



T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 66 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2009

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY





T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
REFİK SAYDAM HIFZISSIHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

ISSN 0377-9777  
e-ISSN 1308-2523

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 66 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2009

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Türk Hij Den Biyol Derg

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

Sahibi  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı adına  
Başkan Doç. Dr. Mustafa ERTEK

EDİTÖR  
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN

THDBD YAYIN KURULU	ER YAYIN KURULU
<b>EDİTÖR YARDIMCILARI</b> Canan BAYAR Selçuk KILIÇ	<b>EDİTÖR</b> Ayşegül GÖZALAN
<b>YAYIN KURULU</b> Sühendan ADIGÜZEL Cahit BABÜR Demet CANSARAN DUMAN Bekir ÇELEBİ Serpil ERDOĞAN Arşun ESMER Sibel KARACA Nesrin KARACA Ayşe PEKER ÖZKAN Saime ŞAHİNÖZ Pınar ÜNAL	<b>EDİTÖR YARDIMCILARI</b> Handan KALAYCIOĞLU Figen SEZEN Berna SEZGİN
<b>TEKNİK YÖNETMEN</b> Nevzat IŞIK	
<b>TEKNİK KURUL</b> Murat BAYRAM Murat DUMAN Hasan KAYA Zeynep KÖSEOĞLU Selahattin TAŞOĞLU	

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI  
REFİK SAYDAM NATIONAL PUBLIC HEALTH AGENCY  
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayınlanır.  
The bulletin is published four times per year.

Asitsiz kağıt kullanılmıştır.

**Tasarım Dizgi :**  
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü

**Baskı ve Cilt**  
Kayıhan Ajans  
Hoşdere Cad. No: 201/9 Çankaya-ANKARA  
Tel: 0312 442 72 72  
e-posta: kayihanajans@gmail.com

**Yayın Türü :**  
Yerel Süreli Yayın

**Basım Tarihi :**  
Şubat 2010

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## YAZI İNCELEME KURULU/EDITORIAL BOARD

Adem KILIÇ, Gebze YTE, Kocaeli

Adil ALLAHVERDİYEV, Yıldız Tek. Üniv., Kimya Fak., İstanbul

Ahmet KART, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Ali ALBAY, GATA, Ankara

Alper AKÇALI, 18 Mart Üniv., Tıp Fak., Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniv. Vet. Fak., Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara Üniv., Vet Fak., Ankara

Ayşen GÜNEL ÖZCAN, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale

Aziz SANCAR, Univ. North Carolina, Dep Bipchem & Biophysics, USA

Bahadır GÖNENÇ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Banu ÇAKIR, Hacettepe Üniv., Tıp. Fak., Ankara

Berrin ESEN, RSHM, Ankara

Bülent ALTEN, Hacettepe Üniv., Fen Fak., Ankara

Celal GÖKÇAY, ODTÜ, Çevre Müh., Ankara

Cemal ÇEVİK, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Cumhur ÇÖKMÜŞ, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara

Çağatay GÜLER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Delia Teresa SPONZA, Dokuz Eylül Üniv., Çevre Müh., İzmir

Diler ASLAN, Pamukkale Üniv., Tıp Fak., Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Dürdal US, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Dwight D. BOWMAN, Cornell Univ., USA

Ender YARSAN, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Fatih KÖKSAL, Çukurova Üniv., Tıp Fak., Adana

Gönül ŞAHİN, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Hakan LEBLEBİCİOĞLU, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Haluk VAHABOĞLU, Kocaeli Üniv., Tıp Fak., Kocaeli

Hasan AYÇİÇEK, GATA, Ankara

Hürrem BODUR, Numune Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Işıl MARAL, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

İrfan EROL, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Hebrew Univ., Israel

Levent AKIN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

M.Koray SAKAR, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Mahinur AKKAYA, ODTÜ, Kimya Müh., Ankara

Mehmet Ali ONUR, Hacettepe Üniv. Fen Fak., Ankara

Metin KORKMAZ, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Murat GÜLMEZ, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars

Murat GÜNAYDIN, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Murat ÖZSAN, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mükerrem KAYA, Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Erzurum

Nazmi ÖZER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Nejat AYDIN, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, RSHMB, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara

Oğuz GÜRSOY, Pamukkale Üniv., Gıda Müh., Denizli

Orhan BAYLAN, GATA, Ankara

Orhan YILMAZ, KBB, Dışkapı Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Osman GÜNAY, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Pınar OKYAY, Adnan Menderes Üniv., Tıp Fak., Aydın

Rahmet ÇAYLAN, Atatürk Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Recep AKDUR, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Recep ÖZTÜRK, İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fak., İstanbul

Rıza DURMAZ, İnönü Üniv., Tıp Fak., Malatya

S. Aykut AYTAÇ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

Sami AYDOĞAN, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Sema BURGAZ, Gazi Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Sercan ULUSOY, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Sıraç DİLBER, Karolinska Üniv., Medical School, Sweden

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Celal Bayar Üniv., Tıp Fak., Manisa

Takashi AKAMATSU, Prof. Emeritus, Japan

Tevfik PINAR, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale

Yesim ÖZBAŞ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Yeşim TUNÇOK, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

Zafer KARAER, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## 2009 EK DANIŞMA LİSTESİ

Ali NACİ YILDIZ, Hacettepe Üniv. Tıp Fak., Ankara	Merih KIVANÇ, Anadolu Üniv., Eskişehir
Alper AKÇALI, Çanakkale 18 Mart Üniv., Tıp Fak., Çanakkale	Müjdat AYTEKİN, Midyat Devlet Hastanesi, Mardin
Arzu KOÇKAYA, Gazi Üniv., Sağ. Mes. Yük. Okulu, Ankara	N.Tülin GÜRAY, ODTÜ, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara
Aysun DİNÇEL, RSHMB, Ankara	Nilay ÇÖPLÜ, RSHMB, Ankara
Berrin ÖZÇELİK, Gazi Üniv, Eczacılık Fak., Ankara	Nuriye ÜNAL, RSHMB, Ankara
Cahit BABÜR, RSHMB, Ankara	Oğuz KUL, Kırıkkale Üniv., Vet. Fak., Kırıkkale
Canan BAYAR, RSHMB, Ankara	Özlem CANÖZ, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri
Cemal ÇEVİK, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara	Rıza DURMAZ, RSHMB, Ankara
Çiğdem GÜNGÖR, Ank. Üniv., Tıp Fak., Ankara	Seda KARASU YALÇIN, İzzet Baysal Üniv., Müh. Mim. Fak., Bolu
Demet CANSARAN DUMAN, RSHMB, Ankara	Selçuk KILIÇ, RSHMB, Ankara
Deniz GÜR, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara	Sumru ÇITAK, Gazi Üniv., Fen Fak., Ankara
Diler ASLAN, Pamukkale Üniv., Tıp Fak., Denizli	Sühendan ADIGÜZEL, RSHMB, Ankara
Fulya KÖYBAŞIOĞLU, Yıldırım Beyazıt Eğt. ve Arş. Hast. Ankara	Sümer ARAS, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara
Gönül ERDEN, Numune Eğitim Araş. Hastanesi, Ankara	Şule ŞENSES ERGÜL, RSHMB, Ankara
Hakan BOYUNAĞA, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale	Tülay YALÇINKAYA, RSHMB, Ankara
Hatice ERTABAĞLAR, Aydın Adnan Menderes Üniv., Tıp Fak., Ankara	Umut BERBEROĞLU, RSHMB, Ankara
Henrik WOLFF, Helsinki-Fillandiya	Yasemin NUMANOĞLU ÇEVİK, RSHMB, Ankara
Hüseyin KILIÇ, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri	Yavuz UYAR, RSHMB, Ankara
Hüsniye ŞİMŞEK, RSHMB, Ankara	Zafer ÇETİNKAYA, Afyon Kocatepe Üniv., Tıp Fak., Afyon
Işık YILMAZ, RSHMB, Ankara	Zehra SAFİ ÖZ, Zonguldak Karaelmas Üniv., Tıp Fak., Zonguldak
Mehmet BİNGÖL, RSHMB, Ankara	

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

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

- Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Akademik unvan kullanılmadan meslek unvanı belirtilebilir.
- Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı üniteye çalışan yazarların soyadları sonuna aynı miktarda yıldız konur.
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot olarak belirtilmelidir.
- Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa mutlaka sunum türü ile birlikte belirtilmelidir.

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

3-Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri italik yazılmalıdır: *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.

4-Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır.

5-A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, kenarlardan 3'er cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto Times New Roman yazı karakteri kullanılmalı, 2 satır aralığı (double space) bulunmalıdır.

6-Metinlerin tamamı 3,5" diskete veya CD'ye kopyalanmış olarak ve basılmış üç nüsha ile bir zarf içinde gönderilmelidir. İliştirilen bir üst yazıda metnin tüm yazarlarca okunduğu ve onaylandığı, yazıların yayına kabul edilmesi halinde telif hakkının dergiye devredileceği belirtilmelidir.

7-Yayımlanmış gereçleri yeniden basmak veya deney konusu olan insanların fotoğraflarını kullanmak için alınan izinler, insanlar üzerinde ilaç kullanarak yapılan klinik araştırmalarda ilgili "Kurum Etik Kurul Onayı" ve gönüllülerden yazılı bilgilendirme ile olur alındığına dair belgeler birlikte gönderilmelidir.

8-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 kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır.

**Türkçe Özet:** Amaç, Yöntem, Bulgular ve Tartışma alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 100, en fazla 250 sözcük içermelidir.

**İngilizce Özet (Abstract):** Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde yapılandırılmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Türkçe ve İngilizce Özetlerin altında verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve Index Medicus Medical Subject Headings'de (MeSH) yer alan sözcükler kullanılmalıdır.

**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.

**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:** Gerekli görülüyorsa Kaynaklar bölümünden hemen önce belirtilmelidir.

**Kaynaklar:** Metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımı mutlaka aşağıdaki örneklerle uygun olmalıdır:

Kaynak bir dergi ise: 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 üçünü yazıp et al. "ve arkadaşları" eklenmelidir) Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

•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 Parazit Derg, 2001; 25 (3): 234-5.

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

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

Kaynak bir kitap ise: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i. Kitabın Adı. Kaçınıcı basım olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

•Örnek: Eisen HN. Immunology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immune Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974: 406.

Kaynak kitabın bir bölümü ise: Bölüm yazar(lar)ın Soyadı Adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: 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 numarası.

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

Kaynak bir web adresi ise: Web adresi, bilgiye ulaşılan tarih belirtilmelidir.

**Şekil ve Tablolar:** Her tablo (şekil, grafik, fotoğraf) 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 olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir. Maksimum 127x173 mm ebadında, kaliteli, parlak kağıda basılmış olan fotoğrafların arkasına makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir.

**b) Derleme türü yazılarda;** yazar sayısı ikiden fazla olmamalı ve yazar daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalıdır. Derlemelerde İngilizce özet, İngilizce ve Türkçe anahtar sözcükler bulunmalıdır.

**c) Olgu sunumlarında;** Türkçe ve İngilizce başlık ve özet, anahtar sözcükler yer almalı, giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgu sunumlarında metin yedi sayfayı, kaynak sayısı 20'yi aşmamalıdır.

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

9-Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

10-Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

11-Yazılar aşağıdaki adrese gönderilmeli veya elden teslim edilmelidir.

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

- 1) Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı yayın organıdır.
- 2) Dergide Mikrobiyoloji, İmmünoloji, Farmakoloji, Toksikoloji, Parazitoloji, Entomoloji, Biyokimya, Gıda Güvenliği, Çevre Sağlığı, Halk Sağlığı, Epidemiyoloji, Patoloji, Fizyopatoloji, Moleküler Biyoloji ve Genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu ve derleme türündeki makaleler yayımlanır.
- 3) Dergi üç ayda bir mart, haziran, eylül ve aralık aylarında çıkar ve dört sayıda bir cilt tamamlanır.
- 4) Dergide, daha önce başka yerde yayımlanmış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.
- 5) Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili üç Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden ikisinin olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- 6) Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- 7) Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- 8) Dergide yayınlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

## YAZAR İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Makalenin yayınlanması ile ilgili dilekçe yazıldı.
- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
- Özetler, tablolar, kaynaklar vb. dahil olmak üzere metnin tamamı çift aralıklı yazıldı.
- 12 punto ya da 3 mm boyutunda Times New Roman karakteri ile yazıldı.
- Metin sayfanın yalnız bir yüzüne yazılarak her bir kenardan 3 er cm boşluk bırakıldı.
- Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
- Her yazarın başlığı 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 (<250) kontrol edildi.
- Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (Mesh'e uygun) verildi.
- Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltildi.
- Metin içinde geçen orijinal Latince mikroorganizma isimleri italik olarak yazıldı.
- Tablolar yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada verildi.
- Kimyasal formüller ve grafikler yazım kurallarına uygun olarak ve her biri ayrı bir sayfada olacak şekilde hazırlandı.
- Fotoğraf boyutları maksimum 127x173 mm olup, arkasına makale başlığı ve şekil numaraları yazıldı.
- 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.
- Makale üç kopya olacak şekilde hazırlandı ve disket / CD'ye kopyalandı.
- Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız:
  - \* Etik kurul onayı alındı.
  - \* Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
  - \* Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.



## YAZARLARIN DİKKATİNE

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi' nin yeniden yapılanması nedeniyle, 2007 yılından itibaren geçerli olmak üzere bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu nedenle yazarlarımızın makale gönderirken "yeni yazım kuralları ve yayın ilkelerine" göre yazılarını hazırlamaları son derece önemlidir. Yazarlarımız için "telif hakkı devir formu" örneği derginin arka sayfasında sunulmuştur. Her türlü soru, öneri ve şikayetleriniz için Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi İletişim ve Halkla İlişkiler Koordinatörlüğü ile irtibata geçebilirsiniz ve bilgi alabilirsiniz.

## İLETİŞİM

Refik Saydam Hıfzısıssıhha Merkezi Başkanlığı  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi  
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü

Cemal Gürsel Caddesi No: 18  
06100 Sıhhiye/ANKARA

Tel: +90 0312 458 23 64  
Faks: +90 0312 458 24 08  
e-posta: turkhijyen@rsh.gov.tr  
http: www.rsh.gov.tr

## DÜZELTME

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 'nin 2009 yılı Cilt 66, Sayı 2 'de yer alan 6. sıradaki derlemenin; "ENFEKSİYÖZ MADDELERİN HAVA YOLUYLA ULUSLARASI TAŞINMASI" adlı ana başlığındaki ULUSLARASI kelimesi hatalı yazılmış olup; ULUSLARARASI olarak düzeltilir, özür dileriz.

## İÇİNDEKİLER

### ■ Araştırma Makalesi

- 1. Ankara İlindeki Dondurulmuş Et ve Sebzelerde Koliform ve Enterokokların Fekal İndikatör Bakteri Olarak Değerlendirilmesi** 145-151  
Sumru ÇITAK, Neslihan GÜNDOĞAN, Erol KALA
- 2. Türkiye’de Bazı Liken Türlerindeki Usnik Asitin Hplc Yöntemi ile Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri** 153-160  
Demet CANSARAN DUMAN
- 3. Çanakkale İlinde Farklı Diyaliz Merkezlerinde Tedavi Gören Hastalarda Hepatit B, C Seroprevalansı ve Hepatit Kronikleşme Oranları** 161-167  
Filiz ARABACI, Mehmet OLDACAY
- 4. Üriner Şikâyeti Olan Hastalarda İdrar Sitopatolojisi ile Mesane Kanseri Araştırılması** 169-176  
Serpil OĞUZTÜZÜN, Murat KILIÇ, Meral ATAY, Ülkü GÜÇLÜTÜRK, Latif ÖZTÜRK, Zuhâl YAZICI GÖKBULUT, Müzeyyen ÖZHAVZALI, Ümit YIRTICI

### ■ Derleme

- 5. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO)’A Genel Bir Bakış** 177-185  
Pınar KAYNAR
- 6. Telomerlerin Yaşlanma Ve Kansere İlişkisindeki Rolü** 187-195  
Merve GÜNERİ YILDIZ, Sümer ARAS, Demet CANSARAN DUMAN

## CONTENTS

### ■ Original Article

- 1. Evaluation of Coliform and Enterococcus as Fecal Indicator Bacteria in Frozen Meat and Vegetables in Ankara** 145-151  
Sumru ÇITAK, Neslihan GÜNDOĞAN, Erol KALA
- 2. Evaluation of Usnic Acid in Some Lichens of Turkey by HPLC Analysis and Screening of their Antimicrobial Activity** 153-160  
Demet CANSARAN DUMAN
- 3. Hepatitis B, C Seroprevalance and Chronicity Rates for Hepatitis in Patients Treated by Different Dialysis Centers in Çanakkale Province, Turkey** 161-167  
Filiz ARABACI, Mehmet OLDACAY
- 4. The Investigation of Bladder Cancer by Urinary Cytopathology in Patients with Urinary Complaints** 169-176  
Serpil OĞUZTÜZÜN, Murat KILIÇ, Meral ATAY, Ülkü GÜÇLÜTÜRK, Latif ÖZTÜRK, Zuhâl YAZICI GÖKBULUT, Müzeyyen ÖZHAVZALI, Ümit YIRTICI

### ■ Review

- 5. A General Perspective on Genetically Modified Organisms (GMOs)** 177-185  
Pınar KAYNAR
- 6. The Role of Telomeres in Aging and Cancer Relationships** 187-195  
Merve GÜNERİ YILDIZ, Sümer ARAS, Demet CANSARAN DUMAN

# ANKARA İLİNDEKİ DONDURULMUŞ ET VE SEBZELERDE KOLIFORM VE ENTEROKOKLARIN FEKAL İNDİKATÖR BAKTERİ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

## Evaluation of Coliform and Enterococcus as Fecal Indicator Bacteria in Frozen Meat and Vegetables in Ankara

Sumru ÇITAK<sup>1</sup>, Neslihan GÜNDOĞAN<sup>1</sup>, Erol KALA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi,  
Fen - Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü,  
ANKARA

Geliş Tarihi: 20.01.2010  
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:  
Sumru ÇITAK  
Gazi Üniversitesi,  
Fen - Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü,  
06500 Teknikokullar - ANKARA  
Tel : 0312 202 11 91  
E-posta : scitak@gazi.edu.tr

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada Ankara'da çeşitli süpermarketlerde satışa sunulan 120 adet dondurulmuş et ve sebze (köfte, kıyma, kuşbaşı, brokoli, bezelye ve karnabahar) örneklerinde fekal koliform ve fekal enterokokların indikatör bakteri açısından değerlendirilmesi ve bu örneklerdeki diğer mikrobiyolojik kriterlerin saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 120 dondurulmuş et ve sebze örneğinden toplam aerob, koliform, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* ve fekal *Escherichia coli* türlerinin izolasyonu, identifikasyonu çeşitli konvansiyonel yöntemlerle yapılmış ve koloni sayımları (kob/g ve Log<sub>10</sub>) değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 39 (% 32.5) fekal *E. coli*, 40 (% 33.3) fekal enterokok izole edilen 120 dondurulmuş gıda örneğinde toplam aerob bakteri 4.5x10<sup>5</sup> - 5.4x10<sup>5</sup> kob/g, koliform 2.12x10<sup>5</sup> - 3.57x10<sup>5</sup> kob/g, *Enterococcus sp* 3.53x10<sup>4</sup> - 7.6x10<sup>4</sup> kob/g, *S. aureus* 4.33x10<sup>5</sup> - 5.18x10<sup>5</sup> kob/g arasındaki değerlerde bulunmuştur. Kırk adet fekal enterokok izolatınının 28 (% 70)'i *Enterococcus faecalis*, 12 (% 30)'si *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır.

**Sonuç:** Çalışılan 120 dondurulmuş et ve sebze ürününün mikrobiyolojik kriterleri, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standart değerlerinin üzerinde bulunmuş, fekal enterokok koloni sayımları da yüksek tespit edilmiştir. Bu durum ülkemizdeki dondurulmuş gıdaların üretim, paketlenme ve depolama aşamalarındaki hijyenik şartların belirlenmesi için önerilen fekal *E. coli* ile birlikte fekal enterokokların da indikatör mikroorganizma olarak Türk Gıda Kodeksinde bulunması gerekliliğini göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Dondurulmuş gıda, fekal indikatör, *Echerichia coli*, enterokok

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to evaluate 120 frozen meat and vegetable samples (meat ball, minced meat, small chunks, broccoli, peas and cauliflower) purchased from different supermarkets in Ankara, Turkey for the presence of fecal coliform and fecal *Enterococcus* as indicator microorganisms and to determine of other bacteriological criteria in these samples.

