

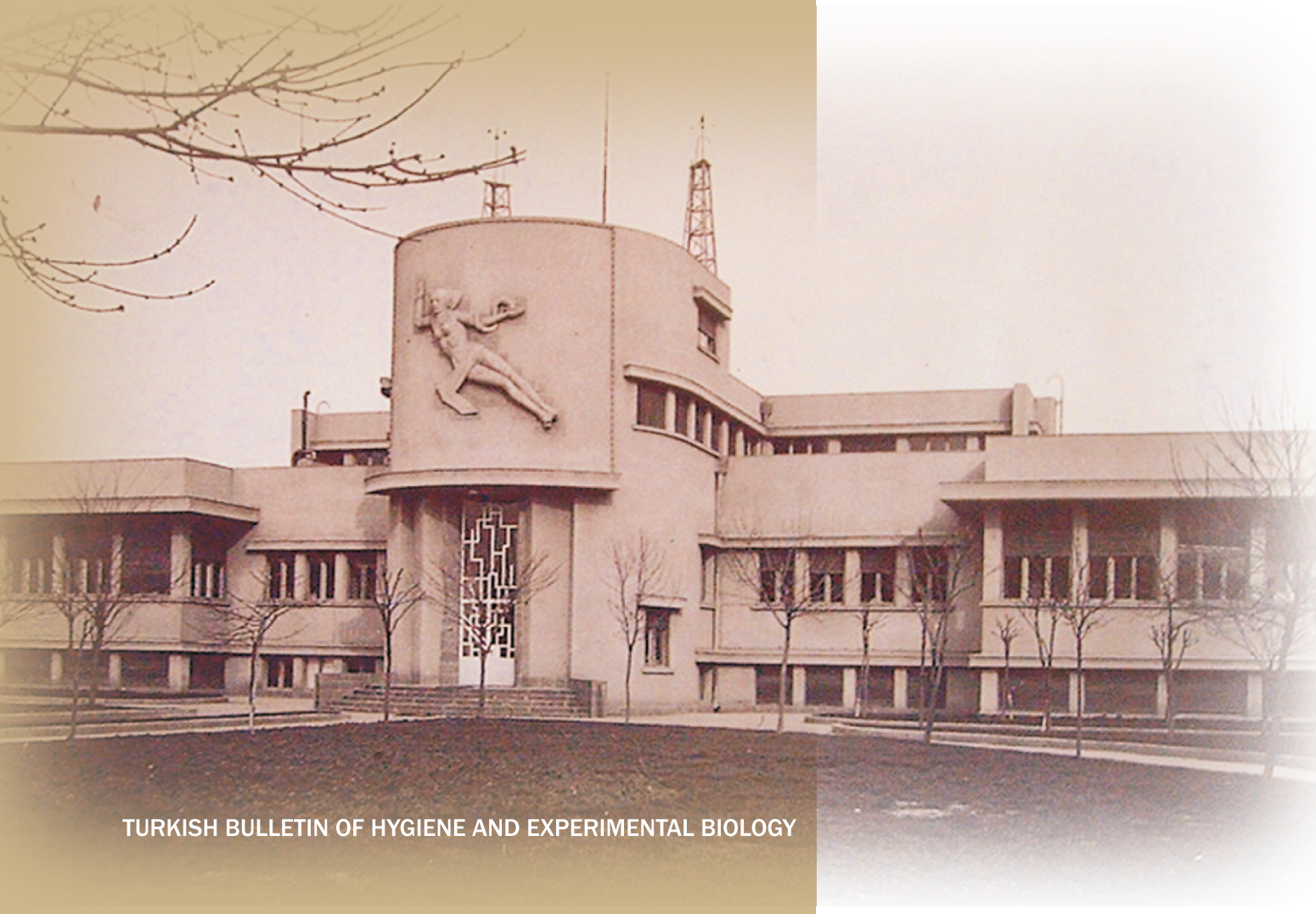


T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 70 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2013





T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

T.R.
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 70 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2013

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 Public Health Institution of Turkey

Turan BUZGAN, Başkan (President)

İDARİ KURUL / ADMINISTRATIVE BOARD

Hasan IRMAK
Mehmet Ali TORUNOĞLU
Bekir KESKİNKILIÇ
Halil EKİNCİ
Zeki KORKUTATA

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Yavuz UYAR

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN
Demet CANSARAN-DUMAN
Nurhan ALBAYRAK
Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR
Bekir ÇELEBİ
Mehmet Kürşat DERİCİ
Mestan EMEK
Arsun ESMER
Meryem JEFFERIES
Sibel KARACA
Selin NAR-ÖTGÜN
Özcan ÖZKAN
Şule ŞENSES-ERGÜL
Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Aysel AKINCI
Ahmet Murad BAYRAM
Murat DUMAN
Zeynep KÖSEOĞLU
Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır / 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 :

Kayıhan Ajans
Hoşdere Cad. No: 201/9 Çankaya-ANKARA
Tel: +90 312 442 72 72
e-posta: kayihanajans@gmail.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2013

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MİRAZMİ, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, Germany

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADİLOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut AYTAÇ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Banu ÇAKIR, 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

Dilek ARSLAN, Ankara

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Dürdal US, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU-ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Gül ERGÖR, İzmir	Oğuz GÜRSOY, Denizli
Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara	Orhan BAYLAN, İstanbul
Gülberk UÇAR, Ankara	Orhan YILMAZ, Ankara
Gülnur TARHAN, Kırşehir	Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara
Hakan ABACIOĞLU, İzmir	Özlem KURT-AZAP, Ankara
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun	Pınar OKYAY, Aydın
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul	Rahmet GÜNER, Ankara
Hasan TEZER, Ankara	Recep AKDUR, Ankara
Hürrem BODUR, Ankara	Recep KEŞLİ, Konya
Işıl MARAL, İstanbul	Recep ÖZTÜRK, İstanbul
İ.Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir	Rıza DURMAZ, Ankara
İrfan EROL, Ankara	S. Aykut AYTAÇ, Ankara
İrfan ŞENCAN, Ankara	Sami AYDOĞAN, Kayseri
İsmail CEYHAN, Ankara	Seçil ÖZKAN, Ankara
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara	Seda KARASU-YALÇIN, Bolu
Koray ERGÜNAY, Ankara	Seda TEZCAN, Mersin
Levent AKIN, Ankara	Selçuk KAYA, Trabzon
Mahinur AKKAYA, Ankara	Selçuk KILIÇ, Ankara
Mehmet Ali ONUR, Ankara	Selim KILIÇ, Ankara
Metin KORKMAZ, İzmir	Sema BURGAZ, Ankara
Mithat ŞAHİN, Kars	Sercan ULUSOY, İzmir
Muhsin AKBABA, Adana	Sultan ESER, İzmir
Murat DİZBAY, Ankara	Suzan ÖZTÜRK-YILMAZ, Sakarya
Murat GÜNAYDIN, Samsun	Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa
Murat HÖKELEK, İstanbul	Sümer ARAS, Ankara
Mustafa KAVUTÇU, Ankara	Tevfik PINAR, Kırıkkale
Mutlu ÇELİK, Kocaeli	Yeşim ÇETİNKAYA-ŞARDAN, Ankara
Mükerrem KAYA, Erzurum	Yeşim ÖZBAŞ, Ankara
Nazmi ÖZER, Ankara	Yeşim TUNÇOK, İzmir
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara	Zafer ECEVİT, Ankara
Nur AKSAKAL, Ankara	Zafer KARAER, Ankara
Nur Münevver PINAR, Ankara	Zati VATANSEVER, Kars
Nuran ESEN, İzmir	Zehranur YÜKSELDAĞ, Ankara
Nuri KİRAZ, İstanbul	Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen makaleler, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular www.turkhijyen.org adresinden "Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı" aracılığıyla online olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

1- "Telif hakkı devir formu" (Copyright Release Form) tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra Dergimize iletilmelidir. Bu forma www.turkhijyen.org adresinden ulaşılabilir.

2- Başlık sayfasında makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çalışılan kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

a) Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
b) Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
c) Akademik unvan kullanılmadan meslek unvanı belirtilebilir.
d) Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı üniteye çalışan yazarların kurumlarının sıralaması göz önünde bulundurularak soyadları sonuna numara verilmelidir (Örnek; Duman 1, Yılmaz 2, Çetin 1,).

e) Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

f) 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 Türkçeye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

4- Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımda 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 yazılmalıdır. Antibiyotik isimleri uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.

5- Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri "The Systême International" (SI)'e göre verilmelidir.

6- Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "mişli geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır.

7- A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, her bir kenarlarından 2,5'ar cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto, "Times New Roman" yazı karakteri ve iki satır aralığı (double space) kullanılmalıdır.

8- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, yazarlardan araştırma ve yayın etiğine uyumlu olunmasını istemektedir. İnsan araştırmalarında, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olurun (yazılı veya sözlü) alındığının gereç ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yerel etik kurullarına sahip olmayan yazarlar, Helsinki Bildirgesinde (www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf) ana hatlarını çizilen ilkeleri izlemelidirler. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve "İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmelik ve yazılarda belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları "Etik Kurul Onayı"nı göndermelidirler.

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

10- Hasta kimliğini tanıttak fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

11- Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

a) **Araştırma yazıları;** Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölümler, sola yaslanacak şekilde büyük harflerle katın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır.

Türkçe Özet: Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 sözcük içermelidir. Kısa raporlarda sözcük sayısı en az 100, en fazla 200 olmalıdır.

İngilizce Özet (Abstract): Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde "Objective, Method, Results, Conclusion" olarak yapılandırılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Türkçe ve İngilizce özetlerin altında verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve Tıp Konuları Başlıkları (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH)'nda yer alan sözcükler kullanılmalıdır. MeSH için şu internet adresine başvurulabilir: www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html

Giriş: Araştırmanın amacı, benzer çalışmalarla ilgili literatür bilgisi kısaca sunulmalı ve iki sayfayı aşmamalıdır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmanın gerçekleştirildiği kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem açıkça sunulmalıdır. İstatistiksel yöntemler açıkça belirtilmelidir.

Bulgular: Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir.

Tartışma: Bu bölümde, araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

Teşekkür Bölümü: Teşekkür bölümü, ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalı ve bir paragrafı geçmemelidir.

Kaynaklar: Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımı 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/general/text/requirements/1.htm>) bakılmalıdır.

Sürekli 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 numaraları.

• Standart 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 panceras (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.

• Dergi eki için örnek: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functinal 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. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

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

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

• Örnek: Weinstein L. Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiol ogy: 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, Mascaro 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 dipnotta 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.

b) **Derleme türü yazılarda;** tercihen 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 sözcük içermelidir) ve anahtar sözcükler bulunmalıdır.

c) **Olgu sunumlarında;** metin yedi sayfayı, kaynak sayısı 20'yi aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 100, en fazla 200 sözcük) ve anahtar sözcükler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır.

d) Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulunun inceleme ve değerlendirmesinin ardından "Editöre Mektup" bölümünde yayınlanır. Bu yazıların bir sayfayı aşmaması ve en fazla beş kaynakla desteklenmesi gerekmektedir.

12- Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

13- 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 54 55

e-posta : turkhijyen@thsk.gov.tr

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the writing 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, Track, Evaluation Program".

Manuscripts are sought according to the following rules:

1- The "Copyright transfer form" (Copyright Release Form) should be sent to the Journal and signed by all authors. This form can be downloaded from www.turkhijyen.org

2- The title page should consist of the article title, English title, short title, author name(s), names of the institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (fixed and mobile) and mail address of the correspondence author:

- a) The title should be short and in capital.
- b) The short title should not exceed 40 characters.
- c) Occupational titles can be stated without the use of academic titles.
- d) If the article is written by multiple authors and the authors working in the same Department, than according to their institutional orders, numbers should be given after their surname (e.g., Duman1, Yılmaz2, Çetin1,).
- e) Studies supported by a fund or organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.
- f) Articles presented in a conference / symposia must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3- 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*. Genus names like staphylococcus and streptococcus that had settled into our language can be written in Turkish. Names of antibiotics should be written as they are read in terms of language integrity. 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 Journal 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 method. 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, who do not have a local ethics committee, should declare that they have followed the internationally accepted guidelines, the "Pharmaceutical Research and Regulation" legislation and other related regulations.

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- When writing an article the following items should be considered:

a) Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and References section. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish.

Turkish abstracts should be structured and consist of subheadings (Objective, Methods, Results and Conclusion) and at least have 300 words, and should contain no more than 500 words.

English abstract: The title should be in English, and structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion).

Key words should be given under Turkish and English.

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. These MeSH terms can be found at the following Internet address: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>

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

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

Results: The findings should be stated clearly.

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

Acknowledgements should be placed at the end of the main text and before the references, and should not exceed more than one paragraph.

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, Celebrity M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitoloj 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 data 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 papers: 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 Ö. 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.

b) 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 and key words.

c) Case reports should have a maximum of seven pages of text and the number of references should not exceed 20. Case report should have a Turkish and English title, abstract, keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given.

d) Letters written to make criticisms, contributions or to give news related to previously published articles will be published in the "Letters to the Editor" section after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to five references.

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

13- 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 54 55

e-mail : turkhijyen@thsk.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 mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, toksikoloji, parazitoloji, entomoloji, biyokimya, gıda güvenliği, çevre sağlığı, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, molekuler biyoloji ve genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki makaleler Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergide, daha önce başka yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.
- Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayınlanan 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'e uygun) verildi.
 - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltilti.
 - 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 Journal of Hygiene and Experimental Biology, is a publication of the Public Health Institution of Turkey. The Journal is published every other three months and one volume consist of four numbers.
- The journal publishes microbiology, immunology, pharmacology, toxicology, parasitology, entomology, biochemistry, food safety, environmental health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology and genetics in the field of original research, case reports, reviews, and letters to the editor. Articles are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or are not currently under evaluation elsewhere can be published in the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released when received 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 should obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Bulletin of Experimental Hygiene 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;

CABI Index		Ulrichsweb and Serials Solutions		ULRICHSWEB™ GLOBAL SERIALS DIRECTORY
Chemical Abstracts Service (CAS)		TURK MEDLINE		TURK MEDLINE
DOAJ		Türkiye Atıf Dizini		TÜRKİYE ATIF DİZİNİ
Index Copernicus		Genamics JournalSeek		GENAMICS™ ...research from your desktop
Google Scholar		NewJour		New Jour • Electronic Journals & Newsletters •
Open J-Gate		TUBİTAK-ULAKBİM		TUBİTAK ULAKBİM
Academic Journals Database		BASE		BASE Bielefeld Academic Search Engine
Scirus Scientific Database		Ovid LinkSolver		Wolters Kluwer Health Ovid LinkSolver™
Libsearch		Akademik Dizin		Akademik Dizin Akademik Türk Dergileri İndeksi

tarafından dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Turk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts, Index Copernicus, Google Scholar, DOAJ (Directory of Open Access Journals), Open J-Gate, CAS (Chemical Abstracts Service), Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Libsearch, BASE, Ovid LinkSolver, Türkiye Atıf Dizini, Akademik Dizin, TUBİTAK-ULAKBİM, and TURK-MEDLINE.

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 Mah. Adnan Saygun Cad. Nu: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 54 55

e-posta: turkhijyen@thsk.gov.tr

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

www.turkhijyen.org

İÇİNDEKİLER

Araştırma Makalesi

- 1. 2003-2011 yılları içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde anti HCV görülme sıklığı ve pozitifliklerin yıllara göre karşılaştırılması** 1 - 6
Aslı ÇABUK, Cem ÇELİK, Rakibe KAYGUSUZ, Mustafa Zahir BAKICI
- 2. İlaçlama sektöründe çalışan işçiler ile zehirlenme şüphesi görülen hastaların kolinesteraz seviyelerinin belirlenmesi** 7 - 14
Banuçiçek YÜCESAN, Mürsel KURT, Figen SEZEN, Serdar Alp SUBAŞI
- 3. Metalürji işçilerin saç örneklerinden tespit edilen arsenik düzeyleri** 15 - 20
Vugar Ali TÜRKSOY, Dilek KAYA, Hınç Ömer YILMAZ, Tülin SÖYLEMEZOĞLU
- 4. Maraşotu (*Nicotiana rustica L.*) kullanımının lenfosit alt gruplarına etkilerinin araştırılması** 21 - 26
Murat ARAL, İbrahim ARAL, Hasan Çetin EKERBİÇER, Mustafa ÇELİK, Serpil Şeriban DOĞAN, Nuriye İsmihan Ece PAKÖZ

Olgu Sunumu

- 5. Ankara İli Kazan İlçesi kırsal bölgesinden bir hantavirüs enfeksiyonu olgusu** 27 - 32
Ayşegül ULU-KILIÇ, Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK, Gülay DEDE, Ediz TÜTÜNCÜ, Yavuz UYAR, İrfan ŞENCAN

Derleme

- 6. Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi** 33 - 42
Zülal ATLI-ŞEKEROĞLU
- 7. İnokulasyonun multifokal tekniği kullanılarak walker 256 tümörüne histopatolojik olarak yaklaşımlar** 43 - 49
Maria Rita Garbi NOVAES, Roberto Cañete VILLAFRANCA, Luiz Carlos Garcez NOVAES

CONTENTS

Original Article

- 1. Anti HCV frequency and comparison of its positiveness by year obtained of Cumhuriyet University Medical Faculty Hospital between 2003-2011** 1 - 6
Aslı ÇABUK, Cem ÇELİK, Rakibe KAYGUSUZ, Mustafa Zahir BAKICI
- 2. Determination of cholinesterase levels of the employees working at the pharmaceutical sector and the patients suspected of being poisoned** 7 - 14
Banuçiçek YÜCESAN, Mürsel KURT, Figen SEZEN, Serdar Alp SUBAŞI
- 3. Hair arsenic levels of metalurgical workers** 15 - 20
Vugar Ali TÜRKSOY, Dilek KAYA, Hınç Ömer YILMAZ, Tülin SÖYLEMEZOĞLU
- 4. Investigation of the effects of lymphocyte sub-groups of the use of Maraş powder (*Nicotiana rustica* L.)** 21 - 26
Murat ARAL, İbrahim ARAL, Hasan Çetin EKERBİÇER, Mustafa ÇELİK, Serpil Şeriban DOĞAN, Nuriye İsmihan Ece PAKÖZ

Case Report

- 5. A hantavirus infection case report from rural area of Kazan district, Ankara** 27 - 32
Ayşegül ULU-KILIÇ, Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK, Gülay DEDE, Ediz TÜTÜNCÜ, Yavuz UYAR, İrfan ŞENCAN

Review

- 6. From nanotechnology to nanogenotoxicology: genotoxic effect of cobalt-chromium nanoparticles** 33 - 42
Zülal ATLI-ŞEKEROĞLU
- 7. Histopathological aspects of walker 256 tumor using the multifocal technique of inoculation** 43 - 49
Maria Rita Garbi NOVAES, Roberto Cañete VILLAFRANCA, Luiz Carlos Garcez NOVAES

2003-2011 yılları içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde anti HCV görülme sıklığı ve pozitifliklerin yıllara göre karşılaştırılması

Anti HCV frequency and comparison of its positiveness by year obtained of Cumhuriyet University Medical Faculty Hospital between 2003-2011

Aslı ÇABUK¹, Cem ÇELİK², Rakibe KAYGUSUZ¹, Mustafa Zahir BAKICI¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, 2003-2011 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran hastalardan hepatit şüphesiyle mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan örneklerinde HCV antikorunun görülme sıklığı ve yıllar arasındaki dağılımların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada; 2003-2011 yıllarını kapsayan dokuz yıllık dönemde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesine başvuran hastaların anti HCV sonuçları laboratuvar kayıtlarından geriye dönük olarak incelenmiştir.

Bulgular: 2003-2011 yılları arasında mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen toplam 255.764 kan örneğinin 5085 (%1,9)'inde anti HCV testi pozitif bulunmuştur. Bulunan HCV antikoru oranları yıllara göre karşılaştırıldığında ise oranların %1,7 ile %2,3 arasında değiştiği görülmüştür.

Sonuç: HCV enfeksiyonunun güncelliğini sürdürmekte olduğu görülmektedir. Hastalığın kontrol altında tutulabilmesi için verilerin sürekli olarak güncellenmesi gerekmektedir. Çalışmanın bu konudaki literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti HCV pozitif, anti HCV testi, HCV antikoru, seroprevalans

ABSTRACT

Objective: In this study, it is aimed to compare the prevalence of HCV antibody in hepatitis suspected blood samples taken from the patients applying to the Research and Practice Hospital of Cumhuriyet University between the years 2003 and 2011 and the rates of HCV antibody in those years.

Methods: In this study, the anti HCV results of patients applied to the Research and Practice Hospital of Cumhuriyet University between the years 2003 and 2011 are investigated according to the retroactive records of laboratory.

Results: In 5085 blood samples (1.9%) of 255764 in total sent to the microbiology laboratory between the years 2003 and 2011, anti HCV test is found positive. Of the total of 255.764 samples sent to the microbiology laboratory between the years 2003 and 2011, 5085 (1.9%) samples were found positive. When the rates of HCV antibody were calculated within the years, it was determined that rates varied between 1.7% and 2.3%.

Conclusion: It can be seen from the data found in this study that HCV infection maintains its up-to-dateness. The data should be updated in order to keep the illness under control constantly. It is thought that study may contribute the literature on this subject.

Key Words: Anti HCV positive, anti HCV test, HCV antibody, seroprevalence

¹ Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Lab., SİVAS

² Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, SİVAS

İletişim / Corresponding Author : Cem ÇELİK

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, SİVAS

Tel : +90 346 258 13 66

E-posta / E-mail : ccelik@cumhuriyet.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 09.07.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 03.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.72470

Çabuk A, Çelik C, Kaygusuz R, Bakıcı ZM. 2003-2011 yılları içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde anti HCV görülme sıklığı ve pozitifliklerin yıllara göre karşılaştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 1-6.

GİRİŞ

Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu; kronik hepatit, karaciğer sirozu ve karaciğer kanserine yol açan önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir. Dünyada yaklaşık olarak 170-210 milyon kişinin HCV ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Akut ve kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinoma gibi hastalıklar için en önemli risk faktörlerinden biri olan HCV'nin bütün karaciğer hastalıklarının %25-40 kadarından sorumlu olduğu bildirilmektedir (1-4).

HCV, yaklaşık 50 nm büyüklüğünde, küreye benzer şekilde, pozitif polariteli, tek iplikçikli bir RNA virüsüdür (5, 6). HCV enfeksiyonu, görülme sıklığı açısından kıtalar ve ülkeler arasında ya da aynı ülkede değişik bölgeler arasında farklılıklar gösterebilse de tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık %3'nün HCV taşıyıcısı olduğu bilinmektedir (5-7). Gelişmiş ülkelerde anti HCV görülme sıklığı %1-2 arasında değişmektedir. Türkiye'de bu oran %1-2,4 arasında değişmektedir (7). HCV başlıca kan ve kan ürünleri, damar içi ilaç bağımlılığı, transplantasyon, hemodiyaliz, enfekte iğne batması gibi parenteral yollarla bulaşan bir virüstür (6, 8, 9). Ancak parenteral temas öyküsü olmayanlarda da anti HCV pozitifliğinin saptanması; cinsel yol, perinatal bulaş, aile içi bulaş gibi nonparenteral bulaş şekillerinin varlığını ortaya koymaktadır (6, 10). Pek çok RNA virüsü gibi HCV'nin de genom düzeyinde değişkenliği fazladır. Bu özellik, virüsün immün yanıtta kaçarak dirençli bir biçimde var olmasını ve enfeksiyonun sürekliliğini sağlamaktadır (11, 12).

HCV'nin neden olduğu enfeksiyonun yüksek oranda kronikleşmesi, yüksek oranda mutasyona uğrayarak yeni genotip ve subtiplerin ortaya çıkması, tam bağışıklığın oluşmaması, tedavisinin kesin olmaması, sağlık çalışanlarının risk grubunda olması, henüz bir aşısının bulunmaması nedenleri ile dünyada ve ülkemizde giderek daha büyük bir toplum sağlığı sorunu haline geldiği bildirilmektedir (13).

Çalışmamızda; 2003-2011 yılları içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarına hepatit şüphesiyle gönderilen kan örneklerinde HCV antikorunun görülme sıklığı ve yıllar arasındaki dağılımının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda; 2003-2011 yılları içerisinde Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran hastalardan alınan kan örneklerinin anti HCV test sonuçları geriye dönük olarak incelenmiştir. Ayrıca; Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 12.06.2012 tarih ve 2012-06/04 nolu uygunluk kararı ile çalışmamız yürütülmüştür.

2003-2008 yılları arasında hepatit şüphesi ile gönderilen ve acil olarak çalışılması istenen örnekler Abbott marka test kitleri ile diğer örnekler ise Biokit marka test kitleri ile çalışılmıştır. 2009 yılından itibaren ise tüm örnekler Abbott marka test kitleri kullanılarak çalışılmıştır. Doğrulama için tüm çalışma süresi boyunca tek bir marka (Innogenetics marka INNOLIA HCV Score test kitleri) ile örnekler çalışılmıştır. Abbott AxSYM ve Architect makro ELISA cihazlarında, Abbott marka test kitleri kullanılarak üretici firma çalışma talimatları çerçevesinde yapılmıştır. Abbott AxSYM HCV Version 3.0 kitinin çalışma prensibi, insan kan serumu ve plazmasında bulunan HCV antikorlarının mikropartikül enzim immünoassay (MEIA) tekniği ile kalitatif tespitine dayanmaktadır. Abbott Architect anti HCV kitinin çalışma prensibi ise insan kan serumu ve plazmasında bulunan HCV antikorlarının kemilüminesans mikropartikül enzim immünoassay (CMA) tekniği ile kalitatif olarak tespitine dayanmaktadır. Bu testin özgüllüğünün %99,84, duyarlılığının ise %100 olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, Best 2000 ve Triturus mikro ELISA cihazlarında Biokit marka test kitleri kullanılarak çalışılmıştır. Bioelisa HCV 4.0 kitinin çalışma prensibi, insan kan serumu ve plazmasında bulunan HCV antikorlarının immünoenzimatik yöntem (EIA) tekniği ile tespitine dayanır. Bu testin özgüllüğünün %99,6, duyarlılığının ise %100 olduğu bildirilmiştir.

