinin artmasına sebebiyet vermektedir. Bu durumda bir ilacı iki farklı hasta aldığı biriyi iyileştirdiği halde diğerinde toksik etki yapabilmektedir. Farmakodinamik açısından ilacın vücutta metabolize olması, atılması, yani etken maddenin kandaki düzeyi önemli olmamakla beraber etken maddenin etkileme mekanizmasındaki faktörler (bağlandığı reseptör ve/veya enzim) önemlidir. Örneğin etken maddenin bağlandığı reseptörlerde eksiklik var ise ilacın etkinliğinde azalmadan söz edilebilir bu da ilaca direnç gerçekleştiği anlamına gelmektedir.

Farmakogenomik Tarihsesi ve Klinikteki Önemi

Farmakogenetik terimi ilk defa, 1959'da Friedrich Vogel adlı bilim adamı tarafından ilaç etkileşiminin genetik farklılıklara göre değişim gösterdiğini belirlemesi ile ortaya çıkmıştır (1). Farmakogenomik teriminin ise ilk kez 1998 yılında literatürdeki yerini aldığı belirtilmiştir (2). İlerleyen yıllarda bazı ilaçların vücuttaki metabolizmalarının kişiler arasında değişiklik göstermesi ile bu alandaki çalışmalar başlamıştır. Sonrasında 1990-2003 yılları arasında yapılan insan genom projesi ile farmakogenetik alanında yapılan çalışmalar daha da hız kazanmıştır. Son yıllarda ise insan kanser genomundaki somatik gen mutasyonlarının (mikrosatelitler, delesyon veya DNA segment kayıpları gibi) ortaya konulması yapılan çalışmalara ışık tutmuştur.

Farmakogenomik klinikte iki farklı şekilde kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi hastaları ilaç kullanımı sonrasında tedavi edilebilir ya da edilemez olarak ayırmaktır. İkincisi ise kullanılan ilacın hangi hastaya hangi dozda toksik etkiye sebep olabileceğini belirleyebilmektir. Bu iki farklı yaklaşımla hastalar için tedavinin en başında en etkili tedavi modeli seçilmiş olmaktadır. Bir ilaç verilmesi ve bu ilacın

en etkili, en az toksik etki yapacak şekilde seçimi ile tedavinin daha başarılı olması öngörülmektedir. Bunun yanında bir ilacın hastayı tedavi etmesinin yanı sıra kullanım sonrası ilacın toksik etki gösteriyor olması sonucu bu tür hastalarda verilen ilacın kullanım dozunda azaltmaya gidilebilecektir. Farmakogenetik ve farmakogenomik çalışmalar ile birlikte özellikle kanser hastalarında hastaların genotip ve fenotipine bağlı olarak tedavi modelleri seçilmektedir. Bütün hastaların genetik kanserleşme süreçlerinin farklı olması sebebiyle hastalardaki tümörler de farklı genetik değişim setine sahiptir. Hastalardaki tümör bulguları histopatolojik olarak benzer olsa da tedavi yanıtları ve davranışları farklı olmaktadır. Bu nedenle her kanser türü için etkinliği belirlenmiş kişiye özel tedavi yöntemi uygulanması öngörülmektedir.

Akciğer Kanseri

Akciğer parankimi ve bronş ağacı hücrelerinin normal dışı kontrolsüz çoğalması ile oluşan tümöre akciğer kanseri denir (Şekil 1). Akciğer kanseri ileri

seviyelere ulaşana kadar hastada belirli bir şikâyete yol açmamaktadır. Akciğer dokusunun içinde ağrı hissini beyne taşıyan lifler olmaması nedeni ile kanser belli büyüklüğe ulaşana kadar hastada neredeyse hiçbir şikâyet oluşturmayabilmektedir. Bu gizli davranış, akciğer kanserini ölümcül kanser tiplerinden biri yapan önemli bir faktördür. Oluşan kitle öncelikle bulunduğu ortamda büyür, daha sonra lenfatik ya da kan yolu ile yayılmaya metastaz yapmaya başlamaktadır. Metastaz öncelikle beyin, kemik dokular, karaciğer ve böbrek üstü bezlerine olmaktadır. Kanser hastalarının kaybedilme nedenlerinin başında metastazlar gelmektedir. Örneğin lenfatik metastaz yapmamış olgularda (Evre I-IIa) cerrahi yapılmış olgularda sırası ile beş yıl sağ kalım %72 ve %40, akciğer tümör çapı 3 cm den büyük ve hilus bölgesi lenf noduna metastaz yapmış tam cerrahi yapılmış olgularda (Evre IIb) bu oran %23-30 arasında değişmekte, mediasten lenf nodu metastazı yapmış (Evre IIIa) hastalarda ise %4'e kadar düşmektedir (3).