**Method:** One hundred twenty samples including frozen meat and vegetables were analyzed for isolation of total aerobic bacteria, total coliform, *S. aureus*, *Enterococcus* and fecal *E.coli* by conventional biochemical tests and the results of colony counts of the isolates were evaluated as cfu/g and Log<sub>10</sub>.

**Results:** It was found that the total numbers of aerobic bacteria, coliform, *Enterococcus spp*, and *S. aureus* were 4.5x10<sup>5</sup> - 5.4x10<sup>5</sup> cfu/g, 2.12x10<sup>5</sup> - 3.57x10<sup>5</sup> cfu/g, 3.53x10<sup>4</sup> - 7.6x10<sup>4</sup> cfu/g, and 4.33x10<sup>5</sup> - 5.18x10<sup>5</sup> cfu/g, respectively in 120 frozen food samples in which fecal *E. coli* and fecal *Enterococcus* were detected as 39 (32.5 %) and 40 (33.3 %) respectively. Among the 40 isolates of fecal *Enterococcus*, 28 (70 %) were *E. faecalis*, 12 (30 %) were *E. faecium*.

**Conclusion:** The microbiological criteria of the 120 frozen meat and vegetable samples which were analyzed were above the standart values of Turkish Standardization Institute (TSE) and the colony counts of fecal *Enterococcus* were also very high. This results showed that it is necessary to present fecal *Enterococcus* together with fecal *E. coli* as indicator microorganism in Turkish Food Codex.

**Key Words:** Frozen food, fecal indicator, *E.coli*, *Enterococcus*

## GİRİŞ

Taze besinlere uygulanan saklama yöntemlerinden biri olan dondurma yöntemi, gıda maddelerinin yapısında bulunan ısı enerjisinin bir soğutucuya aktararak uzaklaştırılmasıyla, suyun sıvı halinden buz haline geçmesi olarak tanımlanmaktadır. Donma işlemi; ürün sıcaklığının donma noktasına kadar buz kristalleri oluşturması; donmuş ürünün istenen depolama sıcaklığına kadar soğutulması aşamalarından ibarettir. Dondurulmuş gıdalarda mikrobiyal üreme genellikle ambalajlamadan sonra kendini göstermektedir. Özellikle soğuk zincir şartlarına yeterince dikkat edilmemesi nedeniyle tüketime sunulan dondurulmuş gıdalarda geçici olarak inhibe edilmiş mikroorganizmalar tekrar üremektedir. Bunun dışında gıdalara uygulanan işlem sırasında hijyen kurallarına yeterince riayet etmeyen personel, yanısıra alet ve ekipmanlar özellikle fekal mikroorganizmalarca gıdaların kontamine olmasına aracılık etmektedirler (1, 2).

İndikatör mikroorganizmalar gıda sanayinde kurallara uygun üretim yapıp yapılmadığının göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda indikatör mikroorganizmaların mutlaka dışkı kökenli olması gerektiği diğer bazı araştırmalarda ise her türlü mikroorganizmanın indikatör olarak kabul edilebileceği bildirilmektedir (3). Buna bağlı olarak toplam bakteri, toplam maya ve küf, toplam osmofilik ve osmotolerant mayalar, kserofil küfler, toplam proteolitik bakteriler, toplam koliformlar vb. gibi farklı mikroorganizmalar farklı gıdaların kalitesinin belirlenmesinde indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (4). Yapılan çalışmalarda fekal kontaminasyon göstergesi olarak fekal koliformlar,

enterokoklar, *Clostridium perfringens* ve *E. coli* yer almaktadır (5). Andrew ve Harder tarafından 1906 yılında yapılan eski sınıflandırmada *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* türleri, yeni sınıflandırmada Lancefield D grubunda yer almakta olup *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olarak adlandırılmıştır. Hayvanların gastrointestinal sisteminde de enterokok bulunması kesimhanelerde ete bulaşma potansiyelini arttırmaktadır. Enterokoklar yalnız sıcakkanlı hayvanlarda değil aynı zamanda toprakta, yüzey sularında, bitki ve sebzelerde de bulunmaktadır (6-8). Yapılan birçok araştırmada gıdalarda en fazla izole edilen enterokok cinsine ait olan türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. *Enterococcus durans*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus raffinosus* daha az sıklıkla bulunmaktadır. *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* türlerinin dışkı orjinli olmaları ve sularda üreyebilmeleri, bu bakterilerin sularda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak tanımlanmalarına neden olmuştur. Kurutma ve dondurma gibi olumsuz ortam şartlarında indikatör koliform bakterilere nazaran enterokoklar yüksek dirençlilik oluşturmaktadır. Bu nedenle enterokoklar su, dondurulmuş sebze ve dondurma dahil değişik gıda ürünlerinde doğrudan fekal kontaminasyon indikatörü olarak mikrobiyolojik kriterler arasında yer alması eğilimi artmıştır. *E. faecalis*'in asit gıdalarda *E. coli*'ye oranla daha uzun süre yaşadığı, sprey-boyalar ile kurutulmuş yumurta tozlarının depolanma süresinde enterokokların, *E. coli* ve koliform grubuna göre daha yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Soğuk ve rutubetli topraklarda *E. faecalis*'in canlı

kalma süresi uzadığı gibi özellikle donmuş gıdalarda enterokokların koliform gruba oranla daha etkili indikatörler olduğu tespit edilmiştir. Dondurulmuş sebzelerde olduğu gibi dondurulmuş balık ürünlerinde de koliform grup ve enterokoklar kıyaslandığında; belirgin şekilde enterokokların sayısal üstünlüğü görülmektedir (9-13). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda Ankara İlinde çeşitli süpermarketlerde satılan 120 adet dondurulmuş et ve sebze ürününden izole edilen fekal koliform ve fekal enterokokların indikatör mikroorganizma açısından incelenmesi ve bu örneklerde toplam aerob mikroorganizma sayısı ile birlikte toplam *S. aureus* sayımları değerlendirilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda Ankara'nın çeşitli market ve süpermarketlerinden toplanan 20 (köfte, kıyma, kuşbaşı, brokoli, bezelye, karnabahar)'şer olmak üzere toplam 120 dondurulmuş et ve sebze örneklerinden enterokok ve fekal koliform türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve sayımı yapılmıştır. Ayrıca çalışmamızda, örneklerdeki toplam aerob ve *Staphylococcus aureus* sayıları değerlendirilmiştir.

**Örneklerin Analize Hazırlanması:** Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden 10'ar gr alınarak içerisinde 90 ml steril serum fizyolojik bulunan steril erlenlere aktarılmış ve homojenizatörde (Stomacher 400) bir dakika süreyle homojenize edildikten sonra  $10^{-3}$  dilüsyon serisine kadar hazırlanarak mikrobiyolojik ekimleri yapılmıştır.

**Toplam Aerob Canlı Mikroorganizma Sayımı:** Dondurulmuş et ve sebze örneklerinde toplam aerob canlı mikroorganizma sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Difco Ltd) besiyeri kullanılarak ekimi yapılan petripler 30 °C'de 2-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişen koloniler kob/g olarak sayılmıştır (14).

**Toplam *S. aureus* Sayımı:** *S. aureus* bakterilerinin sayımı için Baird-Barker Agar steril edildikten sonra

50 °C'ye soğutulup, içerisine Egg Yolk Tellurite Emulsion (SR54) bir litreye 50 ml olacak şekilde ilave edilmiş, petri kutularına döküldükten sonra yüzeye sürme ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilerek, gri/siyah koloniler kob/g olarak sayılmıştır (14).

**Koliform Grubu Bakteri Sayımı ve Fekal Koliform İzolasyonu:** Koliform grubu bakterilerin sayımında, uygun dilüsyonlardan Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck Ltd) besiyerine çift plaka yöntemiyle ekim yapılarak 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. 0,5 mm ya da daha büyük çaptaki parlak pembe-kırmızı koloniler koliform olarak sayılmıştır. Bu kolonilerden Brilliant Green Bile (% 2) Broth (Oxoid) ekilerek gaz oluşumu gözlenen tüplerden içerisinde durham tüpü bulunan *E. coli* Broth besiyeri bulunan tüplere inoküle edilip 48-72 saat 45,5 °C'de su banyosunda inkübasyonu sonucunda gaz oluşumu görülen tüpler fekal koliform olarak değerlendirilmiştir.

Fekal koliform analizinde gaz oluşumu görülen *E. coli* (EC) brothlu tüpler Eosine Methylene Blue Agara öze ile inoküle edilip 35 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda 2-3 mm çapında küçük siyah merkezli, metalik yeşil, parlak renkli koloniler *E. coli* şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Bu kolonilere indol, metil red, voges proskauer ve sitrat testleri uygulanarak *E. coli*'nin varlığı test sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (14).

**Enterokok İzolasyonu, Sayım ve Adlandırılması:** 90 ml Azide Dextrose Broth'a 10 gr dondurulmuş et veya sebze örnekleri iki dakika blendırda parçalanarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir.  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dilüsyonlardan 100 µl Slanetz-Bartley (Oxoid CM:337) (SB) besiyerine ekim yapılarak 48-72 saat inkübe edilmiştir. Slanetz-Bartley besiyerlerinde üreyen tipik pembe ve kırmızı renkteki koloniler enterokok olarak değerlendirilip sayımları yapılmıştır. Bu koloniler stoklama amacı ile Colombia Blood Agar Base (Oxoid CA:331)'e pasajlanarak 24-48 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Colombia Blood Agar Base

besiyerinden alınan bu kolonilere enterokokların tür tanımlaması için çeşitli biyokimyasal testler uygulanmıştır. Gram pozitif, katalaz negatif özellik gösteren kolonilere 10 °C ve 45 °C'de üreme; % 6,5'luk NaCl'de üreme; eskulin hidrolizi ve PYR testi uygulanmıştır. 10 °C ve 45 °C'de üreyen % 6,5'luk NaCl'de üremesi pozitif, eskulini hidrolize eden ve PYR testi (+) kolonilere *Enterococcus sp.* ön tanısı konulmuştur. Ön tanısı yapılan enterokok izolatlarının tür seviyesinde adlandırılması için % 10'luk karbohidrat fermentasyon testi (mannitol, sorbitol, sorboz, L-Arabinoz, sukroz, D-Raffinoz, laktöz), arjinin hidrolizi (Thornley) ve motility (hareket) testleri uygulanmıştır. Enterokok türlerinin ayırımında daha önce tanımlanan biyokimyasal testler esas alınmıştır (15,16).

## BULGULAR

Araştırmamızda materyal olarak kullanılan 120 dondurulmuş et ve sebze örneğindeki toplam aerob, koliform, enterokok ve *S. aureus* ortalama koloni sayım sonuçları Tablo 1'de belirtilmiştir.

Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen enterokokların tür dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Araştırmamızda dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 63 (% 52,5) *Enterococcus* türü

izole edilmiştir. 63 enterokok izolatınının 40 (% 63,4)'ı fekal enterokok olarak tespit edilmiş; bunlardan en yüksek sıklıkta 28 (% 70)'i *E. faecalis*, 12 (% 30)'si *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. Diğer enterokok türlerine daha az sıklıkta rastlanmıştır: *E. hirae* 7 (% 11.1), *E. durans* 6 (% 9.5), *E. gallinarum* 4 (% 6.4), *E. mundtii* 4 (% 6.4), *E. raffinosus* 2 (% 3.2) (Tablo 2).

Çalışılan dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden fekal orjinli olarak toplam 39 (%32,5) *E. coli*, 40 (%33.3) enterokok izole edilmiştir. Örneklerden en yüksek sıklıkta fekal *E. coli* dokuzar kıyma ve bezelye örneğinde % 45, fekal enterokok dokuzar kıyma ve kuşbaşında % 45 oranında saptanmıştır (Tablo 3).

**Tablo 2.** Dondurulmuş et ve sebze örneklerinden izole edilen enterokok tür dağılımı

Enterokok	İzolasyon	
	Sayı	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	28	44,4
<i>Enterococcus faecium</i>	12	19
<i>Enterococcus hirae</i>	7	11.1
<i>Enterococcus durans</i>	6	9,5
<i>Enterococcus gallinarum</i>	4	6,4
<i>Enterococcus mundtii</i>	4	6,4
<i>Enterococcus raffinosus</i>	2	3,2
<b>TOPLAM</b>	<b>63</b>	<b>52,5</b>

**Tablo 1.** Dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinde toplam aerob, koliform, enterokok ve *S. aureus* koloni sayımlarının dağılımı

Dondurulmuş ürün (n=120)	Mikrobiyolojik değerler							
	Top.aerob bakteri		Koliform		Enterokok		<i>S.aureus</i>	
	kob/g	Log <sub>10</sub> kob	kob/g	Log <sub>10</sub> kob	kob/g	Log <sub>10</sub> kob	kob/g	Log <sub>10</sub> kob
Köfte (n=20)	5.4x10 <sup>5</sup>	5.73	2.12x10 <sup>5</sup>	5.32	7.6x10 <sup>4</sup>	4.88	5.18x10 <sup>5</sup>	5.88
Kıyma (n=20)	4.91x10 <sup>5</sup>	5.69	2.85x10 <sup>5</sup>	5.45	3.53x10 <sup>4</sup>	4.54	4.50x10 <sup>5</sup>	5.65
Kuşbaşı (n=20)	4.5x10 <sup>5</sup>	5.65	3.57x10 <sup>5</sup>	5.55	7.83x10 <sup>4</sup>	4.89	4.33x10 <sup>5</sup>	5.63
Brokoli (n=20)	4.67x10 <sup>5</sup>	5.67	2.55x10 <sup>5</sup>	5.40	4.36x10 <sup>4</sup>	4.64	3.90x10 <sup>5</sup>	5.59
Bezelye (n=20)	4.9x10 <sup>5</sup>	5.69	2.34x10 <sup>5</sup>	5.37	5.56x10 <sup>4</sup>	4.74	2.85x10 <sup>5</sup>	5.45
Karnıbahar (n=20)	3.36x10 <sup>5</sup>	5.53	3.23x10 <sup>5</sup>	5.51	4.14x10 <sup>4</sup>	4.62	3.52x10 <sup>5</sup>	5.55



**Tablo 3.** Dondurulmuş et ve sebze örneğinden izole edilen fekal koliform ve enterokok dağılımı

Dondurulmuş ürün	Mikroorganizma			
	Fekal <i>E. coli</i>		Fekal enterokok	
	n	%	n	%
Köfte (n:20)	1	5	5	25
Kıyma (n:20)	9	45	9	45
Kuşbaşı (n:20)	7	35	9	45
Brokoli (n:20)	8	40	8	40
Bezelye (n:20)	9	45	6	30
Karnabahar (n:20)	3	25	3	15
<b>TOPLAM (n:120)</b>	<b>39</b>	<b>32.5</b>	<b>40</b>	<b>33.3</b>

### TARTIŞMA

Dondurulmuş gıdalarda indikatör mikroorganizmaların varlığı ve bu indikatörün gıdada belirli bir limitin üstünde bulunması, ürünlerin yetersiz hijyen ve sanitasyon koşullarında işlendiğini, insan, hayvan, toprak, su ve dışkı kaynaklı bir bulaşma ile birlikte toksijenik mikroorganizmalarla kontamine olabilecek koşullarda üretilip tüketime sunulduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

*E. coli*, özellikle fekal kontaminasyon indikatörü olma ve genetik araştırmalarda kullanılma nedenleriyle halen üzerinde en çok çalışılan bakteri olma niteliğini taşımaktadır (17). Son yıllarda yapılan gıda kaynaklı çalışmalarda fekal enterokoklar, fekal *E. coli*'ye oranla dondurma işlemine daha dirençli, %6.5 tuza karşı toleranslı olmaları nedeni ile fekal kontaminasyon indikatörü olarak kabul edilmekte olup, mikrobiyolojik kriterlerde yer almaktadırlar (10, 18).

Araştırmamızda dondurulmuş et ürünlerinde toplam aerob bakteri sayısı  $4.5 \times 10^5$  -  $5.4 \times 10^5$  kob/g, koliform sayısı  $2.12 \times 10^5$  -  $3.57 \times 10^5$  kob/g, enterokok sayısı  $3.53 \times 10^4$  -  $7.6 \times 10^4$  kob/g, *S. aureus* sayısı  $4.33 \times 10^5$  -  $5.18 \times 10^5$  kob/g arasında değişmektedir (Tablo 1). Saptadığımız koliform, enterokok ve *S. aureus* koloni sayıları Gıdalardaki Mikrobiyolojik

Özellikler Uluslararası Komisyonu (ICMSF - International Commission on Microbiological Specification for Foods, 1978) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE) (1990-2003) standartlarına uygun bulunmamıştır. Bu standartlara göre dondurulmuş et ürünlerinde toplam aerobik mikroorganizma  $\leq 5 \times 10^6$  kob/g, koliform  $\leq 10^2$  kob/gr altında olmalı, *E. coli* ve *S. aureus* bulunmamalıdır. Karaboz ve arkadaşları İzmir'de marketlerde satılan 35 dondurulmuş et örneğinde fekal streptokok koloni sayısını  $2,9 \times 10^3$  -  $1,1 \times 10^5$  kob/g. arasında bulmuşlardır (22). Araştırmamızda fekal *Streptococcus* sayısı köfte örneklerinde  $3,6 \times 10^3$  -  $4,0 \times 10^5$  kob/g., kıyma örneklerinde  $4,0 \times 10^3$  -  $3,6 \times 10^5$  kob/g ve kuşbaşı örneklerinde  $3,810^3$  -  $6,2 \times 10^5$  kob/g olup, Karaboz ve arkadaşlarının sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Aynı çalışmada koliform ve *S. aureus* koloni sayısı araştırmamızın sonuçlarından daha düşük olarak saptanmıştır. Capita ve arkadaşları, İspanya'da beş farklı perakendeciden alınan dondurulmuş 40 ızgaralık piliç örneğinde yaptıkları çalışmada toplam aerobik mikroorganizma sayısı  $\log_{10}$  kob/g  $5,19 \pm 0,43$ , koliform sayısı  $\log_{10}$   $2,73 \pm 0,29$  ve *E. coli* sayısı  $\log_{10}$   $3,16 \pm 0,69$  olarak tespit edilmiştir. Elde edilen toplam aerob sayıları bizim toplam aerob sayılarımızla benzerlik gösterirken, koliform sayısı oldukça düşüktür (23).

Enterokok cinsi bakteriler insan ve hayvan bağırsaklarında normal floranın parçası olup, memelilerin gastrointestinal sisteminde bulunurlar. Araştırmamızda dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 63 (% 52,5) enterokok türü izole edilmiştir. Bunların % 63,4'ünün fekal enterokok olduğu ve % 70'inde *E. faecalis*, %30'unda ise *E. faecium* olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Sonuçlarımız ile uygunluk gösteren Tansuphasin ve arkadaşlarının 2006 yılında dondurulmuş 103 hayvansal kaynaklı (tavuk, karides) örnek üzerindeki çalışmasında da 113 enterokok izolatının içinde en yüksek sıklıkta *E. faecalis* (% 28.9), *E. faecium* (% 8.8), olmak üzere *E. durans* (% 4.2), *E. raffinosus* (% 0.8)

ve diğer türler (*E. avium*, *E. mallodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*) % 4.6 oranında tespit etmişlerdir (24). Devriese ve arkadaşlarının taze ve hazır gıda örneklerinde yaptıkları çalışmada izole ettikleri 161 enterokok izolatının 94 (% 58,3)'ü *E. faecalis*, 71 (% 44,1)'i *E. faecium* ve 15 (% 9,3)'i de *E. hirae* veya *E. durans* olarak tanımlamaları çalışmamızda izole ettiğimiz enterokok türlerinin dağılımı ile paralellik göstermektedir (25).