HCV doğrulama testi için AUTO-LIA II cihazında, INNOLIA HCV Score test kitleri kullanılarak (Innogenetics) çalışılmıştır. HCV doğrulama testi Line Immunoassay (LIA) yöntemi ile çalışılmıştır. Bu testin özgüllüğü %94,3, duyarlılığı %100 olarak verilmiştir.

BULGULAR

Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi poliklinik ve servislerinden 2003-2011 yılları içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 255.764 kan örneğinin anti HCV testi sonuçları, laboratuvar kayıtları geriye dönük olarak incelenmiştir. Bulunan HCV antikoru oranları yıllara göre karşılaştırıldığında oranların %1,7 ile %2,3 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 1). Elde edilen sonuçların yıllara göre dağılımı Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. 2003-2011 yılları arasında çalışılan anti- HCV testi örneklerin değerlendirilmesi

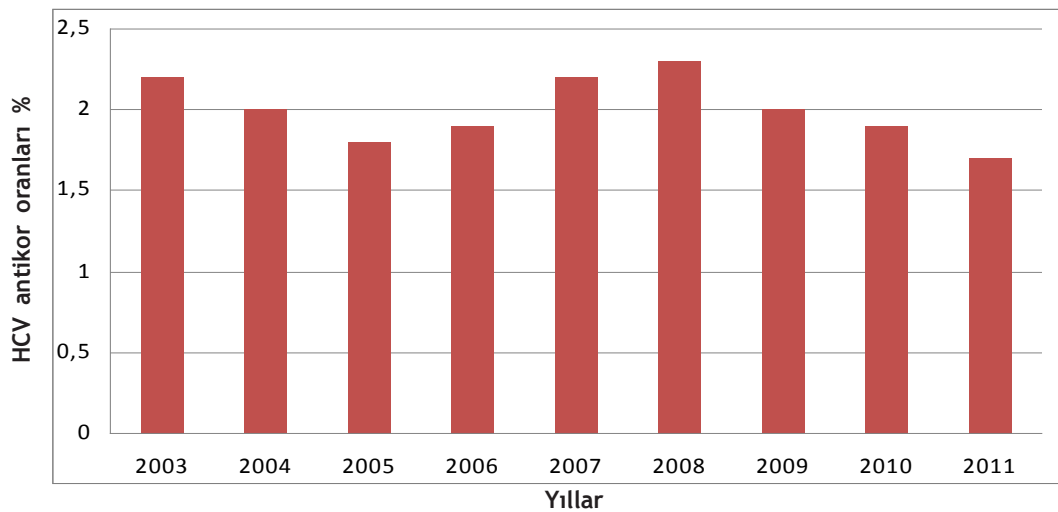
Yıllar	İncelenen örnek sayısı	Anti-HCV pozitif örnek sayısı	(%)
2003	17.036	374	2,2
2004	20.217	386	2,0
2005	24.244	421	1,8
2006	23.807	438	1,9
2007	19.792	419	2,2
2008	36.815	848	2,3
2009	35.762	748	2,0
2010	36.879	735	1,9
2011	41.212	716	1,7
Toplam	255.764	5.085	1,9

TARTIŞMA

Tüm dünyada en önemli sağlık problemlerinden biri olan viral hepatitler, topluma çok büyük ekonomik maliyetler getirmekte ve sağlık yönetimleri için çözümlenmesi güç sorunlardan biri olarak ortaya çıkmaktadır. HCV enfeksiyonu, görülme sıklığı açısından kıtalar ve ülkeler arasında ya da aynı ülkede değişik bölgeler arasında farklılıklar gösterse de tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir (6, 7, 14).

Çalışmamızda; hastanemiz poliklinik ve servislerinden 2003-2011 yılları içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 255.764 kan örneğinin test sonuçları incelenmiş, dokuz yıllık anti-HCV pozitiflik oranının ortalaması %1,9 olarak bulunmuştur.

Aslan ve ark. (15); Şanlıurfa’da yaptıkları çalışmada anti HCV pozitifliğini %2,6 olarak saptamışlardır. Nazlıgül ve ark. (16); ise yine aynı bölgede yaptıkları başka bir çalışmada %1,9 anti HCV pozitif oranı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Öner ve ark. (17); Kayseri’de yaptıkları çalışmada %1,9, Tekeroğlu ve ark. (19); Malatya’da yaptıkları çalışmada %2,5, Tekay (19); Hakkâri’de yaptığı çalışmada %1, Ağuş ve ark. (20); İzmir’de yaptıkları çalışmada %0,54, Kögelier ve ark. (21); Adıyaman’da yaptıkları çalışmada %1,1, Turan ve ark. (22); Konya’da yaptıkları çalışmada %0,5, Altındiş ve ark. (23); Afyon’da yaptıkları çalışmada %0,33 olarak anti HCV oranları bildirilmiştir. Yine Delialioğlu ve ark. (24); Mersin’de %3,9, Kandemir ve ark.’ı (25); Konya’da %3,2’lik sonuçlar



Şekil 1. 2003-2011 yılları arasındaki anti- HCV pozitifliklerinin yıllara göre % dağılımı

bildirmişlerdir. Ülkemizde son zamanlarda yapılan iki yeni çalışmada anti-HCV oranları Tunceli’de %0,9 ve Mersin’de %1,1 olarak bulunmuştur (26, 27). Ülkemizde yapılan bu çalışmalar incelendiğinde bölgesel olarak küçük de olsa bazı farklılıkların olduğu görülmüştür.

Bu farklılıkların; çalışılan hasta sayısı, hasta gruplarının farklılığı, kullanılan test kitlerinin ve çalışma yöntemlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bütün bu çalışmalardan ülkemizdeki anti HCV sıklığının %1-3 arasında olduğu anlaşılmaktadır. Çalışmamız sonuçlarına göre hastanemizde anti HCV sıklığı %1,9 ile ülkemiz ortalama değerleri arasındadır.

Transfüzyonla geçişlerin düşük oranlara çekilebildiği günümüzde, HCV antikor oranlarının yine de belirli bir düzeyden aşağı çekilememiş olmasının toplumsal yaşam alışkanlıklarından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Örneğin; dövme yaptırma, damar içi madde kullanımı vb. girişimler günümüzde giderek artmaktadır. Yine kuaför vb. yerlerde uygun olmayan şekilde uygulamalar yapılabilmektedir. Bu nedenle HCV enfeksiyonu ile ilgili eğitimlerin toplumun tüm kesimlerine verilmesi gerektiği düşünülmektedir.

HCV enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir ve sıklığı yaklaşık %3 civarındadır (7). Prevalansın en düşük olduğu Kuzey Avrupa’da HCV prevalansı %1’den düşüktür. Prevalansın yüksek olduğu ülkeler ise Asya ve Afrika’da yer almaktadır. En düşük prevalans İngiltere ve İskandinav ülkelerinden (%1’in altında), en yüksek prevalans ise Mısır’dan (%17-26) bildirilmiştir. Düşük prevalansı olan ancak nüfusu kalabalık gelişmiş ülkelerde,

örneğin Almanya’da prevalans %0,6, Kanada’da %0,8, Fransa ve Avustralya’da %1,1’dir. Daha yüksek prevalans oranları Amerika Birleşik Devletleri’nden (%1,8), Japonya’dan (%1,5 - 2,3) ve İtalya’dan (%2,2) bildirilmiştir (7).

Gelişmekte olan ülkeler arasında prevalans yönünden önemli farklılıklar vardır. Örneğin dünya nüfusunun beşte birini barındıran Çin’de prevalans %3,2, bir diğer kalabalık ülke olan Hindistan’da ise %0,9’dur. 70 milyonluk bir ülke olan Mısır’da ise prevalans yaklaşık %17-26’dır (28, 29). Sosyoekonomik koşulların ve bu alandaki eğitimlerin prevalans oranları üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde son yıllarda kan donörlerinde düzenli taramaların yapılmasının, hijyen konusundaki eğitimlerin ülkemizdeki oranların Mısır, Libya gibi ülkelere oranla çok daha iyi seviyelerde kalmasını sağladığı düşünülmektedir.

Bütün bu çalışmalar göstermektedir ki, HCV’ye bağlı enfeksiyonlar, ülkemizde ve dünyada önemli bir sorun oluşturmaya devam etmektedir. Günümüzde HCV’ye bağlı kronik karaciğer hastalıkları, geçmiş yıllardaki yaygın bulaşmaların sonucudur ve oldukça önemli boyuttadır (28). HCV tanı, tedavi, aşı vb. çalışmalarda ilerlemenin sağlanamaması durumunda gelecekte de sorun olmaya devam edeceği sanılmaktadır. Gelecekte HCV enfeksiyonlarına bağlı kronik karaciğer hastalığı vb. komplikasyonların, toplumu ne düzeyde etkileyeceğinin belirlenebilmesi için HCV oranlarındaki değişimlerin bilinmesi ve izlenmesi gerekmektedir. Çalışmamızın bu konudaki literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akhan S. Virüs Enfeksiyonları HCV. In: Topçu AW, Söyletir G ve Doğanay M. eds Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 2008; 1911-27.
2. Kupfer B. HCV. In: Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, eds. Virology Hepatology, 2009; 75-88.
3. Pan JJ, Firpi RJ. The management of hepatitis C Gastroenterol Dietol, 2009; 55:23-35.
4. But DY, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol, 2008;14: 1652-6.

5. Etiz N, Türkoğlu S. Viral hepatitlerin tanısında kullanılan testler ve standardizasyon. In: Tabak F, Balık İ ve Tekeli E, eds. Viral Hepatit, 2005; 127-45.
6. Demirtürk N. Hastane kaynaklı bir akut hepatit C olgusu. İnfeksiyon Derg, 2003;17(4): 491-3.
7. Sünbül M. HCV enfeksiyonu. HCV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma. In: Tabak F, Balık İ ve Tekeli E, eds. Viral Hepatit, 2007; 208-17.
8. Kandemir Ö, Şahin E, Çamdeviren H, Kaya A. Hepatit C virüsü ve aile içi bulaş. Türk Klin Mikrobiyol Enf, 2003; 2: 6-11.
9. Uçmak H, Çelik M, Kökoğlu ÖR, Kuzhan N, Toprak R, Güler E ve ark. Kronik hepatit C'li hastalarda ve ailelerinde HCV bulaşı ile ilgili risk faktörlerinin değerlendirilmesi. Viral Hepatit, 2007; 12(1): 24-9.
10. Wasmuth JC. Hepatitis C. Epidemiology, transmission and natural history. In: Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, eds. Hepatol, 2009; 37-46.
11. Di Bisceglie AM. Hepatitis C. Lancet, 1998; 251: 351-5.
12. Mehtap Ö. Kronik hepatit C tedavisinde peginterferon alfa 2a artı ribavirin kombinasyonu ile interferon alfa 2a artı ribavirin kombinasyon tedavilerinin viral yanıt üzerine etkinliği. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.
13. Doldur Ç, Çöl C, Dağlı Z. Hepatit C virüsüne yenilmeyelim. STED Derg, 2000; 1.
14. Leblebicioğlu H. Kronik hepatit C'de güncel tedavi. ANKEM Derg, 2006; 20(2): 208- 12.
15. Aslan G, Ulukanlıgil M, Seyrek A. Şanlıurfa ilinde HBsAg, anti HBs ve anti HCV seroprevalansı. Viral Hepatit, 2001; 7(3): 408-10.
16. Nazlıgül Y, Dalmaz M, Vural H, Uslusoy H, Coşkun A. Harran Üniversitesi hastanesi dâhiliye polikliniğine başvuranlarda anti HCV pozitiflik sıklığı. Genel Tıp Derg,1998; 8(1): 5-7.
17. Öner M, Güney A, Halıcı M, Argün M, Kafadar İ. Ortopedik cerrahi uygulanan olgularda hepatit B ve hepatit C prevalansı: 10 yıllık retrospektif çalışma. Genel Tıp Derg, 2007; 17(3): 167-71.
18. Tekeroğlu MS, Ay S, Özerol İH, Bulut Y, Durmaz R. Malatya'da hepatit şüpheli kişiler ve hemodiyaliz hastalarında hepatit C virüsü antikorlarının seroprevalansı. İÜ Tıp Fak Derg, 2001; 8(4): 205-7.
19. Tekay F. Hakkâri ilinde HBV, HCV ve HIV seroprevalansı. Dicle Tıp Derg, 2006; 33(3): 170-3.
20. Ağuş N, Yılmaz NÖ, Cengiz A, Şanal E, Sert H. Kan donörlerinde HBsAg, Anti HCV, Anti HIV seroprevalansı. ANKEM Derg, 2008; 22(1): 7-9.
21. Kölgeliler S, Güler D, Demiraslan H. Adıyaman'da gebe kadınlarda HBsAg ve Anti HCV sıklığı. Dicle Tıp Derg, 2009; 36(3): 191-4.
22. Turan H, Şerefhanoglu K, Ünler GK, Arslan H. Konya ilinde kan donörlerinde HBs Ag ve Anti HCV seroprevalansı yaş ve cinsiyetle ilişkisi. KLİMİK Derg, 2011; 24(1): 36-9.
23. Altındış M, Kalaycı R, Koçoğlu F, Aktepe OC. Afyonkarahisar ili kan donörlerinde beş yıl süre ile enfeksiyon etkenlerinin araştırılması. Kocatepe Tıp Derg, 2007; 8: 1-4.
24. Delialioğlu N, Öztürk C, Aslan G. Mersin ilinde HBsAg, Anti HBs, Anti HCV ve Anti HDV seroprevalansı. Viral Hepatit, 2001; 7(3): 416-8.
25. Kandemir B, Bititgen M, Arbaş ET. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi klinik bakteriyoloji ve enfeksiyon hastalıklar kliniğinde 1990-2004 yılları arasında yatırılarak izlenen akut viral hepatit olgularının değerlendirilmesi. Selçuk Tıp Derg, 2007; 23: 77-83.
26. Asan A, Akbulut A, Saçar S, Turgut H. Tunceli devlet hastanesine başvuran kişilerde HBsAg ve Anti-HCV seroprevalansının değerlendirilmesi. Viral Hepatit, 2011; 17(2): 52-6.
27. Kandemir Ö, Göksu M, Kurt Ö. Mersin İli kentsel bölge ve kent merkezine bağlı belde köy sağlık ocağı bölgesinde hepatit B ve C sıklığı. Viral Hepatit, 2011; 17(2): 74-83.

28. Barut HŞ, Günal Ö. Dünyada ve ülkemizde hepatit C epidemiyolojisi. KLİMİK Dergisi, 2009; 22(2): 38-43.
29. Yenen OŞ. Virüsler ve enfeksiyonları. Hepatit C virüsü. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2002; 2: 1377-400.

İlaçlama sektöründe çalışan işçiler ile zehirlenme şüphesi görülen hastaların kolinesteraz seviyelerinin belirlenmesi

Determination of cholinesterase levels of the employees working at the pharmaceutical sector and the patients suspected of being poisoned

Banuççek YÜCESAN¹, Mürsel KURT¹, Figen SEZEN², Serdar Alp SUBAŞI¹

ÖZET

Amaç: Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Müdürlüğüne 2008-2010 yılları arasında başvuran pestisitlerin kronik etkilerine maruz kalmış tarım ve ilaçlama şirketi işçileri ile pestisit zehirlenmesi şüphesi görülen hastaların kolinesteraz seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Kan örneklerinin plazmaları ayrılmış ve ön işlemlere tabi tutulmuştur. Ön işlem sonrası hazırlanan numuneler 405 nm ve 30 °C'de spektrofotometrik yöntemle kolinesteraz seviyeleri kantitatif olarak belirlenmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada; pestisit maruziyeti ve şüphesi nedeniyle başvuran 1136 kişinin kanında kolinesteraz düzeyi incelenmiştir. Başvuran bu kişilerin 367 (%32,3)'sini ilaçlama sektöründe çalışan işçiler, 769 (%67,7)'unu ise zehirlenme ön tanısı alan kişiler oluşturmuştur. Zehirlenme ön tanısı alan kişilerin 222 (%28,9)'sinde serum kolinesteraz seviyesi düşük olarak tespit edilmiştir. Bu kişilerin 119 (%53,6)'unu kadınlar oluştururken en sık görülen grup ise 56 (%25,2)'sini ile 10-19 yaş grubu oluşturmuştur. İlaçlama firmalarından laboratuvarımıza müracaat eden kişilerin 347 (%94,6)'sinin değerleri normal sınırlarda tespit edilmiştir. Bu kişilerin ancak 20 (%5,4)'sinde kolinesteraz düzeyleri zehirlenme sınırında saptanmıştır. Kolinesteraz seviyesi düşük tespit edilen işçilerin ise en fazla 30-39 yaş grubunda olduğu görülmüştür.

Sonuç: Organofosforlu insektisit zehirlenmelerinde

ABSTRACT

Objective: The purpose of this work is to dispersion determination levels of cholinesterase in people who are working in the pharmaceutical and agriculture sector, were chronically affected by pesticide or patient's who are suspected to be poisoned by pesticide, who applied for the Consumer Safety Health Effects Research Laboratories, RSHMB, Ankara during the period 2008-2010.

Method: The plasma of the blood samples were used for quantitative spectrophotometric analysis with 405 nm and 30°C temperature conditions.

Results: In this research 1136 people whose cholinesterase levels tested; applied to our center because of pesticide toxicities. 367 (32.3%) were the ones working for the pharmaceutical sector and intended to be under control, 769 (67.7%) were the ones prediagnosed as poisoned. It has been detected that 222 (28.9%) of them were in safe serum cholinesterase measurement range. 119 (53.6%) of these people were women and majority of them 56 (25.2%) in the 10-19 age group. 347 (94.6%) people who are working either in the pharmaceutical or agriculture sector were in the normal range and just 20 (5.4%) of them were in the toxicity range. The intoxicated workers were in the age group of 30-39.

Conclusion: The cholinesterase levels of the persons, who sprayed or were poisoned by

¹ Refik Saydam Merkez Başkanlığı, Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Müdürlüğü, Biyolojik Materyal Laboratuvarı, ANKARA

² Refik Saydam Merkez Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Banuççek YÜCESAN

Refik Saydam Merkez Başkanlığı, Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Müdürlüğü, ANKARA Geliş Tarihi / Received : 20.12.2011

Tel : +90 312 565 51 74

E-posta / E-mail : yucesanbanu@yahoo.com

Kabul Tarihi / Accepted : 06.09.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.21043

Yücesan B, Kurt M, Sezen F, Subaşı SA. İlaçlama sektöründe çalışan işçiler ile zehirlenme şüphesi görülen hastaların kolinesteraz seviyelerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 7-14.

ve bu maddeler ile ilaçlama yapan kişilerde kolinesteraz seviyesinin ölçümü son derece önemlidir. Çalışmamızda zehirlenme ön tanısı ile gelen 547 (%71,1) hasta ve sektörde çalışan 347 (%94,6) işçide normal kolinesteraz seviyesi tespit edilmiştir. Bu bağlamda zehirlenme öntanı hastaların klinikler tarafından daha iyi sorgulanması gerektiği gözlemlenmiştir. Ayrıca ilaçlama sektöründe çalışan işçilerin organofosforlu insektisitlere maruz kalanlarında kolinesteraz seviyesi bakılmasının ekonomik ve iş yükü açısından önem taşıdığı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolin, asetilkolinesteraz, pestisit, organofosfat zehirlenmeleri, tarım işçileri, kronik maruziyet

insecticide containing organophosphate, is of the utmost importance. In our research; 547 patients (71.1%) and 347 workers (94.6%) were in the normal range of cholinesterase level. These results show that the patients who prediagnosed as poisoned should be well examined. Also, to determine the workers and examine their cholinesterase levels who are from the pharmaceutical sector and work with organophosphate insecticides; is very important on an economic and workload basis.

Key Words: Acetylcholine, acetyl cholinesterase, pesticides, organophosphate toxicity, agricultural workers, chronic exposure

GİRİŞ

Ülkemizde tarım alanında ve ilaçlama sektöründe birçok işçi çalışmaktadır. Tarım ve ilaçlama sektöründe kullanılan ilaçlar pestisit grubu diye adlandırılan ilaçlardır. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün "Bitki Koruma Ürünlerinin Uygulama Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" te tarım ve ilaçlama sektöründe çalışacak kişilerin işe başlarken ve yıllık olarak kontrollerinin yapılması gerekliliği vurgulanmıştır (1). Ayrıca Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı'nda intihar amaçlı pestisit alımından şüphelenilen hastaların da kolinesteraz seviyelerinin ölçümleri yapılarak, hastaların tedavilerine yardımcı olunmaktadır.

Asetilkolinesteraz (AChE) dokularda serbest veya fosfolipidlerle bileşik halinde bulunan, lipofilik etkiye sahip, asetilkolini hidrolizleyen nonspesifik bir enzimdir. Asetilkolin (ACh) sinir ve kas lifleri boyunca biyoelektriksel akımın oluşmasında görevlidir. Asetilkolin; otonomik ve somatik sinir sisteminde major nörotransmitterdir. Bu nörotransmitter AChE enzimi tarafından yıkılır. Sinir uyarılarının nakledilmesinde rol oynayan AChE'nin özellikle organofosforlu, klorlu ve karbamatlı pestisitler ile bazı kimyasal maddelerle bağlanarak dönüşümsüz

inhibisyonu canlı dokudaki sinir sinapslarında ve nöromüsküler kavşaklarda ACh'nin artmasına yol açıp, asetilkolin reseptörlerinin aşırı stimülasyonuna neden olur. Sonuçta asetilkolinin birikimi kolinerjik bulguların ağırlıkta olduğu bir toksite tablosu oluşturmaktadır. Aşırı ACh birikimi sinaptik aralıkta nikotinik ve muskarinik klinik bulgulara neden olur. Asetilkolinesterazın iki şekli vardır. Bunlardan gerçek asetilkolinesteraz sinir uçlarında ve eritrositlerde bulunurken psödokolinesteraz serumu ise karaciğer, kalp, pankreas ve beyinde bulunur. Pestisitlerin en sık karşılaşılanlarından olan organik fosforlu bileşiklerin varlığını ortaya koymak için eritrositlerde gerçek asetilkolinesteraz ya da plazmada psödokolinesteraz düzeyine bakılır (2-5).

Asetilkolinesteraz düzeyinin; hiperlipidemi, nefrozis, diabet durumlarda yükseldiği görülmektedir.

Organik fosforlu insektisitlerle zehirlenme, hepatosellüler hastalıklar, genetik psödokolinesteraz varyantları, malnütrisyon, anemi, akut enfeksiyonlar, akut MI, pulmoner embolizm, postoperatif dönem, kronik böbrek yetmezliği, gebeliğin son dönemi ve serum albümin konsantrasyonunu düşüren durumlar

ise asetilkolinesteraz düzeyinin azalmasına sebep olurlar.

Pestisit; insan yaşamı için zararlı olan canlıları öldürmek amacı ile kullanılan bileşikler ya da maddeleri ifade etmektedir. Pestisitler ile ilgili olarak sanayi kazaları sonrası kitlesel zehirlenmeler rapor edilmiş olmakla beraber, ülkemizde bu sektörde çalışan işçilerden alınan örnekler tek bir merkezde toplanmamaktadır. ABD’de her yıl organofosforlu insektisitlerle etkilenmiş yaklaşık 20.000 vaka bildirilmektedir (6). II. Dünya Savaşında ve 1995’de Tokyo metrosunda pestisitler kimyasal silah olarak kullanılmıştır (7). Dünya nüfusunun hızla arttığı çağımızda açlık sorununun çözülebilmesi için özellikle II. Dünya Savaşından sonra pestisitlerin rastgele kullanılması, çevreye saçılan endüstriyel atıklar ve diğer toksik maddeler toplum sağlığını tehdit etmektedir (8).

Pestisitlerin ülkemizde tarımsal zararlılarla mücadelede ve insektisit olarak kullanımları çok yaygınlaşmıştır. Pestisit kullanımının insan sağlığı açısından tehlikeli boyutlara varması üzerine pek çok ülke ve kuruluş soruna titizlikle eğilirken, ülkemizde konuya gereken önemin hala verilmediği düşünülmektedir. Organofosfat zehirlenmeleriyle mesleki maruziyetlerin yanı sıra kazara alımlar veya intihar amaçlı alımlar olarak da sık karşılaşılmaktadır. Mesleki maruziyete daha çok 15-45 yaş arası erkeklerde rastlanmaktadır (6-10). Sağlık Bakanlığı istatistiklerine göre, 1966 yılında tarım ilaçlarından dört kişinin ölmesine karşın 1974’de 156 ölüm olayı olmuştur. Pestisitler içinde ölüm olayları en çok haşere öldürücülerle yani insektisitlerle olmaktadır. Adli tıp kayıtlarına göre yapılan araştırmalarda ise 1977-1981 yılları arasında insektisitlerden kaza ve intihar sonucu toplam 1484 kişinin öldüğü saptanmıştır. Kimyasal maddeler içinde en fazla ölümlerle sonuçlanan akut zehirlenmelerin insektisitler ile olduğu tespit edilmiştir (8).

Kolinesteraz inhibisyonu, sinir sinapslarında ve nöromüsküler kavşaklarda ACh’nin artmasına yol açarak, asetilkolin reseptörlerinin aşırı uyarılmasına

neden olur. Aşırı ACh birikimi sinaptik aralıkta nikotik ve muskarinik klinik bulguları oluşturur (3, 8, 10). Hastaların klinik tabloları ile zehirlenmenin derecesi konusunda her zaman fikir yürütemeyebilir. Rastlanan semptom ve bulguları hafif, orta ve ağır olgular olarak üç kısma ayrılmıştır. Bitkinlik, baş ağrısı, baş dönmesi, görmede azalma, salivasyon artışı, lakrimasyon artışı, bulantı, kusma, iştahsızlık, ağızda acı tat, miyozis, hafif bronşiyal spazm, AChE’de %60 azalması hafif olgular olarak belirtilmektedir. İleri derecede bitkinlik, baş dönmesi, görme bozuklukları, aşırı salivasyon, terleme, kusma, diyare, bradikardi, hipertoni, fasiyal kasların seyirmesi, ağızda acılık, ellerde titreme, miyozis, nistagmus, göğüste ağrı, dispne, mukozalarda siyanoz, akciğerlerde krepitasyon, AChE %60-90 azalması orta olguda yer almaktadır. Ağır olguda ise şiddetli tremor, generalize konvülsiyon, psikik bozukluklar, yaygın siyanoz, akut akciğer ödemi, koma, kalp ve karaciğer yetmezliğine bağlı ölüm, AChE’de %90-100 azalma şeklinde görülmektedir.