Akciğer kanserleri malign epitelyal tümörler,



Şekil 1. Akciğer tümörü

akciğer zarının kanserleri ise malign mezotelyoma şeklinde örneklendirilebilirler (Tablo1) (4). Akciğer kanseri başlıca küçük hücreli ve küçük hücreli dışı olarak ikiye ayrılmaktadır. Ayrıca neuroendokrin kökenli olanlar olmak üzere bir alt grubu da vardır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tipleri; skuamöz (yassı) hücreli kanser, adeno kanser, büyük hücreli kanser şeklindedir. Hastanın klinik seyri açısından en iyi sonuçlar aynı evreler için skuamöz hücreli kanserde alınmaktadır. Daha sonra adeno kanser ve büyük hücreli kanser gelmektedir. Özellikle büyük hücreli akciğer kanseri çok agresif bir tümördür ve genellikle üçte ikisi periferik lokalizasyonludur. Adeno kanserin ise adenoskuamöz ve bronkioalveolar kanser alt tipleri vardır. Küçük hücreli akciğer kanseri ise erken dönemde kan yolu ile metastaz yapabilir ve sıklıkla santral yerleşimlidir. Bu hücre tipi saptandığında sıklıkla ileri evrede ya da kalp ve büyük damarlara direkt yayılım yapmıştır ve hasta ameliyat şansını yitirmiş olmaktadır. Nefes borusu içindeki mukozanın nöro endokrin kökenli tipleri ise küçük hücreli, büyük hücreli kanser tipleri (kötü prognoza sahip) ayrıca

karsinoid tümör (iyi prognoza sahip) olmak üzere üç tipten oluşur. Karsinoid tümörler ise tipik ve atipik olmak üzere iki farklı tipten oluşmaktadır.

Akciğer kanserinin progresyonunu hücre zarındaki reseptör aktivitesi ve hücre içi sinyal iletim yolları belirlemektedir. Bu sinyaller hücrenin anjiyogenez, mortalite, adezyon ve apoptozunu düzenler (5, 6). Akciğer kanser hücresindeki spesifik moleküler anormalliklerin henüz tam olarak ortaya çıkarılamaması kanserli hastaların uzun dönem sağ kalımındaki ipuçlarında eksiklikler yaratmaktadır.

Hastalık oluşumunda tütün kullanılması, radon veya asbest gibi çevresel kirleticilerin solunması ve kalıtsal genetik faktörler de akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Hastalık oluşumunda sürekli olarak karsinojen maruziyeti sonucu genetik materyal de zarar görmektedir. Hücrenin kanserleşmesi hücre çoğalmasını kontrol eden genlerdeki değişiklikler ile gerçekleşir. İki ana gen sınıfını hedef alan mutasyonlar vardır. Bunlar dominant onkogenler (hücre çoğalmasını uyaran genler) ve resesif onkogenler (tümör baskılayıcı genler) şeklindedir ve

Tablo 1.

I. MALIGN EPİTELYAL TUMORLERİ							
A. Skuamöz hücreli (epidermoid-Yassı hücreli) karsinom *Spindle hücreli karsinom (varyant)	B. Adenokarsinom *Asiner adenokarsinom *Papiller adenokarsinom *Bronkio-alveolar karsinom *Mukus formasyonlu solid karsinom	C. Küçük hücreli karsinom *Oat cell (yulaf hücreli) karsinom *Intermediate hücre tipli karsinom *Kombine hücre tipli karsinom	D. Büyük hücreli (large cell) karsinom *Dev hücreli (giant cell) karsinom *Clear cell karsinom	E. Adenoskuamöz karsinom	F. Karsinoid tümör	G. Bronşiyal Gland karsinomlar *Adenoid kistik karsinom *Mukoepidermoid karsinom	H. Diğerleri
II. MALIGN MEZOTELİOMA							
III. DEĞİŞİK (ÇEŞİTLİ) MALIGN TÜMÖRLER							
A. Karsinosarkom	B. Pulmoner blastoma	C. Malign Melanoma	D. Malign lenfoma	E. Diğerleri			