Bir gıdada bulunan enterokok sayısının yorumlanması, bulunduğu gıdaya göre değişir. Düşük enterokok sayım sonuçları, işlem görmemiş gıdalar için önemsiz kabul edilirken dondurulmuş, pişirilmiş veya işlem görmüş diğer bazı gıdalarda önemli bir yere sahiptir (4). Diğer taraftan enterokoklar yetersiz sanitasyon uygulamaları nedeniyle işletmelerde alet ve ekipmanların yüzeyinde özellikle süt endüstrisinde yetersiz sanitasyon işlemleri sonucunda sıklıkla üreyebilmektedirler. Ayrıca enterokok türleri, lipolitik ve esterolitik aktivite, sitrattan yararlanma ve uçucu aromatik bileşikler sentezleme gibi özellikleri nedeni ile süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaktadırlar. Yine de “klasik enterokoklar” en azından dondurulmuş gıdalar için sanitasyon indikatörü olarak belirli bir değere sahiptir (6).

Haşlanıp dondurulmuş gıda ürünlerinin koliformlar ve *E. coli* üzerinde yapılan bir çalışmada izolatların %40'ında fekal koliform testinin sonucu pozitif olarak saptanmış, fekal koliform testinde pozitif sonuç alınan örneklerin ise sadece % 29'unda *E. coli* belirlenmiştir. *E. coli* dondurma işlemine karşı duyarlı olduğu için elde edilen düşük *E. coli* sayıları bu nedene bağlanmıştır (26).

Hirovani ve arkadaşları ABD ve Meksika'da pazar yerlerinde satılan domates, yeşil salata, lahana,

pırasa, biber, havuç, kırmızı turp, semizotu, kereviz, ıspanak, Çin Lahanası ve maydanoz olmak üzere 12 farklı sebzenin yüzeyinden aldıkları örneklerden yaptıkları çalışmada örneklerin hepsinde fekal streptokok, koliform ve fekal koliform bakterileri izole etmişlerdir. Yapılan çalışmada fekal streptokok sayıları diğer indikatörler ile önemli bir benzerlik göstermektedir (27).

Araştırmamızda, dondurulmuş 120 et ve sebze örneğinden toplam 39 (% 32,5) fekal *E. coli*, 40 (% 33,3) fekal enterokok izole edilmiştir (Tablo 3). Ülkemizde Turantaş ve arkadaşları 2001 yılında 53 dondurma ve 55 dondurulmuş sebze (kırmızı biber, yeşilbiber, bezelye, patates, brokoli, karnabahar, domates, havuç ve yeşil fasulye) örneklerinde yapmış oldukları çalışmada da 58 (% 53)'i koliform, 12 (% 11)'si fekal koliform ve 84 (% 78)'ü fekal streptokok yönünden pozitif sonuç vermiştir. Koliform ve fekal streptokokların bu kadar yüksek oranda izole edilmesi, koliform ve fekal streptokokların dondurulmuş sebzelerde sanitasyon göstergesi olarak kullanılmasını olası kılmaktadır (28).

Çalışmamızda elde edilen koliform mikroorganizma, *E. coli* ve *S. aureus* sonuçları, ICMSF ve TSE 1990-2003 standartlarının dondurulmuş et ve sebze ürünlerindeki mikrobiyolojik kriterlerde belirtilen sayılardan daha yüksek oranda tespit edilmiş ayrıca fekal enterokok sayıları da yüksek oranda bulunmuştur. Ülkemizdeki dondurulmuş gıdaların üretim, paketlenme ve depolama aşamalarındaki hijyen durumlarının belirlenmesi için koliform mikroorganizma ve *E. coli*'ye oranla kurutma ve dondurma gibi olumsuz şartlara daha dayanıklı olan fekal enterokokların da indikatör mikroorganizma olarak mikrobiyolojik kriterler içerisinde yer alması gerekliliğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Keeratipibul S, Techaruwicht P, Chaturongkasumrit Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. *Food Control*, 2009; 20: 289-93.
2. Gökalp H, Kaya M, Zorba Ö. Et ürünleri işleme mühendisliği, 2. baskı, Atatürk Üniv. Yayın No: 786; 320. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 561.
3. Chen L, Wong H, Yu C. Occurrence of Vibrios in frozen seafoods and survival of psychotrophic *Vibrio cholerae* in broth and shrimp homogenate at low temperatures. *Journal of Food Protection*, 1994; 58: 263-7.
4. Temiz A. Gıdalarda indikatör mikroorganizmalar. Ünlütürk A, Turantaş F (Eds). Gıda Mikrobiyolojisi. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1998; 88-104.
5. Birollo GA, Reinheimer JA, Vinderola CG. Enterococci vs non-lactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yoghurt. *Food Microbiology*, 2001; 18: 597-604.
6. Klein G. Taxonomy, Ecology and antibiotic resistance of Enterococci from food and gastro-intestinal tract. *International Journal of Food Microbiology*, 2003; 88 (2-3): 123-31.
7. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. Methods used for the isolation, characterisation and identification of *Enterococcus spp.* 1. Media for isolation and enumeration. *International Journal of Food Microbiology*, 2003; 88 (2-3): 147-64.
8. Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME. Enterococci at the crossroads of the food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 1999; 47 (1-2): 1-24.
9. Giraffa G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 2002; 26 (2): 163-71.
10. Shapton DA, Shapton NF. Criteria for ingredients and finished products. In: Principles and practices for the safe processing of foods. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1991; 377-444.
11. Burton MC. Comparison of coliform and *Enterococcus* organisms as indices of pollution in frozen foods. *Food Res*, 1949; 14: 434-48.
12. Baumgart J. Microbiologische untersuchung von lebensmitteln.3, 1993. Aufle Behr's, Hamburg.
13. Çolakoğlu FA, Ova G, Köseoğlu B. Taze ve işlenmiş gümüş balığının (Atherina boyeri Risso,1810) mikrobiyolojik kalitesi. E.Ü.Su ürünleri Dergisi, 2006; 23(1/3): 393-5.
14. BAM, Bacteriological Analytical Manual.1998. FDA,8th Ed. Revision A, AOAC Gaithersburg, MD 20877, USA.
15. Facklam RR, Sahm DF. Enterococcus. Manual of Clinical Microbiology, 6<sup>th</sup> edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1995; 48: 308-14.
16. Barrow GJ, Fetham RKA. Cowan and Steel's of Manual Clinical Microbiology. Mosby Year Book Europe Limited, London, 1995; 308-12.
17. de Sausa GB, Tamagnini LM, Olmos PD, Gonzalez RD. Microbial enumeration in ready-to-eat foods and their relationship to good manufacturing practice. *Journal of Food Safety*, 2002; 22: 27-38.
18. Gonzalez RD, Tamagnini LM, Olmos PD, de Sousa GB. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. *Food Microbiology*. 2003; 20: 601-4.
19. ICMSF(The International Commision on Microbiological Specifications for Food), Microorganism in Foods, 2nd Edition, University of Toronto press, Canada. 1978, 213sp.
20. Ercoşkun A. Gıda maddeleri tüzüğü. İşçi sağlığı ve iş güvenliği tüzüğü. Hemay-Petek Sağlık Yayınları. Yayın No:2.
21. Turantaş F. Mikrobiyolojik kriterler. Ünlütürk A, Turantaş F (Eds). Gıda Mikrobiyolojisi. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 1998; 517-48.
22. Karaboz I, Dinçer B. Microbiological investigation on some for the commercial frozen meat in İzmir. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 2002; Special Issue 21: 18-23.
23. Capita R, Alonso-Calleja C, Garcia-Arias MT, Moreno B, Del Camino Garcia-Fernandez M. Methods to detect the occurrence of various indicator bacteria on the surface of retail poultry in Spain. *Journal of Food Science*, 2002; 67(2): 86-99.
24. Tansuphasin U, Khaminthakul D, Pandii W. Antibiotic resistance of enterococci isolated from frozen foods and environmental water. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2006; 37(1): 162-70.
25. Devriese LA, Pot B, Van Dame L, Kersters K, Haesbrouck F. Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. *International Journal of Food Microbiology*, 1995; 26: 187-97.
26. Splittstoesser, D.F. "Indicator organisms on frozen blanched vegetables". *Food Technology*, 1983; 14: 105-6.
27. Hirotani H, Naranjo J, Moroyoqui PG, Gerba CP. Demonstration of indicator microorganisms on surface of vegetables on the market in the United States and Mexico. *Journal of Food Microbiology and Safety*, 2001; 67(5): 1847-50.
28. Turantaş F. Çiğ sütlerde epifloresan mikroskopi tekniği ile toplam mikroorganizma sayısının saptanması. Ege Üniversitesi Müh. Fak. Dergisi. Seri:B, 1993; 11: 59-65.



# TÜRKİYE'DE BAZI LİKEN TÜRLERİNDEKİ USNİK ASİTİN HPLC YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE ANTIMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

## Evaluation of Usnic Acid in Some Licens of Turkey by HPLC Analysis and Screening of their Antimicrobial Activity

Demet CANSARAN DUMAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Refik Saydam Hıfzıssıhha  
Merkezi Başkanlığı,  
İlaç ve Kozmetikler Araştırma  
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 29.12.2009  
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:  
Demet CANSARAN DUMAN  
Refik Saydam Hıfzıssıhha  
Merkezi Başkanlığı,  
İlaç ve Kozmetikler Araştırma  
Müdürlüğü, ANKARA

Tel : 0312 458 20 00-1672  
E-posta : dcansaran@yahoo.com

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, *Parmeliaceae* familyasına ait *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., *Parmelia sulcata* Taylor, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Xanthoparmelia conspersa* (Ach.) Hale, ve *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale liken türlerinin aseton ekstraktlarının *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Enterococcus faecalis* (RSKK 508), *Proteus mirabilis* (Pasteur Ens. 235), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa* türlerini içeren yedi farklı bakteri türüne karşı antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesidir.

**Yöntem:** İnhibisyon zon çapları her bir ekstrakt için agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Daha sonra, bu türlerdeki usnik asit miktarları HPLC yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

**Bulgular:** Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Türkiye'den toplanan beş liken türünün geniş bir aralıkta değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdikleri sonucuna ulaşılmıştır. En yüksek usnik asit miktarı % 2.38'lik bir oran ile *Flavoparmelia caperata* liken türünde tespit edilmiştir. İncelenen liken türlerinin tümünün, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* hariç; *E. coli*, *B. subtilis* ve *B. megaterium* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. *F. caperata* 'nın aseton ekstraktının *B. subtilis* ve *B. megaterium*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

**Sonuç:** Araştırmada likenlerde usnik asit miktarı arttıkça antimikrobiyal aktivitenin de arttığı belirlenmiştir. Bu araştırmanın, Türkiye'de bulunan bazı *Parmelia* liken türlerinin usnik asit kompozisyonu ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan ilk çalışma olması nedeni ile önemli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, *F. caperata* başta olmak üzere çalışılan liken türleri tedavi amaçlı ilaç içerisinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Liken, usnik asit, HPLC

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of acetone extracts obtained from the *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., *P. sulcata* Taylor, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Xanthoparmelia conspersa* (Ach.) Hale, and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale belonging to family *Parmeliaceae* against seven different bacterial species including *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Enterococcus faecalis* (RSKK 508), *Proteus mirabilis* (Pasteur Ens. 235), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*.

**Method:** The inhibition zone diameters were determined for each extract by the agar diffusion method. Afterwards, quantitative analyses of usnic acid amounts found in these species were determined by HPLC method.

**Results:** Based on the data obtained in this research, it is possible to conclude that five species of lichen collected from Turkey exhibited a broad range of antimicrobial activity at varying degrees. In the study, highest amount of usnic acid was determined in *Flavoparmelia caperata* as; 2.38% of the dry lichen weight. All of the examined lichen species in this study, with the exception of the *S. aureus* and *P. aeruginosa*, were found to show antimicrobial activities against *E. coli*, *B. subtilis* and *B. megaterium*. *F. caperata* was determined have the highest inhibition effect on *B. subtilis* and *B. megaterium*.

**Conclusion:** In this research it was determined that, as the amount of usnic acid concentrations were higher, the antimicrobial activities of them also increased. This study is thought to be important as it is the first report on the usnic acid composition and antimicrobial activity of some *Parmelia* lichen species found in Turkey. Lichens species especially *F. caperata* could be used as antimicrobial agents in new drugs for therapy.

**Key Words:** Lichen, usnic acid, HPLC

## INTRODUCTION

Lichens are slow growing associations which consist of two partners living in symbiotic association; an alga (the phycobiont) and a fungus (the mycobiont). Medical uses of lichens have been confirmed by studies showing that some lichen metabolites like depsides, depsidones, and usnic acid are active against mycobacteria and Gram positive bacteria (1).

Uronic acid is a naturally occurring compound which can be obtained from different kinds of lichens. Both the R-(+) and S-(-) forms are known. Uronic acid [C18H16O7] which is a yellow crystal substance of natural origin is a dibenzofuran derivative [2,6 - diacetyl - 7,9 - dihydroxy - 8,9 b - dimethyl-1,3 (2H, 9 bH)- dibenzo - furandione. Uronic acid is known to show antimicrobial (2), antifungal (*Penicillium frequentas* and *Verticillium albo-atrum*, *Fusarium moniliforme*) (3), antiviral (*Herpes simplex*, *Polio virus*, *Epstein-Barr virus*) (4,5), antiproliferative (cytotoxic, cytostatic activity against malignat cells K-5629) (6-8), anti-inflammatory and analgesic activity (9,10). It can also be used against several skin infections (11).

Antimicrobial activity of both optical isomers of usnic acid is approximately the same against Gram positive bacteria (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*), anaerobic bacteria (*Bacteroides fragilis*, *Bacteriodes*

*acteriodes vulgatus*, *Propionibacterium acnes*) and mycobacteria (*Mycobacterium aurum*, *Mycobacterium tuberculosis var. bovis*) (12). Bearing in mind certain pharmacodynamical activities (antiseptic and anesthetic effects) (13), and the fact that usnic acid can be taken without any side effects in daily doses of 3-6 g per oral, the investigated substance finds its application in the production of pharmaceutical (septa-linguale, tooth paste) and cosmetic preparations (preservative in hydrated creams, inhibitor of Gram positive microorganisms in deodorant sprays) (14). However, from the technological point of view there is a permanent problem of aceutical-cosmetic industry so its sodium salt (Na-usninate) is used often.

In the last few years, in modern medicine, artificial devices are being used for repair or replacement of damaged parts of the body, delivery of drugs, and monitoring the status of critically ill patients. However, artificial surfaces are often susceptible to colonization by bacteria and fungi. Once microorganisms have adhered to the surface, they can form biofilms, resulting in highly resistant local or systemic infections. At this time, the evidence suggests that (+) usnic acid, a secondary lichen metabolite, possesses antimicrobial activity against a number of planktonic Gram positive bacteria, including *S. aureus*, *E. faecalis*, and *E. faecium*.

Since lichens are surface-attached communities that produce antibiotics including usnic acid, to protect themselves from colonization by other bacteria, the mode of action of usnic acid may be utilized in the control of medical biofilms (15).

In literature, extended number of patented and described procedures for isolation and characterization of usnic acid from various lichens are described in detail (8,11,16-18).

The aim of this study was to determine the usnic acid concentration and to evaluate in vitro antimicrobial activities of the acetone extracts obtained from *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., *Parmelia sulcata* Taylor, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Xanthoparmelia conspersa* (Ach.) Hale, and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale species grown in Turkey.

## MATERIALS AND METHODS

### Lichen material

The lichen species were collected from various parts of Turkey in July 2006. Five lichen species were collected from different local and the collection areas are shown in Table 1. The lichen species used in this research were identified in a previous study (19).

Collected samples; 0.05 g of each, were dried at room temperature and foreign matters were removed prior to grinding. The lichen samples of this study

were stored in the herbarium of Ankara University-ANK (Ankara University, Department of Botany, Ankara, Turkey).

### Determination of antimicrobial activity

**Test microorganisms :** *E. coli* ATCC 35218, *E. faecalis* RSKK 508, *Proteus mirabilis* Pasteur Ens. 235, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa* were obtained from Refik Saydam National Type Culture Collection (RSSK) and Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology.

**Preparation of lichen extracts for antimicrobial activity :** Lichen extracts for antimicrobial activity were isolated from lichen materials according to protocol given by Cansaran D. et al (18, 23). Briefly the extraction protocol was as follows: From dried lichen samples 0.05 g were weighed and put into screw capped glass tubes. Extraction was performed by adding 10 ml of acetone and extraction at room temperature for 1 h. Chemicals used for extraction were obtained from Sigma (Germany) and were of the highest grade available. At the end of incubation period, tubes were centrifuged to remove lichens from supernatants. The extracts obtained with this procedure were used in the experiments. To prevent evaporation of solvents screw capped glass tubes were kept in refrigerator and to prove consistency of concentrations, all disks were prepared from each lichen extract at one time.

**Tablo 1.** Locations of the lichen samples.

Species	Locality name
<i>Parmelia saxatilis</i>	Giresun- Şebinkarahisar Kabak Hill
<i>Parmelia sulcata</i>	Antalya Termosos Natural Park Güllük Mountain
<i>Parmelina tiliacea</i>	Antalya Termosos Natural Park Güllük Mountain
<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	Giresun Dereli - Kulakkaya Area
<i>Flavoparmelia caperata</i>	Karabük- Yenice Yaylacık Forest Sarıçam Hill

**Antimicrobial activity assays :** For screening of antimicrobial activity the agar disc diffusion method was used (4). The extracts (50 µl) were dried on 6 mm filter paper discs. Additionally, control discs were prepared with solvents free of lichen extract in order to determine the antimicrobial activity of solvent acetone. Tetracycline (30 µg/disc) was used as reference. For antimicrobial assays, all bacterial strains were grown in Nutrient broth (Oxoid, UK) at 37°C for 24 h. Then 0.1 ml of each culture of bacteria

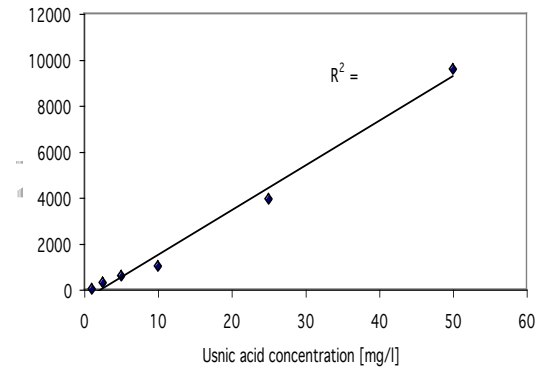
were spread onto the surfaces of plates containing Nutrient agar (Oxoid). Afterwards, discs containing extracts were placed onto agar petri plates and incubated at 37°C for 24 h. After incubation, the inhibitory activities were indicated by clear zones around the discs and inhibition zone diameters were measured in mm (4). All tests were performed in triplicate.

#### Determination of HPLC analysis of the lichen samples

**Sample preparation for HPLC analysis :** HPLC analyses were performed according to the protocol defined by (19). In particular: 0.05 g of air-dried lichens were ground and extracted in 10 ml acetone at room temperature (20-22°C). The extracts were taken to darkness and stored at 4°C until HPLC analysis. Before analysis, extracts were passed through 0.45 µm filters and then 20 µl of them were injected into the HPLC system .

**Standard and solvents :** All of the chemicals used in experiments were of HPLC grade from Sigma (USA) of highest purity. A stock solution of 1 mg/ml usnic acid was prepared in acetone. An appropriate dilution of this stock solution was made with acetone. All of the standards were placed in an autosampler and analyzed. Calibration curves for usnic acid were obtained with seven samples of various concentrations using linear regression analysis (Fig. 1).

**Analytical conditions and apparatus :** A Thermo Finnigan HPLC System equipped with a Surveyor LC pump, Surveyor photodiode array detector, Surveyor autosampler and data processor (ChromQuest 4.01) was used. Reverse phase Shim-pack CLC-ODS (M), 5 µm particle size, in a 250 mm x 4.6 mm I.D. stainless steel column was used. Flow- rate was 0.8 ml/min. For usnic acid detection at 245 nm, a mixture of methanol and phosphate buffer (pH 7.4) (70:30 v/v) was used as a mobile phase. Aliquots of the extracts (20 µl) were injected into the HPLC system. Each analysis was carried out in triplicate (Figure. 2).