Zehirlenmelerin tedavide ise dekontaminasyon, absorpsiyonun engellenmesinde genel destek ve yoğun respiratuvar destek gereklidir. Serum ve eritrosit kolinesteraz düzeylerine bakılarak ve klinik bulgular titizlikle saptanarak zehirlenmenin şiddeti açısından değerlendirme yapılır. İlaçla tedavide atropin ve pralidoksim (PAM) kullanılır (3, 4, 9, 12).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 1 Ocak 2008 - 31 Aralık 2010 tarihleri arasında RSHMB, Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Müdürlüğü Laboratuvarına başvuran ilaçlama sektöründe çalışan işçiler ile zehirlenme ön tanısı konulan hastalardan alınarak gönderilen klinik örneklerde yapılmıştır. 2-nitro-merkaptobenzoatın oranı da spektrofotometrik yöntemle ölçülerek sonuçlar elde edilmiştir (13, 14).

Toplam 1.136 adet kan örneği EDTA’lı tüplere alınmış ve 3.000 devir/sn hızda, 5 dak. süreyle santrifüj işlemi yapılarak, kanın plazması ayrılmıştır.

Ön işlem sonrası kolinesteraz bütiltiokolin (Spinreact ve Quimica Clinica Aplicada SA) kitleri ile çalışarak meydana gelen 2-nitro-merkaptobenzoat oranı 405 nm'de spektrofotometrede ölçümü yapılmıştır (13, 14).

Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde SPSS 15.0 programı kullanılmıştır. Bağımsız gruplarda oranların karşılaştırılmasında Pearson'un Ki-Kare testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Laboratuvarımıza başvuran 1.186 kişinin 367 (%32,3)'si ilaçlama sektöründe çalışan işçiler, 769 (%67,7)'u ise zehirlenme ön tanısı nedeniyle kolinesteraz seviyesi araştırılan hastalardan oluşmuştur.

Tablo 1'de görüldüğü gibi, zehirlenme şüphesi olan grupta bulunan 222 (%28,9) kişide serum kolinesteraz seviyesi referans değerinin altında tespit edilmiştir. Laboratuvarımız bu hastaların kolinesteraz seviye takiplerini de yaparak, tedavi sürecine yardımcı olmuştur. Ancak hastaların klinik verilerinin elimizde bulunmaması durumu çalışmamızın bir eksikliğidir. Tüm zehirlenmelerde olduğu gibi pestisit zehirlenmelerinde de erken müdahale hayat kurtarıcı olabilmektedir. Zehirlenme nedeni ile başvuran kişilerin kolinesteraz düzeyleri değerlendirildiğinde 547 (%71,1) kişinin pestisit zehirlenmesine maruz kalmadığı tespit edilmiştir.

Zehirlenme nedeni ile başvuran hastalar cinsiyete göre değerlendirildiğinde kadınların daha fazla olduğu görülmüştür. Kolinesteraz seviyesi düşük tespit edilen kadınlar yaş grubuna göre değerlendirildiğinde 56 (%25,2) kişi ile 10-19 yaş grubunun en fazla olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada; zehirlenme nedeniyle başvuran kişilerde tespit edilen kolinesteraz düzeyinin düşük veya normal olması, yaş grubuna göre farklılık göstermiştir ($p=0,001$). Yine bu grupta kolinesteraz düzeyinin cinsiyete göre farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Zehirlenme ön tanısı ile başvuran hastalarda kolinesteraz seviyesinin cinsiyet ve yaş grubuna göre dağılımı (n= 769)

		Kolinesteraz Seviyesi			
		Referans değer altında		Referans değer içinde	
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Cinsiyet	Kadın	119	53,6	286	52,3
	Erkek	103	46,4	261	47,7
Yaş Grubu	0-9	21	9,5	95	17,4
	10-19	56	25,2	150	27,4
	20-29	43	19,4	120	21,9
	30-39	28	12,6	104	19,0
	40-49	41	18,5	41	7,5
	50-59	20	9,0	27	4,9
	60-69	6	2,7	5	0,9
	70 ve üstü	7	3,2	5	0,9
TOPLAM		222	*28,9	547	*71,1

* Satır yüzdesi kullanılmıştır

İlaçlama sektöründe çalışanlardan laboratuvarımıza müracaat eden 347 (%94,6) kişinin değerleri normal sınırlarda tespit edilmiştir. Bu kişilerin ancak 20 (%5,4)'sinde kolinesteraz düzeyleri zehirlenme düzeyinde saptanmıştır (Tablo 2). Kolinesteraz seviyesi normal sınırların altında saptanan olgularda organofosforlu insektisit zehirlenmesi şüphesi mevcuttur denilmektedir. Bu tip zehirlenme etkilerinin geri dönüşümsüz olabileceği dikkate alındığında ilaçlama sektöründe çalışan işçilerin %5,4'ünde pestisit zehirlenmesi tespit edilmesi hem bireysel hem de iş sağlığı açısından önem arz etmektedir. Pestisitlerin kronik etkilerine maruz kalan işçilerin bir kısmında plazma kolinesteraz miktarının zehirlenme seviyesine kadar düşmüş olması, bu değerlerin düzenli olarak takip edilmesinin önemini göstermektedir. Çalışan işçilerin yaşı 12 ile 68 arasında dağılım göstermekle birlikte, çoğu 20 ile 49 yaş aralığında tespit edilmiştir. Kolinesteraz seviyesi düşük tespit edilen işçilerin en fazla 30-39 yaş grubunda olduğu izlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İlaçlama şirketi işçilerinde kolinesteraz seviyesinin cinsiyet ve yaş grubuna göre dağılımı (n= 367)

		Kolinesteraz Seviyesi			
		Referans değer altında		Referans değer içinde	
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Cinsiyet	Kadın	6	30	22	64
	Erkek	14	70	325	93,6
Yaş Grubu	0-9	-	-	-	-
	10-19	-	-	8	2,3
	20-29	2	10	86	24,8
	30-39	10	50	124	35,7
	40-49	5	25	101	29,1
	50-59	1	5	24	6,9
	60-69	2	10	4	1,2
	70 ve üstü	-	-	-	-
TOPLAM		20	*5,4	347	*94,6

* Satır yüzdesi kullanılmıştır

TARTIŞMA

Gelişen dünyada tarımsal alanlarda pestisit zehirlenmeleri en önemli sağlık problemlerinden biridir. Tüm dünyada yılda en az 250.000 - 370.000 kişinin bu tür zehirlenmeler ile hayatını kaybettiği bildirilmiştir (15). Gelişmekte olan ülkelerin bir kısmında pestisit zehirlenmelerinin bugün enfeksiyon hastalıklarından daha fazla ölüme sebebiyet verdiği de bilinen bir gerçektir. Bunun sebebi ise pestisit kullanımı ile ilgili bu ülkelerdeki yasal düzenlemelerin yetersiz olmasıdır (16, 17). RSHMB UZEM (Ulusal Zehir Danışma Merkezi) 2000-2001 verilerine göre pestisit zehirlenmeleri Türkiye için major bir sorun teşkil etmemekle birlikte hala bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Pestisit zehirlenmeleri 2000 yılında UZEM'e müracaat eden toplam hastaların %8,3 (1.518)'ünü, 2001 yılında ise %8,5 (1.472)'ini oluşturmuştur (18).

Güçlü bir zehir olan pestisitler ile zehirlenmelerde hastanın takibi açısından kolinesteraz seviyesinin bakılması önemlidir. Peter ve ark., (19) yaptıkları klinik bir çalışmada; kolinesteraz seviyesinin zehirlenme vakalarında düştüğünü ve vaka takibi sırasında bu

seviyenin detakip edilmesinin gerekliliğini bildirmişlerdir. Kavalcı ve ark. (20); vaktinde tespit edilemeyip, tedavi başlanamayan olgularda organofosforlu insektisit zehirlenmelerinin ölümcül olabileceğini, bunu önlemenin de asetilkolinesteraz seviyesinin takibi ile mümkün olabileceğini göstermişlerdir. Yine Cardon ve ark. (21); akut organofosforlu pestisit zehirlenmelerinde kolinesteraz aktivitesinin tespitinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmamızda da zehirlenen hastalarda pseudokolinesteraz seviyesi düşük bulunmuştur ve kolinesteraz seviye takipleri ile birlikte hasta takipleri hastaneler tarafından yapılmıştır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; acil servise başvuran tüm zehirlenmeler incelemiş ve bunların %14'ünün organofosforlu insektisitten kaynaklandığı bulunmuştur. Bu hastaların %85,7'sini kadınlar oluşturmuştur (22). Al ve ark. (23); ise yaptıkları çalışmada; Dicle Üniversitesine gelen organofosforlu insektisit ile zehirlenme vakalarının %90'ının kadın, %10'unun erkek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise zehirlenme ön tanısı ile başvuranların %52,7'sini kadınlar oluşturmuştur.

Ayrıca RSHMB UZEM 2000-2001 verilerine göre; pestisit toksisitesi Türkiye'de en fazla 20-29 yaş grubunda görüldüğünü bildirmiştir (18). Yine yapılan çalışmalarda zehirlenmelerde kazaen olanların daha çok olduğu vurgulanmıştır (4, 9). Çalışmamızda da zehirlenmeler genç yaş grubunda daha sık gözlenmiştir. Zehirlenmelerin çoğunluğunu özellikle çocuk yaş grubu olmak üzere genç yaşlardaki kişilerin oluşturması, bu konuda çocuklarla ilgili ciddi önlemler alınması gerektiğini göstermektedir. Bu maruziyetler sıklıkla çocuklarda ve kaza sonucu alımlar ile gerçekleşmektedir. Evlerde böcek ilaçları gibi bu tip ilaçların çocukların kolayca ulaşamayacağı yerlerde muhafaza edilmesi zarurieti vardır.

Bugün ülkemiz ekonomisinde tarım sektörünün payı diğer gelişmiş ülkelerle karşılaştırıldığında hala yüksek düzeydedir (1, 24). Tarımda verimi artırmak için ilaçlama sektörü de oldukça önemli hale gelmiştir.

Bu sektörde çalışan kişilerin maruziyetlerinin takibi de, yine bir o kadar önemli bir konudur.

Namba'nın (4) çalışmasında; ilaçlama alanında çalışanlarda zehirlenmelerin daha nadir görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmamızda da ilaçlama sektöründe çalışanlarda zehirlenmeler az görülmüştür. Bu durumun nedeninin iyi koruma olabileceği düşünülebildiği gibi doğru numune gönderilmemesi nedeniyle de olabileceği düşünülmüştür. İlaçlama sektöründe çalışan işçilerin hangi tip insektisitler ile çalıştığının laboratuvarımıza bildirilmesi sonuçların değerlendirilmesi açısından zorunluluktur.

Çömelekoğlu ve ark., (25); tarım ilaçlarına maruz kalan işçilerin bu işi uzun zamandır yaptığını ve meslek gereği bu maruziyetin uzun yıllar devam edeceğini bildirmiş, bu ilaçların aşırı ve denetimsiz bir biçimde kullanıldığını, işçilerin gerekli önlemleri almadığını savunmuşlardır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın bu duruma karşılık yılda bir kere işçilerin kolinesteraz düzey kontrollerini yaptırıyor olmasının olumlu bir adım olduğu düşünülmektedir.

Naidoo ve ark., (26); Güney Afrika'da yaptıkları bir çalışmada pestisit zehirlenmelerinin burada daha çok tarlalarda çalışan kadınlarda olduğunu göstermiştir. Sarıtaş ve ark., (9); mesleki maruziyetlere bağlı zehirlenmelerin 15-45 yaş arasındaki erkeklerde daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda; da ilaçlama yapan kesimin daha çok erkeklerden oluştuğu görülmüştür (Tablo 2).

Sosan ve ark., (27) Nijerya'da yaptığı bir çalışmada kakao işçilerinin eritrosit kolinesteraz seviyeleri ile birlikte hemogloblin seviyelerinin de muhakkak ölçülmesi gerektiği, çünkü kronik maruziyetlerde bu seviyenin ciddi biçimde düştüğü gösterilmiştir. Ayrıca pestisitlerin kronik etkilerine maruz kalan tarım işçilerinin karaciğer fonksiyonları ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar pestisitlerden olumsuz yönde etkilendiklerini düşündürmüştür. Ancak, ülkemizde gerek karaciğer fonksiyonları, gerekse hemogloblin seviyeleri açısından rutin bir uygulama olmamakla birlikte hiç değilse kronik maruziyetlerde karaciğer fonksiyon testleri, hemogloblin seviyesi gibi

parametrelerin kontrolünün yapılmasının gereklilik olduğu düşünülmektedir.

Kachaiyaphum ve ark., (28); Tayland'da yaptıkları bir çalışmada serum kolinesteraz seviyesinin devamlı kontrol altında tutulması gerektiği özellikle erkek tarım işçilerinin bu konuda dikkatle takip edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Joshaghanive ark., (29); yaptığı çalışmasonucunda; eritrosit ve serum kolinesteraz seviyelerinin kontrol edilmesinin pestisit kullanılan alanlarda mecburi hale getirilmesi gerekliliğini bildirmişlerdir. Ülkemizde ise yılda bir kere kolinesteraz seviye kontrolü mecburiyeti ile bu konuda önlem alma da kararlı olunduğu izlenmektedir.

Sektörde çalışan işçiler için sektör tarafından kişisel koruyucu ekipman temini ve çalışma sırasında bu ekipmanların muhakkak kullanımının sağlanması gibi önlemler gerekmektedir. Bunun işçinin sağlık açısından gerekli olduğunun öğretilmesi amacıyla eğitimler verilmeli, önlemler alınmalı, gerekirse yaptırımlar uygulanmalıdır. İş ve işçi sağlığı güvenliği klinikleri konunun üzerinde hassasiyetle durmalıdır. Aslında çalışmamız göstermektedir ki; sektörde çalışan kişilerin sadece %5,4'ünde test sonuçları zehirlenme sınırında çıkmıştır. Bu da koruyucu önlemlerin alınması ile ilgili hassas davranıldığını göstermektedir. Bu oran, organofosforlu insektisit zehirlenmelerinin ciddi etkileri göz önüne alındığında önem arz etmektedir.

SONUÇ

Pestisit maruziyetinin önemi ülkemizde olduğu kadar bütün dünyada bilinmektedir. Zehirlenme ön tanısı ile gelen kişilerde erken tanı için kolinesteraz seviyesi bakılmalıdır. İlaçlama sektöründeki işçilerde düzenli aralıklarla kolinesteraz seviyesinin ölçümünün tanımlanmış merkezlerce yapılması, konunun hassasiyeti bakımından gereklidir. Çalışmamız zehirlenme ön tanısı ile gelen kişiler ve sektörde çalışan işçilerin çoğunluğunda kolinesteraz seviyelerinin normal olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda zehirlenen

hastaların klinikler tarafından daha iyi sorgulanması gerekliliğini düşündürmektedir. Ayrıca ilaçlama sektöründe çalışan ve organofosforlu insektisitlere maruz kalan işçilerde kolinesteraz seviyesi bakılması ekonomik ve iş yükü açısından büyük önem taşımaktadır. Buna ilaveten organofosforlu

insektisitlerle zehirlenen kişilerde ortaya çıkabilecek sonuçlar düşünüldüğünde, şüpheli vakalarda bu seviyenin muhakkak suretle bakılması gerektiği de göz ardı edilmemelidir.

KAYNAKLAR

1. www.zmo.org.tr/resimler/ekler/8ef4b66cb25e92a_ek.pdf?tipi=14. (10.06.2011)
2. Güven A. Asetilkolinesteraz'ın önemi ve inhibitörleri. Kafkas Üni Vet Fak Derg, 2000; 6 (1-2): 145-51.
3. Saydam CK, Sözmen B, Aslan LS. Organofosfor zehirlenmelerine yaklaşım. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 2006; 26: 73-7.
4. Namba T. Cholinesterase inhibition by organophosphorus compounds and clinical effects. Bull Wld Hlth Org. 1971; 44: 289-307.
5. Heath DF. Organophosphorus poisons. Volume 13. Newyork. Pergamon Pres, 1961; 177-213.
6. Watson WA, Litovitz TL, Klein-Schwartz W. 2003 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. Am J Emerg Med, 2004; 22(5): 335-404.
7. Okumura T, Takasu N, Ishimatsu S, Miyanoki S, Mitsuhashi A, Kumada K, et al. Report on 640 victims of the Tokyo subway sarin attack. Ann Emerg Med, 1996; 28 (2): 223-4.
8. Dökmeci İ, Dökmeci AH. Toksikoloji zehirlenmelerde tanı ve tedavi. 4.baskı. Ankara: Nobel Matbaacılık, 2005; 582-607.
9. Sarıtaş A, Çakır Z, Aslan Ş. Organofosfat ve karbamat zehirlenmeleri. The Eurasian J Med, 2007; 39: 55-9.
10. Klaassen CD. Nonmetallic environmental toxicants: air pollutants, solvents and vapors, and pesticides. In: Gilman GA, Goodman SL, Rall WT, Murat F, eds. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 7th ed. Newyork. Macmillan Publishing Company, 1985; 1638-50.
11. Gilman GA, Goodman SL, Rall WT, Murat F. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. Seventh edition. Newyork: Macmillan Publishing Company,1985; 110-30.
12. Trush GM, Anstead MI. Pralidoxime continuous infusion in the treatment of organophosphate poisoning. Ann Pharmacother, 1997; 31: 441-4.
13. Den Blaauwen DH, Poppe WA, Trischler W. Cholinesterase with butyrylthiocholine-iodide as substrate: references depending on age and sex with special reference to hormonal effects and pregnancy. J Clin Chem Biochem, 1983; 21(6): 381-6.
14. Stojan J. Non-productive binding of butyryl (thio) choline in the active site of vertebrate acetylcholinesterase. Chem Biol Interact, 2010; 187(1-3): 128-34.
15. Dawson AH, Eddleston M, Senarathna L, Mohamed F, Gawarammana I, Bowe SJ, et al. Acute human lethal toxicity of agricultural pesticides: a prospective cohort study. PLoS Med, 2010; 26: 7(10); e 1000357.
16. Eddleston M, Karalliedde L, Buckley N, Fernando R, Hutchinson G, Isbister G, et al. Pesticide poisoning in the developing world a minimum pesticides list. Lancet, 2002; 360 (9340): 1163-7.
17. Eddleston M, Singh S, Buckley N. Acute organophosphorus poisoning. Clin Evid, 2003; 10: 1652-63.
18. Cesaretli Y, Özcan N, Özer N, Olcay HE. The evaluation of pesticide exposures in the years of 2000-2001 in Turkey. Refik Saydam Hygiene Institute, Poison information Center data in the years of 2000-2001.

19. Peter JV, Jerobin J, Nair A, Bennett A, Samuel P, Chrispal A, et al. Clinical profile and outcome of patients hospitalized with dimethyl and diethyl organophosphate poisoning. *Clin Toxicol (Phila)*, 2010; 48 (9): 916-23.
20. Kavalci C, Durukan P, Ozer M, Cevik Y, Kavalci G. Organophosphate poisoning due to a wheat bagel. *Intern Med*, 2009; 48(2): 85-8.
21. Cardon N, Vaillant C, Cren P, Gruffat B, Rappold JP, Corbé H. Acute organophosphorus pesticide poisoning and cholinesterases activities. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2005; 63(3): 329-34.
22. Çetin NG, Beydili H, Tomruk Ö. Acil servise başvuran intoksikasyon olgularının geriye dönük analizi. *SDÜ, Tıp Fak Derg*, 2004; 11(4): 7-9.
23. Al B, Güllü MN, Küçüköner M, Aldemir M, Güloğlu C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi acil servisine organofosfat zehirlenmeleri ile başvuran hastaların demografik özellikleri. *Tıp Araştırma Derg*, 2006; 4(1): 5-13.
24. www.cevre.org.tr/.../Yonetmelikler/www.cevre.org.tr/.../Yonetmelikler/Bitki%20Koruma%20Urunlerinin%20Uygulama%20Usul%20ve%...-Önbellek, (10.06.2011).
25. Çömelekoğlu Ü, Mazmancı B, Arpacı A. Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. *Turk J Biol*, 2000; 24: 461-6.
26. Naidoo S, London L, Rother HA, Burdorf A, Naidoo RN, Kromhout H. Pesticide safety training and practices in women working in small-scale agriculture in South Africa. *Occup Environ Med*, 2010; 67(12): 823-8.
27. Sosan MB, Akingbohunge AE, Durosinmi MA, Ojo IA. Erythrocyte cholinesterase enzyme activity and hemoglobin values in cacao farmers of southwestern Nigeria as related to insecticide exposure. *Arch Environ Occup Health*, 2010; 1; 65(1): 27-33.
28. Kachaiyaphum P, Howteerakul N, Sujirarat D, Siri S, Suwannapong N. Serum cholinesterase levels of Thai chilli-farm workers exposed to chemical pesticides: prevalence estimates and associated factors. *J Occup Health*, 2010; 52(1): 89-98.
29. Joshaghani HR, Ahmadi AR, Mansourian AR. Effects of occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *Int J Occup Med Environ Health*, 2007; 20(4): 381-5.

Metalürji işçilerin saç örneklerinden tespit edilen arsenik düzeyleri

Hair arsenic levels of metallurgical workers

Vugar Ali TÜRKSOY¹, Dilek KAYA¹, Hınc Ömer YILMAZ², Tülin SÖYLEMEZOĞLU¹

ÖZET

Amaç: Birçok ülkede özellikle çevresel metal maruziyetini ve ülke standartlarını belirlemek amacıyla toplum bireylerine ait veriler değerlendirilmektedir. Bu çalışmada; arsenik maruziyeti olduğu düşünülen metalürji işçilerinin yanı sıra bilinen bir metal maruziyeti olmayan gönüllülerden alınan saç örneklerinde arsenik analizi yapılarak ülkemizde yaşayanlara ait ortalama değerlerin bulunması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, 20-58 yaş arası 175 erkek metalürji işçisi ile aynı yaş grubunda (21-60 yaş) 175 erkek gönüllüye ait saç örneklerinde zeeman düzeltmeli grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektroskopisi (GFAAS) ile arsenik analizi yapılmıştır.

Bulgular: Metalürji işçilerine ait saç örneklerinde arsenik düzeyi $2,53 \pm 2,47 \mu\text{g/g}$, kontrol grubunda ise $0,21 \pm 0,20 \mu\text{g/g}$ bulunmuştur. Metal maruziyeti olan grupta bulunan sonuçlar istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$).

Sonuç: Saç arsenik düzeyleri bilinen maruziyeti olmayan grupta standart olarak kabul edilen $1 \mu\text{g/g}$ ' ın oldukça altında iken, işçi grubunda iki kez daha yüksek olması bu grup işçiler için alınacak önlem ve yaptırımların artırılması gerektiği gerçeğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Arsenik, atomik absorpsiyon spektrometresi, maden sektörü işçileri

ABSTRACT

Objective: In many countries, data obtained from individuals has been evaluated in order to determine environmental metal exposure and country standards. In the present study, the aim is to find out the mean arsenic levels of residents of our country by detecting the arsenic levels in hair samples of metallurgical workers who were thought to be exposed to arsenic and unexposed volunteers.

Methods: The study population comprised 175 metallurgy workers aged 20 to 58 and 175 age-matched (21 to 60 years) volunteers. GFAAS equipped with zeeman background correction system was utilized for hair as determination.

Results: The average levels in hair of exposed workers and the control group was $2.53 \pm 2.47 \mu\text{g/g}$ and $0.21 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$, respectively. The level in hair was found significantly higher in the exposed group than in the control group ($p < 0.01$).

Conclusion: The mean hair arsenic level was lower in the unexposed group and was 2-fold higher in workers than $1 \mu\text{g/g}$ that is accepted as standard, revealing that precautions and sanctions should be increased.

Key Words: Arsenic, atomic absorption spectrometry, metallurgy workers

¹ Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, ANKARA

² Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Hınc Ömer YILMAZ

Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, ANKARA

Tel : +90 505 225 08 50

E-posta / E-mail : hincyilmaz@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 19.04.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 09.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.27928

Türksoy VA, Kaya D, Yılmaz HÖ, Söylemezoğlu T. Metalürji işçilerin saç örneklerinden tespit edilen arsenik düzeyleri. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 15-20.

GİRİŞ

Arsenik, çevre kirlenmesi yönünden önem taşıyan toksik metallere birisidir. İnsanlar arseniğe gıdalar, su ve hava yolu ile maruz kaldıkları gibi arsenik içeren toprak veya su ile deri teması yolu ile de maruz kalabilirler. Bu metalin maruziyet sonucu insan vücuduna alınması ile birikmesi ve kronik toksik etki göstermesi söz konusudur (1). Metal madenciliği ve üretimi, demir-çelik imalatı, ilaç ve kozmetik sanayi, arsenik pestisitlerinin ve herbisitlerinin sık kullanımı, kömür tüketimi, boyalar, arsenik içeren ahşap koruyucuları gibi birçok biyogenik süreç arsenik kirliliğinin kaynağı olarak düşünülebilir (2 - 4). En zengin organik arsenik kaynakları balıklar ve su yosunlarıdır (5). İçme suları dahil bütün sıvılardan alınan arsenik miktarı katı gıdalardan alınan miktara göre daha azdır (6, 7). Arsenik, kontamine sularla sulanmış topraklar ve zirai ürünlerden besin zincirine girebilir (8). Arsenik idrarla yavaş olarak atılır; saçlarda, tırnaklarda ve deride birikir. Arsenik dört farklı değerlikte bulunan (0, -3 veya +3, +5) bir metaloidtir. Nötr arsenik gastrointestinal kanalda absorbe olmaz. Kronik arsenik maruziyetinde arsenik akciğerde, kalpte, karaciğerde, böbreklerde ve az miktarda kaslarda, sinir sisteminde ve sindirim sisteminde birikir. Arseniğin çoğu bu yerlerden temizlense de saç, tırnak ve deri gibi keratince zengin dokularda kalır. Yaklaşık iki haftalık maruziyetten sonra, arsenik saç ve tırnaklarda depolanır (9). Arsenik maruziyeti sona erdikten sonra kanda 10 saat, idrarda 96 saat kalabildiği için kronik arsenik toksitesinin biyokimyasal göstergesi çok azdır (10). Akut arsenik zehirlenmelerinden sonra yapılan atomik absorpsiyon spektroskopisi çalışmaları en yüksek arsenik konsantrasyonunun böbreklerde ve karaciğerde olduğunu göstermiştir (11).