hem küçük hücreli hem de küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde bulunabilir. Kronik kanserojen hasarı, hücrelerin artışında rol oynayan c-myc, ras isimli onkogenlerin aktive olması ya da Rb, p53 adıyla anılan tümör baskılayıcı genlerin inhibe edilmesi sonucu oluşabilir. Hücrelerin çoğalmasını kontrol eden genlerde oluşan hasar akciğer kanseri oluşumundaki temel nedendir. Yapılan çalışmalar proto-onkogen olarak adlandırılan genlerin kanserojen uyarısı ile onkogen haline dönüşerek, karsinogenezdeki etkinlikleri belirlenmiştir. Küçük hücreli kanserlerde özellikle c-myc ve Rb, küçük hücreli dışı kanserlerde ise RAS ve p16 genlerinde mutasyon vardır. Kanser ile etkin hale gelmiş başlıca altı çeşit onkogen vardır. Bunlar; ras grubu *Hras*, *Kras*, *Nras* ve myc grubu *Nmyc*, *Cmyc*, *Lmyc*'dur (7).

Akciğer Kanserine Yönelik Tedavi Yöntemleri

A) Akciğer Kanseri Tedavisinde Geleneksel Yöntemler

Akciğer kanseri lenfatik metastaz ve uzak metastaz yapmamış, yani erken evrelerde saptanmış ise en iyi sağkalıma sahip tedavi yöntemi cerrahidir. Bu yöntem için hastanın ameliyatı tolere edebilmesi gerekmektedir. Ayrıca kemoterapi ve kemoradyoterapi diğer tercih edilen yöntemlerdir. Lenf nodu yayılımı saptanmış olgularda kanserin lenf nodu yolu ile venöz sisteme geçişini engellemek için önce kemoterapi daha sonra cerrahi, ardından tekrar kemoterapi yapılabilmektedir. Akciğer kanseri hücre tipine göre, etki/yan etki profilleri göz önünde bulundurularak kombine kemoterapi protokolleri oluşturulmaktadır.

Kemoteropatik Ajanlar

DNA yapısındaki bazlara kovalent bağlanarak ve DNA fonksiyonlarını bozarak etki gösteren sisplatin, küçük hücreli akciğer kanserinin kombine tedavisinde seçkin bir ilaçtır. Bunun yanında böbrek üzerine olan yan etkileri (nefrotoksisite) ayrıca ciddi bulantı yapıcı etkisi vardır. İştih ve sinir sistemi üzerinde yan etkileri bulunmaktadır. Karboplatin, siklofosamid, ifosfamid, vinka alkaloidleri, mitomisin C, etaposid, metotreksat

ve buna benzer ilaçlar diğer kamoterapotik ajanlardır. Bu ajanların özellikle kemik iliği baskılayıcı etkisi ile enfeksiyona duyarlı hale gelme ve anemi gibi ciddi yan etkileri dışında saç dökülmesi gibi psikolojik problem oluşturan yan etkileri vardır. Gemsitabin bu ajanların en yenisi olarak tedavide yer almaktadır. Gemsitabin DNA'ya eklenerek DNA zincir terminasyonuna ve aynı zamanda apoptozuna yol açar. Hücre siklusunda S fazına özgü bir ilaçtır ve sisplatin ile kombinasyonu etkinliğini artırmaktadır (8-10).

B) Akciğer Kanseri Tedavisinde Hedefe Yönelik Yaklaşımlar

Klasik tedavi modelinde kanser histopatolojik tipine göre standart bir tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır. Seçilen tedavi yöntemi belirlenen kanser genetiği yapısı ile uyumlu değil ise; hasta bu ilacın kanserli hücreleri etkileyebilme süresi içinde hem ilacın yan etkisine maruz kalabilmekte hem de tedavi edilmediği bu sürede kanser kan veya lenf yolu ile vücuda yayılarak hastanın beklenen zamandan önce kaybedilmesine neden olmaktadır. Hedefe yönelik tedavi yöntemlerinde kanser hücresi incelenerek saptanan gen mutasyonlarına göre kişiselleştirilmiş tedavi yapılabilmektedir (5, 11). Hedefe yönelik kanser tedavisinde önemli gereklilikler ve hususlar, yeterli zaman ve bütçenin olmasıdır. Akciğer kanseri hastalarında var olan risk skorlamasına göre qRT-PCR tekniği ile 14 genin ifade seviyesindeki farklılaşma sonucuna bağlı olarak hastaların ölüm oranları hakkında bilgi sahibi olunabilir. Örneğin gen ifade seviyesi (1-100 arasında değişen) 25 olan erken evre bir akciğer kanserinde, beş yıllık mortalite ortalama %50 olarak belirtilmiştir (12). Fakat akciğer kanserinin tedavisinde kişiselleştirilmiş tedavi yöntemi dünyada yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bir diğer sorun olarak bilinen EGFR mutant hastalar ya da ALK translokasyonu olan hastalarda tirozin kinaz inhibitörleri kullanılabilir de bu mutasyonu gösteremeyen kanser hastaları için acil olarak yeni mutasyonlara yönelik tedavi modelleri geliştirilmesi gereklidir.