**Figure 1:** Standard calibration curve for the quantification of usnic acid by HPLC

## RESULTS

A total of five species of lichens were studied in the HPLC analysis and antimicrobial activity. The usnic acid concentrations of *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa*, and *F. caperata* species and their antimicrobial effects against seven tested bacteria were screened (Table 2). The solvent controls did not show any activities against the microorganism.

The usnic acid extracts of *F. caperata* were determined to be the most active lichen extracts, and showed the highest inhibition effects on *B. subtilis* and *B. megaterium*. When the inhibition zones obtained from *F. caperata* were compared with that of standard antibiotic, it was determined that *E. coli* and *P. mirabilis* were more susceptible to the lichen extract. In the study, it was observed that acetone extracts of examined lichen species inhibited the growth of all tested Gram positive bacteria except *S. aureus*. Besides, *B. megaterium* strain was found to be sensitive to the acetone extracts of all tested lichen species.

After that, the quantitative analysis of usnic acid in *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa*, and *F. caperata* species were performed by using HPLC. Identification of peaks in chromatograms of lichen extracts were achieved by comparison of



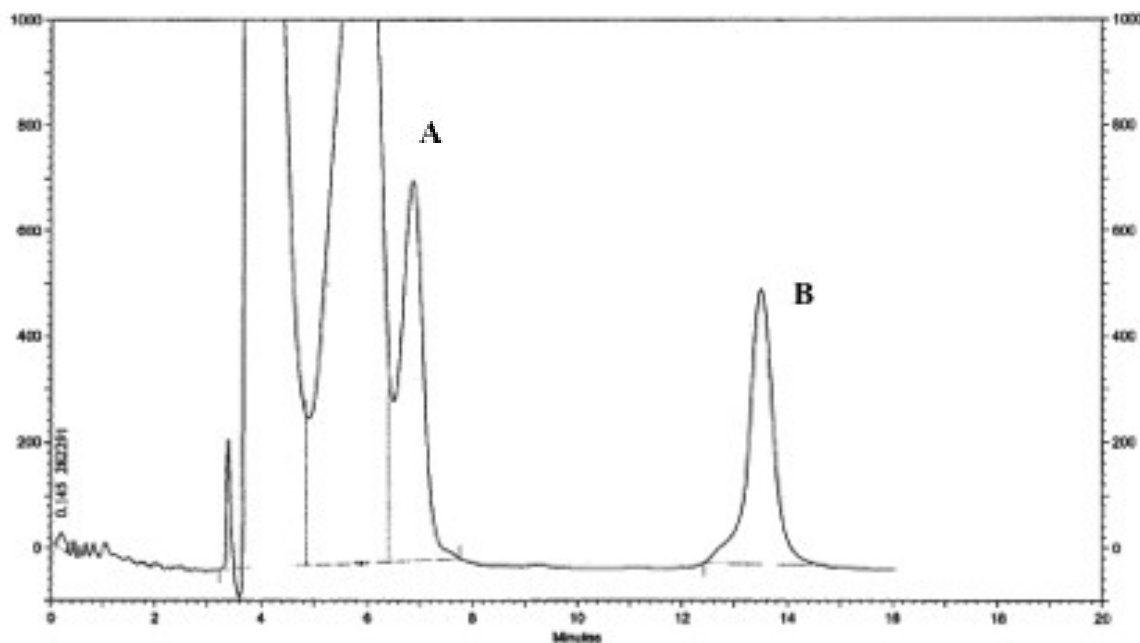
retention times with that of standart usnic acid. A sample of representing these chromatograms is shown in Figure 2. The amounts of usnic acid and retention times in the acetone extracts of lichens are given in Table 3. The highest amount of usnic acid was found as nearly 2.38 % of the dry lichen weight in *F. caperata*.

## DISCUSSION

Antimicrobial and antifungal properties of especially usnic acid and other components of various extracts of lichens have recently been of great interest in both research and pharmaceutical industry. Owing to strong antimicrobial and antifungal features exhibited in agar diffusion test, the extracts of these lichens could be considered as a natural herbal source that could be freely used in pharmaceutical industry. Several records are available on the studies of the antimicrobial activity of lichens in some provinces of Turkey.

It was reported by Gulluce et al. (2006) that; methanol extracts of *P. saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina polymorpha* and *Usnea nylanderiana* were shown to have antimicrobial, antifungal and antioxidant activities (20). Especially the extract of *Ramalina pollinaria* was shown the highest antimicrobial activity. Also extracts of *P. saxatilis* were also found to possess antimicrobial activity against some of the tested bacteria, fungi and yeasts. As the data found in the mentioned study were compared with the data obtained in this research, and our results for the antimicrobial activity showed similarities. In both of the studies, *P. saxatilis* was determined have the highest inhibition effect on *B. subtilis* and *B. megaterium*.

The antimicrobial activities of the diethyl ether, acetone, chloroform, petroleum ether, and ethanol extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyii* and its gyrophoric acid and stenoporic acid constituents which were also screened against some foodborne



**Figure 2:** A sample chromatogram for the analysis of usnic acid from *Xanthoparmelia conspersa* by HPLC. (A) solvent (tR=5.5 min); (B) usnic acid (tR=13.4 min).

**Tablo 2.** Antimicrobial activity of acetone extracts of *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa* and *F. caperata* against different Gram-positive cocci, bacilli and Gram-negative bacilli tested

	Mean inhibition zone diameter (mm) <sup>a</sup>					Tet
	<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	<i>Parmelia saxatilis</i>	<i>Parmelia tiliacea</i>	<i>Parmelia sulcata</i>	<i>Flavoparmelia caperata</i>	
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	13±0.01	10±0.01	10±0.01	-	16±0.01	12
<i>Enterococcus faecalis</i> (RSKK 508)	7±0.01	-	-	-	7±0.01	30
<i>Proteus mirabilis</i> (Pasteur Ens. 235)	12±0.01	-	-	-	18±0.01	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	40
<i>Bacillus subtilis</i>	20±0.02	9±0.01	10±0.01	10±0.01	24±0.01	26
<i>Bacillus megaterium</i>	17±0.01	12±0.01	12±0.01	12±0.01	21±0.02	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	20

<sup>a</sup>Includes diameter of disc (6 mm). Tet: Tetracycline; (-) no inhibition.

bacteria and fungi were investigated (21). Both the extracts and the acids showed antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Candida albicans* and *Candida glabrata*. In another study showed that the antimicrobial activities of acetone, chloroform, diethyl ether, methanol, and petroleum ether extracts of the lichen *P. sulcata* and its salazinic

acid constituent which were screened against twenty eight foodborne bacteria and fungi (22). All of the extracts, with the exception of the petroleum ether extract, were found to show antimicrobial activity against *A. hydrophila*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *P. vulgaris*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, and *Penicillium notatum*. Our results which demonstrated significant antimicrobial effects of *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa*, and *F. caperata* species were found to be in agreement with the data reported in the above mentioned reports.

**Tablo 3.** Usnic acid content and retention times of acetone extracts of *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa* and *F. caperata*

Species	% of usnic acid in dry weight	Retention time [min]
<i>Flavoparmelia caperata</i>	2.38±0.02	11.1
<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	1.10±0.05	13.4
<i>Parmelia saxatilis</i>	0.13±0.01	9.8
<i>Parmelia tiliacea</i>	0.10±0.01	11.2
<i>Parmelia sulcata</i>	0.07±0.02	10.8

Usnea species are often rich sources of usnic acid, and it was reported to have yields of up to 6.49 % (23). Comparing with the mentioned study, usnic acid amount of *F. caperata* was found 2.38% in the present research.

The antimicrobial activity of acetone, methanol and aqueous extracts of lichens *Cladonia furcata*, *P. caperata*, *P. pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla* were assessed by Rankovic et al (24). The extracts were tested on six species

of bacteria and 10 species of fungi using the disk-diffusion method besides, broth tube dilution method was used for the determination of minimal inhibitory concentration (MIC). The strongest activity was recorded for the methanol extract of *P. pertusa* with the 0.78 mg/mL MIC value *P. caperata* was determined as the least active species showing its highest MIC value as; 50 mg/mL. A study was performed to found the effects of physodic acid, usnic acid, atranorin and gyrophoric acid on *Hypogymnia physodes*, *Parmelia caperata*, *Physcia aipolia* and *Umbilicaria polyphylla* (25). In the mentioned research, assessment for the antimicrobial effects were performed against six bacteria (three Gram positive and three Gram negative) and MIC were determined by using broth tube dilution method. It was reported that the lichen which was studied for the antimicrobial activity inhibited the growth of all tested microorganisms. The tested bacteria showed a higher sensitivity than the tested fungi. It was found that the usnic acid of the *P. caperata* lichen showed the highest antimicrobial activity, while the lowest MIC was found as 0.0037 mg/ml against *Klebsiella pneumoniae* (even lower than the one given by the streptomycin standard). In keeping with the finding of (25), acetone extracts of *F. caperata* were found more active against *B. subtilis* and *B. megaterium*.

Finally, the correlation of the usnic acid contents of the *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *P. tiliacea*, *X. conspersa*, and *F. caperata* species with their antimicrobial activities is thought to be interesting in terms of finding new medicinal or pharmacological products. It appears that this ambiguity is linked to the very high stacks of the usnic acid concentrations of lichens. This is thought to be an explanation for the correlation between usnic acid concentration and antimicrobial activity. In this study; it was determined that the higher amount of usnic acid concentration increased the antimicrobial activities. Only a few studies have applied the usnic acid amount and their antimicrobial activity produced by *P. saxatilis*, *P. sulcata*, *Parmelina tiliacea*, *X. conspersa*, and *F. caperata* species in Turkey. According to the best of our knowledge, this is the first study which was conducted to determine the usnic acid concentrations and antimicrobial activities of these lichen species for research and also commercial purposes .

#### Acknowledgements

This study was partially supported by Ankara University, BİTAUM. The author wishes to thank Prof. Dr. Orhan ATAKOL and Dr. Demet Çetin for their support in every aspect of the study.

#### REFERENCES

1. Vartia KO. Antibiotic in lichens. In: Ahmadjian V, Hale ME (eds). The Lichens. Academic Pres, New York. 1973; 547-61.
2. Proška B, Sturdiková M, Pronayová N, Liptaj T. (-)-Usnic acid and its derivatives. Their inhibition of fungal growth and enzyme activity. *Pharmazie* 1996; 51:195-6.
3. Wu J, Zhang M, Ding D, Tan T, Yan B. Effect of *Cladonia alpestris* on *Trichomonas* in vitro. *Chinese J. Parasit. Dis* 1995; 13: 126-9.
4. Perry NB, Benn MH, Brennan NJ, Burgess EJ, Ellis G, Galloway DJ, Lorimer SD, Tangney RS. Antimicrobial, antiviral and cytotoxic activity of New Zealand lichens. *Lichenologist* 1999; 31: 627-36.
5. Yamamoto Y, Miura Y, Kinoshita Y, Higuchi M, Yamada Y, Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. Screening of tissue culture and thalli of lichens and some of their active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation. *Chem. Pharm. Bull* 1995; 43(8):1388-90.

6. Takai M, Uehara Y, Beisler JA. Usnic acid derivatives as potential neoplastic agents. *J Med Chem* 1979; 22: 1380-4.
7. Kristmundsdottir T, Aradottir RAE, Ingolfsdottir K, Ogmundsdottir RM. Solubilization of the lichen metabolite (+)-usnic acid for testing in tissue culture. *J. Pharm. Pharmacol* 2002; 54(11): 1447-52.
8. Cocchietto M, Skert N, Nimis PL, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften* 2002; 89: 137-46.
9. Vijayakumar CS, Viswanathan S, Kannappa-Reddy M, Parvathavarthini S, Kundu SB, Sukumar E. Anti-inflammatory activity of (+) usnic acid, *Fitoterapia* 2000; 71: 564-6.
10. Okuyama E, Umeyama K, Yamazaki M, Kinoshita Y, Yamamoto Y. Usnic acid and diffractric acid as analgesic and antipyretic components of *Usnea diffracta*, *Planta Med.* 1995; 61: 113-5.
11. Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften* 1999; 86: 559-70.
12. Ingolfsdottir K. Usnic acid. *Phytochemistry* 2002; 61: 729-36.
13. Wunderer H. The garlic dilemma. *D Apoth Ztg* 1986; 126: 1743-5.
14. Seifert P, Bertram C. Usnic acid natural-preservation from lichens. *Seifen Ole Fette Wachse* 1995; 121: 480-5.
15. Francolini I, Norris P, Piozzi A, Donelli G, Stoodley P. Usnic Acid, a Natural Antimicrobial Agent Able To Inhibit Bacterial Biofilm Formation on Polymer Surfaces. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4360-5.
16. Ingolfsdottir K, Chung GAC, Gissurason SR, Skulason VG, Vilhelmsdottir M. In vitro antimycobacterial activity of lichen metabolites. *Eur J Pharm Sci* 1998; 6: 141-4.
17. Duman Cansaran D. Farklı liken örneklerindeki usnik asit miktarlarının yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlenmesi ve antimikrobiyal aktiviteleri. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2007; 64(3): 17-21.
18. Cansaran D., Çetin D., Halıcı G.M., Atakol O. Determination of usnic acid in some *Rhizoplaca* species from the Middle Anatolia and their antimicrobial activities. *Z. Naturforsch* 2006; 61(1-2): 47-51.
19. Cansaran D, Atakol O, Halıcı MG, Aksoy A. HPLC analysis of usnic acid in some *Ramalina* species from Anatolia and investigation of their antimicrobial activities. *Pharma Biol* 2007; 45-1: 77-81.
20. Gulluce M, Aslan A, Sokmen M, Sahin F, Adiguzel A, Agar G, Sokmen A. Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine* 2006; 13: 515-21.
21. Candan M, Yılmaz M, Tay T, Kivanc M. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyii* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents. *Z Naturforsch C* 2006; 61: 319-23
22. Candan M, Yılmaz M, Tay T, Erdem M, Türk-Ozdemir A. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Z Naturforsch C* 2007; 62: 619-21.
23. Cansaran D, Kahya D, Yurdakulol E, Atakol O. Identification and quantitation of usnic acid from the lichen *Usnea* species of Anatolia and antimicrobial activity. *Z. Naturforsch C* 2006; 61c: 773-6.
24. Rankovic B, Music M, Sukdolak S. Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla*. *Br J Biomed Sci* 2007a; 64(4): 143-8.
25. Rankovic B, Music M, Sukdolak S. The antimicrobial activity of substances derived from the lichens *Physcia aipolia*, *Umbilicaria polyphylla*, *Parmelia caperata* and *Hypogymnia physodes*. *W J Micro Bio* 2007b; 10: 274-7.

# ÇANAKKALE İLİNDE FARKLI DİYALİZ MERKEZLERİNDE TEDAVİ GÖREN HASTALARDA HEPATİT B, C SEROPREVALANSI VE HEPATİT KRONİKLEŞME ORANLARI

## Hepatitis B, C Seroprevalance and Chronicity Rates for Hepatitis in Patients Treated by Different Dialysis Centers in Çanakkale Province, Turkey

Filiz ARABACI<sup>1</sup>, Mehmet OLDACAY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çanakkale Devlet Hastanesi  
ÇANAKKALE

Geliş Tarihi: 28.05.2009  
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:  
Filiz ARABACI  
Çorlu Devlet Hastanesi  
İntaniye Servisi  
17200 / TEKİRDAĞ

Tel : 0286 213 77 23  
E-posta : farabaci@hotmail.com

### ÖZET

**Amaç:** Türk Nefroloji Derneği'nin 2004 yılı raporuna göre ülkemizde hemodiyaliz hastalarında hepatit C prevalansı % 19.4, hepatit B seroprevalansı ise % 4.9 olarak saptanmış ve %1.9'unda hepatik yetmezliğe bağlı ölüm bildirilmiştir. Bu çalışmada Çanakkale ilinde farklı diyaliz merkezlerinde tedavi edilen vakaların Hepatit B, C seroprevalanslarının ve seropozitif olgularda kronikleşme oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ocak 2007'de Çanakkale'de faaliyet gösteren dört diyaliz merkezinde tedavi edilen toplam 226 kronik böbrek hastasının serumu toplanarak HBsAg, anti-HBs ve anti-HCV seropozitiflikleri 3. jenerasyon anti-HCV kiti (Beckman Coulter) kullanılarak enzim immün assay yöntemiyle değerlendirilmiştir. HBsAg ve anti HCV seropozitifliği saptanan 35 hastanın karaciğer transaminaz düzeyleri iki yıl süreyle 6 aylık periyodlarla değerlendirilmiş ve Ocak 2009'da PCR ile HBV DNA ve HCV RNA (Cobas Tagman Roche) düzeylerine bakılmıştır.

**Bulgular:** İncelenen diyaliz birimlerinden A, B, C merkezlerinde HBsAg seropozitifliği sırasıyla % 7.21, % 5.66, % 2.38 iken D merkezinde HBsAg seropozitifliği saptanamamıştır. Anti HCV seropozitifliği A merkezinde % 9.27, B'de % 15.09, C'de % 11.90, D'de % 5.88 olarak belirlenmiştir. Seropozitif bulunan 35 olgunun iki yıllık izlemi sonunda hepatit C pozitif olguların % 25'inde, hepatit B pozitif olguların % 18.1'inde kronikleşme saptanmıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmada hepatit B pozitifliği açısından sadece C ve D merkezleri arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Hepatit C pozitifliği açısından ilk üç merkez arasında fark görülmemiştir. İlimizde hemodiyaliz vakalarında hepatit B ve C seroprevalansı Türkçe literatüre göre daha düşük bulunurken, seropozitif vakalardaki kronikleşme oranları hemodiyalize girmeyen taşıyıcılarla benzer oranda tespit edilmiştir. Sonuç olarak, hemodiyaliz ünitelerinde hepatit seropozitifliği saptanan olguların uzun vadeli transaminaz takibine alınmasını, uygun vakalarda PCR testlerinin ve karaciğer biyopsisinin yapılmasını önermekteyiz.

**Anahtar Sözcükler:** HBV, HCV, seroprevalans, hemodiyaliz, hepatit.

### ABSTRACT

**Objective:** Turkish Nephrology Association reported that seropositivity rate for hepatitis C was 19.4 % and 4.9 % for hepatitis B in haemodialysis patients and mortality rate from liver failure was 1.9% in those patients in 2004 annual report. In this study,

it was aimed to determine the seroprevalences and chronicity rates of seropositive cases for hepatitis B and C among haemodialysis patients in Çanakkale province, Turkey.

**Method:** In January 2007, totally 226 patients sera collected from four haemodialysis centers in Canakkale province were evaluated for the seropositivity of HBs Ag, anti-HBs, and anti-HCV by using Beckman Coulter enzyme immunoassay method and 3rd generation EIA test. Liver transaminase levels of 35 patients determined as seropositive for HBs Ag and anti HCV were evaluated prospectively for 6 months periods for 2 years and in January 2009, they all were tested for HBV DNA or HCV RNA by PCR method (Cobas Tagman Roche).

**Results:** Seropositivity for HBsAg was found as 7.21% for unit A, 5.66% for unit B, 2.38% for unit C, no seropositivity was determined for unit D in haemodialysis centers which were examined. Seropositivity for Anti HCV was found as 9.27% for unit A, 15.09% for unit B, 11.9% for unit C and 5.88% for unit D. At the end of two years clinical survey, chronicity rates was 25% for hepatitis C positive cases and 18.1% for hepatitis B positive cases.

**Conclusion:** In this study, seropositivity rates of Hepatitis B was statistically meaningful for only unit C and D. Seropositivity rates of Hepatitis C was not different for the first three units. Whereas, seropositivity for haemodialysis patient group for hepatitis B and C were found less than in Turkish literature, chronicity rates for seropositive cases was found same as carrier in general population. As a result, we recommend to control over a long period liver transaminase levels of the seropositive hepatitis cases in haemodialysis units, and perform PCR tests and liver biopsy.

**Key Words:** HBV, HCV, seroprevalance, haemodialysis, hepatitis.

## GİRİŞ

Nozokomiyal viral enfeksiyonların, hastane enfeksiyonları içindeki oranı % 5 ile % 20 arasında bildirilse de, tanı güçlükleri ve bu enfeksiyonların doğal seyri göz önüne alındığında aslında gerçek oranların daha yüksek olduğu kolayca anlaşılabilir. Nozokomiyal viral enfeksiyonlar açısından özellikle risk altında olanlar; çocuklar, yaşlılar, bağışıklık eksikliği veya baskılaması olanlar, invazif girişimler geçiren hastalar, yanık hastaları, gebeler, yoğun bakım biriminde yatanlar ve altta yatan kronik hastalığı olanlardır (1).