Arsenik bileşiklerinin karsinogen etkileri ilk olarak 1887 yılında Hutchkinson tarafından belirlenmiştir. Hutchkinson, arsenikli bileşiklerle tedavi ettiği hastaların ciltlerinde tümörlere rastlamıştır (12). 1900'lü yıllardan sonra arseniğin

iç organlarda karsinogen etkisi araştırılmıştır. 1980 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından inorganik arseniğin cilt ve akciğer kanserine neden olduğu kabul edilmiştir (13). Son yıllarda yapılan çalışmalarda; mesane kanserine de yol açtığı bulunmuştur (14). Yapılan araştırmalarda risk değerlendirmesi hakkında kalitatif sonuçlar henüz verilmemiştir. Bununla birlikte arseniğe uzun süre maruz kalan yaşça nispeten genç hastalarda kanser riskinin arttığı gözlenmiştir (15). Endüstriyel maruziyet özellikle Meksika, Çin ve Güneydoğu Asya gibi gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla görülmektedir. Bunun yanı sıra içme sularında da ciddi oranlarda arsenik içeriğine raslanmaktadır. Özellikle Bangladeş'te içme suyunun yüksek miktarda arsenik içermesi nedeniyle halkın başta cilt olmak üzere bazı kanser türlerine yakalandığı gözlenmiştir (16). İnsan tırnakları ve saçları arsenik için benzer afinite gösterirler. Saç örnekleri tırnak örneklerine göre analiz için daha uygundur; saçtan kronik arsenik zehirlenmesi dış kontaminasyonlarda hesaba katılarak teşhis edilebilmektedir. Arseniğe maruz kalmamış yetişkin bireylerin saçlarındaki arsenik seviyesi genellikle 1 mg/kg' dan daha düşük olarak belirlenmiştir (17).

Arseniğin dağılımı, akut alımda en fazla karaciğer ve böbrekte olur (18). Düşük dozlarla kronik maruziyette sistemin içeren proteinlerce zengin olan saç, tırnak ve ciltte birikir. Kronik akümülyasyon akciğerde olur (19). Vücudun diğer dokuları ile karşılaştırıldığında saç ve tırnak arsenik konsantrasyonunun en yüksek olduğu bölgelerdir. Bunun nedeni bu bölgelerin trivalan arsenikle kolayca bağlanabilen SH (sülfidril) grupları içeren keratince zengin olmasıdır. Saç köklerindeki arsenik konsantrasyonu kandaki arsenikle denge halindedir. Saçta organik arsenik bileşikleri birikmez, bu nedenle saç daha çok inorganik arsenik maruziyetinin belirlenmesinde kullanılır (20). Saçın biyolojik materyal olarak kullanılmasının dezavantajı hava, kullanılan su, sabun ve şampuanlardan etkilenerek arsenik konsantrasyonunun değişmesidir.

Bu etkilerin saçtaki arsenik miktarını ne oranda değiştirdiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Arseniğe maruziyeti bilinmeyen kişilerde yapılan araştırmalarda saçtaki arsenik miktarı ortalama 0,02-0,2 mg/kg olarak saptanmıştır (21, 22). Yüksek dozda arsenik içeren suların tüketildiği bölgelerde yapılan araştırmalarda ise bu konsantrasyonun 3-10 mg/kg seviyesine yükseldiği bulunmuştur (15).

Bu çalışmada, arseniğe maruz kaldığı düşünülen metalürji işçileri ile bilinen bir metal maruziyeti olmayan gönüllülerden toplanan saçlarda arsenik düzeyleri araştırılarak sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, 20-58 yaş arası 175 erkek metalürji işçisi ile aynı yaş grubunda (21-60 yaş) Ankara'da yaşayan 175 erkek gönüllüye ait saçlar kullanılmıştır. Araştırmanın yapıldığı bölgede (İç Anadolu Bölgesi) örneklem seçme kriterlerine uygun, belirlenen metalürji işçileri grubu Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesine başvuran kişiler arasından rastgele seçilerek araştırma kapsamına alınmıştır. Bu işçilerin sektörde çalışma süreleri ortalama 9,5 yıldır. Kontrol grubu ise araştırma kriterlerine uyan gönüllü bireylerden rastgele seçilmiştir.

Saç Örneklerinin Hazırlanması

Ense bölgesinden 200-500 mg arasında alınan saçlar %0,1 Triton-X çözeltilisinde yıkanmış, birkaç kez distile suyla iyice yıkandıktan sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (1). Arsenik analizi için 0,1 gram saç örneği hassas bir şekilde tartıldıktan sonra PTFE mikrodalga fırın teflon tüplerine yerleştirilmiş ve içlerine 5 mL konsantre HNO₃ eklenmiştir. Tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra 15 dak 1600W'da 200 °C'de %100'lük güçte mikrodalga fırın (CEM) çalıştırılmış ve 5 dak boyunca aynı güç ve derecede fırında bekletilmiştir. Yakılan saç örnekleri 15 mL'lik döner kapaklı polipropilen tüplere aktarılmış, toplam hacim deiyonize su ile 10 mL'ye

tamamlanmıştır. Örnekler analiz anına kadar kapaklı polipropilen tüplerin içinde +4 °C' de saklanmıştır (23).

Arsenik Analizi

Mikrodalga fırında asitle yakılan örneklerin arsenik düzeyleri grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS) (Varian) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Analiz için arsenik oyuk katot lambası kullanılarak dalgaboyu 193,7 nm'ye ve 0,5 nm aralığa ayarlanmıştır. Uygun konsantrasyonlarda standart çözeltilerle kalibrasyon grafiği oluşturularak kantitatif analiz amacıyla ölçümler yapılmıştır (23-25).

Çalışma kapsamındaki örneklerin istatistiksel analizleri, IBM®SPSS Statistics® 19 yazılım paket programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerlerden oluşan tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır. Örneklem büyüklüğü ve grupların normal dağıldığı Shapiro-Wilk testi ile belirlenmiş ve göz önüne alındığında anlamlılık düzeylerinin belirlenebilmesi amacıyla kontrol ve metalürji işçisi gruplarının karşılaştırılmasında bağımsız örneklerde t-testi kullanılmıştır. Ayrıca, her iki grup sigara kullanımı açısından ayrı ayrı Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmış, sektörde çalışma süreleri, balık ve sebze tüketimi ise Pearson korelasyon testi ile değerlendirilmiştir. Minimum güven düzeyleri %95 (p<0,05) ve %99 (p<0,01) olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Metalürji işçilerine ait saç örneklerinde arsenik düzeyi 2,53±2,47 µg/g, kontrol grubunda ise 0,21±0,20 µg/g bulunmuştur. Metal maruziyeti olan grupta bulunan sonuçlar kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,01). Bulunan sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Bunların dışında; gruplar yaş, sigara kullanımı, sektörde çalışma süreleri, balık ve sebze tüketimi gibi veriler açısından da değerlendirilmiş ve aralarında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır (p>0,05).

Tablo 1: Saçlarda tespit edilen arsenik düzeyleri ($\mu\text{g/g}$)

	Kontrol Grubu	Arsenik Maruziyeti Olan İşçiler	P değeri
Örnek Sayısı	175	175	
Ortalama \pm S.S.	0,21 \pm 0,20	2,53 \pm 2,47	0,01*
Minimum Düzey	0,01	0,06	
Maksimum Düzey	0,94	11,43	

TARTIŞMA

Ülkemize ait arsenikle ilgili bazı çevresel çalışmalar bulunmakla birlikte insan dokularında arsenik tayini ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır (26). Diğer ülkelerde yapılan çalışmalar ise akut zehirlenme, risk bölgelerinde yüksek düzeyde maruziyet veya düşük düzeyde maruziyetle ilgilidir (17, 27-30).

Arseniğe maruziyeti bilinmeyen kişilerde yapılan araştırmalarda saçtaki arsenik miktarı ortalama 0,02-0,2 mg/kg olarak saptanmıştır (21, 22). Çin'de yapılan çalışmada kontrol grubunda ortalama 0,650 mg/kg olarak tespit edilmiştir (31). Çin'deki kontrol grubunda yüksek dozda arsenik içeren suların tüketildiği bölgelerde yapılan araştırmalarda ise bu konsantrasyonun 3-10 mg/kg seviyesine yükseldiği bulunmuştur (15). Çin'de arseniğe maruz kalan bölgede arsenik saç konsantrasyonu ortalama 4,4

mg/kg iken, Moğolistan'da 2,62 mg/kg, Avustralya da ise ortalama 5,52 mg/kg olarak tespit edilmiştir (32, 33). Yüksek konsantrasyonda arsenik içeren suların tüketildiği bölgelere en çarpıcı örnek Pakistan'da yapılan çalışma gösterilebilir, orada kontrol grubunda dahi yüksek düzeyde arseniğe (ortalama 1,06 mg/kg) rastlanmıştır (34). Toplumlar da otopsi sonucu alınan dokular arasında akciğer örneklerinde arsenik belirlemek amacıyla yapılan az sayıda araştırmaya rastlanmıştır, saçta arsenik arama amacıyla yapılan çalışmalar da bulunmaktadır (35-37).

Türkiye'de bu konuda yapılan tek çalışmada; meme kanserli hastaların saçlarında diğer metaller yanında arsenik düzeyi de belirlenmiş ve kontrol grubunda 1,35 $\mu\text{g/g}$, kanser hastalarında ise 9,77 $\mu\text{g/g}$ sonuç verilmiştir (38). Bu sonuçların bulgularımızdan oldukça yüksek oluşu bölgesel farklılık veya analiz yönteminin farklılığından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak; toksik metallerin özellikle de arseniğin, saçtaki düzeylerinin organizmanın tümündeki metal varlığını yansıttığı bilinmektedir. Saçta metallerin kan ve idrara göre çok daha yüksek düzeylerde oluşu da sonuçların daha kesin ve duyarlı olarak bulunmasını sağlamaktadır (39, 40). Ancak saçtaki düzeyle organizmanın metal yükü ve toksik etki derecesi arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılmış olmayıp, bu konuda çalışmaların karşılaştırmalı olarak yapılacak analizlerle değerlendirilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Saad A, Hassanien MA. Assessment of arsenic level in the hair of the nonoccupational Egyptian population: pilot study. *Environ Int*, 2001; 27 (6): 471-8.
2. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for arsenic Atlanta, GA: US Public Health Service, 1997.
3. Nriagu JO, Pacyna JM. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace elements. *Nature*, 1988; 333: 134-9.
4. Abernathy CO, Liu Y, Longfellow D, Aposhian HV, Beck B, Fowler B, et al. Arsenic: health effects, mechanisms of actions and research issues. *Environ Health Perspect*, 1999; 107: 593-7.

5. Han B, Jeng WL, Chen RY, Fang GT, Hung TC, Tseng RJ. Estimation of target hazard quotients and potential health risks for metals by consumption of seafood in Taiwan. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1998; 35: 711-20.
6. Thomas KW, Pellizzari ED, Berry MR. Population-based dietary intakes and tap water concentrations for selected elements in the EPA region V. national human exposure assessment survey (NHEXAS). *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 1999; 9: 402-13.
7. Tripathi RM, Raghunath R, Krishnamoorthy TM. Arsenic intake by the adult population in Bombay city. *Sci Total Environ*, 1997; 208: 89-95.
8. Tamaki S, Frankenberger WTJ. Environmental biochemistry of arsenic. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1992; 124: 79-110.
9. Ratnaik RN. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad Med J*, 2003; 79 (933): 391-6.
10. Buchet JP, Lauwerys R, Roels H. Comparison of the urinary excretion of arsenic metabolites after a single oral dose of sodium arsenite, monoethylarsenate, or dimethylarsenate in man. *Int Arch Occup Environ Health*, 1981; 48: 71-9.
11. Benramdane L, Accominotti M, Fanton L, Malicier D, Vallon JJ. Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning-a case report. *Clin Chem*, 1999; 45: 301-6.
12. Benbrahim-Tallaa L, Waalkes MP. Inorganic arsenic and human prostate cancer. *Environ Health Perspect*, 2008; 116 (2): 158-64.
13. IARC. Some metals and metallic compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum*, 1980; 23: 1-415.
14. Lamm SH, Robbins SA, Zhou C, Lu J, Chen R, Feinleib M. Bladder/lung cancer mortality in blackfoot-disease (BFD)-endemic area villages with low (lt;150 µg/L) well water arsenic levels an exploration of the dose-response poisson analysis. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013; 65 (1): 147-56.
15. EPA. Arsenic in drinking water update 2001. National Research Council. National Academy Press. Washington, DC., 2001.
16. Hei TK. Research reports: Arsenic and cancer. *J Coll Phys Surg Col Uni*, 1999; 19 (2): 1-3.
17. Hindmarsh JT. Arsenic, its clinical and environmental significance. *J Trace Elem Exp Med*, 2000; 13: 165-72.
18. Kreppel H, Reichl FX, Kleine A, Szinicz L, Singh PK, Jones MM. Antidotal efficacy of newly synthesized dimercaptosuccinic acid (DMSA) mono esters in experimental arsenic poisoning in mice. *Fund Appl Tox*, 1995; 26 (2): 239-45.
19. Aposhian HV. Biochemical toxicology of arsenic. *Rev Biochem Toxicol*, 1989; 10: 265-99.
20. Maes D, Pate DB. The absorption of arsenic into single human head hairs. *J Foren Sci*, 1977; 22: 89-94.
21. Koons RD, Peters CA. Axial distribution of arsenic in individual human hairs by solid sampling graphite furnace AAS. *J Anal Toxicol*, 1994; 18 (1): 36-40.
22. Rogers CE, Tomita AV, Trowbridge PR, Gone JK, Chen J, Zeeb P, et al. Hair analysis does not support hypothesized arsenic and chromium exposure from drinking water in Woburn, Massachusetts. *Environ Health Perspect*, 1997; 105 (10): 1090-7.
23. Aliyev V, Kaya D, Yılmaz H, Söylemezoğlu T. The potential health risk of arsenic levels in workers exposed to arsenic (abstract). *Toxicol Lett*, 2012; 205 (Suppl 1): 214-5.
24. Rahman L, Corns W, Bryce DW, Stockwell PB. Determination of mercury, selenium, bismuth, arsenic and antimony in human hair by microwave digestion atomic fluorescence spectrometry. *Talanta*, 2000; 52: 833-43.
25. Wilhelm M, Schulz C, Schwenk M. Revised and new reference values for arsenic, cadmium, lead, and mercury in blood or urine of children: Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health*, 2006; 209 (3): 301-5.
26. Pekey H. Heavy metal pollution assessment in sediments of the İzmit Bay, Turkey. *Environ Monit Assess*, 2006; 123 (1-3): 219-31.
27. Apostoli P, Bartoli D, Alessio L, Buchet JP. Biological monitoring of occupational exposure to inorganic arsenic. *Occup Environ Med*, 1999; 56 (12): 825-32.
28. Cuzick J, Sasieni P, Evans S. Ingested arsenic, keratoses, and bladder cancer. *Am J Epidemiol*, 1992; 136: 417-21.
29. Chiou HY, Chiou ST, Hsu YH, Chou YL, Tseng CH, Wei ML, et al. Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8102 residents in an arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *Am J Epidemiol*, 2001; 153: 411-88.

30. Chen CL, Hsu LI, Chiou HY, Hsueh YM, Chen SY, Wu MM, et al. Ingested arsenic, cigarette smoking, and lung cancer risk: a follow-up study in arseniasis-endemic areas in Taiwan. *JAMA*, 2004; 292 (24): 2984-90.
31. Jin Y, Liang C, He G, Cao J. Study on distribution of endemic arsenism in China. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2003; 32 (6): 519-40.
32. Tang MX, Cross P, Andrews H, Jacobs DM, Small S, Bell K, et al. Incidence of AD in African- Americans, Caribbean Hispanics, and Caucasians in northern Manhattan. *Neurology*, 2001; 56 (1): 49-56.
33. Hinwood AL, Sim MR, Jolley D, de Klerk N, Bastone EB, Gerostamoulos J, et al. Hair and toenail arsenic concentrations of residents living in areas with high environmental arsenic concentrations. *Environ Health Perspect*, 2003; 111 (2): 187-93.
34. Afridi HI, Kazi TG, Kazi AG, Shah F, Wadhwa SK, Kolachi NF, et al. Levels of arsenic, cadmium, lead, manganese and zinc in biological samples of paralysed steel mill workers with related to controls. *Biol Trace Elem Res*, 2011;144 (1-3): 164-82.
35. Garcia F, Ortega A, Domingo JL, Corbella J. Accumulation of metals in autopsy tissues of subjects living in Tarragona County, Spain. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2001; 36 (9): 1767-86.
36. Kraus T, Quidenus G, Schaller KH. Normal values for arsenic and selenium concentrations in human lung tissue. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2000; 38 (3): 384-9.
37. Kintz P, Ginet M, Cirimele V. Multi-element screening by ICP-MS of two specimens of Napoleon's hair. *J Anal Toxicol*, 2006; 30 (8): 621-3.
38. Benderli Cihan Y, Sözen S, Öztürk Yıldırım S. Trace elements and heavy metals in hair of stage III breast cancer patients. *Biol Trace Elem Res*, 2011; 144 (1-3): 360-79.
39. Bass DA, Hickock D, Quig D, Urek K. Trace element analysis in hair: factors determining accuracy, precision, and reliability. *Altern Med Rev*, 2001; 6 (5): 472-81.
40. Druyan ME, Bass D, Puchyr R, Urek K, Quig D, Harmon E, et al. Determination of reference ranges for elements in human scalp hair. *Biol Trace Elem Res*, 1998; 62 (3): 183-97.

Maraşotu (*Nicotiana rustica* L.) kullanımının lenfosit alt gruplarına etkilerinin araştırılması

Investigation of the effects of lymphocyte sub-groups of the use of Maraş powder (*Nicotiana rustica* L.)

Murat ARAL¹, İbrahim ARAL², Hasan Çetin EKERBİÇER¹,
Mustafa ÇELİK¹, Serpil Şeriban DOĞAN¹, Nuriye İsmihan Ece PAKÖZ¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; maraşotu kullanımının lenfosit alt gruplarına olan etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, sigarayı bırakmak için maraşotu kullanmaya başlayan ve bu otun bağımlısı olan sağlıklı gönüllüler olgu grubu ve sağlıklı, herhangi bir tütün ürünü kullanmayan gönüllüler kontrol grubu oluşturulmuştur. Gönüllülerden bir defa alınan tam kan örneklerinde hücresel immün sisteme ait lenfosit alt grupları kitler (Becton Dickinson) kullanılarak akım sitometrik yöntemle değerlendirilmiştir.

Bulgular: Olgu ve kontrol gruplarındaki tüm denekler erkek olup yaş ortalamaları açısından gruplar birbirine benzer oluşturulmuştur. Olgu grubunun CD4⁺/CD8⁺ T hücre oranları, CD19⁺ (B lenfosit) ve CD4⁺ (T helper lenfosit) hücre yüzdeleri ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, olgu grubunun CD16⁺56⁺ (natural killer lenfosit) ve CD8⁺ (T sitotoksik lenfosit) hücre yüzdeleri ortalamaları kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek belirlenmiştir. CD3⁺ (total T lenfosit) hücre yüzdeleri ortalamaları ise her iki grupta da benzer olarak saptanmıştır.

Sonuç: Maraşotu kullanımının tiryakilerde hücresel immüniteyi göreceli olarak arttırdığı, humoral immüniteyi ise azalttığı düşünülmektedir. Neticede

ABSTRACT

Objective: This study was to investigate the effects of lymphocyte sub-groups of the use of Maraş powder.

Method: This study used healthy volunteers, and no smoking or Maras powder (control group) used healthy volunteers. The blood samples for lymphocyte subsets of the cellular immune system lymphocyte subsets of antibodies were evaluated with Becton Dickinson kits using a flow-cytometric method.

Results: Case group averages of CD4⁺/CD8⁺ T cell ratios, CD19⁺ (B lymphocytes) and the mean percentage of CD4⁺ T lymphocytes were significantly lower than the control group (p<0.05). Case group of CD16⁺56⁺ (NK cells) and CD8⁺ T lymphocytes were significantly higher in the control group averages (p<0.05). The mean percentage of CD2 and CD3⁺ T lymphocytes were similar in both groups (p>0.05).

Conclusions: Maras powder increases the cellular immunity relative in the smoking addictive people, while humoral immunity declines. As a result, immune responses that is resulting with any deviation, predisposing factor for a variety of diseases. Therefore, informing of the maras powder users should be considered for

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, KAHRAMANMARAŞ

² Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : İbrahim ARAL

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, ANKARA

Tel : +90 312 565 54 74

E-posta / E-mail : aralibrahim@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 24.11.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 09.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.88155

Aral M, Aral İ, Ekerbiçer HÇ, Çelik M, Doğan ŞŞ, Ece-Pak Nİ. Maraşotu (*Nicotiana rustica* L.) kullanımının lenfosit alt gruplarına etkilerinin araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 21-6.

her türlü sapma ile sonuçlanan immün yanıtlar, çeşitli hastalıklara zemin hazırlayabilmektedir. Bu nedenle, sigara konusunda olduğu gibi, maraşotunun kullanıcılarının da sağlığına olabilecek etkiler konusunda uyarılması önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Maraşotu, dumansız tütün, lenfosit alt grupları, immün sistem, *Nicotiana rustica* L.

harming their health as smoking as well.

Key Words: Maras powder, smokeless tobacco, lymphocyte subsets, immune system, *Nicotiana rustica* L.

GİRİŞ

“Maraşotu” veya “ağız otu” (*Nicotiana rustica* L.), Kahramanmaraş ve çevresinde oldukça fazla sayıda tiryakisi bulunan bir tütün çeşididir. *Nicotiana rustica* L. kullanılmadan önce yaprakları toz haline getirildikten sonra meşe, ceviz veya asma çubuğundan elde edilen kül 1/2 veya 1/3 oranında karıştırılarak ezilir ve hafif nemlendirilir. Tütünün hazırlanması esnasında karıştırılan külün, ortamı alkali yaparak ağız mukozasından emilimi kolaylaştırdığı bilinmektedir (1). Maraşotu çoğunlukla sigarayı bırakmak için başvurulmuş bir tütün çeşidi olmakla birlikte, kendisi de bağımlılık oluşturan ve oral olarak alınan bir dumansız tütündür. İnsan sağlığına olumsuz etkileri detaylı bir şekilde aydınlatılamamıştır.

Maraşotunun bir benzeri Sudan’da “toombak” adı ile bilinmektedir. Toombak kullanımının, Sudan’da oral squamöz hücreli kanser etiolojisinde önemli rol oynadığı ayrıca, tükürük bezi kanserleriyle de ilişkili olabileceği bildirilmiştir (2). Dumansız tütün, oral olarak alındığından, oral mukozadaki lenfoid dokuların tütün ile kronik stimülasyonunun, kullanıcılardaki artmış gingivitis, lökoplaki ve oral kanser insidansı ile ilişkili olabileceği, yine yüksek nikotin içeriği ve ortalama kullanım süresinin uzun olması nedeniyle sigaradan daha fazla nikotin alımına ve daha fazla bağımlılık yapma potansiyeline neden olabileceği bildirilmiştir (3).

Tütün kullanımı ile ilişkili hastalıkların birçoğu bugüne kadar net bir şekilde aydınlatılmamıştır. ABD’de halen sigaradan her yıl 400.000’in üzerinde insan ölmekte ve sigaraya bağlı hastalıklar nedeniyle ortaya çıkan direkt sağlık bakım maliyetleri 50 milyar doları aşmaktadır (4).

Tütün kullanımının immün sistem üzerine olan etkisi ve aralarındaki ilişki halen açık değildir. Tütünün kimyasal bileşimi komplekstir. Yapılan çalışmalar, sigaranın immünotoksik ve genotoksik etkilerinin, sigaranın buhar fazından çok partikül fazından kaynaklandığını ortaya koymuştur. Partikül fazı, nikotin başta olmak üzere binlerce maddeden oluşmaktadır. Nikotinin sigarada ve/veya dumansız tütündeki major immünosupresif ajan olduğu yönünde birçok bulgu vardır. Nikotinin Th1/Th2 (Th: T helper lenfosit) oranına etki ettiği ve Th1 yanıtını inhibe ettiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Nikotin, ACTH ve katekolaminlerin salgılanmasına neden olur. Bunların da immün sistemini baskılayıcı etkileri vardır (4).

Akım sitometri ve monoklonal antikor teknolojisindeki gelişmeler, farklı fonksiyonel ve antijenik karakteristikleri olan lenfosit alt populasyonlarının tanınmasına imkan verecek şekilde, hücresel immün sisteme yeni bakış açıları kazandırmıştır. Değişik hastalık durumlarında T hücre alt grubu farklılaşmaları tanımlanmıştır fakat

dumansız tütün kullanımının etkisiyle ilgili veriler sınırlı ve çelişkilidir. Dumansız tütün kullanımı ile immün sistem parametreleri arasındaki ilişkinin çözümü biyolojik sürecin anlaşılması için hayati önem taşımaktadır.