Tirozin Kinaz İnhibitörleri

Protein fosforilasyonu yapan tirozin kinaz, protein kinaz ailesinde yer alan bir enzimdir. Tirozin kinaz, proteinlerde bulunan tirozin kalıntılarında ATP'den gelen fosfat grubunu aktarır. Bu aktarma ile hücre içinde bir sinyal oluşur ve bu oluşan sinyaller apoptoz ve hücre çoğalması gibi olayları kontrol etmesiyle burada oluşan sinyal değişimleri kanser oluşumunda önemli rol oynamaktadır.

Tirozin kinazların aktivitelerinin artışı kanser oluşumunu arttırdığının belirlenmesi sonucu bu tirozin kinazların aktivitelerinin engellenmesi ile hastalığın tedavisinin mümkün olabileceği öngörülmüştür ve çalışmalar bunun üzerine odaklanmıştır. Etkinliği gösterilen İmatinib mesilat ilk tirozin kinaz inhibitörü (TKI)'dür (13).

Küçük molekülü tirozin kinaz inhibitörleri olan sunitinib, sorafenib ve pazopanib de renal hücreli kanser tedavisinde vasküler endotelial faktör reseptörlerini inhibe edilmesinde sıklıkla kullanılırlar. Erlotinib ve Geitinib'de küçük hücreli akciğer kanseri tedavisinde kullanılan EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine örnektir. Tirozin kinazların ErbB ailesinin bir parçası olan epidermal büyüme faktörü reseptörü hücredeki proliferasyon ve apoptozu düzenleyen sinyallerin iletim yollarını kontrol eden hücre yüzey reseptürüdür (14). Bu transmembran reseptörleri hücre yüzeyinde monomer olarak bulunur ve hücre dışı sinyallerle etkileşim kurulduğunda bu reseptörler aktive olurlar. EGFR ligandları olarak bilinen epiregulin ve TGF α 'dır. Aktif olmayan durumda EGFR bloke olmuştur ve dimerize olamazlar. Bunun sebebi hücrenin dış kısmında bulunan dimerizasyon kolları katlanma şekilleri nedeni ile molekülün yüzeyinde görünmezler. Ligandlar ile gerçekleşen bağlanma uyumu olması gereken değişiklikleri aktive eder ve molekülün hücre dış kısmının açılması ile dimerizasyon kolları ortaya çıkar. Bununla birlikte dimerizasyon gerçekleşir ve EGFR'nin bir başka EGFR ile birleşmesi homodimerizasyon olarak adlandırılır.

Bir başka EGFR (örneğin Her2 ya da Her3) daha katılırsa bu sürece heterodimerizasyon denir ki bu da reseptörün dimerizasyonun aktive olması anlamına gelmektedir. ATP'den bir fosfat grubunun reseptörün sitoplazmik kuyruğundaki tirozin kinaz kalıntılarında transfer olması ile aktif hale gelir. Reseptörün aktivasyonu dimerizasyon sürecinde açılması ATP'nin reseptöre girmesi ve kinazın, kinazın fosfat transfer etmesine izin verilmesidir. epidermal büyüme faktörü reseptörünü inhibe etmek için ATP tutan açıklığa bağlanmak için ATP ile yarışan küçük bir molekül oluşturmaktır. Bununla reseptörün kinaz aktivitesi inhibe edilir. Gefitinib ve Erlotinib gibi tirozin kinaz inhibitörleri bu tedavi yöntemini geliştirmenin temelini oluşturur.