Hepatit enfeksiyonları arasında sağlık personelinin en sık karşılaştığı etken hepatit B virusu (HBV)'dur. Virus hastadan hastaya, hastadan personele ve personelden hastaya bulaşabilmektedir (2). Diyaliz ünitelerinde viral hepatitlerin en önemli bulaşma yolu, kontamine ekipmanlar, personelin el hijyenine uyum eksikliği ve birden fazla hastada kullanılan flakonlar aracılığı ile olmaktadır (3).

Türkiye'de HBsAg (Hepatit B yüzey antijeni) seroprevalansı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur.

ELISA yöntemi ile bu oran % 3.9-12.5 arasında bildirilmekte, Anti-HBs (anti- Hepatit B yüzey antijeni) pozitifliği ise %20.6-56.3 arasında değişmektedir (4).

Hepatit C, bütün dünyada yaygın olmakla birlikte ülkelere göre prevalans farklılıklar göstermektedir. Özellikle Ortadoğu ve Afrika ülkelerinde % 5'e yakın prevalans rapor edilmektedir. Kuzey Avrupa ve Amerika'da prevalans % 0.01-0.05 civarında olup ülkemizde kan donörlerindeki prevalansı % 0.3-1.8 arasındadır. Hepatit C virusu (HCV) hemodiyaliz hastaları için oldukça yüksek bir risk taşımaktadır. Özellikle multipl kan transfüzyonu yapılan olgularda daha yüksek hepatit seropozitifliği saptanmıştır. Hemodiyaliz hastalarında tüm dünyada % 10 - 50 arasında olan insidans, kan bankalarının rutin anti-HCV taraması uygulamasını takiben dikkate değer oranda azalma göstermiştir (5).

Türk Nefroloji Derneği'nin 2004 kayıtlarına göre ülkemizde diyaliz hastalarında HCV prevalansı % 19.4, HBV seroprevalansı %4.9 olarak bildirilmiş ve hepatik yetmezliğe bağlı ölüm; olguların % 1.9'unda

saptanmıştır. Buraporda, 1997 yılında olguların hepatik yetmezlikten ölüm oranı % 3 iken; HCV prevalansı % 54.6 ve HBV prevalansı ise % 11.1 saptanmış olup yıllar içinde hepatit seropozitifliğinde yaklaşık üç kat azalma olduğu görülmüştür (6). Hemodiyaliz ünitelerindeki seropozitifliğin azalmasının nedeni öncelikle hasta bakımı veren personelin koruyucu tedbirler konusunda eğitilmesi, temiz - kirlili alanların ayrımı ve diyaliz merkezlerinde seronegatif her vakaya hepatit aşısının uygulanmasıdır.

Bu çalışmada Çanakkale ilinde farklı diyaliz merkezlerinde tedavi edilen vakaların HBV, HCV seroprevalanslarının ve seropozitif olgulardaki kronikleşme oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2007 tarihinde, Çanakkale yöresinde hemodiyaliz hizmeti veren dört merkezde (A, B, C, D olarak kodlanmıştır) takibi yapılan kronik böbrek hastalarının hepatit B ve C yönünden prospektif takibi amaçlanmıştır. A merkezinden 97, B merkezinden 53, C merkezinden 42 ve D merkezinden 34 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Yaşları 18 - 87 arasında değişen (yaş ortalaması  $55.64 \pm 15.07$ ) 143 (% 63.3)'ü erkek, 83 (% 36.7)'ü kadın olmak üzere toplam 226 kronik böbrek hastasının (Tablo1) serum örnekleri toplanarak Çanakkale Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda HBs-Ag, anti-HBs ve anti-HCV seropozitiflikleri enzim immunoassay yöntemiyle Beckman Coulter cihazı ile değerlendirilmiştir.

Çalışmada HBV veya HCV pozitif olarak saptanan olgular iki yıl boyunca prospektif olarak takip edilmiş hastalar altı ay arayla karaciğer transaminaz (alanin aminotransaminaz; ALT, aspartat aminotransaminaz; AST) düzeylerine bakılmış (ALT sınır değerler: 10-40 iu/l, AST sınır değerler: 10-42 iu/l). HCV RNA ve HBV DNA'sı PCR yöntemiyle 2009 Yılı Ocak ayında Ankara Düzen Laboratuvarında Rocher Cobas Taqman sistemi ile çalıştırılmıştır.

Viral Hepatit Savaşım Derneği (VHSD)'nin "2008 Kronik Hepatitler Konsensus Kılavuzu"na uygun olarak AST ve ALT düzeylerinde altı aydan uzun süreli 1.5- 2 kat artış olan ve HBV-DNA  $\geq 2.000$  IU/ml bulunan olgular kronik HBV olarak, AST ve ALT düzeylerinde 1.5-2 kat artışla beraber HCV RNA pozitif bulunan olgular kronik HCV olarak kabul edilmiştir.

Çalışmanın istatistik testleri SPSS version 10.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR

A merkezinden 97, B merkezinden 53, C merkezinden 42 ve D merkezinden 34 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Tablo 1'de olguların merkezlere göre ve cinsiyetlere göre dağılımı verilmiştir. Merkezlerden A, B ve C özel merkezler olup, D merkezi ise hastanemize ait diyaliz merkezidir.

İncelenen diyaliz birimlerinden A merkezinde HBsAg seropozitifliği % 7.21 (7/97), B merkezinde % 5.66 (3/53), C merkezinde % 2.38 (1/42) iken D merkezinde HBsAg seropozitifliği saptanmamıştır.

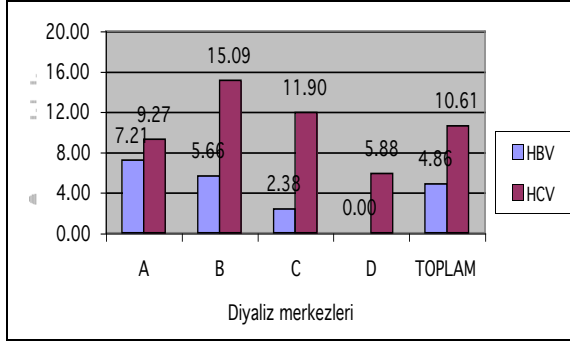
Anti-HCV seropozitiflikleri incelendiğinde A merkezinde % 9.27 (9/97), B merkezinde % 15.09 (8/53), C merkezinde % 11.90 (5/42) ve D merkezinde % 5.88 (2/34) olarak saptanmıştır.

Toplam üç olguda hem HBsAg hem de anti-HCV pozitif olarak bulunmuştur. Şekil 1'de diyaliz merkezlerinin HBV ve HCV seropozitiflik oranları karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

**Tablo 1.** Olguların diyaliz merkezleri ve cinsiyetlerine göre dağılımı

Diyaliz Merkezi	Kadın	Erkek	Toplam
A	22	75	97
B	26	27	53
C	19	23	42
D	16	18	34
<b>TOPLAM</b>	<b>83</b>	<b>143</b>	<b>226</b>

Tüm diyaliz hastaları değerlendirildiğinde HBV seropozitifliği % 4.86 iken, HCV seropozitifliği % 10.61 oranında bulunmuştur (Şekil 1) .



Şekil 1: Diyaliz merkezlerinin HBV ve HCV seropozitiflik yüzdeleri

Çalışmada 226 kronik böbrek hastasının 29'unda HBV veya HCV pozitifliği saptanırken, üç olguda ise HBV ve HCV pozitifliği birlikte saptanmıştır (Tablo 2).

Merkezler arasında HBV pozitifliği açısından fark sadece C ve D merkezinde anlamlıdır (Ki kare  $p=0.048$ ). Hepatit C pozitifliği açısından ilk üç merkez arasında fark yok (Ki kare  $p=0.816$ ) iken D merkezinde oran anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p=0.021$ ).

Tablo 2'de görüldüğü gibi merkezlerdeki hastaların anti-HBs oranları ortalama % 80.08 olarak belirlenmiş ve sırasıyla A merkezinde % 74.22, B merkezinde % 88.67, C merkezinde % 85.71 ve D merkezinde % 76.47 olarak bulunmuştur.

HBsAg pozitif olguların % 27.2 (3/11)'inde HBV DNA pozitif saptanırken, anti HCV pozitif olguların % 33.3 (8/24)'ünde HCV RNA pozitif saptanmıştır.

Seropozitif bulunan 35 hastanın iki yıllık izlemi sonunda HCV pozitif olguların % 25 (6/24)'inde, HBV pozitif olguların % 18.1 (2/11)'inde kronikleşme saptanmıştır. Pozitif saptanan olguların tedavileri halen ilimizde sürdürülmekte olup bir olgunun tedavisi ise il dışında devam etmektedir.

## TARTIŞMA

Ülkemiz hepatit B yönünden orta-yüksek endemik bölge, hepatit C yönünden ise düşük endemik bölge tanımına uymaktadır. Ülkemizde yapılan bir seroprevalans çalışmasında beş ayrı bölgeden toplanan 1374 serum örneğinde anti-HCV seropozitifliği % 1.5 olarak bulunmuştur (7). Toplumda rastlanan bu oranlar yüksek riskli gruplarda (örneğin hemofili hastaları, İ.V. madde bağımlıları, hemodiyaliz hastaları ) saptanan oranların çok altındadır.

Ülkemizde hemodiyaliz hastalarında hepatit B ve hepatit C seropozitifliğini araştıran çok sayıda makale mevcuttur. Bunlardan HBV için saptanan en yüksek oran Sivas'tan bildirilmiş olup HBV ve HCV için ayrı ayrı % 65 olarak saptanmıştır (8). Diyaliz hastalarında HCV pozitifliği en yüksek olarak (% 79.1) 1993 yılında yapılan bir araştırmada Samsun'dan bildirilmiştir (9). Karadeniz yöresinden yapılan çalışmalarda genelde

Tablo 2. Olguların diyaliz merkezlerine göre HBV ve HCV serolojik göstergeleri

DİYALİZ MERKEZİ	HBsAg		Anti-HCV		HBV+HCV		Anti-HBs	
	(+)/n	%	(+)/n	%	(+)/n	%	(+)/n	%
A	7/97	7,21	9/97	9,27	2/97	2,06	72/97	74,22
B	3/53	5,66	8/53	15,09	0/53	0	47/53	88,67
C	1/42	2,38	5/42	11,9	1/42	2,38	36/42	85,71
D	0/34	0	2/34	5,88	0/34	0	26/34	76,47
TOPLAM	11/226	4,86	24/226	10,61	3/226	1,32	181/226	80,08



HCV pozitifliğinin yüksekliği dikkati çekmekte (9,10) iken yapılan başka bir çalışmada diyalize alınan olguların % 10' u HBV, % 20'si HCV seropozitif bulunmuştur (11). İç Anadolu Bölgesi'nde 1990-1996 arasında Ankara'da yapılan üç ayrı çalışmada HCV seropozitifliği sırasıyla % 56, % 33.3 ve % 50.4 olarak bildirilmiştir (12-14). Çalışmamızın, yeni tarihli olması, bu yörelerde diyaliz programına alınan hastalarda hepatit seropozitifliğinin azaldığını düşündürmektedir.

İç Anadolu Bölgesinden Sivas'ta diyaliz hastalarında HBV pozitifliği % 13.6 saptanırken (15), Kayseri'de bu oran % 32.5 olarak saptanmıştır (16).

Diyaliz hastalarında, Güney Doğu Anadolu Yöresinden Diyarbakır'da 1992'de yapılan çalışmada HCV seropozitifliği % 30 olarak bulunurken (17), Doğu Anadolu'dan Elazığ'da HCV seropozitifliği % 76.5 olarak bildirilmiştir (18). Malatya'dan bildirilen bir diğer çalışmada ise diyaliz hastalarında % 37.5 oranında anti-HCV seropozitifliği saptanmıştır (19).

Akdeniz Bölgesinden Antalya'da 1987 yılında yapılan bir çalışmada diyaliz hastalarında HCV pozitifliği % 62.7 olarak saptanmışken (20) 1992 yılında yapılan başka bir çalışmada bu oran % 32.7 olarak bulunmuştur (21). Aynı bölgeden Adana'da yapılan bir çalışmada diyaliz hastalarında HCV pozitifliği % 14.4; HBV pozitifliği ise % 16.7 olarak saptanmıştır (22). Ege Bölgesinden İzmir'de yapılan iki ayrı çalışmada hemodiyaliz hastalarında HBV pozitifliği % 14.2 olarak saptanırken HCV pozitifliği % 26 olarak saptanmıştır (23, 24). Bizim çalışmamızda toplam 226 diyaliz hastasına ait serum örnekleri incelenmiş olup HBsAg seropozitifliği % 4.86, anti-HBs % 80.08 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda saptanan anti-HBs seropozitifliği ülkemizde bazı çalışmalarda bildirilen % 32.5 ve % 33.3 oranlarına (10,22) göre oldukça yüksektir. Bunun nedeni diyaliz merkezlerimize kabul edilen hastaların ilk başvuruda hepatit B taraması yapıp seronegatiflerin aşılmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızda saptanan anti-HCV seropozitifliği % 10.6 olarak bulunmuş olup literatürde verilen değerlerin altındadır. Söz konusu çalışmaların 1990-1995 yılları arasında ve çoğunlukla uzun süredir diyaliz uygulaması yapan merkezlerden olması nedeniyle seropozitiflik değerlerinin yüksek olduğu düşünülmektedir. 1990'lı yıllardan itibaren HCV ve HBV hastaları için ayrı diyaliz cihazların kullanılması bu oranların azalmasını sağlamıştır.

Çanakkale ilinde ilk hizmete giren Devlet Hastanesine ait diyaliz merkezi, 1993 yılında açılmıştır. Bu merkezde, başlangıçtan itibaren hepatit B ve C hastalarını diğer hastalardan ayrılmış, personele nozokomiyal enfeksiyon geçişi ve el hijyeni konusunda gerekli eğitim verilmiş ve hepatit B bağışıklaması için hastalara aşı temin edilmiştir. Çanakkale'de diyaliz hastalarında saptanan hepatit B ve C seropozitifliğinin ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan düşük bulunması bu sebeplere bağlanmıştır.

Kronik böbrek yetmezliğindeki (KBY) hepatit olgularının % 80'i HCV'ye bağlı olup bu olguların da % 80'den fazlası kronikleşmektedir. Aynı şekilde KBY hastalarındaki hepatit B de % 80 oranında kronikleşmektedir. Bu oran normal popülasyondaki erişkinler için % 10-15 dolayındadır (25,26). Hemodiyaliz hastalarındaki hücrel immünite eksikliğinin bu yüksek kronikleşme oranının nedeni olduğu sanılmaktadır. KBY olgularında AST ve ALT düzeyleri normal seviyenin altında saptanmaktadır. Hepatit B ve C seropozitif olgularda kronikleşme olsa bile transaminazlarda aşırı yükselmeler olmadığından özellikle HCV pozitif olgulara HCV RNA bakılması önerilmektedir. Transplantasyon düşünülen her KBY olgusundan biyopsi yapılması, kronikleşme saptanırsa ve hasta da interferon tedavisine uygunsu sağaltılması önerilmektedir (26,27).

Ülkemizde kronikleşme saptanmayan HBV ve HCV seropozitif hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada HBsAg pozitif olguların % 33.3'ünde HBV DNA pozitif saptanırken, anti HCV pozitif olgularının da % 27.2'sinde HCV RNA saptanmıştır (28).

Bizim serimizdeki HCV seropozitif saptanan olguların % 33.3'ünde HCV RNA pozitif, HBV seropozitif saptanan olguların % 25'inde HBV DNA pozitif saptanmıştır. Bu bulgular, seropozitif olguların takibinde standart izolasyon tedbirlerine uyumun gerekliliğini tekrar ortaya koymaktadır.

HCV pozitif olgularımızın % 25'inde, HBV pozitif olguların ise % 18.1'inde kronikleşme saptanmış olup, diyalize giren olgularda kronikleşme oranlarının normal popülasyondan farklı olmadığı gözlenmiştir.

Biyopsi ile transaminazları normal seyreden kronik hepatitleri ve okült hepatit vakalarını da yakalamak

mümkündür. Ancak çalışmamızda hastaların hiçbirisine karaciğer biyopsisi yapılmadığından saptadığımız kronikleşme oranlarının literatürde (25,26) bildirilen oranların altında kaldığı düşünülmektedir.

Hemodiyaliz ünitelerinde hepatit seropozitifliği saptanan olguların uzun vadeli transaminaz takibine alınmasını, bu olgularda transaminaz seviyeleri normalin altında seyredebileceği için AST ve ALT normal saptansa bile mutlaka PCR testlerinin yapılmasını ve uygun vakalarda karaciğer biyopsisini önermekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Midilli K. Nozokomiyal viral enfeksiyonların önlenmesi. Hastane Enfeksiyonları ve Yeni Yaklaşımlar'da. Ed: Atlas K. Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği yayını No:15, İstanbul 2002: 118.
2. Azap A, Balık İ. Nozokomiyal Viral Enfeksiyonlar. Hastane Enfeksiyonları'nda. Ed: Doğanay M, Ünal S. Hastane Enfeksiyonları Derneği Yayını no:1 Bilimsel Tıp Kitabevi Ankara, 2003: 339.
3. Akpolat T, Yavuz M, Utaş C, Ozener C et al. CAPD: A control strategy to prevent spread of HCV infection in end stage renal disease. *Perit Dial Int* 2001; 21: 77-9.
4. Uzun Ö. Viral Hepatitler: Epidemiyoloji. Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları'nda. Ed: Uzun Ö, Ünal S. Bilimsel Tıp Kitabevi Ankara 2002: 562.
5. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit C Virusü, Bölüm: 11. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji'de. Ed: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara 2004: 208.
6. Registry of the Nephrology, Dialysis and Transplantation in Turkey. Registry, 2004. [http://www.tsn.org.tr/documents/registry/Registry\\_2004\\_Eng.pdf](http://www.tsn.org.tr/documents/registry/Registry_2004_Eng.pdf)
7. Thomas DL, Mahley RW, Badur S, Palaoğlu E, Quinn TC. The epidemiology of hepatitis C in Turkey. *Infection* 1994; 22(69): 411-4.
8. Candan F, Topçu S, Poyraz Ö. Hemodiyaliz hastalarında Hepatit B ve C Virüs Enfeksiyon Sıklığı. *Mikrobiyoloji Bült.* 1995; 29(2): 164-9.
9. Leblebicioğlu H, Günaydın M, Cengiz K, İşlek İ. Hemodiyaliz hastalarında hepatit belirleyicilerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bült.* 1993; 27(4): 321-6.
10. Köksal I, Biberöglü K, Biberöglü S, Koç F, Ayma Y, Aker F, Köksal A. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Turkey. *Infection*, 1991; 19(4): 228-9.
11. Ulusoy Ş, Erem C, Kardeş BA, Ovalı E, Köksal İ, Mocan Z. Kronik hemodiyaliz hastalarında HBsAg, anti-HBs, anti HCV ve anti HIV prevalansı. *Mikrobiyoloji Bült.* 1995; 29(4): 397-403.
12. Arınsoy T, Şimşek H, Arık N, Yasavul Ü, Turgan Ç, Çağlar Ş, Telatar H. Hemodiyaliz hastalarında hepatitis C virus antikorları prevalansı. *Gastroenteroloji* 1992; 3(4): 647-50.
13. Sarıtaş Ü, Boran M, Dağlı Ü, Yılmaz U, Başar M, Şaşmaz N. Hemodiyaliz ünitesinde hepatitis C virüs antikorları prevalansı. *Gastroenteroloji* 1993; 4 (4): 594-7.
14. Boyacıoğlu S, Gür G, Özdoğan M, Turan M, Özgür o, Telatar H. Anti-HCV pozitifliğinin tespitinde ikinci ve üçüncü jenerasyon Elisa testinin önemi. *Gastroenteroloji* 1996; 7 (ek 1): 74.
15. Poyraz Ö, Öztıp Y, Gökoğlu M. Hemodiyaliz hastalarında HBsAg ve anti-HBs görülme sıklığı. *Mikrobiyoloji Bült.* 1992; 26(3): 261-5.
16. Utaş C, Aygen B, Özbakır Ö, Düşünsel R, Doğanay M, Yücesoy M. Kronik hemodiyaliz hastalarında hepatit C virus antikorları prevalansı: Hepatit B serolojik işaretleri ve ALT ile ilişkisi. *Mikrobiyoloji Bült.* 1994; 28(3): 240-45.
17. Turgut H, Türhanoğlu M, Aydın K, Arıkan E, Değertekin H, Arıtürk S. Değişik gruplarda anti-HCV seropozitifliği. *İnfeksiyon Dergisi* 1992; 6(3): 167-68.