Bu çalışmada; maraşotu kullanımının lenfosit alt gruplarına olan etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Çalışmada; sigarayı bırakmak için maraşotu kullanmaya başlayıp bu ota bağımlı hale gelen 21 sağlıklı gönüllü olgu grubunu ve herhangi bir tütün ürünü kullanmayan sağlıklı 24 gönüllü ise kontrol grubu şeklinde oluşturulmuştur. Bireylerin maraşotu grubuna seçilme kriteri olarak en az 10 yıl günde bir paket maraşotu (bir paketi ortalama $16 \text{ g} \pm 3 \text{ g}$ SS) kullanmaları esas alınmıştır. Kişilerden bir defada alınan 2 mL'lik kan örneklerinde hücresel immün sisteme ait lenfosit alt gruplarından CD4⁺ (T helper lenfosit), CD8⁺ (T sitotoksik lenfosit), CD3⁺ (total T lenfosit), CD19⁺ (B lenfosit), CD16⁺ 56⁺ (natural killer lenfosit) hücreleri kitler (Becton Dickinson Immünocytometry Systems 2350 Qume Drive San Jose, CA 95131-1807) kullanılarak akım sitometri yöntem ile değerlendirilmiştir.

Lenfosit alt grupları için çalışma ve kontrol grubundan steril EDTA'lı tüplere 2'şer mL venöz kan alınmıştır. Bu tüplerden CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD16⁺56⁺ hücrelerinin her biri için 100'er µL kan alınarak ayrı birer tüpe konulmuş ve üzerine uygun monoklonal antikorlardan 20'şer µL eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım 15 dak süre ile oda ısısında ve karanlıkta inkübe edilmiş. Ardından T-Q prep cihazından geçirilerek eritrosit lizisi ve fiksasyonu sağlamıştır. Bu şekilde periferik kan mononükleer hücreleri elde edilmiştir. Bu hücrelerden Coulter Epics XL-MLC (Beckman-Coulter, Miami, FL, USA) akım sitometri cihazında FITC (fluorescein isothiocyanate) veya PE (phycoerythrin) ile konjuge halde çift veya tek renkli monoklonal antikorlar kullanılarak

analizler yapılmıştır. Her bir örnek için uygun izotipik kontroller kullanılmıştır. Lenfositler tanımlanarak gate (kapı) içine alınmış ve her kapı içerisinde 10.000 hücre sayılmıştır. Her monoklonal antikorla reaksiyon veren lenfositler floresan özelliklerine göre ayrılıp sayıları yüzde olarak belirlenmiştir (5). Veriler, Expo 32 ADC software (Beckman-Coulter, Miami, FL, USA) kullanılarak analiz edilmiştir.

İstatistiksel analizlerde sürekli değişkenler t-testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Olgu ve kontrol gruplarındaki bireyler erkek olarak seçilmiştir. Olgu grubunun yaş ortalaması $35,0 \pm 7,53$ SS, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $34,7 \pm 9,0$ SS olarak belirlenmiştir. Yaş ortalamaları açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Olgu grubunun CD4⁺/CD8⁺ T hücre oranları, CD19⁺ (B lenfosit) ve CD4⁺ (Th) lenfosit yüzdeleri ortalaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte olgu grubunun CD16⁺56⁺ (NK) ve CD8⁺ (sitotoksik T) lenfosit yüzdeleri ortalamasının kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). CD3⁺ (total T lenfosit) yüzdeleri ortalamasının ise her iki grupta da benzer olduğu bulunmuştur ($p>0,05$) (Tablo 1).

Tablo 1: Olgu ve kontrol gruplarında lenfosit alt grup yüzde değerlerinin karşılaştırılması

Parametre	Olgu Grubu (n=21) Ort.±SS	Kontrol Grubu (n=23) Ort.±SS	P değeri
CD3 ⁺	68,82±7,41	67,2±6,81	>0,05
CD4 ⁺	36,24±6,08	43,81±5,12	<0,05
CD8 ⁺	39,33±6,98	24,91±3,83	<0,05
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0,96±0,29	1,78±0,24	<0,05
CD19 ⁺ **	10,06±3,05	14,05±5,46	<0,05
CD16 ⁺ 56 ⁺ **	40,34±16,23	20,91±7,16	<0,05

TARTIŞMA

Maraşotu (*Nicotiana rustica* L.), Kahramanmaraş ve çevresinde oldukça fazla sayıda tiryakisi bulunan bir tütün çeşididir. Alkaloid içeriği *Nicotiana tabacum* L.'nin 6-10 katı olabilmektedir (5, 6). Maraşotunun Sudan'da kullanılan benzeri olan toombakta tütüne özgü nitrozaminlerin oldukça yüksek olduğu ve bunun bugüne kadar dökümanite edilmiş en yüksek düzeyde mesleksel olmayan kanserojen olduğu bildirilmiştir. Yine, toombakta İsveç ve Amerika'da kullanılan dumansız tütüne göre tütüne özgü nitrozaminlerin 100 kat daha fazla bulunduğu bildirilmiştir (3, 7).

Tütün kullanımının birçok zararlı etkisi tüm dünyaca bilinmektedir. Tütün kullanımının hem hücrel hem de humoral immüneyi çeşitli düzeylerde olumsuz etkilediği bildirilmiştir (8-10).

Ancak, bu etkilemenin ne düzeyde olduğu henüz net bir şekilde ortaya konmamıştır (11-13). Goud ve ark. (14), dumansız tütün ile artan lenfosit profilyasyonu ve poliklonal IgM yanıtı bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Lindemann ve Park (15), suda çözülebilen dumansız tütün ekstresinin periferik lenfositlerde antisitolitik ve antiprofleratif etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu görüş ayrılığının nedenleri anlaşılammıştır.

CD4⁺ T lenfositleri, antikor yapıcı B hücrelerinin ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitelerini şiddetlendirirler. CD4⁺ T lenfositlerinin azlığında efektör T ve B hücrelerinin antijene cevabı zayıf olur. Ayrıca, bu hücreler çeşitli lenfokinler salgılayarak T hücrelerinin, monosit ve makrofajların ve diğer bazı hücrelerin sayıca ve etkinlikçe güçlenmelerini sağladıklarından dolayı yardımcı T lenfositleri immün orkestranın şef hücreleri olarak tanımlanmaktadır (16). Bu hücrelerde önemli derecede azalma sonucu yukarıda bahsedilen fonksiyonlardaki kayıba bağlı olarak edinsel immün yanıtta defektler oluşabilir. Bu nedenle, tütün kullananlarda immün yanıt eksikliği açısından zaman zaman takip gerekebilir. Natural killer hücreler lenfositler içerisinde heterojen bir gruptur ve diğer lenfositlerden farklı olarak daha önce

karşılaşma gereksinimi olmadan, virüslerle enfekte hücreleri ve tümör dokusunu tanıma ve öldürme kapasitesine sahiptirler. NK lenfositlerinin, IFN- γ , TNF, IL-2 sitokinleri ile hedef hücreleri lizise uğratma yetenekleri artar. Hedef hücrelerin NK tarafından öldürülmesi için IgG ile önceden kaplanması gerekmektedir. NK hücreleri ve B hücre aktivasyonu yaşa, cinsiyete göre değişim göstermektedir (17, 18).

Birçok çalışmada sigara içenlerde sadece B lenfositlerin değil T lenfositlerinin de dolaşımdaki sayısında ve fonksiyonel alt kümelerinde farklılaşma olduğu gösterilmiştir (19). Moszczynski ve ark. (20), sigara dumanının immün sistem üzerindeki baskılayıcı etkisine bağlı olarak immunoglobulinlerin ve lizozimin serum konsantrasyonlarında düşme, özellikle 10 yıldan fazla sigara içenlerde, NK hücre sayısında düşme ve T sitotoksik lenfosit sayısında artma, buna bağlı olarak da CD4⁺/CD8⁺ T lenfosit oranında düşme gözlemlenmişlerdir. Tollerud ve ark.(11), bu yayınların popülasyon açısından sınırlı, klinik ve demografik veri açısından yetersiz olduğunu savunmuşlardır. Yine, çalışmalarında yaş ve cinsiyetin, sigaranın CD4⁺ T lenfosit alt gruplarına etkisini değiştirebileceğini göstermişlerdir. Sigara içenlerde CD4⁺/CD8⁺ T hücre oranındaki değişimler doz, süre ve etnik durumdan da etkilenebilmektedir (13). Örneğin Tollerud ve ark. (21), hem siyahlarda hem de beyazlarda doz-yanıt ilişkisini, günlük içilen sigara sayısına bağlı olarak CD4⁺ T hücre düzeyinde belirgin olarak bulmuşlardır. Beyazlarda içilen her 10 sigaraya karşılık CD4⁺ T hücre sayısı %1,2 artarken siyahlarda %2 azaldığı belirlenmiştir. Her iki ırkta da sigaranın CD4⁺ T hücreleri üzerindeki etkisinin, sigarayı bıraktıktan sonra 1-2 yıl içinde geçtiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, CD3⁺ total T hücre yüzde ortalamaları her iki grupta da benzer olarak bulunmuştur (p>0,05). Olgu grubunun NK ve sitotoksik T lenfosit yüzde ortalamaları kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunurken (p<0,05); CD4⁺/CD8⁺ oranlarının ortalamaları, B lenfosit ve Th lenfosit yüzde ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0,05). Total T lenfosit oranı

değişmediğinden bu veriler, olgu grubunda hücrel immünitenin göreceli olarak arttığını, humoral immünitenin ise azaldığını düşündürmektedir. Her türlü sapma ile sonuçlanan immün yanıtlar bir takım hastalıklara zemin hazırlayacağı için önem taşımaktadır. Özellikle immün sistemin yönetici hücreleri olan Th hücrelerinin olgu grubundaki gibi sayı ve/veya fonksiyonlarındaki azalmalar daha vahim sonuçlar doğurabilecektir. Muhtemelen, bu durumun kompensasyonu için olgu grubunda NK hücre ve sitotoksik T lenfosit yüzdesinde artış olmuştur. Bu hücrelerin savunmada özellikle viral enfeksiyonlar ve malignansilerde etkin rol oynayabileceği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak; maraşotu kullanımının tiryakilerde hücrel immüniteyi göreceli olarak arttırdığı, humoral immüniteyi ise azalttığı düşünülmektedir. Her türlü sapma ile sonuçlanan immün yanıtlar, çeşitli hastalıklara zemin hazırlayabilir. Bu nedenle, sigara konusunda olduğu gibi, maraşotunun kullanıcılarının da sağlığa olabilecek olumsuz etkiler konusunda uyarılması önem taşımaktadır.

Daha fazla olgu ile hem sayısal hem de fonksiyonlar açısından immün sisteme ait hücre ve diğer elemanların analizlerinin yapılması, bu tütün alışkanlığının immün sisteme olan zararlı etkilerini açıklamak açısından tatmin edici bilgiler verebilir.

KAYNAKLAR

1. Erenmemişoğlu A, Tekol Y, Kartal M, Kurucu S. The use of a smokeless tobacco in our country "maraşotu" Second International Symposium of Pharmaceutical Sciences. Ankara-Turkey, June, 11-14, 1991.
2. Idris AM, Ibrahim YE, Warnakulasuriya KA, Cooper DJ, Johnson NW, Nilsen R. Toombak use and cigarette smoking in the Sudan: estimates of prevalence in the Nile state. *Prev Med*, 1998; 27(4): 597-603.
3. Ibrahim SO, Vasstrand EN, Johannessen AC, Idris AM, Magnusson B, Nilsen R, et al. Mutations of the p53 gene in oral squamous-cell carcinomas from Sudanese dippers of nitrosamine-rich toombak and non-snuff-dippers from the Sudan and Scandinavia. *Int J Cancer*, 1999; 81(4): 527-34.
4. Sopori LM, Kozak W. Immunomodulatory effects of cigarette smoke. *J Neuroimmunol*, 1998; 83, 148-56.
5. Ozkul Y, Erenmemişoğlu A, Cucer N, Menevse A, Saatci CA. Sister-chromatid exchange inducing effect of smokeless tobacco using on T-lymphocyte chromosomes. *Mutat Res*, 1995; 334(2): 209-12.
6. Erenmemişoğlu A, Ustun H, Kartal M. Carcinoma of buccal mucosa in smokeless tobacco users: a preliminary study of the use of cytology for early detection. *Cytopathol*, 1995; 6(6): 403-8.
7. Idris AM, Ibrahim SO, Vasstrand EN, Johannessen AC, Lillehaug JR, Magnusson B, et al. The Swedish snus and the Sudanese toombak: are they different? *Oral Oncol*, 1998; 34(6): 558-66.
8. Holt PG. Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax*, 1987; 42: 241-9.
9. Gulsvik A, Fagerhol MK. Smoking and immunoglobulin levels. *Lancet*, 1979; 1: 449.
10. Tollerud DJ, Clark YW, Brown LM, Nevla'nd CY, Mann DL, Pankiw-Trost LK, et al. Association of cigarette smoking with decreased numbers of circulating natural killer cells. *Am Rev Respir Dis*, 1989; 139(1):194-8.
11. Tollerud DJ, Clark JW, Brawn LM, Neuland CY, Mann DL, Pankiw-Trast LK, et al. The effects of cigarette smoking on T-cell subsets. a population-based survey of healthy caucasians. *Am Rev Respir Dis*, 1989; 139(6): 1446-51.

12. Buckley CE, Darsey FC. Serum immunoglobulin levels throughout the life span of healthy man. *Ann Intern Med*, 1971; 75: 673-82.
13. Tollerud DJ, Clark JW, Brown LM, Neuland CY, Pankiw-Trast LK, Blattner WA, et al. The influence of age, race, and gender on peripheral blood mononuclear cell subsets in healthy nonsmokers. *J Clin Immunol*, 1989; 9(3): 214-22.
14. Goud SN, Zhang L, Kaplan AM. Immunostimulatory potential of smokeless tobacco extract in in vitro cultures of murine lymphoid tissues. *Immunopharmacol*, 1993; 25(2): 95-105.
15. Lindemann RA, Park NH. Inhibition of human lymphokine-activated killer activity by smokeless tobacco(snuff) extract. *Arch Oral Biol*, 1988; 33(5): 317-21.
16. Kılıçturgay K. *İmmünoloji*. 3.Baskı, İstanbul; Güneş Nobel Kitabevi, 2003; 15-51.
17. Belkastro AN, Arthur GD, Albisser RA, Raj DA. Heart, liver, and skeletal muscle myeloperoxidase activity during exercise. *J Appl Physiol*, 1996; 80: 1331-5.
18. Fry RW, Morton AR, Keast D. Biological responses to overload training in endurance sports. *Eur J Appl Physiol*, 1992; 64: 335-44.
19. Larramendy LM, Knuutila S. Increased frequency of micronuclei in B and T8 lymphocytes from smokers. *Mutat Res*, 1991; 259: 189-95.
20. Moszczynski P, Zabinski Z, Moszczynski P Jr, et al. Immunological findings in cigarette smokers. *Toxicol Lett*, 2001; 118(3): 121-7.
21. Tollerud DJ, Clark JW, Brawn LM, Neuland CY, Mann DL, Pankiw-Trast LK, et al. T cell subsets in healthy black smokers and nonsmokers. Evidence for ethnic group as an important response modifier. *Am Rev Respir Dis*, 1991; 144: 612-6.

Ankara İli Kazan İlçesi kırsal bölgesinden bir hantavirüs enfeksiyonu olgusu

A hantavirus infection case report from rural area of Kazan district, Ankara

Ayşegül ULU-KILIÇ¹, Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK², Gülay DEDE³, Ediz TÜTÜNCÜ³, Yavuz UYAR², İrfan ŞENCAN³

ÖZET

Bunyaviridae ailesinin bir üyesi olan hantavirüsler zarflı, negatif polariteli tek iplikli segmenter RNA genomuna sahiptirler. Günümüzde 20'den fazla hantavirüs türü tanımlanmıştır. Bunlardan 11 tanesi insanda klinik bulgulara yol açmaktadır. *Hantaan* (HTNV), *Puumala* (PUUV), *Dobrava* (DOBV), Seoul virüsleri farklı formlarda renal sendromlu kanamalı ateşi (RSKA) neden olurken, Sin Nombre virüs ve Sin Nombre benzeri virüsler özellikle Amerika'da yüksek mortalite ile giden hantavirüs pulmoner sendromundan (HPS) sorumludurlar. Ülkemizde, ilk olarak Batı Karadeniz bölgesinde PUUV alt tipine ait hantavirüs olguları, daha sonra Giresun ve Kastamonu'dan DOBV alt tipinde RSKA olguları bildirilmiştir. Bu makalede benzer şekilde RSKA formunda Ankara'nın Kazan ilçesinde görülen hantavirüs enfeksiyonu olgusunun sunulmuştur. 67 yaşında erkek hasta; baş dönmesi, yüksek ateş ve halsizlik şikâyetleri ile 2011 yılı haziran ayında acil servise başvurmuştur. Acilde yapılan tetkiklerinde; lökopeni, trombositopeni, karaciğer enzimleri ve kreatinininde yükseklik saptanmıştır. Hasta Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA) ön tanısıyla yatırılmış ve takip edilmiştir. İleri laboratuvar incelemeler için Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı'na gönderilen serumda indirekt immunflorasan testi (IFA) (Hantavirus Mosaic-1, Euroimmun, Germany) ile hantavirüs IgM zayıf pozitif, IgG zayıf pozitif olarak sonuçlanmıştır. Immunoblot testi (Euroimmun,

ABSTRACT

Hantaviruses as a member of the family *Bunyaviridae* are RNA viruses with enveloped, negative-sense, single-stranded segmental genome. Today, more than 20 different hantavirus species are recognized. Eleven of them cause clinical symptoms in humans. While Hantaan (HTNV), Puumala (PUUV), Dobrava (DOBV), Seoul viruses causes different forms of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), Sin Nombre virus and Sin Nombre-like viruses found especially in the United States causes hantaviruses pulmonary syndrome (HPS) with high mortality. In our country, infections have been reported with subtypes of the hantaviruses firstly PUUV in the Western Black Sea region, then DOBV from Giresun and Kastamonu. A case of hantavirus infection similarly in the form of RSHF from the rural area of Kazan district in Ankara has been reported in this article. Sixty seven year old male patient was admitted to the emergency room with complaints of dizziness, fever and fatigue in June of 2011. Leukopenia, thrombocytopenia elevated liver enzymes and creatinine was detected in laboratory investigations at the emergency room. The patient was hospitalized and followed with initial diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF). Further investigation of the serum samples at the Refik Saydam Hygiene Center and Research Laboratory of Virology with indirect immunofluorescent antibody (IFA) (Hantaviruses Mosaic-1, Euroimmun, Germany) resulted

¹ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, KAYSERİ

² Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, ANKARA

³ Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Ayşegül ULU-KILIÇ

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, KAYSERİ

Tel : +90 505 445 11 32

E-posta / E-mail : draysegululu@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 06.02.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 03.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.50103

Ulu-Kılıç A, Çağlayık-Yağcı D, Dede G, Tütüncü E, Uyar Y, Şencan İ. Ankara İli Kazan İlçesi kırsal bölgesinden hantavirüs enfeksiyonu olgusu. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 27-32.

Germany) ile ise negatif saptanmıştır. Fakat hastanın 11 gün sonra gönderilen ikinci serumunda IFA testinin yanı sıra DOBV pozitifliği immunblot testi ile de serolojik olarak gösterilmiştir. Hastanın ilk serum örneğinden yapılan real-time (RT) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi negatif olarak bulunmuştur. Olgumuz, Ankara'dan bildirilen ilk RSKA enfeksiyonu olması nedeniyle önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hantavirüs, renal sendromlu kanamalı ateş

in weakly positivity of anti-hantavirus IgM and IgG. The first serum samples revealed negative by immunoblot test (Euroimmun, Germany). After 11 days the second sample of the patient revealed DOBV positive with both IFA and immunoblot serologically. In-house RT - Polymerase chain reaction (PCR) test was found to be negative in the first serum sample of the patient. This case is important of being the first HFRS infection reported from Ankara.

Key Words: Hantavirus, Hemorrhagic fever with renal syndrome

GİRİŞ

Hantavirüsler doğada kendine özgü farklı rodent veya böcek yiycilerle taşınan zarflı RNA virüsleridir. Avrupa'da PUUV, DOBV ve Saarema (SAAV) olarak üç hantavirüsün RSKA'ye neden olduğu bilinmektedir. PUUV, hafif seyirli RSKA ile ilişkilidir. SAAV; Danimarka, Estonya, Finlanda Almanya, Rusya'da tespit edilmiş fakat SAAV'nün neden olduğu RSKA olgusu rapor edilmemiştir. DOBV, *Apodemus flavicollis* türü rodent ile taşınır ve Arnavutluk, Bosna Hersek, Çek Cumhuriyeti, Yunanistan'da bulunmuştur. DOBV şiddetli formda RSKA ile ilişkilidir. RSKA'nın kuluçka süresi ortalama 1-4 gün olup, tipik olarak ateşli, hipotansif, oligürik, diüretik ve konvelasan dönemlerden oluşur. Bu dönemlerin ayrımı her zaman klinik olarak belirgin değildir. Enfeksiyonun seyri subklinikten, ölümlü seyreden forma kadar çeşitlilik gösterebilir, çeşitli organları etkileyerek yaygın hale gelebilir (1-3).

Ülkemizde ise ilk olarak Zonguldak ve Bartın'da PUUV alt tipine ait hantavirüs olguları, daha sonra Giresun ve Kastamonu'dan DOBV alt tipinde olgular bildirilmiştir (4-6). Bu makalede benzer şekilde RSKA formunda Ankara'nın Kazan ilçesinde görülen hantavirus enfeksiyonu olgusu sunulmuştur. Olgumuz, Ankara'dan bildirilen ilk RSKA olgusu olması nedeniyle önem taşımaktadır.

OLGU

Altmış yedi yaşında erkek hasta, hastaneye yatışından 4-5 gün önce başlayan baş dönmesi ve yeni eklenen yüksek ateş ve halsizlik şikâyetleri ile 2011 yılı Haziran ayında acil servise başvurmuştur. Acilde yapılan tetkiklerinde; lökopeni, trombositopeni, karaciğer enzimleri ve kreatininde yükseklik saptanmıştır. Hasta KKKA ön tanısıyla yatırılmış ve takip edilmiştir. Ankara'nın Kazan ilçesi Dutözü Köyünde yaşayan hasta çiftçilik ve hayvancılıkla uğraşmaktadır. Hastanın kliniğimize yatışında yapılan ilk fiziksel muayenesinde genel durumu orta-iyi olup, vücut ısısı; 38°C, KB 110/80 mmHg, nabız 90/dak ve solunum sayısı 20/dak olarak izlenmiştir. Hastanın laboratuvar bulgularında beyaz küre sayısı 3.360/mm³, hemoglobin 14,1g/dl, trombosit sayısı 118.000/mm³ olup, periferik yaymasında %87 polimorfonükleer lökosit (PNL), %4 lenfosit, %3 monosit, %3,5 eozinofil belirlenmiştir. Hastanın başvurusunda ve takibinde izlenen laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir. 24 saatlik idrarda proteinüri 1650 mg (normal 50-80 mg/gün) ve kreatinin 2.280 (800-2.000 mg/gün) tespit edilmiştir. Abdominal ultrasonografi değerlendirmesinde ise karaciğer ve dalak normal boyut ve eko yapısında saptanmış, bilateral böbrek parankim ekoları grade 1 artmış, parankim kalınlıkları

normal saptanmıştır. Serumda KKKA RNA virüsü ticari testi (CCHFV RT-PCR Kit 1.0, Astra Diagnostics, Hamburg, Almanya) ve ABD Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezleri (CDC)'nden temin edilen laboratuvar içi MAC ELISA ile immünglobulin M (IgM) testi (CDC protokolu, Atlanta, ABD) negatif olarak sonuçlanmıştır. Ayırıcı tanı da düşünülerek istenilen *Leptospira* spp. için mikroagglutinasyon testi (MAT) uygulanmıştır (7). MAT sonucunun 1/100 titrede pozitif gelmesi üzerine hastaya seftriakson 2x1 g başlanmıştır. Bir hafta sonra gönderilen leptospira MAT sonucunun yine 1/100 gelmesi üzerine leptospiroz tanısından uzaklaşarak antibiyotik tedavisi kesilmiştir. *Brusella* tüp agglutinasyonu testi negatif sonuçlanmıştır.

Weidman ve ark. (8)'nin daha önce tanımladığı protokole göre hastanın serum örneğinde çalışılan

Sandfly virüs Toscana, Napoli ve Sicilian tipleri için RT-PZR testleri negatif sonuçlanmıştır. Hastada immünflorasan antikor (IFA) ile Sandfly fever virüs Toscana, Napoli, Sicilian ve Cyprus (tatarcık humması) antikorları (Mosaic; Sandfly Fever Virus, Euroimmun, Lübeck, Germany) taranmıştır. IgM negatif fakat IgG pozitif olarak saptanmıştır. Hastada otoantikor pozitifliği saptanmamış ve hepatit panelinde bir özellik izlenmemiştir.

RSHMB, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü (SHAM), Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı'na gönderilen serumda hantavirus IFA yöntemi (anti-hantavirüs IIFT, Lübeck, Germany) ile test edilmiştir. Hantavirüs IgM zayıf pozitif, IgG zayıf pozitif olarak sonuçlanmış, immunoblot testi (Hantavirus Profile 1 Euroline IgG ve IgM, Euroimmun, Almanya) ise negatif

Tablo 1. Olgunun laboratuvar değerleri

Parametre	Normal Değer	1.6.11 (1.gün)	3.6.11 (3.gün)	6.6.11 (6.gün)	13.6.11 (13.gün)
Beyaz küre	4,3-10,3x10 ³ µL	3,36	2,01	2,14	5,94
Trombosit	156-373 x10 ³ µL	119	85	201	330
Sedimentasyon	0-20 mm/st	58	-	45	72
CRP	0-5 mg/dl	193	-	22,5	4,3
Glukoz	70-105 mg/dl	123	169	113	89
Üre	10-50 mg/dl	107	188	154	72
Kreatinin	0,6-1,1 mg/dl	4,25	3,94	3,9	1,4
AST	0-40 U/L	116	95	175	21
ALT	0-41 U/L	90	107	308	54
Total bilirubin	0-1 mg/dl	1,4	1	0,9	0,5
ALP	0-240 U/L	-	202	-	149
GGT	0-55 U/L	-	130	-	89
LDH	207-414 U/L	275	-	306	213
CK	38-174 U/L	294	-	28	25
Protrombin Zamanı	11-14 sn	10,8	N	N	N
Aktive pıhtılaşma Zamanı	22-40 sn	22,5	N	N	N
INR	0-1,5	0,94	N	N	N

CRP: C-reaktif protein, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, CK: Kreatin kinaz, INR: Uluslar arası normalleştirilmiş oran (international normalized ratio).

saptanmış olmasına rağmen 11 gün sonra gönderilen serokonversiyon serumunda IFA testinin yanı sıra pozitiflik immunblot testi ile de gösterilmiştir.