Yapılan çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer kanserli (NSCLC) hastaların bu TKI'lerle tedavisinde olumlu sonuçlar alınmamıştır fakat bir düşük seviye hastalarda olumlu yanıtlar alınmıştır. 2004 yılında bu tedavilere yanıt veren hastaların, kinazın ATP bağlayan bölgesinde yerleşmiş ve aktivasyona neden olan mutasyonların olduğu belirtilmiştir (15, 16). Aktive olmuş EGFR mutantlarındaki kinaz aktiviteleri normal EGFR moleküllerinden daha fazladır. Bu yaklaşım ile belirtilen EGFR mutantları dimerizasyona daha yatkındır (17). Ayrıca tirozin kinaz inhibitörleri, VEGF salınımını azaltarak akciğer kanserini besleyen damarlanmanın azalmasına ve bu nedenle akciğer zarları arasında sıvı birikimine yol açarak nefes darlığı oluşumuna yol açan durumu da engelleyebilir. VEGF bir disülfid-bağlı dimerik bir glikoprotein olup moleküler ağırlığı 34-45 kD, en yaygın tipleri ise VEGF 121 ve VEGF 165'dir. Öne sürülen moleküler mekanizmalar lokal vasküler geçirgenliğe ve anjiyogenez ile tümör hücresi büyümesinin uyarılması artışı, tümör hücreleri tarafından üretilen ve VEGF tarafından uyarılan Fms benzeri tirozin kinaz reseptörü (FLT-1) yoluyla damar sıvı geçirgenliğinde artış meydana gelmektedir. FLT-1 VEGF reseptörlerinin bu uyarısı ile malign tümör hücrelerinin anjiyogenez ve vaskulogenez de önemli rol oynamaktadır (18).

EGFR İnhibitörleri

Hedefe yönelik tedavi modellerinin en başarılı olanlarından biri epidermal büyüme hormon reseptör blokağı yapanlardır. Bu blokağı tirozin kinaz inhibitörleri yapar ve hücre içi EGFR kinaz domainine ATP ile yarışmalı olarak bağlanırlar (19). Anilin kinazolin olan Gefitinib ve bir kinazolin türevidir olan Erlotinib EGFR için spesifiktir. Amerika da ilk defa 2003 yılında üçüncü seçenek olarak platin bağılı kemoterapi kullanımına başlanmıştır ve son yıllarda ilk akla gelen seçenek tek başlarına veya platin-bazlı kemoterapi ile kombine olarak tedavide kullanılmıştır. Bunun yanında kurtarıcı tedavi olarak ileri evre akciğer kanserinde birlikte kullanılmışlardır (15, 20).

2011 yılında Bria ve ark.larının gerçekleştirdiğı bir çalışmada ilk tedavi seçeneğı olarak tirozin kinaz inhibitörlerinin EGFR+ olan hastalarda standart klasik tedavi yöntemlerine göre sağ kalım oranları aynı kalsa da ilacın toksisite oranında önemli derece de farklılık saptanmıştır (21). İlaç yanıtı EGFR (+) olan hastalarda klasik kemoterapiye (%47) oranla tirozin kinaz inhibitörlerinde (%71) çok daha yüksek bulunmuştur. Diğer dört çalışmada tirozin kinaz inhibitörlerinin sağ kalım oranlarında standart tedavi yöntemlerine göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği saptanmıştır (22-25).

Anaplastik Lenfoma Kinaz Gen Translokasyonu

Günümüze kadar Tirozin kinaz reseptörü olan ALK'nın ligandları bilinmemektedir. Bunun mutasyona uğrayıp EMLK4 geni ile yaptığı füzyonda onkojenik bir gen haline dönüşür. Bu enzim ilk defa anaplastik büyük hücreli lenfomada t(2:5)(p23;q35) kromozom parçalarının birbirlerine yapışıp yeni kromozom anomalileri oluşturmasından kaynaklanan kimerik protein olarak keşfedilmiştir. Bu mutasyon sonucu KHDAK'ın alt grubunda non-skuamoz tümörlerin %2 ile %7'sini oluşturur. ALK da tirozin kinaz kodlayan domein ile EML-4 de bulunan dimerizasyon domeininin birleşmesi ile tirozin kinaz aktivasyonu gerçekleşir ve füzyon proteini üretilir. Bu füzyon genidir ve bu genin transkripti gerçekleştikten hemen sonra dimerizasyon

gerçekleşir ve yeni protein aktive olur. Normal ALK reseptörü hücre zarında bulunur ve aktifleşebilmesi için liganda ihtiyacı vardır. Yeni oluşan mutant ALK proteini ise ligand olmadan sitoplazmada aktifleşebilmektedir. Krizotinib bir ALK tirozin kinaz inhibitörüdür ve %57 oranında pozitif cevap ile birlikte %33 stabil hastalık göstermiştir (26). Krizotinib, ALK düzenlenmesine sahip hastaların sigara maruziyetleri yoktur. Ayrıca yaş olarak genç hastalarda görülmüştür. Tümörlerin histolojik özelliğı adenokarsinom olarak belirtilmiştir (27).