18. Çeliker H, Çelebi H, Günal Aİ, Yüksel Ş, Dönder E, Demir A. Kronik hemodiyaliz hastalarında anti-HCV antikorları. *Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Derg* 1996; 10(1): 27-31.
19. Sönmez E, Kızılkaya N, Esentürk M, Yücesoy M. Bölgemizde HCV enfeksiyonunun yayılmasında diyaliz ünitelerinin rolü. *Viral Hepatit Derg* 1996; (2): 103-8.
20. Süleymanlar G, Süleymanlar İ, Sezer T, Gültekin M, Gelen T, Ersoy F, Işıtan F, Yakupoğlu G. Hemodiyaliz veya sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan kronik böbrek yetmezliği hastalarında hepatit C virus enfeksiyonu: Karşılaştırmalı analiz sonuçları. *Gastroenteroloji* 1987; 8(1): 21-7.
21. Pamukçu M, Yakupoğlu G, Ersoy F, Süleymanlar G. Hemodiyaliz hastalarında hepatit C virus antikoru prevalansı. *İnfeksiyon Derg.* 1992; 6(3): 163-6.
22. Özgür G, Çolakoğlu SÖ, Seyrek N, Sağlıker Y, Paydaş S, Akız H. Hemodiyaliz hastalarında anti HCV sıklığı. *Gastroenteroloji*; 7(1): 17-21.
23. Urbarlı A, Özgenç O, Büyüksu T, İnan N, Boldemir A. Hemodiyaliz hastalarında viral hepatit tip B serolojik göstergeleri. *Alsancak Devlet Hastanesi Tıp Dergisi* 1993; 1 (1): 11-4.
24. Varer S, Aycan Ü, Sonbahar M, Soyak T, Özgören M. İzmir Atatürk Devlet Hastanesi Hemodiyaliz Ünitesinde Anti-HCV Prevalansı. *Atatürk Sağlık Sitesi İzmir Devlet Hastanesi Tıp Dergisi* 1993; 31(4): 455-60.
25. Pramoolsinsap C. Acute hepatitis A and acquired immunity to hepatitis A virus in hepatitis B virus (HBV) carriers and in HBV- or hepatitis C virus-related chronic liver diseases in Thailand. *J Viral Hepatol* 2000; 7 Suppl 1: 11-2.
26. Fabrizi F, Lunghi G, Martin P. Hepatitis B virus infection in hemodialysis: recent discoveries. *Jnephrol* 2002; 15(5): 463-8.
27. Arhan M, Kuran SÖ, Köksal AŞ, Oğuz D. Kronik böbrek yetmezlikli ve renal transplantasyonlu hastalarda viral hepatitler. *Güncel Gastroenterol*, 2004; 8(1): 68-74.
28. Akpolat T, Arık N, Günaydın M et al. Prevalance of anti-HCV among haemodialysis patients in Turkey: a multicentre study. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 479-80.
29. Sırmatel F, Sırmatel Ö, Usalan C, Barlıoğlu C ve ark. Hemodiyaliz hastalarında viral hepatit B ve C seroprevalansı. *Enfeksiyon Derg* 2008; 22(1): 23-8.



# ÜRİNER ŞİKÂYETİ OLAN HASTALARDA İDRAR SİTOPATOLOJİSİ İLE MESANE KANSERİ ARAŞTIRILMASI

## The Investigation of Bladder Cancer by Urinary Cytopathology in Patients with Urinary Complaints

Serpil OĞUZTÜZÜN<sup>1</sup>, Murat KILIÇ<sup>1</sup>, Meral ATAY<sup>2</sup>, Ülkü GÜÇLÜTÜRK<sup>3</sup>, Latif ÖZTÜRK<sup>4</sup>, Zuhul YAZICI GÖKBULUT<sup>5</sup>, Müzeyyen ÖZHAVZALI<sup>6</sup>, Ümit YIRTICI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale Üniversitesi,  
Biyoloji Bölümü,  
KIRIKKALE

<sup>2</sup>Hannover Sitoloji Enstitüsü,  
Hannover, ALMANYA

<sup>3</sup>Süleyman Demirel Tıp Fakültesi  
Araştırma ve Uygulama  
Hastanesi, KIRIKKALE

<sup>4</sup>Kırıkkale Üniversitesi,  
İktisat Bölümü, KIRIKKALE

<sup>5</sup>Diyarbakır Hıfzıssıhha Enstitüsü  
Müdürlüğü, DİYARBAKIR

<sup>6</sup>Kırıkkale Üniversitesi,  
Matematik Bölümü,  
KIRIKKALE

Geliş Tarihi: 28.01.2009

Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:

Serpil OĞUZTÜZÜN

Kırıkkale Üniversitesi,  
Biyoloji Bölümü,  
71450 Yahşihan-KIRIKKALE

Tel : 0 318 357 4242 -1508

E-posta : soguztuzun@yahoo.com

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, üriner şikâyeti olan hastalarda mesane kanserinin tanınması ve idrar sitopatolojisinin öneminin araştırılmasıdır.

**Yöntem:** Kanser tanısı almış 36 hasta ile üriner sistem şikâyetleri bulunan 40 yaş üstü 74 hastaya ait toplam 110 idrar örneği filtre yöntemiyle Hannover/Almanya Sitopatoloji Laboratuvarında retrospektif olarak incelenmiştir. Örnekler PAP ile boyanmış ve sonuçlar kare-kare yöntemleriyle değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Kanser tanısı almış 36 hastanın tamamına (20 papiller ürotelyal karsinom, sekiz yassı epitel hücreli karsinom ve sekiz adenokarsinom) sitopatolojik olarak da karsinom tanısı konulabilmiştir. Üriner sistem şikâyetleri olan hastaların 16'sı normal, 23'ü metaplazi-inflamasyon, 35'i şüpheli (displazi) (10 hafif, 12 orta, 13 ağır) olarak değerlendirilmiştir. Üriner şikâyeti olan ( $p=0.013$ ) ve kanser ( $p=0.004$ ) hastalarının yaşları ile sitopatolojik bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Ayrıca cinsiyet ile sitopatolojik tanı arasında kanserli hastalarda anlamlı bir ilişki belirlenmesine ( $p=0.000$ ) karşın üriner şikâyeti olanlarda anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p=0.112$ ).

**Sonuç:** İdrar sitolojisi, mesane kansinonlarının metaplazi ya da şüpheli basamaklarından birinde yakalanarak erken tanı ile tedavisinin sağlanmasında ve takibinde önemli bir yöntemdir. İdrar sitolojisinin noninvaziv, tekrarlanabilir, ucuz ve kolay bir yöntem olması nedeniyle üriner sistem şikâyeti olan 40 yaş üstü hastalarda tarama amacıyla uygulanması önerilir.

**Anahtar Sözcükler:** İdrar, mesane kanseri, sitopatoloji, filtre yöntemi

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study is to investigate the importance of urine cytopathology and bladder cancer in patients with urinary complaints.

**Method:** A total of 110 urine cytology specimens from 36 diagnosed bladder cancer patients and 74 patients with urinary complaints were prepared by filter technique at Hannover/Germany Cytopathological Laboratory and evaluated retrospectively with a suspicion of bladder carcinoma. The specimens were stained by the PAP method and the results were analyzed by the chi-squared test.

**Results:** All of the 36 bladder cancer patients (20 as papillar urothelial, 8 squamous cell and 8 adenocarcinomas) were diagnosed as such cytologically as well. The 16 of the patients with urinary complaints have been diagnosed as normal, 23 as metaplasia-inflammation, 35 as suspicious (dysplasia) (10 mild, 12 moderate, 13 severe). There have been significant relationship between the ages and cytopathological results of those patients with urinary complaints ( $p=0.013$ ) and those with bladder carcinoma ( $p=0.004$ ). Moreover, there has been

significant relationship between sex and cytopathological findings in the patients with bladder carcinoma ( $p=0.000$ ), but not in those with urinary complaints. ( $p=0.112$ ).

**Conclusion:** Urine cytology is an important method for the detection of metaplasia or suspicious cases at early stage and for the treatment and follow-up of the bladder carcinoma cases. It is recommended to use the urine cytology method which is low cost and easily accessible, and can be used noninvasively for the diagnosis and control of patients with urinary complaints.

**Key Words:** Urine, bladder cancer, cytopathology, filter technique

## GİRİŞ

Mesane tümörleri, erkek populasyonunun kanser nedeniyle ölümlerinde dördüncü sırada yer almaktadır (1). Mesane tümörü erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık üç kat fazla görülmektedir. Kadınlarda ise tüm kanserler arasında sekizinci sıklıktadır. Her yaşta görülebilen mesane tümörleri, tüm kanser ölümlerinin erkeklerde % 2,6; kadınlarda % 1,4'ünden sorumludur (2). Mesane tümörü insidansı yaşla birlikte artar ve 60 yaşından sonra en yüksek orana ulaşır. 40 yaşın altında ise mesane tümörü görülmesi yaygın değildir. 1895'de Alman boya endüstrisinde çalışan üç işçide mesane kanseri rapor edildikten sonra aromatik aminler, benzidin gibi birçok kimyasal madde ve çevresel ajanın mesane kanserine neden olabileceği gösterilmiştir (3). Ayrıca sigara içenlerde mesane kanseri gelişme insidansının sigara içmeyenlere göre dört kat fazla olduğu görülmüştür (4).

Mesane tümörleri biyolojik davranış açısından farklılıklar gösterip düşük dereceli papiller lezyonlardan, yüksek agresiflik gösteren anaplastik karsinomaya kadar değişik şekillerde görülebilir (2, 5).

Papanicolaou ve Marshall, 1945 yılında; tümöral hücrelerin yerlerinden ve birbirlerinden kolayca ayrılarak potansiyel boşluklara düşmesi ve oldukça kesin malignite kriterleri göstermesi konusunda ilk makalelerini yayınlamışlardır (6). Bu yayını takiben üriner sitopatoloji mesane kanserli hastaların değerlendirilmesinde önemli bir yer kazanmaya

başlamıştır. Günümüzde de idrar örneklerinin sitolojik açıdan incelenmesi mesane karsinomunun tanısı, sağaltımdan sonra izlenmesi ve risk gruplarının taranması amacıyla uygulanan basit ve etkili bir tekniktir (7, 8).

Sistoskopinin bazı dezavantajları nedeniyle, özellikle komşu dokulara doğru yayılma göstermeyen üriner patolojilerin araştırılmasında idrar sitolojisi tercih edilen bir yöntemdir (9-11). Ancak idrar örneğinin toplanması, korunması, çalışılmasına ilişkin doğru tekniklerin kullanılmaması veya yorumlayacak kişilerin deneyimsiz olması halinde her zaman başarılı sonuç almak mümkün olmayabilir (12).

Bu çalışmanın amacı üriner sistem şikâyeti olan 40 yaş üstü hastalarda mesane kanserinin tanısında filtre yöntemiyle uygulanan idrar sitolojisinin önemini araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 2007-2008 yılları arasında histopatolojik olarak kanser tanısı almış 36 hasta ile herhangi bir kanser tanısı almamış yalnızca hematüri, taş gibi üriner şikâyetleri olan 74 hasta alınmıştır. Tüm hastalar 40 yaşından büyük olup, yaş gruplarına göre "50 ve daha az, 51-60 arası, 61-70 arası, 71-80 arası ve 80 üstü" olarak beşe ayrılmıştır. Hastaların yaşları ile sitolojik tanıları arasındaki ilişki ki-kare testi ile bakılmıştır.

Çalışmaya alınan 110 olgudan kanserli hasta grubu 31 erkek ve beş kadın olup yaş ortalamaları  $73,52 \pm 9.17$ , üriner şikâyeti olan hastaların 63'ü erkek, 11'i kadın ve yaş ortalamaları  $68,71 \pm 13.81$ 'dir.

Olgulara ait sabah ikinci ya da daha sonraki orta idrar örnekleri steril kaplarda % 50'lik etil alkolle (1/1) fikse edilerek Hannover/Almanya Sitopatoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Herhangi bir santrifüj işlemi uygulanmaksızın idrar örneklerinden 20 ml.'lik enjektörle 15 ml çekilmiştir. Enjektörün ucuna 25 mm'lik filtre tutucusu (Millipore®) takılmış ve bu tutucu içine de 5 µm'lik nitroselüloz filtre (Millipore®) yerleştirilmiştir. İdrar filtreden geçirildikten sonra filtre kâğıtları lam üzerine klipslerle tutturularak Papanicolaou (PAP) boyama yöntemine göre boyanmıştır (13).

Hazırlanan idrar preparatları sırasıyla % 96, % 70 ve % 50'lik etil alkol solüsyonlarında 10 sn tutulmuştur. Ardından 10 sn distile suda ve 3 dk hematoksilen (Merck®) solüsyonunda bekletilmiştir. Tekrar distile suda yıkandıktan sonra 20 sn % 96'lık etil alkol ve 5 dk Orange G6 (Sigma®) solüsyonuna konulmuştur. Daha sonra sırasıyla %96, %70 ve %50'lik etil alkol solüsyonlarında 10 sn ve eosin (EA 50- Sigma®) solüsyonunda 5 dk bekletilmiştir. Son olarak %96'lık ve saf etil alkol ile ksilolde 10 sn bekletilen preparatlar entellan ile kapatılmıştır.

Preparatlar ışık mikroskopunda (BX51 Olympus) incelenerek Koss LG ve Murphy WM'e göre sitolojik olarak sınıflandırılmıştır (14,15) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Ürotelyal hücreler için PAP sınıflandırılması (14,15)

Sitolojik Sınıflandırma	Sitolojik Tanı
PAP I	Negatif sitoloji (Normal ürotelyal hücreler)
PAP II	Metaplazi-İnflamasyon, Viral Enfeksiyonlar ve Hematüri
PAP III	Şüpheli (Displazi, atipik)
PAP IV	İntraepitelyal ürotelyal neoplazi
PAP V	Karsinoma (Papiller ürotelyal karsinom, Yassı epitel hücreli karsinom, Adenokarsinom)

## BULGULAR

Daha önce biyopsileri alınarak kanser tanısı konmuş 36 hastanın idrar sitolojisi örnekleri yöntemin geçerliliği açısından incelenmiştir. Tüm hastalar sitopatolojik olarak tanımlanabilmiş ve 20 hastada papiller ürotelyal karsinom, sekizinde yassı epitel hücreli karsinom ve diğer sekizinde de adenokarsinom saptanmıştır.

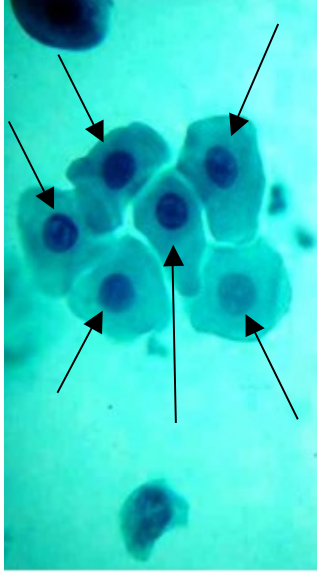
Hematüri ve taş gibi üriner şikâyetleri olan 74 hastanın 16'sı normal, 23'ü metaplazi-inflamasyon, 10'u hafif, 12'si orta, 13'ü ağır olmak üzere 35'i displazi olarak değerlendirilmiştir.

Hastaların idrar sitolojisinde bulunan hücrelerinin özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

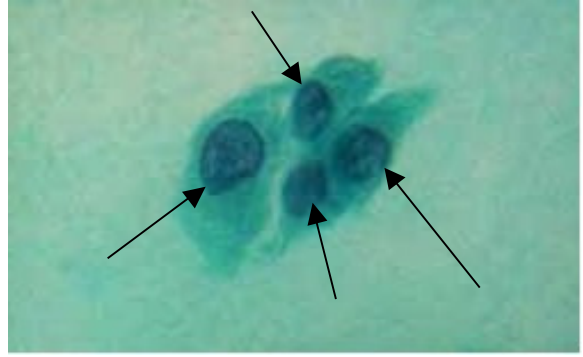
**PAP I grubundaki hücrelerin sitolojik özellikleri:** Normal tanısı alan 16 olguya ait idrar örneğinde üriner sisteme ait başlıca beş tip epitel hücresi görülmüştür. Bunlar; renal tübüler hücre, yassı epitel hücresi, kolumnar hücreler, yüzeyel şemsiye (umbrella) hücresi, ürotelyum derin tabakalarına ait hücrelerdir.

**PAP II grubundaki hücrelerin sitolojik özellikleri:** İltihabın olduğu 23 olguda polimorf nükleer lökositler (PMNL) ve makrofaj sayısında artış görülmüştür. Ayrıca yedi olguda taş ve/veya inflamasyona bağlı eritrositler olup sekiz olguda da yassı epitel metaplazisi saptanmıştır. Metaplazi hücrelerinin sitoplazması azalmış ve koyu boyanmış olup, çekirdekleri büyümüş ve hiperkromatiktir (Şekil 1).

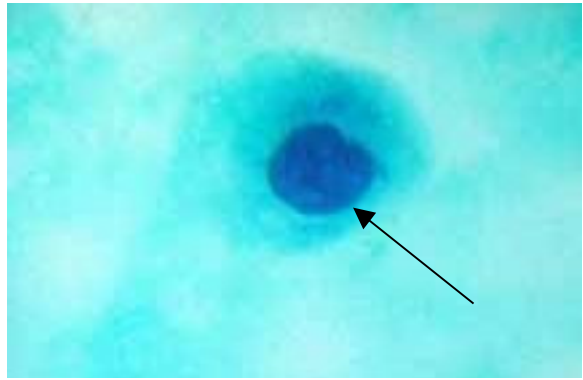
**PAP III grubundaki hücrelerin sitolojik özellikleri:** Genel olarak ürotelyal hücrelerde şüpheli (displazi) görülmüştür. Hafif displazi görülen 10 olgunun, orta derecede displazi görülen 12 olgunun ve ağır displazi görülen 13 olgunun hücrelerinde, nükleus/sitoplazma oranındaki artış, hiperkromazi ve nükleer sınır düzensizlikleri, perinükleer halolar ve çekirdekçiklerin belirginleşmesi dikkati çekmiştir (Şekil 2, 3a, 3b, 4).