Hastada serolojik olarak DOBV alt tipi saptanmıştır. Hastanın ilk serum örneğinden yapılan hantavirüs in-house RT-PZR testinde virüs RNA'sı negatif olarak bulunmuştur. Hastanın takibinde ateşi olmadığı, serum kreatinin değerlerinde gerileme gözlemlendiği, hemodiyaliz ihtiyacı olmadığı görülmüştür. Hastanın hastaneye yatışının 13. gününde üre ve kreatinin değerleri dışında diğer laboratuvar bulguları normal düzeyde tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

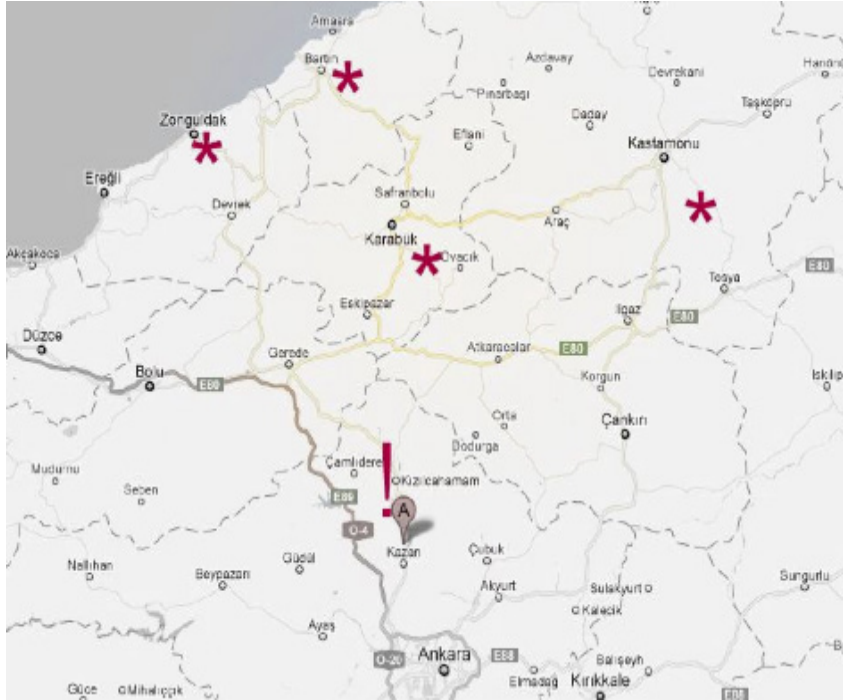
Renal sendrom ile seyreden kanamalı ateş, Asya ve Avrupa'da endemiktir ve yaklaşık 150.000-200.000 hasta her yıl RSKA ile hastaneye başvurmaktadır. Çoğu olgular özellikle Çin ve Kore olmak üzere Asya'dan bildirilmektedir. RSKA'nın vaka-ölüm oranı virüs türüne bağlı olarak <%1 ile %12 arasında değişmektedir. Sadece Amerika'da yılda 200 pulmoner sendrom olgusu raporlanmıştır. RSKA'ya göre daha az sıklıktadır fakat ortalama vaka ölüm oranı %40 olarak belirlenmiştir. Çoğu ülkede hantavirüs enfeksiyonu olguları sayısında artış raporlanmıştır ve tüm dünyada yeni hantavirüs suşları tanımlanmıştır. İklim ve çevresel değişiklikler, kemiricilerin ve dolayısıyla hantavirüs epidemiyolojisinin coğrafi dağılımını, sıklığını ve dinamiklerini etkileyebilmektedir (9, 10).

Avrupa'da üç hantavirüsün (PUUV, DOBV ve SAAV) RSKA'ya neden olduğu bilinmektedir. PUUV, genellikle "nephropatia epidemica" denilen sıklıkla baş ağrısı, gastrointestinal semptomlar, bozulmuş renal fonksiyon ve bulanık görme gibi bulgularla seyreden göreceli olarak hafif hastalığa neden olmaktadır. DOBV enfeksiyonu da hemorajik komplikasyonlarla seyrederek. Doğrulanmış SAAV enfeksiyonlarının klinik seyri ile ilgili yeterli veri yoktur fakat epidemiyolojik kanıtlar DOBV'den daha az patojenik, SAAV enfeksiyonlarının PUUV'nin oluşturduğu nephropatia epidemica'ya benzer olduğunu göstermektedir (2).

Ülkemizde ise halen epidemiyolojik olarak yeterli veri bulunmamaktadır. Ege Bölgesinde akut ve kronik böbrek yetmezliği olan 200 hastanın serumunda DOBV ve PUUV'ye ait IgG tipi antikorlar taranmıştır (1). Toplam 24 hastada DOBV pozitifliği saptanırken, bunlardan 7'si immunblot testiyle pozitif olarak doğrulanmıştır. 2004 yılında gerçekleştirilmiş bir alan çalışmasında ise Trabzon ve İzmir'de yakalanan *Microtus* cinsi farelerde hantavirüs seropozitiflikleri saptanmıştır (11). 2009 yılında ilk olarak Zonguldak ve Bartın, daha sonra Giresun, İstanbul ve Kastamonu'dan hantavirüs enfeksiyonu olguları bildirilmiştir (4-6,12) (Tablo 2). Olgumuzun saptandığı Ankara'nın Kazan ilçesi coğrafik olarak daha önce vakaların saptandığı Bartın, Zonguldak, Karabük ve Kastamonu illerini içine alan Batı Karadeniz Bölgesi'ne yakın olup, aynı ekosistemin devamı şeklindedir (Şekil 1).

Tablo 2. Ülkemizde bildirilen Hantavirüs enfeksiyonu olguları

İl (Kaynak)	Ay/yıl	Olguların Özellikleri (n=37)	Alt tip
Zonguldak-Bartın (4)	Ocak-Mayıs/2009	Doğrulanmış 12 olgu, Erkek/Kadın oranı: 6/1, ortalama yaş 56 (22-78), mortalite %8	PUUV
Giresun (5)	Ağustos/2009	55 ve 50 yaşlarında iki erkek olgu, bir olgunun fatal seyrettiği raporlanmıştır	DOBV
İstanbul (12)	Mart/2010	22 yaşında erkek olgu, fatal seyrettiği raporlanmıştır	DOBV
Kastamonu (6)	Haziran/2010	29 ve 28 yaşında iki erkek olgu, şifa	-
Ankara (olgu)	Haziran/2011	67 yaşında erkek olgu, şifa	DOBV



Şekil 1. Hantavirüs tespit edilen Ankara-Kazan ile Batı Karadeniz Bölgesi'ndeki Bartın, Zonguldak, Karabük, Kastamonu illeri

Komşu ülkelerde de hantavirüs enfeksiyonlarının görülmesi ve bu virüsün doğadaki rezervuarı olan kemiricilerin ülkemizde yaygın olarak bulunması Türkiye'de hantavirüs enfeksiyonu için endemik bölge ve bölgelerin olabileceğini düşündürmektedir (3, 13, 14). Olgumuz, Ankara'dan bildirilen ilk RSKA olgusu olması nedeniyle önem taşımaktadır.

Ülkemizde RSKA; aynı bölgelerde ve benzer klinik bulgularla seyreden, mevsimsel olarak eş zamanlı görülen KKKA ve leptospiroz gibi hastalıklarla karışabilmektedir (6). PUUV subtipinde görülen olgularda mortalite %8 olarak bildirilirken, DOBV subtipinde bildirilen dört olgunun ikisinde %50 ölüm görülmüştür. Özellikle PUUV subtipi ile olan enfeksiyonlar nispeten daha hafif formda seyretmektedir (4). Hafif klinik seyirli olguların tanınması ve bildirilmesi ülkemizde bu enfeksiyonun gerçek prevalansı belirlenmesi açısından önemlidir.

Hantavirüs enfeksiyonlarında viremi kısa süreli olduğu için RT-PCR'ın tanıda yararı azdır. Olgumuzda da bu yöntemle yapılan incelemede viremi saptanamamıştır. Serolojik yöntemler hantavirüslerin tanı ve tiplendirmesinde oldukça önemli olmakla birlikte bazen serotip ve genotipler arasında çapraz reaksiyon göstermesi nedeniyle sorunlar yaşanabilmektedir (5). Olgumuzda; ikinci kan örneğinde yapılan incelemelerde IFA ve immunblot testleri ile serolojik olarak DOBV saptanmıştır. Olgumuzda, ayrıca hastanın ikinci kanında çalışılan Sandfly IgG'nin pozitif saptanmasının nedeninin iki virüsün de *Bunyaviridae* ailesinden olmasından ya da hastanın bu enfeksiyonu daha önceden geçirmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Hantavirüs vücutta temel olarak vasküler endotelde hasar oluşumu ve vasküler permeabilitede artışa neden olmakta; en belirgin hasar böbreklerde ortaya çıkmaktadır. Böbrek vasküler endotelinde oluşan hasar

ve enfeksiyona sekonder salınan sitokinlerin etkisi ile tubulointerstitiyel nefrit gelişir. HTNV ve DOBV ile oluşan enfeksiyonlarda böbrek hasarı daha belirgindir ve olguların %30-40'ında hemodiyaliz gereksinimi ortaya çıkar. *Puumala* tipi daha hafif seyirlidir ve hemodiyaliz oranı %5-7 civarındadır (15). İyileşen olgularda böbrek hasarı genellikle kalıcı değildir. Olgumuzda diyaliz gerektirmeden kendiliğinden gerileyen üre ve kreatinin yüksekliği ile hafif seyirli böbrek tutulumu görülmüştür.

Son zamanlarda Avrupa'da çoğu ülkede tanı olanaklarının artması ve çevresel değişikliklere bağlı olarak hantavirüs enfeksiyonların arttığı bildirilmiştir. Halen birçok ülkede bu enfeksiyona tanı konulamadığı düşünülmektedir (3). Özellikle yaz aylarında ateş, trombositopeni, böbrek işlev bozukluğu bulguları ile gelen hastalarda hantavirüs enfeksiyonunun akla gelmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Öktem MA. Hantavirüs ve kene ile bulaşan ensefalit virüsü enfeksiyonları. *ANKEM Derg*, 2009; 23: 245-8.
2. Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist A. Hantavirus infections in Europe. *Lancet Infect Dis*, 2003; 3: 653-61.
3. Heyman P. Situation of hantavirus infections and haemorrhagic fever with renal syndrome in European countries as of December 2006. *Euro Surveil*, 2008;13 (28): 1-7.
4. Ertek M, Buzgan T. An outbreak caused by hantavirus in the Black Sea region of Turkey. *Euro Surveil*, 2009; 14 (20): 1-2.
5. Kaya S, Yılmaz G, Erensoy S, Yağcı Çağlayık D, Uyar Y, Köksal I. Hantavirus infection: two case reports from a province in the Eastern Blacksea Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44 (3): 479-87.
6. Öngürü P, Yılmaz S, Akıncı E, Özdemir B, But A, Yetkin A, et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome: two case reports. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68 (1): 35-9.
7. Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *APPL Microbiol*, 1973; 25: 976-81.
8. Weidmann M, Sanchez-Seco MP, Sall AA, Ly PO, Thiongane Y, Lô MM, et al. Rapid detection of important human pathogenic phleboviruses. *J Clin Virol*, 2008; 41 (2): 138-42.
9. Heyman P, Cochez C, Korukluoglu G, Gözalan A, Uyar Y, Lundkvist A. Bridging continents; hantaviruses of Europe and Asia minor. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68 (1): 41-8.
10. WHO. Crimean-Congo haemorrhagic fever, hantavirus, and alkhurma haemorrhagic fever, as emerging infectious diseases apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB127/B127_3-en.pdf.
11. Laakkonen J, Kallio-Kokko H, Oktem MA, Blasdell K, Plyusnina A, Niemimaa J, et al. Serological survey for viral pathogens in Turkish rodents. *J Wildl Dis*, 2006; 42 (3): 672-6.
12. Oncul O, Atalay Y, Onem Y, Turhan V, Acar A, Uyar Y, et al. Hantavirus infection in Istanbul, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 2011; 17 (2): 303-4.
13. Kuchuloria T, Clark DV, Hepburn MJ, Tsertsvadze T, Pimentel G, Imnadze P, et al. Hantavirus infection in the Republic of Georgia. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15 (9):1489-91.
14. Papa A, Antoniadis A. Hantavirus infections in Greece an update. *European J Epidemiol*, 2001; 17: 189-94.
15. Çelebi G. Hantavirüs enfeksiyonları. *Klinik Gelişim*, 2010; 23 (3): 40-4.

Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi

From nanotechnology to nanogenotoxicology: genotoxic effect of cobalt-chromium nanoparticles

Züla ATLI-ŞEKEROĞLU¹

ÖZET

Nanoteknoloji materyalleri nanometre seviyesinde ölçülebilecek düzeyde işleyen, pek çok araştırma alanını ya da disiplini birleştiren multidisipliner bir teknolojidir. Nanomateryaller; bilim, teknoloji, iletişim, elektronik, endüstri, eczacılık, tıp, çevre, tüketici ürünleri ve askeri alanlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son zamanlara kadar nanomateryallerin insan sağlığı ve çevre üzerinde toksik ya da tehlikeli etkilere sahip olup olmadıkları hakkında çok az şey bilinmekteydi. Ancak çeşitli çalışmalar bazı nanomateryallere örneğin nanopartiküllere maruz kalmanın insanlarda ve hayvanlarda bazı olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir. Son yıllarda nanotoksikoloji konusuna yapılan yayınların sayısındaki nanomateryallerin genotoksitesisi hakkında hala bir boşluk bulunmaktadır. Üstün mekanik özelliklere sahip metal nanopartiküller ve alaşımları, iskelet-kas sisteminin mekanik koşullarına kolaylıkla uyum gösterebilen malzemelerdir. Kobalt-krom alaşımları eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak ortopedik uygulamalarda, çene cerrahisinde dolgularda ve diş implantlarında, kalp damar cerrahisinde özellikle stent uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Metal nanopartiküllerin insan üzerindeki sitotoksikite ve genotoksitesisi ile ilgili çalışmalar, bazı metal nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğu ve insanlar için tehlikeli olabileceklerini göstermiştir. Fakat kobalt-

ABSTRACT

Nanotechnology is a multi-disciplinary technology that processes the materials that can be measured at nanometer-level and combines many research fields and disciplines. Nanomaterials (NMs) are widely used in the fields of science, technology, communication, electronics, industry, pharmacy, medicine, environment, consumer products and the military. Until recently little has been known about whether or not nanomaterials have a toxic or hazardous effects on human health and the environment. However, several studies have indicated that exposure to some nanomaterials, e.g. nanoparticles, can cause some adverse effects in humans and animals. Over the last years the number of publications focusing on nanotoxicology has gained momentum, but, there is still a gap about the genotoxicity of nanomaterials. Metal nanoparticles and their alloys with excellent mechanical properties are the materials which can be easily adapted to the mechanical conditions of the musculoskeletal system. Cobalt-chromium alloys are widely used in orthopedic applications as joint prosthesis and bone regeneration material, fillings and dental implants in jaw surgery, and in cardiovascular surgery, especially stent applications. Studies about cytotoxicity and genotoxicity of metal nanoparticles on human indicate that some metal nanoparticles have cytotoxic and genotoxic effects and

¹ Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ORDU

İletişim / Corresponding Author : Züla ATLI-ŞEKEROĞLU

Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ORDU

Tel : +90 452 234 50 10/1667

E-posta / E-mail : zulalas@odu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 13.11.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 03.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.70298

Atlı-Şekeroğlu Z. Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 33-42.

krom nanopartiküllerin genotoksik etkileri hakkında az sayıda çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen bilgiler, kobalt-krom nanopartiküllerinin sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Protezleri kobalt-kromdan yapılmış bulunan hastalarda, protezlerin aşınması sonucu oluşan kalıntıların DNA ve kromozom hasarına neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kalça protezi uygulamasından sonra bu tip hastaların; mesane, üreter, böbrek ve prostat gibi üriner sistem kanserleri bakımından normal popülasyona göre yüksek risk taşıdıkları da bulunmuştur. Nanopartiküllerin uzun dönem etkileri hakkındaki biyoyumluluk ve toksisite testlerinin sınırlı olmasından ve nanogenotoksisiteye odaklanan az sayıda araştırma bulunmasından dolayı, nanopartiküllerin hücrelerdeki özellikle genetik materyal üzerindeki etki mekanizmaları henüz detaylı olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu nedenle nanopartiküllerin epigenetik etkileri ve nanopartikül tarafından indüklenen genotoksik olayların mekanizmasını anlamak için, hücre döngüsü ve DNA onarımını kapsayan iyi tasarlanmış çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu sayede gelecekte nanomateryallerin biyoyumluluklarının sağlanması, sağlık için zararlı etkilerinin en aza indirilmesi ve bilinçli tasarımların yapılmasını sağlayacak bilgiye sahip olabiliriz.

Anahtar Sözcükler: Nanomateryaller, metal nanopartiküller, krom-kobalt alaşımı, genotoksisite

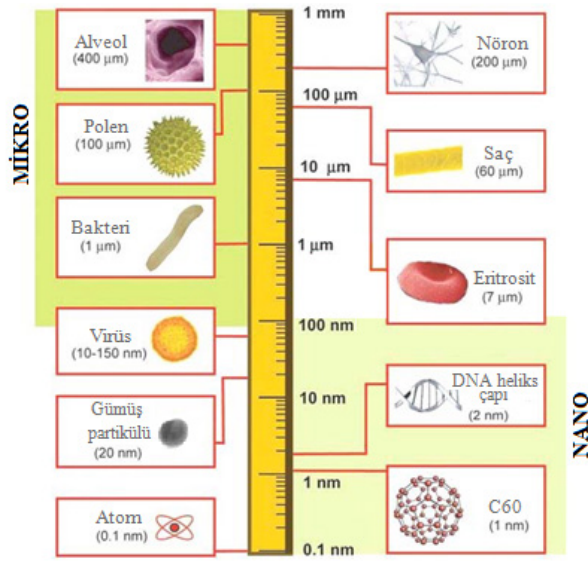
they may be hazardous for humans. However, a few studies have been reported concerning the genotoxic effects of cobalt-chromium nanoparticles. The data from these studies indicate that cobalt-chromium nanoparticles have cytotoxic and genotoxic effects. It has been stated that the wear debris from implants cause DNA and chromosome damage in patients with cobalt-chromium replacements. It was also found that the risk of urinary cancers such as bladder, ureter, kidney and prostate in patients after hip replacement was higher than among the wider population. Because there are few biocompatibility and toxicity tests on the long-term effects of nanoparticles and limited amount of research focused on nanogenotoxicity, the effect mechanisms of nanoparticles on cells, especially genetic material, are not yet elucidated in detail. For this reason the well designed experiments including cell-cycle and DNA repair are required to understand the epigenetic effects of nanoparticles and mechanisms of nanoparticle-induced genotoxic events. Thus we may have information that will allow making informed designs, ensuring biocompatibility of nanomaterials and minimising their adverse effects for health in the future.

Key Words: Nanomaterials, metal nanoparticles, cobalt-chromium alloy, genotoxicity

GİRİŞ

Günümüzde bilimlerdeki hızlı gelişmelerin en heyecan verici ve ilgi uyandıran kısmı olan nanoteknoloji, yapı taşları olarak atom veya moleküllerin kullanımıyla insan yapımı 1-100 nm boyutundaki yapıların işlevsel olarak tasarlanarak imal edilmesi olarak tanımlanmaktadır (1-4). Bahsedilen boyut gerçekte maddenin temel yapı taşları ve moleküllerin sahip olduğu büyüklüğü temsil etmektedir (Şekil 1). Biyolojik bilgiyi taşıyan ve çeşitli görevleri olan protein, DNA gibi biyolojik yapılar da fiziksel boyut açısından nanoteknolojinin içinde yer almaktadır (5). Nanoteknoloji vizyonunun ortaya çıkışı, 1959 yılında fizikçi Richard Feynman'ın malzeme ve

cihazların moleküler boyutlarda üretilmesi üzerine yapmış olduğu 'küçük boyutlarda yapılabilecek çok şey var' ifadesinin geçtiği ünlü konuşmasına kadar dayandırılabilir. 1981 yılında atomların doğrudan görüntülerini veren taramalı tünelleme mikroskopunun ve 1986 yılında atomik kuvvet mikroskopunun keşfi ile biyolojik materyallerin de nano ölçüde yüzey özelliklerinin incelenmesi mümkün olmuş ve bu gelişmeler bilim adamlarının nanometre boyutlarında bilime yönelmelerini ve bu bilimin ivme kazanmasını teşvik etmiştir. 20. yüzyılın son çeyreğinde ise doğada bulunmayan yeni nano yapıların atomsal düzeyde tasarlanarak sentezlenmesi devri başlamıştır (3, 6, 7).



Şekil 1. Nanopartiküller ile bazı biyolojik yapıların karşılaştırıldığı uzunluk ölçeği

Günümüzde nanoteknoloji, birçok gelişmiş ülke tarafından en önemli, öncelikli ve kritik uğraş alanı olarak kabul edildiği için büyük yatırımlar yapıldığı, araştırma merkezlerinin kurulduğu ve en çok desteklenen projeler arasında yerini almıştır. Bu yeni teknoloji ile maddenin daha önce bilinmeyen ve tahmin edilemeyen özellikleri keşfedilmiş ve elde edilen bulgular çok geniş alanlarda kullanılarak yeni cihaz ve sistemler geliştirilmiştir (2, 8). 1999 yılında ABD’de nanoteknoloji alanında yürütülen araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırma amacını taşıyan ilk resmi hükümet programından sonra, 2001 yılında Avrupa Birliği Çerçeve Programına nanoteknoloji çalışmaları öncelikli alan olarak dahil edilmiştir. 2000 yılında Amerikan Ulusal Nanoteknoloji Grubu kurulmuş ve nanoteknolojiye verilen maddi destek artırılmıştır. Ülkemizde de bu yeni teknoloji ile paralel olarak bazı üniversitelerde nanoteknoloji anabilim dalları ve araştırma merkezleri kurulmaya başlamıştır. Ayrıca nanoteknoloji, TÜBİTAK tarafından hazırlanan Vizyon 2023 Programı’nda öncelikli alanlardan biri olarak belirtilmiştir (9). Akademik çevreler de nanoteknolojiyi geleceğin bilimi yapma konusunda

hızla ileriye götürmektedir. Nanoteknolojiyi içeren çalışmaların yayımlandığı dergilerin yayın hayatına başlamasıyla bu alanda yayınlanan makalelerin sayısı da her geçen gün artmaktadır.

Metaller, yarı iletkenler, seramik, organik moleküler topluluklar, polimerik ya da kompozit gibi malzemelerden oluşabilen nanomateryallerin; bilişim ve iletişim, elektronik, biyoteknoloji, ilaç, biyomedikal, tıp, savunma ve güvenlik, kozmetik, tekstil, gıda, enerji, çevre, makine ve inşaat endüstrileri gibi çok geniş alanlarda kullanımı her geçen yıl artmış ve artık insan hayatının vazgeçilmez haline gelmiştir (2, 4, 10-15).

NANOTIP

Tıp biliminde nanoteknolojinin kullanım alanı “nanotıp” olarak isimlendirilmektedir ve tanı, tedavi, hastalık ve travmatik yaralanmaların önlenmesi, ağrının giderilmesi ve insan sağlığının korunup geliştirilmesi amaçlı vücudun moleküler bilgileri ile moleküler araçların kullanılmasını içermektedir (3, 4, 16, 17). Nanopartiküller 100 nm’den küçük ve boyutlarına özgül özellikleri nedeniyle biyolojik sistemlere kolayca entegre olabildikleri için biyomedikal ve tıp alanlarında; akıllı ilaç taşıyıcıları, görüntüleme, biyosensörler, nanomakineler (biyrobotlar), nükleik asit analizleri, biyoinformatik ve genomik uygulamalar için DNA çiplerinin nanofabrikasyonu, kök hücre bazlı organ mühendisliği uygulamaları, implant materyalleri, yapay doku ve nanocerrahi gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar (3, 4, 7, 18, 19).