ROS 1

NSCLC hastalarındaki ALK genlerinin yeniden düzenlenmelerinde olduğu gibi ROS-1'de de genlerin yeniden düzenlenmesi gözlemlenmiştir. Belirgin klinik özellikteki NSCLC hastalarının alt gruplarında tespit edilmiştir. Krizotinib NSCLC hastalarındaki ROS1 genlerinin yeniden düzenlenmesiyle erken klinik aktivite sergiler (28). Ayrıca ROS1 tümörleri üzerinde Krizotinib etkisi umut verici olduğu belirlenmiştir (29).

Hedefe Yönelik Tedavide Karşılaşılan Problemler

Hastalığın tedavisinde erken evrelerde cerrahi müdahalenin tedavinin başarısı için kaçınılmazdır. Hedefe yönelik tedavi kapsamında esas odaklanılan nokta ileri evre kanser hastaları içindir. Hedefe yönelik kişiselleştirilmiş tedaviler her ne kadar başarılı olmuşsa da bu hastalarda da ölümcül sonuçlanan ilaç direnci gelişmesi ve zaten ileri evre olan hastalarda progresyon önemli bir sorun teşkil etmektedir (30). Yapılan çalışmalarda EGFR+ hastalarda tirozin kinaz inhibitörü kullanılan hastaların tedavi başlangıcından 10-16 ay sonra %60-70 oranında ilaç direnci geliştiğı saptanmıştır (25). Rezistansa yönelik çalışmalarda ikincil gen mutasyonu gelişerek birinci kuşak TKI'lara direnç oluşmakta bu nedenle ikinci ve hatta üçüncü kuşak TKI'lar bu hastalarda kullanılabilir (31-33). EGFR mutasyonuna yönelik kullanılan TKI'lere rezistans gelişmesinde hastaların yarısında T790M

amino asit değişikliği ile ilaç farklı bir ATP bağlanma bölgesine yapışması söz konusu olmaktadır.

Hedefe Yönelik Tedavide Yeni Moleküler Anomaliler

FGFR1 Gen Mutasyonu

Potansiyel moleküler anomaliler üzerinde çalışmalar hala devam etmektedir. Şu anda en geçerli ilaç yanıtı oluşturabilen genetik sapmalar sıklıkla sigara içmemiş adenokarsinom hastalarında saptanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sigara içen ve skuamoz hücreli karsinom (SCC) hücre tipindeki hastalarda tanımlanan FGFR1 bir umut ışığı olmuştur. SCC de bu saptanma oranı yaklaşık %10-19 iken diğer akciğer kanser tiplerinde %1'dir (34-37). SCC de FGFR inhibisyonu ile apoptoz indüksiyonu meydana gelmektedir. Bu da terapotik etkinin temelini oluşturmaktadır. Özellikle lobüler meme karsinomunda ve endokrin rezistans tümörlerde bu molekül anomalileri yapılan çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (38, 39).

NSCLC hastalık gelişiminde bulunan MET'lerindeki genlerin kopya sayılarının arttığı gözlemlenmiştir ve MET'lerin burada görev aldığı belirtilmiştir (40). MET amplifikasyonları gelişimini EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine doğru ilerleten aktive edici EGFR mutasyonlarına sahip hastalarda belirtilmiş direnç mekanizması olarak önemlidir. TKI'li hastaların %20 kadarı MET amplifikasyonu ile EGFR direnci geliştirir. Krizotinib MET inhibitörü olarak görev yapar ve MET amplifikasyonlu hastalarda Krizotinib aktivitesi gösterilmiştir (41).

BRAF Gen Mutasyonu

MAPK sinyal yolunda görevli serin/tireonin kinaz aktivitesine sahip bir protein kodlayan BRAF geni, etkisini KRAS üzerinden göstererek hücre bölünmesini denetlerler. Kolorektal kanserlerde (CRC) %15, papiller tiroid kanserinde %45, akciğer kanserinde %1-2 oranında somatik BRAF gen mutasyonları saptanmıştır. Özellikle EGFR rezistansı gelişen vakalarda mutasyon saptanırsa önemli bir avantaj oluşturabileceği belirlenmiştir (42).

DDR2 Gen Mutasyonu

Discoidin domain reseptör 2 (DDR2), yeni bulunan bir tirozin kinaz reseptörüdür ve çeşitli kollajen yapımı, doku tamirini içeren, primer ve metastatik kanser progresyonu ile ilişkin yanıt oluşturmaktadır (43).