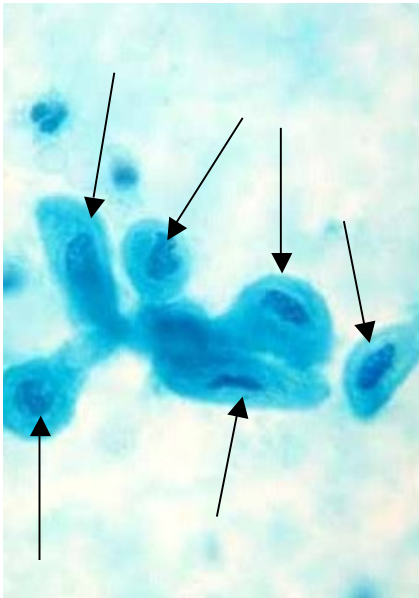
Şekil 1: İdrar sitolojisinde ürotelyal hücrelerinde metaplazi görünümü (PAP, x400)



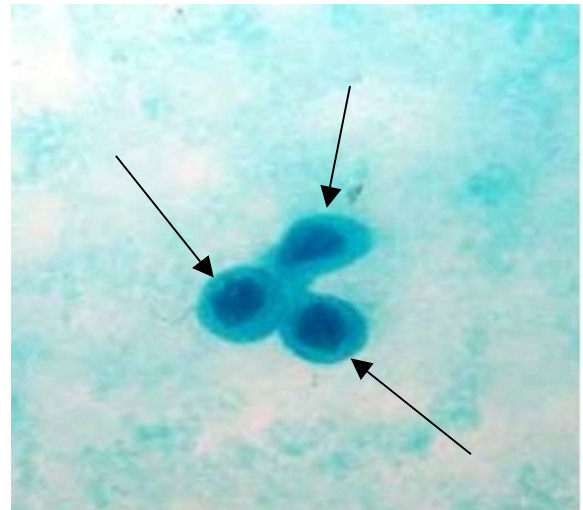
Şekil 3a:Orta Displazi (PAP, x400)



Şekil 3b:Orta displazi (PAP, x400)



Şekil 2:Hafif displazi (PAP, x400)



Şekil 4: Ağır displazi (PAP, x400)



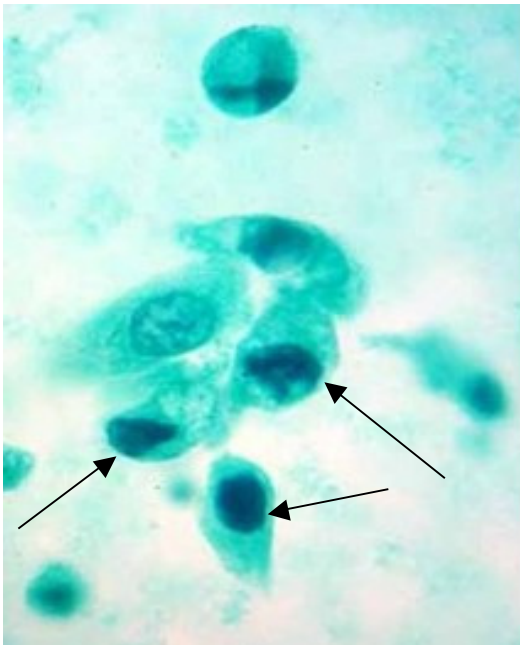
**PAP IV grubundaki hücrelerin sitolojik özellikleri:** Çalışmada, PAP IV grubu bulgularına rastlanmamıştır.

**PAP V grubundaki hücrelerin sitolojik özellikleri:** Karsinom tanısı alan 36 olgudan, papiller ürotelyal karsinom tanısı alan 20 olguda hücrelerin papiller grup yaptığı gözlenmiştir. Aynı zamanda hücrelerin çok çekirdekli, düzensiz sınırlı, büyük ve hiperkromatik nükleuslu ve iri kromatin granüllü yapıda olduğu saptanmış, belirgin çekirdekçiğe sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca, sitoplazma miktarlarının azaldığı, sitoplazmalarında vaküollerin bulunduğu ve sitoplazmalarının koyu boyandığı gözlenmiştir (Şekil 5). Yassı epitel hücreli karsinom tanısı alan sekiz olguda, hücrelerin koyu eozinofilik “tad-pole” görümlü sitoplazmalara ve düzensiz sınırlı hiperkromatik, piknotik, sentral nükleuslara sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca hücreler grup yapmayıp tek tek olarak gözlenmiştir (Şekil 6). Adenokarsinom tanısı alan sekiz olguda, hücreler asiner yapılar

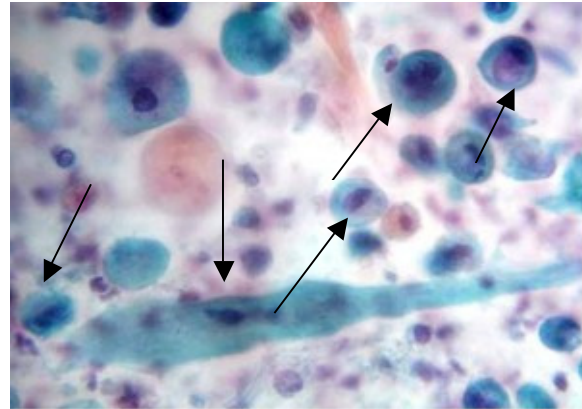
oluşturmuş, heterojen dağılımlı kromatinli, belirgin nükleollü, hipokromatik, büyük ve ekzentrik çekirdekli, az sitoplazmalı ve bulutsu görünüm dikkat çekmiştir (Şekil 7).

Üriner şikâyeti olan ( $p=0.013$ ) ve kanser ( $p=0.004$ ) hastalarının yaşları ile sitopatolojik bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Yaş artışı ile sitopatolojik bulgular artmaktadır (Tablo 2).

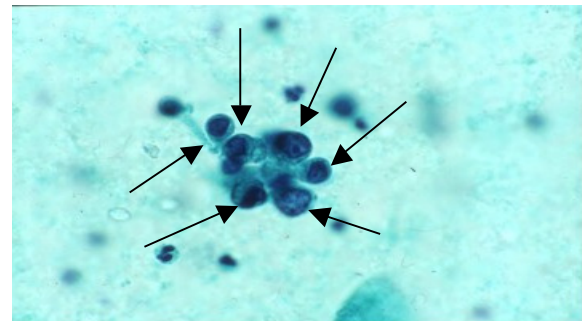
Ayrıca sitopatolojik bulgular ile kanserli hastaların cinsiyeti arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş ( $p=0.000$ ) olup, erkeklerde daha yaygındır. Ancak aynı ilişki üriner şikâyeti olan hastalarda bulunamamıştır ( $p=0.112$ ) (Tablo 3).



Şekil 5: Papiller ürotelyal karsinom (Grade I) (PAP, x 400)



Şekil 6: İdrar sitolojisinde yassı epitel hücreli karsinom (PAP, x400)



Şekil 7: İdrar sitolojisinde adenokanser görünümü (PAP, x400)

**Tablo 2.** Üriner şikâyeti olan ve kanser hastalarının yaş gruplarına göre sitopatolojik tanıların karşılaştırılması

Yaş Grupları	Sitopatolojik Tanı										Toplam
	Normal		Metaplazi		Displazi		İntraepitelyal Ürotelyal Neoplazi		Kanser		
	(PAP I) n	(% n)	(PAP II) n	(% n)	(PAP III) n	(% n)	(PAP IV) n	(% n)	(PAP V) n	(% n)	
<50	1	10	1	10	6	60	-	0	2	20	10
51-60	3	15	10	50	6	30	-	0	1	5	20
61-70	5	26,31	1	5,26	1	5,26	-	0	12	63,15	19
71-80	5	14,7	4	11,76	14	41,17	-	0	11	32,35	34
>80	2	7,4	7	25,92	8	29,62	-	0	10	37,03	27
<b>Toplam</b>	<b>16</b>	<b>14,54</b>	<b>23</b>	<b>20,9</b>	<b>35</b>	<b>31,81</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>36</b>	<b>32,72</b>	<b>110</b>

Üriner şikâyeti olan hastalar için  $p=0.013<0.05$  ve kanser hastaları için  $p=0.004<0.05$

**Tablo 3.** Üriner şikâyeti olan ve kanser hastalarının cinsiyetine göre sitopatolojik tanıların karşılaştırılması

Cinsiyet	Sitopatolojik Tanı										Toplam
	Normal		Metaplazi		Displazi		İntraepitelyal Ürotelyal Neoplazi		Kanser		
	(PAP I) n	(% n)	(PAP II) n	(% n)	(PAP III) n	(% n)	(PAP IV) n	(% n)	(PAP V) n	(% n)	
Erkek	11	11,7	20	21,27	32	34,04	-	0	31	32,97	94
Kadın	5	31,25	3	18,75	3	18,75	-	0	5	31,25	16
<b>Toplam</b>	<b>16</b>	<b>14,54</b>	<b>23</b>	<b>20,9</b>	<b>35</b>	<b>31,81</b>	<b>-</b>	<b>0</b>	<b>36</b>	<b>32,72</b>	<b>110</b>

Üriner şikâyeti olan hastalar için  $p=0.000<0.05$  ve kanser hastaları için  $p=0.112<0.05$

## TARTIŞMA

İdrarla spontan olarak düşen kanser hücrelerinin Papanicolaou tekniği ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelenmesi oldukça özgün bir tekniktir (14). Üriner sitopatolojik incelemede filtre yönteminin kullanımıyla hemen hemen tüm hücrelerin gözden kaçmadan ve diğer hücrelerle kıyaslanarak değerlendirilmesi sağlanmıştır (9-13, 16). Sitolojik preparatların hazırlanmasında kullanılan diğer tekniklerden farklı olarak filtre yönteminde hacimce yüksek oranda örnekler incelenebilmekte dolayısıyla incelenen hücre sayısı fazla olmaktadır. Ayrıca bu teknikte kullanılan malzemelerin maliyeti daha düşüktür ve teknik daha kolay uygulanabilir. Çalışmamızda da bu yöntemle

15 ml hacimdeki idrar örneklerinde hücre kaybı en aza indirilerek ve hücrelerin morfolojileri bozulmadan sitopatolojik incelemeleri yapılmıştır.

Mesane karsinomlarını belirlemede idrar sitolojilerinin güvenilirliği, tümörün büyüklüğü, sayısı, derecesi, örneğin kalitesi, hazırlama metodu, gerekli klinik bilginin verilmesi ve inceleme yapan kişinin deneyim ve tecrübesi gibi pek çok faktöre bağlıdır (17).

Çeşitli çalışmalarda üriner kanser tanısında sitolojinin duyarlılığı % 61 ile 85 arasında verilmiştir. Bu oran yüksek dereceli tümörlerde % 85-100 arasındayken (karsinoma in situ için hemen hemen tüm serilerde % 100 civarında) düşük dereceli tümörlerde

% 45-75 arasında kalmıştır (18-20). Çalışmamızda önceden histopatolojik olarak kanser tanısı konulan 36 hastanın tamamına sitopatolojik inceleme sonucunda da karsinom/kanser tanısı konulabilmiştir.

Hematüri ve taş şikâyetleriyle hastanelere başvuran 74 hastanın, 16 (% 21,62)'sının normal, 23 (% 31,08)'ünün metaplazi-inflamasyon, 35 (% 47,29)'inin displazi olduğu görülmüştür. Mesane tümörü insidansı 60 yaşından sonra en yüksek orana ulaşır ve 40 yaşın altında ise mesane tümörünün görülmesi yaygın değildir (2, 3). Çalışmamızda da hastaların yaşlara göre sitopatolojik sonuçları ki-kare testi ile karşılaştırılmış ve üriner şikâyeti olan ( $p=0.013$ ) ve kanser ( $p=0.004$ ) hastalarının yaşları ile sitopatolojik bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuş; mesane tümörü insidansının yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir.

Oğuztüzün ve arkadaşları (16) Kırıkkale Barut Fabrikası'nda çalışan 123 işçinin filtre yöntemiyle idrar sitolojisi örneklerini taramış ve 15'inin idrarında atipik sitolojik bulgular gösterilmiş; atipik sitolojik bulgular ile yaş arasında istatistiksel bir ilişki bulunamamıştır.

Mesane karsinomları erkeklerde yaklaşık 100.000 de 20, kadınlarda 100.000 de 7 sıklıkla görülmektedir (2). Çalışmamızda da erkeklerde kanser vakalarının daha yaygın olduğu bulunmuş ( $p=0.000$ ) fakat üriner şikâyeti olan hastalarda cinsiyetle anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p=0.112$ ).

Karsinomlarda hızlı tanı hastaların erken tedaviye başlaması açısından oldukça önemlidir. Bu açıdan non-invaziv bir yöntem olan idrar sitolojisi biyopsi ve sistoskopiye ihtiyaç duyulmaksızın mesane karsinomlarının hızlı ve ucuz bir şekilde yakalanmasına imkan sağlamaktadır. Ayrıca karsinomlu olguların takibinde de önemli bir yöntemdir. Doğru teknik ve yöntemlerin uygulanmasının yanısıra bu konudaki deneyimli personel sayısının artması hem kullanımını yaygınlaştıracak hem de tanı doğruluğunu sağlayacaktır.

## TEŞEKKÜR

Örneklerin sağlanmasında ve çalışmamızda destek ve katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Ziya Atay'a (Hannover Sitoloji Kliniği, Almanya) teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA; Cancer statistics. CA Cancer J Clin 1997; 47: 5-27.
2. Messing EM, Catalona W: Urothelial tumors of the urinary tract: Campbell's Urology 7th ed. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds.), Saunders WB, Philadelphia 1998; S:2327-410.
3. Cohen MS, Johansson SL: Epidemiology and etiology of bladder cancer. Urologic Clinics of North America 1992;19(3):421-8.
4. Clavel J, Cordier S, Boccon-Gibod L, Hemon D: Tobacco and bladder cancer in males: Increased risk for inhales and smokers of black tobacco. Int J Cancer 1989; 44: 605-10.
5. Carroll PR: Urothelial carcinoma. Cancers of the bladder ureter and renal pelvis: Smith's General Urology. 14th ed. Tanagho EA, McAninch JW (ed) Prentice-Hall International Inc, Connecticut, 1995: S:353- 71.
6. Papanicolaou GN, Marshall VF. Urine sediment smears as a diagnostic procedure in cancers of the urinary tract. Science 1945;101:519-20.
7. Mc Kee G, Trott P. Urinary tract cytology. In: Gray W (eds.) Diagnostic Cytopathology: Churchill Livingstone, New York 1995; 468-75.
8. Badalament RA, Hermansen DK, Kimmel M. The sensitivity of bladder wash flowcytometry, bladder wash cytology and voided cytology in the detection of bladder carcinoma. Cancer 1987;60: 1423-27.

9. Brown FM. Urine cytology: Is it still the gold standard for screening? *Urol Clin North Am* 2000; 27(1): 25-37.
10. Garbar C, Mascaux C and Wespes E. Is urinary tract cytology still useful for diagnosis of bladder carcinoma. A large series of 592 bladder washings using a five-category classification of different cytological diagnoses. *Cytopathology* 2007; 18: 79-83.
11. Touijer AK, and Dalbagni G. Role of voided urine cytology in diagnosing primary urethral carcinoma. *Urology* 2004; 63: 33-5.
12. Planz B, Jochims E, Deix T, Caspers HP, Jakse G, Boecking A. The role of urinary cytology for detection of bladder cancer. *EJSO* 2005; 31: 304-8.
13. Marwah S, Devlin D, Dekker A. A comparative cytologic study of 100 urine specimens processed by the slide centrifuge and membrane filter techniques. *Acta Cytol* 1978; 22: (5), 431-4.
14. Koss LG. Tumors of the urinary tract and prostate. In: Koss LG ed. *Diagnostic Cytology and its histopathologic bases*: JB Lippincott, Philadelphia, Fifth edition, 2005.
15. Murphy WM. *Urological Pathology*: 2nd ed. USA, Saunders Company, 1997.
16. Oğuztüzün S, Aydın M, Çakmak ZA, Kılıç M, et al. The cytological evaluation of bladder and lung carcinoma rates on the workers exposed to industrial chemicals. *Turkish Bulletin of Hygiene Experimental Biology* 2009; 66 (2): 49-58
17. Mc Kee G, Trott P. Urinary tract cytology. In: Gray W (eds.). *Diagnostic Cytopathology*: Churchill Livingstone, New York 1995; 474 - 5.
18. Badalament RA, Hermansen DK, Kimmel M. The sensitivity of bladder wash flowcytometry, bladder wash cytology and voided cytology in the detection of bladder carcinoma. *Cancer* 1987; 59: 2078 - 85.
19. Canöz Ö, Soyuer I, Öztürk F, Deniz K. İdrar sitolojilerinin istatistiksel analizi ve histolojik tanımlarla karşılaştırılması. *Erciyes Med. J* 2002; 24 (4): 164 - 6.

# GENETİK OLARAK DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR (GDO)'A GENEL BİR BAKIŞ

## A General Perspective on Genetically Modified Organisms (GMOs)

Pınar KAYNAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Gıda Güvenliği ve Beslenme Araştırma Müdürlüğü, (Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Lab.) ANKARA

Geliş Tarihi: 28.12.2009  
Kabul Tarihi: 24.02.2010

**İletişim:**  
Pınar KAYNAR  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Gıda Güvenliği ve Beslenme Araştırma Müdürlüğü, (Tüketici Güvenliği ve Sağlık Etkileri Araştırma Lab.) ANKARA  
Tel : 0312 458 21 47  
Faks: 0312 458 23 83  
E-posta : pinar.kaynar@rshm.gov.tr

### ÖZET

Son yıllarda dünyanın en çok ilgilendiği konuların başında biyoteknoloji ve biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen genetik olarak değiştirilmiş organizmaların (GDO) kullanımı gelmektedir. Bu çalışma; literatür taramasıyla ulaşılan bulgulara dayalı olarak, genetik olarak değiştirilmiş organizmaların potansiyel yararları, potansiyel zararları veya riskleri, biyolojik çeşitliliğe etkileri, hukuki boyutları, sosyo-ekonomik boyutları ve tüketicilerin bakış açılarını kapsamaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO), biyoçeşitlilik, hukuki boyut, sosyoekonomik faktörler, etki.

### ABSTRACT

In recent years, biotechnology and the use of genetically modified organisms (GMOs) which are achieved through biotechnical methods are one of the leading subjects that the world is the most interested in. Based on the data collected by the literature review, this study includes the potential benefits, potential damages or risks, the effects on biological diversity, legal dimensions, socio-economic dimensions of the genetically modified organisms and the perspectives of consumers on these product. Within this framework, it is aimed to develop a general perspective on genetically modified organisms.

**Key Words:** Genetically Modified Organisms (GMOs), legal aspects, socioeconomical effect, consumer.

## GİRİŞ

İlk olarak 1919 yılında Karl Ereky tarafından kullanılan “biyoteknoloji” teriminin o zamanki tanımı, anlamı ve kapsamı günümüze kadar gelişen modern tekniklerin bu alana uygulanması ile önemli ölçüde değişikliklere uğramıştır. Son 10-15 yıl içinde hızla gelişen ve birçok yarar sağlayan biyoteknoloji, 1982 yılında yayınlanan OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) raporunda; “temel bilimlerin ve mühendislik ilkelerinin, ham maddelerin biyolojik araçlar yardımı ile ürünlere dönüştürüldüğü süreçlere uygulanan teknoloji” olarak tanımlanmıştır. Bu yeni alan biyoloji, biyokimya, çevre, enerji, eczacılık, kozmetik, tıp, veteriner hekimlik, tarım, orman, hayvancılık, gıda, madencilik ve endüstri gibi birçok alanda başarı ile uygulanmakta ve insanlığınunun düşlerini de adım adım gerçekleştirmektedir (1).

Akıl almaz bir hızla ilerleyen biyoteknoloji artık sadece bir araştırma alanı olmaktan çıkıp sağlıktan tükettiğimiz besinlere, kullandığımız eşyalardan evcil hayvanlarımıza kadar birçok alanda gündelik hayatımıza girmiştir. Biyoteknolojinin en ses getiren meyvesi olan ve son yılların en gözde tartışmalarından biri haline gelen genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO), günümüzde dünya gündeminin baş maddesi olmayı sürdürmektedir (2).

Biyoteknolojik yöntemlerle canlıların sahip olduğu gen dizimleri oynanarak, mevcut özelliklerinin değiştirilmesi veya canlılara yeni özellikler kazandırılması ile elde edilen organizmalara “genetik olarak değiştirilmiş organizmalar”, kısaca “GDO’ lar” denilmektedir (2, 3). Bugün, artık GDO’ların yararları yanında zararları ya da riskleri de tartışılmaya başlanmıştır (4-6).

Bu derlemede, GDO’ların potansiyel yararları, potansiyel zararları veya riskleri yanında biyolojik çeşitliliğe etkisi, hukuki ve sosyo-ekonomik boyutu ile tüketicilerin bu ürünlere bakış açıları değerlendirilmiştir.

## GIDA VE GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR

Biyoteknolojik yöntemlerin fazlaca uygulandığı alanlardan birisi gıda sanayi ve hijyenine ait konular olmuştur. İnsan sağlığını yakından ilgilendiren ve artan dünya nüfusunun iyi ve dengeli beslenmesinde en önemli faktör olan gıdanın; bol, ucuz, kaliteli ve sağlıklı üretilmesi gerekmektedir. Nüfus artışı ile istenilen nitelikteki gıdaların üretim artışı birbiriyle paralel gitmemiştir. Nüfusun hızlı artışı, tarıma elverişli alanların giderek daralması, erozyonlar, gıda israfı, üretim teknolojisinin henüz istenilen düzeye çıkarılmaması, sulamanın yetersiz olması, denizlerin kirlenmesi gibi çeşitli nedenlerle yakın bir gelecekte açlık sorununun insanlığı tehdit edecek bir boyuta ulaşacağı düşünülmektedir (1).