NANOTEKNOLOJİNİN GÖRÜNMEYEN TEHLİKESİ

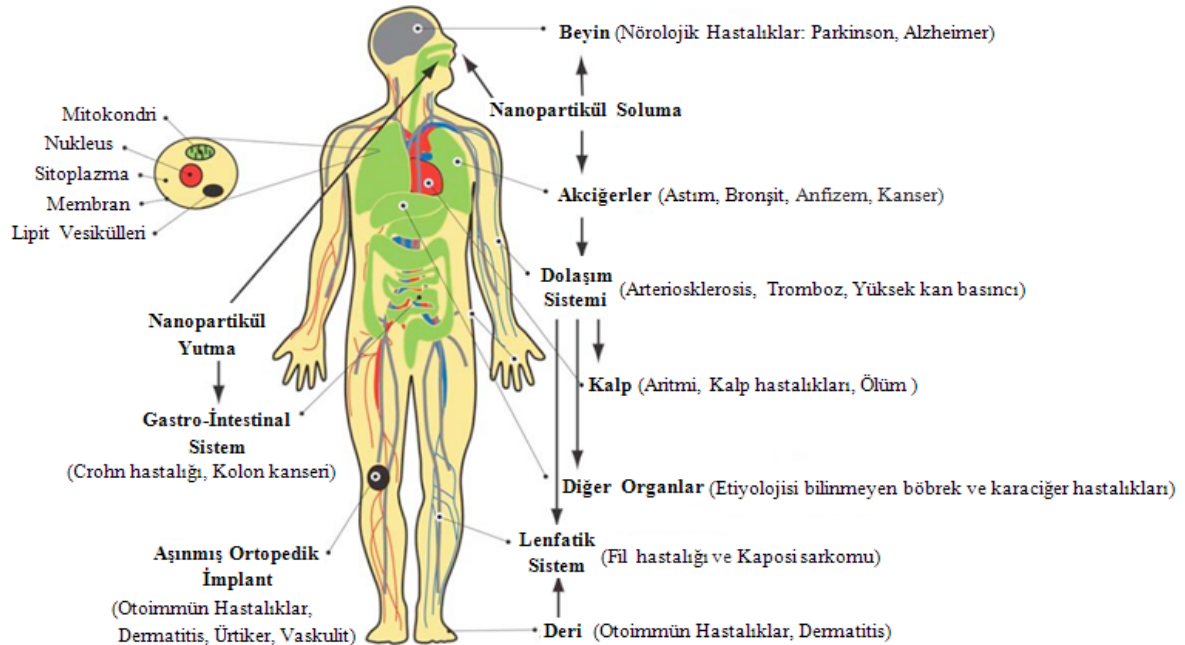
2002 yılında Amerika’da Ulusal Bilim Vakfı tarafından desteklenen ve nanoteknolojiye yaklaşım ve beklentileri içeren bir çalışma, nanoteknolojinin getireceği yeni imkanların ve uygulamaların insanları heyecandırıyor olmasının yanında çok az kimsenin bu yeni bilimin tehlikeleri konusunda endişeler taşıdığına dikkat çekmiştir (7, 20, 21). Nano ürünlerin birçok alanda kullanımının yanında, insan sağlığı ya

da çevreye olabilecek zararlı etkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Her ne kadar nanoteknolojik ürünler pazarda yerini alsada toksikyan etkileri hakkındaki bilgi ve literatür oldukça sınırlıdır (2, 3, 11, 12, 14, 21-24). İnsanlarda bu parçacıkların solunum, beslenme ve deri yoluyla vücuda alındığı ve kolaylıkla kana karışabildiği bilinmektedir. Değişik yollarla alınan ve kana karışan nanopartiküllerin, vücutta pekçok organı etkileyerek bazı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabileceği için insan sağlığı bakımından zararlı olduğu vurgulanmıştır (Şekil 2) (24-27). Bu sonuç nanomateryallerin canlılar üzerinde olumsuz etkilerinin olup olmayacağını ortaya çıkarmak için yapılacak araştırmaların, en az nanoteknoloji uygulamalarının sağlık problemlerini gidermek amacıyla kullanımlarını hedefleyen çalışmalar kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle nanoteknolojinin potansiyel uygulama alanları keşfedilirken, nanopartiküllerin canlılar ve çevre üzerinde ortaya çıkarabileceği riskler ve belirsizlikler göz ardı edilmemelidir. Son zamanlarda bu konunun önemi giderek artmış ve ayrıntılı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (11,

12, 24, 27). Amerika Ulusal Nano Girişim Programı; nanoteknolojinin çevresel, sosyal ve insan sağlığına etkileri konusundaki bilgilerin artmasının çok önemli olduğunu belirtmiştir (28). Avrupa Komisyonu, Avrupa'nın strateji taslağında nanomateryallerin insan sağlığı için potansiyel riskleri ve bu alanda ihtiyaç duyulan araştırmalar ile ilgili önlemleri vurgulamıştır. Çevre Koruma Örgütü (Environment Protection Agency - EPA) ve çok sayıda laboratuvar nanoteknolojinin potansiyel fayda ve risklerini ortaya koymaya yönelik araştırmalar yapmaktadır. Bazı bilim adamları ise güvenlik açısından önlemler alınmasını ve ürünlerin içinde nanopartikül bulunduğuna dair uyarı konulması gerektiğini düşünmektedir (5).

NANOGENOTOKSİKOLOJİ

Dünya genelinden nanotoksikoloji alanında yeterince uzman bulunmamakta ve bilgi eksikliği nedeniyle bu konuda büyük belirsizlikler bulunmaktadır. Bazı otoriteler tarafından sunulan raporlarda bu boşluğa dikkat çekilmiş ve nanomalzemelerin insan sağlığı ve çevre için risklerinin belirlenerek kontrollü olarak kullanılmasına yönelik araştırmaların gerekliliği



Şekil 2. İnsan vücudunun nanopartiküllere maruz kalma yolları, etkilenen organlar ve ortaya çıkabilecek hastalıklar

vurgulanmıştır. Bu gereklilikten dolayı da çevresel toksikoloji alanına gelecekte daha fazla yatırım yapılacağı ileri sürülmektedir.

Özellikle biyomedikal ve tıp alanlarında oldukça hızlı bir gelişme gösteren nanoteknoloji, bilim dünyasına sunduğu imkanların yanında bazı riskleri de beraberinde getirmektedir. Nanopartiküllerin insan ve çevredeki akıbetinin ne olduğu kesin olarak bilinmemektedir ve bu konu ile ilgili endişeler her geçen gün artmaktadır (3, 7, 12, 13, 15, 24, 29). Ayrıca; nanopartiküllerin canlılardaki uygulamalarının uzun dönem etkileri hakkındaki biyoyumculuk ve toksisite testlerinin sınırlı olmasından, yakın zamana kadar nanoteknolojiyle ilgili risklere odaklanan çok az araştırma yapılmasından ve halen nanogenotoksosite ile ilgili çalışmaların literatürde sınırlı sayıda yer almasından dolayı, nanopartiküllerin hücrelerdeki özellikle genetik materyal üzerindeki etki mekanizmaları henüz detaylı olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Son yıllarda biyolojik etkileri tam olarak bilinmeyen maddelerin sayılarının ve kullanımlarının hızla artması, pek çok maddenin kanserojenik ya da mutajenik potansiyelleri yönünden test edilmeleri gerektiğini ortaya çıkarmış ve beraberinde genetik toksikolojinin önemi her geçen gün artmıştır. Hücreler için genotoksik potansiyele sahip ajanların aynı zamanda kanserojenik potansiyele de sahip olabileceği düşünülürse, özellikle insan sağlığı bakımından konunun önemi daha da dikkat çekmektedir. Nanopartiküllerin hücreleri ve genetik materyali nasıl etkilediğini öğrenmeye yönelik çalışmalar nanotoksikolojinin yeni ve kapsamlı bir alanıdır. Her geçen gün insanların nanopartiküllere maruziyetleri giderek arttığı için, bu partiküllerin olası sitotoksik ve genotoksik etkilerinin ortaya çıkarılmasını sağlayan nanogenotoksikolojik çalışmaların yapılması, başta kanser olmak üzere bazı hastalıkların, pek çok üreme ve gelişim anormalliklerinin kontrol altına alınmasına önderlik edebilir. Bu nedenle son zamanlarda yurt dışındaki bazı üniversitelerde bu alanla ilgili araştırmalar yapan fakülteler, bölümler veya anabilim

dalları kurulmaya başlanmıştır.

Bazı nanopartiküllerin beklenen dağılım kompartımanlarının dışına çıkmaları, proteinlerin yapılarını modifiye ederek inflamatuvar ve toksik etki ortaya çıkarmaları ve vücutta birikim ihtimalleri olduğundan canlılar için birtakım riskler taşıdığı vurgulanmıştır (4, 11, 12, 27, 29, 30). Bu nedenle nanopartiküllerin insan üzerindeki etkilerinin incelenmesi için sağlık otoriteleri yeni çerçeve kuralları belirlemeye çalışmaktadır. Bu doğrultuda, klasik farmasötik kimya ve biyoteknolojinin kullandığı ve ruhsatlandırma için gerekli olan testlere ek olarak farklı testlerin de yapılması ve standart hale getirilmesinin bir ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (7, 11, 12, 23, 24, 30, 31). Bu açıdan bakıldığında nanopartiküllerin genetik toksikoloji testleri ile olası etkilerinin kontrol edilmesi kanser vakalarındaki artış göz önünde bulundurulursa son derece önem taşımaktadır. Çünkü genetik toksisite testlerinden alınan pozitif sonuçlar genotoksik olan birçok maddenin aynı zamanda kanserojenik de olduğunu göstermektedir (11, 32, 33). Bu nedenle nanomateryallerin vücutta kullanılmadan önce genotoksisite testleri ile DNA üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi, bunu takiben klinik denemelerle biyogüvenilirliğinin tespit edilmesi sağlık açısından son derece önemlidir.

METAL NANOPARTİKÜLLER VE GENOTOKSİK ETKİLERİ

Metal nanopartiküller kolaylıkla sentezlenebilmeleri ve kimyasal açıdan kolaylıkla modifiye edilebilmeleri nedeniyle tüketim ürünlerinde, endüstriyel ürünlerde, makine sanayinde, askeri uygulamalarda ve özellikle tıpta geniş ölçüde kullanılmaktadır. Kristal yapıları ve çok güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal nanopartiküller ve alaşımları, iskelet-kas sistemimizin mekanik koşullarına en iyi uyum gösteren malzemelerin başında gelirler (34). Bu biyomalzemelerden çelik, 1900'li yılların başında önemli ölçüde kullanılırken, çelikteki oksidasyondan dolayı daha sonraları paslanmaz çelik, kobalt, krom

ve kobalt-krom alaşımları kullanılmaya başlanmıştır. Aslında biyomalzemeler bazı testlerden geçtikten sonra kullanım alanına girmektedirler. Fakat bu testlere rağmen biyomalzemelerin vücutta alerjik, immün, inflamatuvar, mutajenik ve karsinojenik etkileri ortaya çıkabilmektedir (4, 24, 29, 35, 36). Bu nedenle, nanopartiküllerin dokulara karşı alerjik reaksiyon özellikleri, biyolojik uyumluluğu ve genetik açıdan toksisitesi mutlaka tespit edilmelidir.

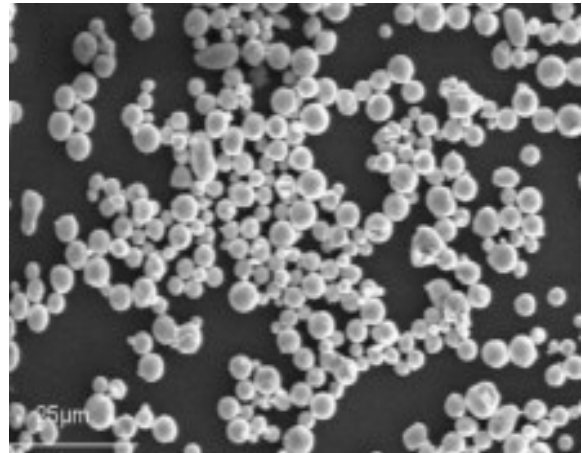
Son yıllarda metal nanopartiküllerin insan üzerindeki sitotoksosite ve genotoksitesini araştırmak amacıyla yapılan çalışma sayısının giderek arttığı gözlenmektedir. Metalleri de kapsayan çeşitli nanopartiküllerin insanlar için sitotoksik ve genotoksik potansiyele sahip olduğu bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda nanopartikül konsantrasyonunun artışına paralel bir DNA hasar artışı saptanmıştır (34, 37, 38). Küçük boyutlarından dolayı doğrudan hücreye ve çekirdeğe girebilen metal nanopartiküllerin; hücrede serbest radikal oluşumuna yol açarak ve DNA'ya bağlanarak genetik hasara neden olabileceği vurgulanmıştır (4, 24, 31, 34). İçerisinde metal nanopartiküllerin de bulunduğu 21 genotoksosite çalışmasından 16 tanesinde pozitif sonuçlar elde edilmiştir (38). Çeşitli memeli hücre kültürleri üzerinde bazı nanopartiküllerini genotoksitesinin mikronükleus (MN) testi ile gösterildiği çalışma sonucunda; alimünyum oksit, kobalt, kobalt-krom, demir oksit, gümüş ve titanyum dioksitin DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Çeşitli sitotoksosite ve genotoksosite testleri ile farklı hücre kültürlerinde etkileri incelenen gümüş, altın, krom, kobalt, bakır oksit, çinko oksit, alimünyum oksit ve titanyum dioksit nanopartiküllerinin de sitotoksik ve genotoksik potansiyellerinin bulunduğu belirtilmiştir (34, 39).

Genellikle metal nanopartiküllerin genotoksitesini ile ilgili özellikle memelilerde in vivo genotoksosite çalışmaları oldukça sınırlıdır. Nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri ile toksik etkileri arasında bağlantı kurabilmek için o partikülün canlı sistemlerde ve hücrelerdeki tutulumunun ve birikiminin çok iyi

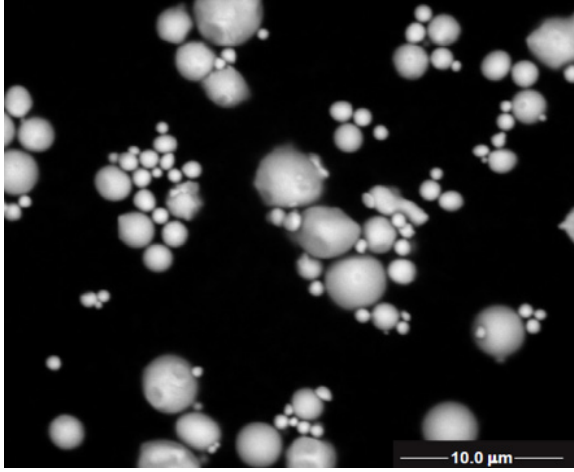
bilinmesi gerekir (34). Bu nedenle farklı tür canlılar üzerinde farklı doz ve maruziyet sürelerini kapsayan in vivo çalışmaların yapılması da oldukça önemlidir.

KOBALT-KROM NANOPARTİKÜLLERİNİN GENOTOKSİSİTESİ

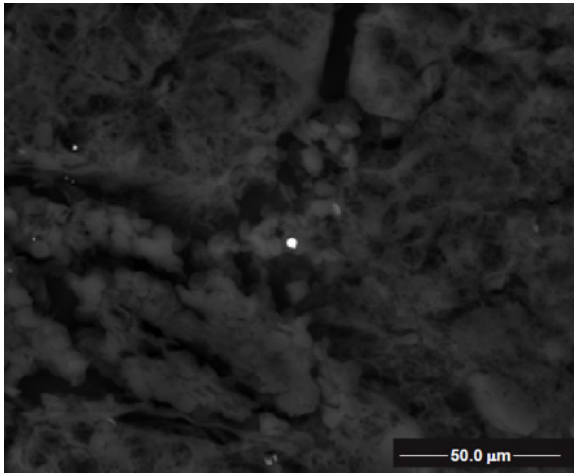
Kobalt-krom alaşımları ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak çene cerrahisinde dolgularda ve diş implantlarında, kalp damar cerrahisinde özellikle stent uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Buna rağmen kobalt-krom alaşımı nanopartiküllerin sitotoksitesini ve genotoksitesini üzerinde yapılmış sınırlı sayıda bilimsel araştırma bulunmaktadır. Bu nedenle bu alaşımla ilgili genotoksosite araştırmalarına daha geniş bir yer verilecektir. Kromun özellikle suda çözünmeyen formunun karsinojenik potansiyele sahip olduğu ve insanda özellikle akciğer kanserini tetikleyebileceği bilinmektedir (11). Kobalt-krom alaşımı nanopartiküllerin (Şekil 3) vücutta uygulandığı bölgeden vücudun diğer kısımlarına hareketi ve dağılımı ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda, kobalt-krom alaşımı implantların uygulandığı hastalarda ve bazı deney hayvanlarında bir süre sonra bu nanopartiküllere, yakın lenf nodları, dalak, karaciğer, kemik iliği, kan, üre ve saçlarda da rastlanmıştır (Şekil 4 ve Şekil 5) (11, 37).



Şekil 3. Kobalt-krom alaşımı nanopartiküller



Şekil 4. İnsana ait bir implant yenileme cerrahisinde implanta bitişik dokuda görülen krom-kobalt partiküllerinin (0.3-5 µm) SEM görüntüsü



Şekil 5. Femur kemik iliği implantasyonu sonucu tavşan karaciğerinde görülen bir mikropartikül (ortada) ve nanopartiküllerin (sol üst köşeye yakın) SEM görüntüsü

Aşınmış kobalt-krom alaşımı kalça protezleri yenilenen hastalarda, implanta yakın fibroblast hücrelerinde DNA çift zincir kırıkları, kemik iliği hücrelerinde artmış kromozom anormalliği ve periferik kan lenfositlerinde artmış kromozom hasarları gözlenmiştir (11, 40). Kromun insan bronşial hücre kültürlerinde DNA hasarına yol açtığı tek hücre jel elektroforezi (comet) testi ile belirlenmiştir (41). Kobalt ile muamele

edilen fare fibroblast hücreleri ve insan lenfosit hücreleri ile ortopedik implant olarak kullanılan kobalt-krom alaşımı nanopartiküller ile muamele edilen insan dermal fibroblast hücrelerinde serbest radikal oluşumu, DNA hasarı ve anöploidi oluşumunda artma gözlemlendiği için bu nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (42-44). Papagerogiou ve ark. (42); kobalt-krom alaşımı nanopartiküller (29,5 nm) ile muamele edilen insan dermal fibroblast hücrelerinde DNA çift zincir kırıklarının, 8 hidroksi guanozin (8-Oh-dG) ürünlerinin ve kullanılan nanopartikül dozuna paralel olarak MN frekansının arttığını belirtmişlerdir. Krom-kobalt nanopartikülleri ile muamele edilen insan fibroblast hücrelerinde de bu nanopartiküllerin sitotoksik etkiye sahip olduğu ve bu hücrelerde kromozom hasarı meydana getirdiği rapor edilmiştir (45, 46). Parry ve ark. (45); comet ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) teknikleri ile 29,5 nm ve 2,9 µm çapındaki kobalt-krom nanopartiküllerinin insan deri fibroblast hücrelerinde DNA zincir kırıklarını, kromozom anormalliklerini ve tetraploidiyi artırdığını belirlemişlerdir. Tsousi ark. (46); MN ve FISH tekniklerini kullanarak 560 nm'den daha büyük kobalt-krom nanopartiküllerinin insan fibroblast hücrelerinde DNA zincir kırıkları, anöploidi ve erken kardeş kromatit ayrılması olaylarını artırdığını, kromozom kaybı ve kazancına yol açtığını vurgulamışlardır.

Kobalt ve kromdan yapılmış kalça protezleri bulunan hastalarda, bu metallerin giderek artan miktarlarda vücutta uzun süre kaldığı ve gastrointestinal, üriner, lenf, deri ve kan dokuya ait çeşitli kanserlere yol açtığı belirtilmiştir (47, 48). Ayrıca bu tip hastaların mesane, üreter, böbrek ve prostat gibi üriner sistem kanserleri bakımından normal popülasyona göre yüksek risk taşıdıkları da ifade edilmiştir. Bu metaller üre yoluyla vücuttan uzaklaştırıldığı ve bu tip hastalarda üriner sistemde yüksek oranda kobalt-krom partikül ve nanopartikülleri bulunduğu için bu olası mekanizma nedeniyle bu tip hastalarda özellikle üriner sisteme spesifik kanserlerin görülme sıklığının yüksek olduğu açıklanmıştır (47, 49, 50).

Araştırmalardan elde edilen sonuçlar; kobalt-krom nanopartiküllerinin DNA kırıklarına, yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerine neden olduğunu ve DNA hasarına yol açtığını göstermektedir. Nanopartiküllerin ya doğrudan DNA'ya bağlanarak ya da DNA'ya bağlı proteinlerle etkileşime geçerek replikasyon, transkripsiyon ve translasyon olaylarını önleyebilecekleri, diğer hücre proteinlerine bağlanarak hücre bölünmesi sürecini etkileyebilecekleri, oksidatif strese, anormal sinyal oluşumuna ve anormal tepkiye neden olabilecekleri ve sonuçta hücre hasara yol açabilecekleri düşünülmektedir (11). Bu nedenle, nanopartiküllerin neden olduğu DNA hasarı ve genetik kararsızlığa ait mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için hücre döngüsü ve kontrol noktalarındaki değişimler ve DNA tamiri konularını kapsayan detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Çünkü DNA tamir hataları, genomik kararsızlıkla karakterize bazı sendromlara ve kansere yol açmaktadır.

SONUÇ

Nanoteknolojideki başdöndürücü ve hızlı gelişmeler göz önüne alındığında, nanoteknolojinin insan sağlığı için bir nanotehlike olmasını önlemek amacıyla ülkemizde de nanogenotoksikoloji alanında bilimsel araştırmaların yapılması zorunlu hale gelmiştir. Nanopartiküllerin neden olduğu genetik hasarın karsinogeneze yol açabileceği düşünülürse, nanopartiküllerinin olası epigenetik etkilerini ve etki mekanizmalarını anlayabilmek için, hücre döngüsü ve DNA tamiri konularını da kapsayan detaylı *in vivo* ve *in vitro* sitotoksikite ve genotoksikite araştırmalarının yapılması insan sağlığı bakımından önem arz etmektedir. Araştırmalar sonucunda elde edilen veriler ile bu nanopartiküllerin güvenilirliği test edilecek, tedavide bu nanopartiküllerin kullanıldığı bireylerin karsinogenite açısından ne ölçüde risk taşıdığı değerlendirilebilecek ve nanopartiküllerin kullanımına dair uygulamalara yön verilebilecektir.

TEŞEKKÜR

Araştırmacı olarak bulunduğum 'Kobalt-Krom Nanopartiküllerin İnsandaki Genotoksisitesi' adlı proje kapsamındaki yurt dışı desteği nedeniyle TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Thrall JH. Nanotechnology and medicine. *Radiology*, 2004; 230: 315-8.
2. Kuzma J, Priest S. Nanotechnology, risk, and oversight: learning lessons from related emerging technologies. 2010; *Risk Anal*, 30 (11): 1688-98.
3. Gupta J. Nanotechnology applications in medicine and dentistry. *J Invest Clin Dent*, 2011; 2: 81-8.
4. Syed S, Zubair A, Frieri M. Immune response to nanomaterials: implications for medicine and literature review. *Curr Allergy Asthm Rep*, 2013; 13 (1): 50-7.
5. Gök H. Fiziksel tıp ve rehabilitasyon uzmanlarının nanoteknolojiden beklentileri. *Türk Fiz Tıp Rehabilitasyon Derg*, 2007; 53 (2): 13-7.
6. Drexler KE. Nanotechnology: from Feynman to Funding. *Bull Sci Technol Soc*, 2004; 24 (1): 21-7.
7. Kocaefe Ç. NANOTIP: Yaşam bilimlerinde nanoteknoloji uygulamaları. *Hacettepe Tıp Derg*, 2007; 38: 33-8.
8. Fu L, Cao L, Liu Y, Daoban Z. Molecular and nanoscale materials and devices in electronics. *Adv Colloid Interface Sci*, 2004; 111: 133-57.
9. http://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files/vizyon, 2023 (14.02.2012).
10. Koch CC. Nanostructured materials processing, properties, and applications. 2nd ed. New York: William Andrew, 2000.

11. Singh N, Manshian B, Jenkins GJS, Griffiths SM, Williams PM, Maffei TGG, et al. Nanogenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 2009; 30 (23-24): 3891-914.
12. Doak SH, Griffiths SM, Manshian B, Singh N, Williams PM, Brown AP, et al. Confounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis*, 2009; 24 (4): 285-93.
13. Conti J, Satterfield T, Harthorn BH. Vulnerability and social justice as factors in emergent US nanotechnology risk perceptions. *Risk Anal*, 2011; 31 (11): 1734-48.
14. Khare P, Sonane M, Pandey R, Ali S, Gupta KC, Satish A. Adverse effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil nematode, *Caenorhabditis elegans*. *J Biomed Nanotechnol*, 2011; 7 (1): 116-7.
15. Al-Subiai SN, Arlt VM, Frickers PE, Readman JW, Stolpe B, Lead JR, et al. Merging nanogenotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C60 fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus sp.* *Mutat Res*, 2012; 745(1-2): 92-103.
16. Freitas RA. What is nanomedicine? *Nanomedicine*, 2005; 1(1): 2-9.
17. Yula E, Deveci Ö. Nanotıp, mikrodizilimler ve klinik mikrobiyolojide kullanımları. *Dicle Tıp Derg*, 2010; 37 (4): 422-8.
18. Tomalia DA, Reyna LA, Svenson S. Dendrimers as multipurpose nanodevices for oncology drug delivery and diagnostic imaging. *Biochem Soc Trans*, 2007; 35: 61-7.
19. Portakal O. Biyolojik ölçümler ve nanopartiküller. *Türk Biyokimya Derg*, 2008; 33 (1): 35-8.
20. Bainbridge WS. Perceptions of science essay. privacy and property on the net: research questions. *Science*, 2003; 302: 1686-7.
21. Scholz RW, Siegrist M. Low risks, high public concern? the cases of persistent organic pollutants (POPs), heavy metals, and nanotech particles. IED Working Paper 5, Institute for Environmental Decisions, Zurich, 2008.
22. Lanone S, Boczkowski J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Curr Mol Med*, 2006; 6: 651-63.
23. Logothetidis S. Nanotechnology in medicine: the medicine of tomorrow and nanomedicine. *Hippokratia*, 2006; 10 (1): 7- 21.
24. Gonzalez L, Lison D, Kirsch-Volders M. Genotoxicity of engineered nanomaterials: a critical review. *Nanotoxicol*, 2008; 2 (4): 252-73.
25. Hoet P, Hohlfield I, Salata O. Nanoparticles-known and unknown health risks. *J Nanobiotechnology*, 2004; 2: 1-15.
26. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2007; 2 (4): 17-71.
27. Shatkin JA, Abbott LC, Bradley AE, Canady RA, Guidotti T, Kulinowski KM, et al. Nano risk analysis: advancing the science for nanomaterials risk management. *Risk Anal*, 2010; 30 (11): 1680-7.
28. <http://www.nano.gov> (14.02.2012).
29. Pfuhrer S, Elespuru R, Aardema MJ, Doak SH, Donner EM, Honma M, et al. Genotoxicity of nanomaterials: refining strategies and tests for hazard identification. *Environ Mol Mutagen*, 2013; 54 (4): 229-39.
30. Lacerda L, Bianco A, Prato M, Kostarelos K. Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006; 58: 1460-70.
31. Donaldson K, Poland CA, Schins RPF. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: criteria for improved test strategies. *Nanotoxicol*, 2010; 4 (4): 414-20.
32. Zeiger E. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environ Mol Mutagen*, 2004; 44: 363-71.
33. Atlı Şekeroğlu Z, Şekeroğlu V. Genetik toksisite testleri. *Tübav Bil Derg*, 2011; 4 (3): 221-9.
34. Xie H, Mason MM, Wise Sr, JP. Genotoxicity of metal nanoparticles. *Rev Environ Health*, 2011; 26 (4): 251-68.
35. Mantovani D. Shape memory alloys: properties and biomedical applications. *JOM*, 2000; 52 (10): 36-44.
36. Niinomi M. Recently metallic materials for biomedical applications. *Metall Mater Trans A*, 2002; 33 (3): 477-86.
37. Revell PA. The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnol Percept*, 2006; 2: 283-98.
38. Gonzalez L, Sanderson BJS, Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials. *Mutagenesis*, 2011; 26 (1): 185-91.