SONUÇ

Günümüzde akciğer kanserinde klasik tedavi yöntemlerine göre daha az yan etkilere sahip hedefe yönelik tedavi modelleri güncelliğini korumaktadır. İlerlemiş akciğer kanserinin tedavisi için, günümüzde yapılan çalışmalarda çeşitli moleküler seviyede hedefe yönelik kanser tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlardan yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemi Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)'de bulunan tirozin kinazı hedefleyen Gefitinib ve Erlotinib'dir. Uygulanan tedavilerin etkin kullanımı ile akciğer kanseri hastalarında sağkalım süresinde yükseliş olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple farmakogenomik ile hedefe yönelik ilaçlardaki gelişmeler her geçen gün umut vaatmektedir ve bu alandaki çalışmalar hızla devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Vogel F. Moderne probleme der humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd*, 1959; 12: 52-125.
2. Meyer UA. Pharmacogenetics five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet*, 2004; 5: 669-76.
3. Haydaroğlu A. Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 2000.
4. Yener NA, Apa DD, Akciğer Kanserinde Morfolojik Tanı ve Sınıflama. *Trd Sem*, 2014; 2: 281-9.
5. Huang YT, Heist RS, Chirieac LR, Lin X, Skaug V, Zienolddiny S, et al. Genome-wide analysis of survival in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2009; 27: 2660-7.
6. Zhang Y, Martens JW, Yu JX, Jiang J, Sieuwerts AM, Smid M, et al. Copy number alterations that predict metastatic capability of human breast cancer. *Cancer Res*, 2009; 69: 3795-801.
7. Turner N, Pearson A, Sharpe R, Lambros M, Geyer F, Lopez-Garcia MA, et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer. *Cancer Res*, 2010; 70(5): 2085-94.
8. Herbst RS, Lilenbaum R. Gemcitabine and vinorelbine combinations in the treatment of non-small cell lung-cancer. *J. Clin Oncol*, 1999; 13: 1609.
9. Krug LM, Rubinstein L, Sadephi A, Group LCS. Phase II trials of vinorelbine and doc-etaxel in the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Semin Oncol*, 1999; 26: 24-6.
10. Sandler AB, Nemunaitis J, Denham C. Phase III trial of gemcitabine plus cisplatin versus cisplatin alone in patients with locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2000; 18: 120-2.
11. Gazdar AF. Personalized medicine and inhibition of EGFR signaling in lung cancer. *N Engl J Med*, 2009; 361: 1018-20.
12. Kratz JR, He J, Van Den Eeden SK, Zhu Z-H, Gao W, Pham P, et al. A practical molecular assay to predict survival in resected non- squamous, non-small-cell lung cancer: development and international validation studies. *Lancet*, 2012; 379: 823-32.
13. <https://en.wikipedia.org/wiki/Imatinib> (07.10.2016)
14. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007; 7(3): 161-81.
15. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2004; 350: 2129-39.
16. Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical responses to gefitinib therapy. *Science*, 2004; 304: 1497-500.
17. Shan Y, Eastwood MP, Zhang X. 2012. Oncogenic mutations counteract intrinsic disorder in the EGFR kinase and promote receptor dimerisation. *Cell*, 2012; 149: 860-70.
18. Kiliç D, Findikcioglu A, Alver G, Akbulut H, Hatipoglu A. The diagnostic significance and the assessment of the value of vascular endothelial growth factor as a marker for success of chemical pleurodesis in malignant pleural effusion. *J Biomed Eng*, 2011; 4: 214-21.
19. Hirsch FR, Scagliotti GV, Langer CJ, Varella-Garcia M, Franklin WA. Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer: perspectives for targeted therapies. *Lung Cancer*, 2003; 1: 29-42.
20. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus Standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-smallcell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised Phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2012; 13: 239-46.
21. Bria E, Miella M, Cuppone F, Novello S, Ceribelli A, Vaccaro V, et al. Outcome of advanced NSCLC patients harboring sensitizing EGFR mutations randomized to EGFR tyrosine kinase inhibitors or chemotherapy as first-line treatment: a meta-analysis. *Ann Oncol*, 2011; 22(10): 2277-85.
22. Lee JS, Park K, Kim S. A randomized phase III study of gefitinib (IRESSA™) versus standard chemotherapy (gemcitabine plus cisplatin) as first-line treatment for never-smokers with advanced or metastatic adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Oncol*, 2009; 4(9): S283.

23. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2010; 11: 121-28.
24. Zhou C, Wu YL, Chen G. Efficacy results from the randomised phase III OPTIMAL (CTONG 0802) study comparing first-line erlotinib versus carboplatin (CBDCA) plus gemcitabine (GEM), in Chinese advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients (pts) with EGFR activating mutations. ESMO 2010 late-breaking abstracts. *Ann Oncol*, 2010; 21: 86.
25. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*, 2010; 362: 2380-88.
26. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2010; 363: 1693-703.
27. Kim DW, Ahn MJ, Shi Y, De Pas TM, Yang PC, Riely GJ. Results of a global phase II study with crizotinib in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol*, 2012; 30: 7533.
28. Kim ES, Salgia R. MET pathway as a therapeutic target. *J Thorac Oncol*, 2009; 4: 444-7.
29. Shaw AT, Camidge DR, Engelman JA, Solomon BJ, Kwak EL, Clark JW, et al. Clinical activity of crizotinib in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring ROS1 gene rearrangement. *J Clin Oncol*, 2012; 30(8): 863-7010.
30. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature*, 2012; 486: 532-36.
31. Stewart EL, Tan SZ, Liu G, Tsao MS. Known and putative mechanisms of resistance to EGFR targeted therapies in NSCLC patients with EGFR mutations-a review. *Transl Lung Cancer Res*, 2015; 4(1): 67-81.
32. Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*, 2005; 352: 786-92.
33. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*, 2005; 2: 73.
34. Weiss J, Sos ML, Seidel D, Peifer M, Zander T, Heuckmann JM, et al. Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med*, 2010; 2: 62-93.
35. Hammerman PS, Sos ML, Ramo AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, et al. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov*, 2011; 1: 78-89.
36. Seo AN, Jin Y, Lee HJ. FGFR1 amplification is associated with poor prognosis and smoking in non-small-cell lung cancer. *Virchows Archiv*, 2014; 465: 547-58.
37. Jiang T, Gao G, Fan G, Li M, Zhou C. FGFR1 amplification in lung squamous cell carcinoma: a systematic review with meta-analysis. *Lung Cancer*, 2015; 87(1): 1-7.
38. Reis-Filho JS, Simpson PT, Turner NC, Lambros MB, Jones C, Mackay A. FGFR1 emerges as a potential therapeutic target for lobular breast carcinomas. *Clin Cancer Res*, 2006; 12: 6652-62.
39. Turner N, Pearson A, Sharpe R, Lambros M, Geyer F, Lopez-Garcia MA, et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer. *Cancer Res*, 2010; 70(5): 2085-94.
40. Bergethon K, Shaw A, Ou SH, Katayama R, Lovely CM, McDonald NT, Massion PP, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol*, 2012; 30(8): 63-70.
41. Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, Hornick JL, Lindeman N, Mark EJ, et al. A novel highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*, 2010; 16: 1561-71.
42. Ohashi K, Sequist LV, Arcila ME, Moran T, Chmielecki J, Lin YL, et al. Lung cancers with acquired resistance to EGFR inhibitors occasionally harbor BRAF gene mutations but lack mutations in KRAS, NRAS, or MEK1. *Proc Natl Acad Sci*, 2012; 109: 2127-33.
43. Miao L, Wang Y, Zhu S, Shi M, Li Y, Ding J, et al. Identification of novel driver mutations of the discoidin domain receptor 2 (DDR2) gene in squamous cell lung cancer of Chinese patients. *BMC Cancer*, 2014; 24(14): 369.

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

...../...../20...

Makale Türü/Article Type:

(...) Araştırma/Research (..) Derleme/Review (..) Olgu Sunumu/Case Report (..) Editöre Mektup/Letter to Editor

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

Yayınlanması dileğiyle Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orjinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Makalenin; derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
3. Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
4. Yayın haklarının Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here, we affirm and warranty as the author(s) of this manuscript submitted to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology that;

1. The article I / We submitted to the Bulletin is original and responsibilities are belong to us ethically and scientifically,
2. The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under the evaluation of this bulletin,
3. The article contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...1) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...2) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...3) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...4) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

(...5) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

Tel/Phone : Faks/Fax : e-posta/e-mail :

Not / Note : 1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz / Please indicate the corresponding author with (X)

2. Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below by faks or mail or deliver personally.

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

e-posta/e-mail : thsk.thdbd@saglik.gov.tr