39. Ishikawa Y, Nakagawa K, Satoh Y, Kitagawa T, Sugano H, Hirano T, et al. Characteristics of chromate workers' cancers, chromium lung deposition and precancerous bronchial lesions: an autopsy study. *Br J Cancer*, 1994; 70: 160-6.
40. Doherty AT, Howell RT, Ellis LA, Bisbinas I, Learmonth ID, Newson R, et al. Increased chromosome translocations and aneuploidy in peripheral blood lymphocytes of patients having revision arthroplasty of the hip. *J Bone Joint Surg*, 2001; 83: 1075-81.
41. Xie H, Wise SS, Holmes AL, Xud B, Wakemond TP, Pelsue SC, et al. Carcinogenic lead chromate induces DNA double-strand breaks in human lung cells. *Mutat Res*, 2005; 586: 160-72.
42. Papageorgiou I, Brown C, Schins R, Singh S, Newson R, Davis S, et al. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 2007; 28: 2946-58.
43. Colognato R, Bonelli A, Ponti J, Farina M, Bergamaschi E, Sabbioni E, et al. Comparative genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions on human peripheral leukocytes in vitro. *Mutagenesis*, 2008; 23: 377-82.
44. Ponti J, Sabbioni E, Munaro B, Broggi F, Marmorato P, Franchini F, et al. Genotoxicity and morphological transformation induced by cobalt nanoparticles and cobalt chloride: an in vitro study in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Mutagenesis*, 2009; 24: 439-45.
45. Parry MC, Bhabra G, Sood A, Machado F, Cartwright L, Saunders M, et al. Thresholds for indirect DNA damage across cellular barriers for orthopaedic biomaterials. *Biomaterials*, 2010; 31 (16): 4477-83.
46. Tsaousi A, Jones E, Case CP. The in vitro genotoxicity of orthopaedic ceramic (Al_2O_3) and metal (CoCr alloy) particles. *Mutat Res*, 2010; 697 (2): 1-9.
47. Signorello LB, Ye W, Fryzek JP, Lipworth L, Fraumeni JF Jr, Blot WJ, et al. Nationwide study of cancer risk among hip replacement patients in Sweden. *J Natl Cancer Inst*, 2001; 93: 1405-10.
48. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, Yeates D. Cancer following hip and knee arthroplasty: record linkage study. *Br J Cancer*, 2005; 92: 1298-1301.
49. MacDonald SJ. Can a safe level for metal ions in patients with metal-on-metal total hip arthroplasties be determined? *J Arthroplasty*, 2004; 19 (8): 71-7.
50. Smith AJ, Dieppe P, Porter M, Blom AW. Risk of cancer in first seven years after metal-on-metal hip replacement compared with other bearings and general population: linkage study between the National Joint Registry of England and Wales and hospital episode statistics. *BMJ*, 2012; 344: 2383.

İnokulasyonun multifokal tekniği kullanılarak walker 256 tümörüne histopatolojik olarak yaklaşımlar

Histopathological aspects of walker 256 tumor using the multifocal technique of inoculation

Maria Rita Garbi NOVAES¹, Roberto Cañete VILLAFRANCA², Luiz Carlos Garcez NOVAES³

ÖZET

Kanser, dünyada büyük ekonomik ve sosyal kayıplara neden olan ciddi felaketlerden birisi olarak tanımlanmaktadır. Sağlığı bozan bu vakaların artışı göz önüne alındığında, mevcut değişen etkinlik ile sık sık yan etki gösteren kemoterapi protokolleri, dünyada kanser terapisi ve kanserden koruyucu yeni stratejilerin geliştirilmesini gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Walker 256 tümörünün kanser çalışmalarında kullanılan en yaygın deneysel tümör olmasına rağmen bu konuda sağlık personelinin çok az bilgiye sahip olduğu iyi bilinen bir gerçektir. Bu çalışmanın amacı; deneysel tümörleri gözden geçirmek ve aynı zamanda sağlık çalışanlarının bilgi düzeylerini derinleştirerek artırmaktır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, walker tümörü, deney

ABSTRACT

Cancer has been considered one of the most serious calamities all over the world, producing tremendous economic and social losses. Considering the increasing incidence of these health disturbances, the variable efficacy and frequent adverse events commonly notified with the existing chemotherapy protocols and the new events currently in progress in the world it's urgent to develop new strategies to prevent and treat cancer. It is well known that walker 256 tumor is the most common experimental tumor model to study cancer but public health personnel still have little information about it. The aim of this study is not only to review the important aspects of this experimental tumor but also to increase the knowledge and comprehension about it among health professionals.

Key Words: Cancer, walker tumor, experiment

¹ School of Medicine, ESCS/FEPECS, Human Nutrition Institute, University of Brasilia, BRAZİL

² Centre of Hygiene, Epidemiology and Microbiology, Matanzas City, CUBA

³ School of Medicine, ESCS/FEPECS, BRAZİL

İletişim / Corresponding Author : Maria Rita Garbi NOVAES

School of Medicine, ESCS/FEPECS, Human Nutrition Institute, University of Brasilia, BRAZİL

Tel : +90 535 328 93 56

E-posta / E-mail : ritanovaes@ig.com.br

Geliş Tarihi / Received : 28.03.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 29.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.50465

Novaes MRG, Villafranca RC, Novaes LCG. İnokulasyonun multifokal tekniği kullanılarak walker 256 tümörüne histopatolojik olarak yaklaşımlar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 43-9.

INTRODUCTION

Cancer is defined as a cell disturbance characterized by alterations in DNA duplication, resulting in disordered cell growth and proliferation. Numerous chemical and biological agents such as hormones, cytokines, antineoplastic and tumoricidal agents which are connected to monoclonal antibodies are used in the treatment of cancer (1, 2).

Substances used in the treatment of cancer inhibit cell growth by different mechanisms of action. They exert their cytotoxic action not only on cancer cells but also on normal cells which have rapid replicative capacity such as the cells of bone marrow, skin, gastrointestinal epithelium and embryonic structures. For this reason most patients present with nausea, vomiting, and skin reactions such as hyperpigmentation and alopecia (1, 2).

Throughout human history, cancer has been considered as one of the most serious calamities. All over the world it is considered one of the main causes of death and a problem of public health. In 1985 mortality caused by cancer was 6% and in 1997 it reached 9% in developing countries and 21% in under developed countries (3).

Researchers have great interest in the development of new strategies to prevent and treat cancer. For ethical reasons, studies on cancer have been developed with animal models and the walker 256 tumor is the most common experimental tumor model (4). Although the results of experimental studies, especially with rodents, have to be carefully analysed before being transferred to clinical practice, they allow the observation of important effects like: anemia, clinical conditions, tumoral growth, survival and the results of new therapeutic strategies.

In this paper it is aimed to review the histopathological aspects, evolution, metastasis and metabolism of walker 256 tumor, using the multifocal technique of inoculation.

Histopathology of Walker 256 Tumor

Walker 256 tumor is a mammary gland neoplasm of female rats, firstly identified by George walker in 1928 (4, 5). In this experimental investigation, Walker tumor cells have been inoculated in sites that are different from the original site of their inoculation such as: intradermal, subcutaneous, intracardiac, intrapleural, intraperitoneal, splenic, intravascular and intratracheal. Walker tumor cells are easy to manipulate, which facilitates their inoculation in different types of tissues (4, 5).

In the identification process, the continuous observation of pregnant rats allowed the visualization of palpable mass in the left lower abdominal quadrant. During lactation an almost completely regressed tumor was observed to follow a rapid growth, reaching a greater size than its initial dimensions (5).

Although the walker 256 tumor has been recognized by its aggressiveness, rapid growth, lymphatic and hematogen dissemination along with frequent lung metastasis, its origin and histopathologic nature is not clear since authors suggest different features e.g. carcinomatous, adenomatous, lymphoid and even hematogen (5-8).

Earle (5), after obtaining several types of cells from Dr. Walker's laboratory, carried out a histological study where he describes the characteristics of growth and microscopy of this tumor. He confirmed the adenomatous character of it at the initial phase and the adenocarcinomatous character at the final stage, describing subsequent histopathological stages of the evolution. Tumor sections with hemorrhagic necrotic central aspects were stated as evidences of carcinomatous transformation in this study. Sections of tumors evidenced a hemorrhagic necrotic central aspect, with carcinomatous appearance (5).

In a histochemical enzymatic study, the walker 256 tumor showed an intense focal acid phosphate activity suggesting that cells were of hematopoietic origin.

So, the concept that these cells reflect epithelial origin is not substantiated by the phenotype. When implanted, this tumor grows with the morphology of a carcinosarcoma, exhibiting 2 to 3 cell types, forming independent cell patterns. In microscopic exam, the patterns of carcinoma or sarcoma appear as individual entities (8).

This study suggested a hematopoietic origin for these cells since they had monocytoid characteristics. This concept is sustained by the growth properties of these cells which occur in non-adherent groupings of reminiscent cells from a culture of leukemia lymphoid cells, in a more evident way than layers of epithelial cells (7, 8).

The walker 256 tumor in rats (WS cells) is sensitive to cisplatin and chlorambucil in contrast to the lineage WR that is derived from the exposure of WS lineage to chlorambucil. The WS cells seem to present a normal sensitivity to these agents. Studies demonstrate that the number of chromosomes of WS and WR lineages present little differences in triploidy and tetraploidy. WS and WR lineages of walker tumor cells have hematopoietic origin and absence of epithelial cell markers (5-8).

Metastasis of Walker 256 Tumor

The information about the frequency and distribution of walker 256 tumor metastasis are controversial (6, 8). Buck in 1937, described the metastatic dissemination in abdominal cavity associated with visceral invasion, after the introduction of walker 256 tumor cells in peritoneal cavity of rats. It is believed that the dissemination is made by lymphatic circulation. In this case the regional and abdominal lymph nodes were mostly, and the thoracic and axillary lymph nodes were rarely, affected. Affected lymph nodes present higher volume, but their limits are maintained (8).

In multifocal and subcutaneous inoculations both regional and distal lymph node metastases and distant metastases to lungs, liver and kidneys were

observed. A few thoracic and abdominal metastatic lymph nodes have been described in the uni and bifocal subcutaneous inoculation (4, 9-12).

The lung metastasis can occur after the inoculation of endotracheal tumoral cells and the dissemination follows the lymphatic standard. The involvement of lung lymphatic vessels can result in clinical sub-acute signs and symptoms. The pathogenesis of lung hypertension and cardiac insufficiency in carcinomatous lymphangitis is still controversial, and various theories have tried to explain its involvement. Among them are the possibility of extrinsic compression of blood vessels by lymphatic vessels and invasion of arterial wall by neoplastic cells (9, 10, 13).

Liver metastasis and cutaneous growth of walker 256 tumor have a similar appearance to various malignant tumors. Cytoplasmic pseudopod formations were observed between the tumor and hepatic cells, when a metastasis is present. On the other hand, the contact of hepatic and tumoral cells could be some sort of confrontation of both cells (13). The nutritional supplementation with 6% arginine possibly inhibits the metastatic dissemination of tumoral cells in experimental models of ascitic and solid forms of Walker 256 tumor. The nutritional supplementation with L-arginine in animals with solid walker 256 tumor showed a beneficial action of this substance in the prevention of metastasis of this same tumor (14-16). The analyses of ascitic walker tumor also showed a positive effect with arginine supplementation. Reduction was observed of the aggressive character of the tumor and the intensity of metastatic dissemination (16).

Scientific literature has shown that surgery has controversial effects on cancer patients, since it reduces the immunological defenses of the host pre-disposing metastatic dissemination and tumor development. Fluoxetine (anti-depressant) has attested to be able to prevent immunodepression after surgery (17). Studies were conducted to prove

the effect of fluoxetine in metastatic dissemination of walker tumor in rats submitted to laparotomy. It was observed that fluoxetine is able to reduce a number of metastatic lymph nodes in lungs of post operated rats and response was even more significant when administered two hours after surgery. Good results were also obtained during the survival period of the animals. The administration of fluoxetine before surgical stress resulted in a decrease of lethality rate. These results are attributed to the protective action of fluoxetine in the immunological system, even though various publications describe Fluoxetine as having cancerous action (17).

The Evolution Of Walker 256 Tumor in Wistar Rats, Using The Multifocal Technique of Inoculation.

The walker 256 tumor has been extensively used in oncologic physiopathology. This tumor develops without any functional disturbance for a period of time that cannot be predicted (in an individual basis), being interrupted by subtle and rapid homeostatic alterations evidenced by anorexia, immunological and electrolytic alterations to finish up in obit.

The systemic effect observed presents great individual variability. Investigations were carried out using techniques that reduce these variations during the inoculation of walker 256 tumor in unilateral site, two sites (bilateral) and four sites of inoculation (multilateral) (9, 11, 17).

The multifocal inoculation presented more advantages in relationship to uni and bilateral techniques by the fact that this method produces greater synchronism in the different phases of tumor growth, minimizing the effects of variations caused by individual response obtained by other methods.

The differences found in relation to other methods of inoculation refer mainly to the phases of tumoral development and the beginning of metastasis. This is probably due to the high level of mediators that are able to surpass the capability of protective mechanisms.

The multifocal technique followed a typical standard evolution: the initial period free of systemic detectable effects (sub clinical period, SCP), then a subtle interruption by a symptomatic (clinical period, CP) where it is possible to determine a moderate clinical period (mCP) and finally a severe clinical period (gCP). Four points were established for synchronizing the data, to determine the different evolution stages of the disease (9, 11, 17).

- Day of inoculation.
- Last day free of systemic effects, defined by the beginning of anorexia.
- Last day of moderate systemic effects marked by the worsening and acuteness of anorexia followed by loss of weight and water balance.
- Last day of survival.

These four points established the limits and defined phases such as CSP, mCP and gCP.

During the clinical period, the mCP, a slow progression of anorexia was observed, accompanied by weight gain due to fluids retention. The results showed a significant and early decrease of urinary excretion during mCP when compared to SCP. The renal sites involved were studied in animals by measuring the clearance of sodium, creatinine and lithium, indicating an initial rise in the absorption of sodium even in the proximal and post-proximal tubule which was partially compensated by the increase of rate in the glomerular filtration and by the reduction of fractionated proximal reabsorption although it is observed a significant retention of sodium and fluids. The duration was 4.2 ± 0.2 days.

The terminal phase (gCP) was characterized by a progressive anorexia and weight loss. Other presented signs and symptoms were alopecia, increased urine osmolarity, hypodynamia, pallor (without evident loss of blood), priapism, scrotal retraction, urinary incontinency and retention of sodium. The medium duration of this phase was 8.9 ± 0.5 days. This phase culminated with a decline in creatine clearance, suggesting a significant reduction of renal function.

Using the multifocal subcutaneous technique of inoculation, it was shown that disturbance in the homeostatic central mechanisms, caused by humoral factors can be the cause of cancer cachexia. The multifocal inoculation method produces high central levels caused by humoral factors and produces high levels of mediators that rapidly surpass the capability of protective mechanisms. The nature of humoral mediator needs additional investigations (17).

Metabolism of Walker 256 Tumor

There are important alterations in protein metabolism of rats with walker 256 tumor. These alterations are the result of protein growth in great tumors and the significant reduction of protein synthesis in the muscles and the whole body (18). The nutritional supplementation with 4% and 6% arginine were able to stimulate the metabolism of amino acids in rats with ascitic tumors. This was evident by the significant rises of plasmatic levels of arginine, ornithine, citruline, proline and histidine, when compared to control group (rats with solid or ascitic walker 256 tumor, that did not receive dietetic supplementation) (15). A decrease in plasmatic levels of amino acids in animals with walker 256 tumor, without dietetic supplementation is probably due to the utilization of amino acids by the malignant tumor, since the tumor needs of amino acids as a nitrogen source for protein synthesis and as a source of energy for the metabolism through gluconeogenesis (14, 15).

The accelerated growth of the tumor does not occur as a consequence of the rise of protein synthesis in cells, but, by the reduction of degradation mechanisms of tumoral proteins. This behavior favors therapies which act in the catabolism of tumoral proteins such as immunotherapy or the manipulation of amino acids and nutrients, associated with conventional therapies (14, 15).

The ingestion of liquids by rats with developing walker 256 tumor increased about 65%. Only 30% of the consumption of liquid is attributed to the

necessity related to water retention in the whole body, mainly in tumor, and by the increase of urinary osmolarity. 35% of the remaining water represents an increase in the turnover of free water and it appears as an increase in urine volume. The hypertrophied adrenal cortex resulting in an excessive secretion of aldosterone and retention of sodium stands for a hormonal factor that justifies this increase in liquid ingestion (16). In the first phase of tumor growth, a super-hydration of host tissues was observed, followed by a discrete terminal dehydration and progressive reduction of sodium content in the urine. Rettori et al., (11) observed that the retention of sodium occurs when tumor represents 10% or more of body weight and the excretion are normalized with the extinction of the tumor. The excretion of potassium remains unchanged during tumoral development.

The increase of amino acid consumption by tumoral cells stimulates the intestinal absorption of leucine and metiotine, essential amino acids to walker 256 tumor growth (1). Experiments with rats CO/COBS, with walker 256 tumor, showed a significant increase in the absorption of both amino acids, when compared to control group. This increase was even more significant in recently weaned rats. This probably occurs as the answer to accelerated tumor growth in another group of animals other than rats, when compared to the group of adult rats. Other possible explanations are the decreases in number and/or size of microvilli and a reduction in number of the enterocytes and/or its membrane carriers (1, 13).

Unlike the faith of amino acids, a decrease is observed in the absorption of glucose in animals with walker 256 tumor. This phenomenon is more revealing in adult rats and can affect the tumoral growth that probably obtains energy by processes similar to hepatic gliconeogenesis. In parallel to tumoral development, Gomes-Marcondes et al; (1) also observed a more pronounced decrease in nitrogen balance in adult rats (1, 18).

The walker 256 tumor also interferes with bone metabolism (19). The variant S of this carcinosarcoma, is able to develop bone metastasis and was responsible for bone alterations in young rats, a reduction in seric levels of β -estradiol and increase of reticuloendothelial activity of the immunological system. These results can be used to investigate the therapeutic strategies against osteoporosis, menopause or hypoovarianism, since bone alterations in rats with walker 256/S tumor, are similar to the alterations observed in this pathology. Loss of bone mass, increase of osteoclasts and reduction of the osteoblasts number in the femur of rats with walker 256 carcinosarcoma, are also observed. The molecular mechanisms remain unknown.

CONCLUSION

Different inoculation techniques are used with walker 256 tumor as described in the scientific publications. That information has been facilitating the use of walker 256 tumor to investigate clinical conditions of cancer, chemotherapeutic agents, nutritional supplements and many other kinds of treatments. As walker 256 tumor cells are easy to cultivate, easy to inoculate and rarely present spontaneous remission, it is a good experimental model for the study of cancer.

REFERENCES

1. Gomes-Marcondes MCC, Honma HN, Cury L. Effect of walker 256 tumor growth on intestinal absorption of leucine, methionine and glucose in newly weaned and mature rats. *Braz J Med Biol Res.* 1998; 31: 1345-8.
2. Miao XR, Gao XF, Wu JX, Lu ZJ, Hunang ZX, Li XQ, et al. Bilateral down regulation of Nav 1.8 in dorsal root ganglia of rats with bone cancer pain induced by inoculation with walker 256 breast tumor cells. *BMC Cancer*, 2010; 10:216.
3. Novaes MRCC, Lima LAM, Souza MV. Efeitos farmacológicos da suplementação dietética com L-arginina a 6% em tumores experimentais. *Rev Metabol Nutr*, 2003; 7(2):52-6.
4. Lan LS, Ping YJ, Na WL, Miao J, Cheng QQ, Ni MZ, et al. Down-regulation of toll-like receptor 4 gene expression by short interfering RNA attenuates bone cancer pain in a rat model. *Ann Mol Pain*, 2010; 6: 2.
5. Earle WR. A study of the walker rat mammary carcinoma 256, *in vivo* and *in vitro*. *Am J Cancer Res*, 1935; 24: 566-612.
6. Fisher ER, Fisher, B. Electron microscopic, histologic and histochemical features of the walker carcinoma. *Cancer Res*, 1961; 21: 527-30.
7. Guaitani A, Recchia M, Carli M, Rocchetti M, Bartosek I, Garattini S. Walker carcinoma 256: a model for studies on tumor anorexia and cachexia. *Oncology*, 1982; 39:173-8.
8. Morano JA, Cordeiro N, Guimarães SB, Fachine-Jamacaru FV, Vasconcelos PR, Moraes Filho MO. Experimental model of ultrasound thermotherapy in rats inoculated with walker-236 tumor. *Acta Cir Bras*, 2012; 27(1):13-7.
9. Camargo CA, da Silva ME, da Silva RA, Justo GZ, Gomes-Marcondes MC, Aoyama H. Inhibition of tumor growth by quercetin with increase of survival and prevention of cachexia in walker 256 tumor-bearing rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011; 406(4): 638-42.
10. Mattos MCFI, Montenegro MR, Silva CRV. Walker 256 carcinosarcoma: pathology, microscopic and ultrastructural features of the tumoral circulating cells. *Ciênc Cult*, 1980; 32(7): 849-57.
11. Rettori O, Vieira- Matos NA, Gontijo JA. Reduced renal sodium excretion in walker 256 tumor-bearing rats. *APPTLA*, 1996; 46: 111-8.
12. Simpkins H, Lehman JM, Mazurkiewicz JE, Davis BH. A morphological and phenotypic analysis of walker 256 cells. *Cancer Res*, 1991; 51(4): 1334-8.

13. Hester JE, Fee WE. Effect of arginine on growth of squamous cell carcinoma in the c3h/km mouse. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1995; 121(2): 193-6.
14. Idris AI, Libouban H, Nyangoga H, Landao-Bassonga E, Chappard D, Ralston SH. Pharmacologic inhibitors of ikappa B kinase suppress growth and migration of mammary carcinosarcoma cells in vitro and prevent osteolytic bone metastasis in vivo. *Mol Cancer Ther*, 2009; 8(8): 2339-47.
15. Badraoui R, Blouin S, Moreau MF, Gallois Y, Rebai T, Sahnoun Z, et al. Effect of alpha tocopherol acetate in walker 256/B cells-induced oxidative damage in a rat model of breast cancer skeletal metastases. *Chem Biol Interact*, 2009; 182(2-3): 98-105.
16. Freire-Garabal M, Nuñez MJ, Pereiro D, Riveiro P, Losada C, Fernandez-Rial JC, et al. Effects of fluoxetine on the development of lung metastases induced by operative stress in rats. *Life Sci*, 1998; 62(2): 31-8.
17. Morrison SD. Water Intake and exchange and hydration of rats during growth of walker 256 carcinoma. *J Nat Canc Inst*, 1971; 46(4): 825-9.
18. Ye SL, Istafan NW, Driscoll DF, Bistrrian BR. Tumor and host response to arginine and branched chain amino acid enriched total parenteral nutrition. *Cancer*, 1992; 69(1): 261-70.
19. Camargo CA, Gomes-Marcondes MC, Wutzki NC, Aoyama H. Naringin inhibits tumor growth and reduces interleukin-6 and tumor necrosis factor α levels in rats with walker 256 carcinosarcoma. *Anticancer Res*, 2012; 32(1): 129-33.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi;

CABI Index 	Ulrichsweb and Serials Solutions 	ULRICHSWEB™ GLOBAL SERIALS DIRECTORY
Chemical Abstracts Service (CAS) 	TURK MEDLINE 	TURK MEDLINE
DOAJ 	Türkiye Atıf Dizini 	TÜRKİYE ATIF DİZİNİ
Index Copernicus 	Genamics JournalSeek 	GENAMICS™ ...research from your desktop
Google Scholar 	NewJour 	New Jour • Electronic Journals & Newsletters •
Open J-Gate 	TUBİTAK-ULAKBİM 	TUBİTAK ULAKBİM
Academic Journals Database 	BASE 	BASE Bielefeld Academic Search Engine
Scirus Scientific Database 	Ovid LinkSolver 	Wolters Kluwer Health Ovid LinkSolver™
Libsearch 	Akademik Dizin 	Akademik Dizin Akademik Türk Dergileri İndeksi

tarafından dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Turk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts, Index Copernicus, Google Scholar, DOAJ (Directory of Open Access Journals), Open J-Gate, CAS (Chemical Abstracts Service), Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Libsearch, BASE, Ovid LinkSolver, Türkiye Atıf Dizini, Akademik Dizin, TUBİTAK-ULAKBİM, and TURK-MEDLINE.

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 54 55

e-posta/e-mail : turkhijyen@thsk.gov.tr