Biyoteknolojinin tariçesi; tahılların evcilleştirilmesi (M.Ö. 10000), hayvanların evcilleştirilmesi (M.Ö. 8000-9000), bira fermantasyonu (M.Ö. 6000), mayalı ekmek yapımı (M.Ö. 4000), aşuların üretimi (-1880), antibiyotiklerin üretimi (-1940), yüksek verimli tahılların üretimi-“Yeşil Devrim” (-1960) ve genetik olarak değiştirilmiş bitkilerin üretimi-“Biyoteknoloji Devrimi” (-1990) olarak sıralanmıştır (7).

Son yıllarda özellikle, enzim ve fermantasyon teknolojisindeki hızlı gelişmeler ve genetik olarak değiştirilmiş organizmaların gıda sanayinde kullanılması bu alanın ufuklarını genişlettiği gibi üretimi artırmış, hızlandırmış ve kaliteyi de yükseltmiştir (1, 8). Dünyada artık pek çok GDO’lu ürün bulunmaktadır. Bunların başlıcaları; mısır, patates, domates, pirinç, soya, buğday, kabak, bal kabağı, ayçiçeği, yer fıstığı, bazı balık türleri, kolza, kasava ve papayadır. Bunların dışında, muz, ahududu, çilek, kiraz, ananas, biber, kavun, karpuz ve kanola gibi ürünler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (9-11).

## GDO'LARIN ETKİLERİ

GDO'ların kontrollü ve akıllı teknolojiler yardımıyla özellikle besinler üzerinde insanların geleceği için getirebileceği yararlarının yanında potansiyel zararları veya risklerinin de bulunabileceği düşünülmektedir (2).

### A. GDO'ların Potansiyel Yararları

Dünya halk sağlığı problemlerinin başında gelen açlık ve kötü beslenme sorunu, besin miktarının artırılması ve içeriğinin zenginleştirilmesi ile çözümlenmeye çalışılmaktadır. Besin içeriğini zenginleştirmeye yönelik biyoteknolojik çalışmalar ile vitamin A yönünden zengin pirinç (golden rice) üretimi gerçekleştirilmiştir. Dünya üzerinde okul öncesi dönemdeki üç milyon kadar çocuğun A vitamini eksikliğinden kaynaklanan görme bozukluğunun bulunduğu, her yıl 250 000 ile 500 000 kadarının kör olduğu ve bunların üçte ikisinin de izleyen birkaç aylık süreçte öldükleri belirlenmiştir. Böylece, pirincin temel tüketim maddesi olduğu bölgelerde A vitamini eksikliğinin önlenebileceği düşünülmüştür. Ayrıca, transgenik yöntemlerle balıklardaki büyüme hormonu salgısı artırılarak et miktarını çoğaltma çalışmaları da yapılmıştır (2, 12-14).

Alerjik reaksiyonlara sebep oldukları belirlenen yer fıstığı, fındık, soya, buğday, inek sütü, yumurta, balık ve kabuklu deniz canlıları gibi bazı besinlerin içindeki alerjik proteinler çıkartılarak veya yapısı değiştirilerek bu besinlerin neden olduğu reaksiyonların azaltılması hedeflenmiştir. Yaşamı tehdit eden veya sakat bırakan bazı hastalıkların önlenmesinde etkili bir yöntem olan aşılama yöntemi için bitkilerden yararlanılmasına yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Bu amaçla patojen mikroorganizmaların çeşitli proteinlerini sentezleyen genler muz, patates, marul, tütün gibi bitkilere aktarılmaktadır. Laktoz intoleransı olan bireyler için üretilmiş laktoz içeriği azaltılmış süt de genetiği değiştirilmiş besinlerin tedavi amacıyla

kullanımına yönelik çalışmalara bir örnektir. Bunların dışında, meyvelerin olgunlaşma sürecinin değiştirilmesi, depolama ve raf ömrünün uzatılması, tadının artırılması gibi çeşitli uygulamalar da bulunmaktadır. Ayrıca, tarımda biyoteknolojiden daha çok yararlanılmasıyla herbisit ve pestisit gibi tarım ilaçlarının kullanımının azalması sonucu sağlık sorunlarının ve çevre kirlenmesinin azalacağı düşünülmektedir (2, 15-18).

### B. GDO'ların Potansiyel Zararları Veya Riskleri

GDO'lu ürünlerin potansiyel yararları yanında insan sağlığını olumsuz etkileyebileceği potansiyel zararları veya risklerinin de olabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda çok tartışmalı konulardan birisi biyoteknoloji ile üretilmiş besinlerin, bir ürünün alerjik proteinini kodlayan geninin bir başka ürüne transferi ile zaten alerjik olduğu bilinen bir besinin bu özelliğinin daha da artması veya yeni alerjik proteinlerin ortaya çıkmasıdır. Yapılan bir çalışmada; alerjik özelliği olduğu bilinen Brezilya fındığından alınan bir gen, besin içeriğinin zenginleştirilmesi için soyaya aktarılmıştır. Ancak bu genin sentezlediği proteinin, Brezilya fındığındaki alerjik proteinlerden biri olduğu ortaya çıkmış ve bu transgenik soyanın geliştirilmesine son verilmiştir (2, 19, 20).

GDO'lar hakkında tartışılan diğer bir konu da, gen aktarımının başarılı olduğu organizmaları seçmek için işaretleyici gen olarak kullanılan dirençli genlerin aktarılmak istenen asıl genle birlikte kullanılmasıdır. Sözelimi antibiyotiğe dirençli genlerden bu amaçla yararlanılmaktadır. Ancak bu genlerin patojen mikroorganizmalara geçmesi durumunda ortaya çıkacak enfeksiyonların kontrol altına alınmasının zor olacağı hatta transgenik bitki üretiminde kullanılan bu genlerin doğaya yayılması halinde büyük bir tehlike oluşturacağı düşünülmektedir. Ayrıca genetik yapısı değiştirilmiş besinlerin toksik olabileceği, bağıışıklık sistemi bozuklukları ile viral enfeksiyonlara yatkınlık

gibi birçok etkilerinin bulunabileceği belirtilmiştir. Yakın zamana kadar DNA'nın bağırsaklarımızda sindirileceği düşünülürken, son zamanlardaki araştırmalarla besinler yoluyla aldığımız yabancı DNA'ların hücrelerimize taşınabileceği gösterilmiştir. Zararlı böceklerle karşı dirençli mısırlarla beslenen sıçanların akyuvar sayılarında, böbrek ağırlıklarında ve albümin/globülin oranlarında önemli değişimlerin olduğu belirlenmiştir (2, 21, 22).

Bazı araştırmalarda yabancı otlardan kurtulmak için kullanılacak ilaçların toprak kirlenmesi gibi birçok çevre sorununa yol açacağı ayrıca GDO'ların biyoterör ajanı olarak kötü amaçlı kullanımı gibi önemli bir potansiyel risk taşıdıkları vurgulanmıştır (23).

## GDO'LAR VE BİYOLOJİK ÇEŞİTLİLİK

Günümüzde GDO'ların insanlar üzerinde getireceği müthiş yararları yanısıra potansiyel zararları veya riskleri de tartışılmaktadır. Transgenik bitkilerle ilgili en önemli problem kullanılan ülkenin doğal yapısını etkileme tehlikesidir. GDO'ların ekosistemdeki tür dağılımına etki ederek dengeleri bozabileceği ve bu nedenle küresel bir çevre ve besin krizine yol açabileceği belirtilmiştir (20, 24, 25). Bu bitkilerin ekiminden kaynaklanan çevresel etkilerin irdelenmesi bakımından ülkenin coğrafi konumu, iklimi, fauna ve florasının özellikleri, ayrıntılı olarak bilinmelidir. Aktarılan genlerin doğal bitki türlerine atlayarak buldukları çevrenin doğal türlerindeki genetik çeşitliliğin kaybına, yabancı türlerin doğal yapısında sapmalara ve tek yönlü kimyasal uygulanması sonucu tek yönlü evrimin teşvikiyle ekosistemdeki tür dağılımı ile dengenin bozulmasına yol açabileceği düşünülmektedir (26). Bu bağlamda, böcek öldürücü gen aktarılmış Bt (*Bacillus thuringiensis*) mısırı poleninini, Kuzey Amerika'da yaygın bulunan Monarch kelebeğinin larvaları üzerinde öldürücü etkileri saptanmıştır. Bu kelebekler mısırla beslenmedikleri halde Bt mısırı polenlerinin kelebeğin temel besin kaynağı olan ipek otu üzerine ulaşması öldürücü

sonuç doğurmuş ve gelecekte biyolojik çeşitliliğin azalmasına yol açacağı belirtilmiştir. (2, 27).

## GDO'LARIN HUKUKİ BOYUTU

Artan dünya nüfusunun ihtiyaçlarına karşı üretim arzını artırmak için modern biyoteknolojik yöntemler kullanılarak bir çok transgenetik ürün elde edilmektedir. Transgenetik ürünlerin gıda zincirine girmesiyle gıda güvenliğinin önemi bir kez daha vurgulanmış ve GDO'lu ürünlerle ilgili mevzuat çalışmalarının gerekliliği de ortaya çıkmıştır (28).

### A. Dünya Ülkeleri Açısından GDO'ların Hukuki Boyutu

Dünya ülkeleri açısından GDO'ların hukuki boyutu aşağıda özetlenmiştir (29-31):

1. UNIDO (Birleşmiş Milletler Endüstriyel Kalkınma Organizasyonu) Sekreteryası'nın 1991 Temmuz ayında yayınladığı "Organizmaların Çevreye Salınımı Konusunda Gönüllü Talimatı",
2. FAO (BM Gıda ve Tarım Organizasyonu) tarafından Bitki ve Genetik Kaynakları Komisyonu (CPGR)'nun talebi üzerine hazırlanan ve 1991 Kasım ayında yayınlanan "Bitki Biyoteknolojisi Talimatı",
3. Gündem 21 (1992) ve Gündem 21'i hayata geçirme amacı taşıyan "Biyoteknolojinin Risklerinin Önlenmesi İçin Uluslararası Teknik Direktifleri",
4. "BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi'nin" (1996) özellikle 8g ve 19. maddeleri,
5. Gelişmekte olan ülkelerin, biyogüvenlik kapasitelerini oluşturmalarında UNEP (BM Çevre Programı) tarafından hazırlanmış olan "Biyogüvenlik Kılavuzu" (1997),
6. BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi'ne ek protokol olarak hazırlanan ve "Cartagena Protokolü" denilen "Biyolojik Çeşitlilik Anlaşması Biyogüvenlik Protokolü" (2000).



Cartegena Protokolü; ithalatçı ülkelere, bilimsel kanıtları olmasa da sağlık ve çevre risklerine dayanarak, GDO'lu ürünlerin ithalatını yasaklama olanağını vermiştir. Ayrıca, BM Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi ile Cartagena Protokolü uluslararası bağlayıcı özellikler taşımaktadır.

## B. Avrupa Birliği'nde GDO'ların Hukuki Boyutu

Avrupa Birliği, gıda güvenliği ile ilişkili mevzuatını 28 Ocak 2002 tarihinde 178/2002 sayılı AB yönetmeliği ile güncelleştirmiştir. 23.01.2002 tarihinde ise Avrupa Birliği Komisyonun "Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji" başlığı altındaki raporu ile Avrupa'nın bu konudaki stratejileri ve çalışma planlarını ortaya koymuştur. Avrupa Birliği gıda güvenliği yetkisini, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA-European Food Authority) çatısı altında toplamıştır. Nitekim, EFSA'ya GDO'lar ile ilgili bilimsel görüş veren bilimsel paneller de kurulmuştur (32, 33). Ayrıca, Cartagena Protokol'ünü Avrupa Birliği üye ülkeleri de 2000 yılında imzalamışlardır. Avrupa Topluluğu açısından biyogüvenlik üzerine Protokol'ün sonuçları ile ilgili Temmuz 2002 tarihinde 628/2002/EC sayılı Kararı yayınlanmıştır (34). Avrupa Birliği üye ülkelerinde direktifler doğrultusunda GDO ürünlerinin üretilmesine ve satışına izin verilmiş ancak, GDO'lu ürünlerin etiketlerinde bu duruma işaret edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (31).

Avrupa Birliği'nde biyoçeşitliliğin yani doğanın korunması için birtakım kurallar belirlenmiştir. Avrupa Birliği'nin sınırları içinde ve ötesinde habitatları ve türleri koruma programları "Biyoçeşitlilik Hakkında Sözleşme" içinde öngörülmüştür. Birliğin biyoçeşitliliği koruma stratejisi 1992 habitatlar yönergesi çerçevesinde "Natura 2000" programını kullanarak; Avrupa habitatları ve aralarındaki koridorlarında bağlantılı bir ağın oluşturulması, habitatların korunması ve önemli habitatların içinde ve çevresinde sürdürülebilir toprak yönetim uygulamalarının

teşvikinin birleştirilmesi üzerine kurulmuştur. Topluluk doğal kaynaklar, tarım, balıkçılık, kalkınma ve ekonomik işbirliği alanlarında biyoçeşitliliğin teşvik edilmesine ilişkin bir eylem planı hazırlamış; ayrıca Avrupa doğal hayatının korunmasına ilişkin Bern Konvansiyonu, göçmen kuşların korunmasına ilişkin Bonn Konvansiyonu ve biyoçeşitlilik ile ilgili de Rio de Janeiro Konvansiyonu'na (15 Numaralı Prensibi) taraf olmuştur (35).

## C. Türkiye'de GDO'ların Hukuki Boyutu

Helsinki Zirvesi ile 1999 yılında Türkiye Avrupa Birliği'ne aday ülke olarak kabul edilmiş ve Kopenhag Kriterleri ile Avrupa Birliği müktesebatına uyum süreci dolayısıyla GDO'larla ilgili mevzuat uyumu süreci de başlamıştır. 24 Mayıs 2000 tarihinde Cartagena Protokolünü Türkiye de imzalamış ve 11 Eylül 2003'te yürürlüğe girmiştir. Ayrıca, Fransa'da kurulan ve ülkeler arası bitki çeşitlerinin korunmasını amaçlayan ve mevzuat uyumu ile yardımlaşmayı sağlayan uluslararası bir organizasyon UPOV'un (Uluslararası Bitki Çeşitleri Birliği) da 1961'de üyesi olmuştur (35).

Bugün için halen GDO'lar hakkındaki mevzuat çalışmalarında büyük bir ilerleme kaydedildiği söylemek pek mümkün değildir. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı tarafından GDO ve ürünleri ile GDO ve ürünlerini içeren gıda ve yem maddeleri hakkında karar verme, işleme, ithalat, ihracat, izleme, tescil, etiketleme, kontrol ve denetim ile ilgili usul ve esasları belirlemek için hazırlanan ve 26.10.2009 tarihli-27388 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan "Gıda Ve Yem Amaçlı Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar Ve Ürünlerinin İthalatı, İşlenmesi, İhracatı, Kontrol Ve Denetimine Dair Yönetmelik tartışmalar içerisinde yürürlüğe girmiştir. Ayrıca, Tarım ve Köyşleri Bakanlığınca hazırlanan genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar ve ürünleri ile ilgili olarak araştırma, geliştirme, işleme, piyasaya sürme, izleme, kullanma, ithalat, ihracat, nakil, taşıma, saklama, paketleme, etiketleme, depolama ve benzeri

faaliyetlere dair hükümleri kapsayan ve TBMM, Tarım, Orman ve Köyişleri Komisyonunda görüşülmekte olan Biyogüvenlik Kanunu Tasarısı; genetiği değiştirilmiş bitki ve hayvanların üretimini yasaklamıştır.

### GDO'LARIN SOSYO EKONOMİK BOYUTU

Disiplinlerarası bir bilim dalı olan biyoteknolojideki gelişmeler uluslararası bir perspektifle izlenmektedir. Özellikle ülkenin ticaretine, ekonomik büyümesine ve rekabetine getirebileceği katkılar dikkate alınarak hedefler belirlendiği ve işbirlikleri yarattığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda; dünyada transgenik bitkilerin % 73'ü gelişmiş ülkelerde, % 27'si Arjantin, Çin, Güney Afrika ve Meksika gibi gelişmekte olan ülkelerde yetiştirilmektedir. 2003 yılında genetiği değiştirilmiş tarım ürünlerinin tahmini pazar değerinin 4,5 milyar dolar olduğu vurgulanmıştır. Yani 31 milyar dolarlık tarımsal ürün pazarının % 15'ini, 30 milyar dolarlık ticari tohum pazarının ise % 13'ünü genetiği değiştirilmiş ürünler oluşturmuştur (2, 3).

Genetik yapısı değiştirilen ürünlerin en büyük sakıncalarından birisi de ekonomik açıdan bu ürünlerin patent hakkının tüm dünyada birkaç çok uluslu şirketin elinde olmasıdır. GDO'lar günümüzde özellikle tekniği ön plana çıkarılarak, hem teknik hem de ürün olarak patent kapsamında değerlendirilmiştir. Gen bulunması ve tanımlanması çok zor olduğu ve büyük yatırımlar gerektirdiği için Avrupa Patent Sözleşmesi'ne göre işlevini göstermek şartıyla patent alınabilmektedir. Patentli genetik olarak değiştirilmiş tohumu eken çiftçi hasattan sonra elinde kalan tohumları ekinde yeniden kullanınca patent sahibine bir bedel ödemek zorunda kalmış böylece patentli tohumu saklaması yasaklanmıştır. Tohumu saklayan bazı çiftçiler ise patent sahibi firmalar tarafından dava edilmişler; mahkeme süreçlerinden kurtulmak için ürünlerini yakmış, üretici firmaya tazminat ödemiş ve banka hesaplarını incelemeye açmışlardır. Bu yüzden bir çok çiftçi "terminatör" denilen yok

edici genlerle kısırlaştırılan tohumları her yıl almak zorunda kalmış ve çok uluslu tohum üretici şirketlere bağımlı kılınmıştır. Bu durum özellikle küçük çiftçilerin bundan zarar görmesine yol açmış yanı sıra geleneksel tarımı da engellemiştir (2, 7, 36).

GDO'lar konusunda özellikle çiftçiler arasında da farklı görüşlerin benimsendiği görülmüştür. Hall (37), İskoçya'daki çiftçilerin GDO'lu ekinler ile ilgili yaklaşımlarını araştırmış ve sonuçta çiftçilerin üç farklı yaklaşımı benimsedikleri tespit etmiştir. Çiftçilerin bir kısmı pozitif yaklaşım içerisinde bu ürünlerin yararlı olduğunu düşünmekteyken, diğer bir kısmı kararsız bir yaklaşımla potansiyel risklerin olabileceği düşüncesini taşımakta ve son grup ise kadcerc bir yaklaşımla GDO'ların hem yararı hem de zararı olacağını benimsemektedir.

### TÜKETİCİLERİN GDO'LU ÜRÜNLERE BAKIŞ AÇISI

GDO'lara karşı organik tarımcılar, çevreci örgütler, tüketici örgütleri, bazı politikacılar, tarımsal üretici örgütleri, küreselleşme karşıtları ve bazı akademisyen grupların olumsuz görüşleri bulunurken; üretici firmalar, tarımsal üreticiler, bilimsel kurumlar, uzman kamu kuruluşları ile bazı ülkelerdeki tüketicilerin ise destek verdiği görülmüştür (23). Kimilerinin "Frankeştayn Gıda" kimilerininse "Yeşil Altın" olarak isimlendirdikleri genetik olarak değiştirilmiş tarım ürünlerinin yetiştiriciliğiyle birlikte tüketiciliği de dünyada hızla artmıştır.

Avrupa Birliği ülkeleri arasında GDO'ların üretimi ve pazara sunulması konusunda farklı görüşlerin olduğu belirlenmiştir. Avrupa'da 15 ülkede 16.078 kişiyle yapılan "Toplum ve Bilim Kurumu Eurbarometer Anketi"ne göre kadınların erkeklere kıyasla GDO'lu gıdaları satın alma olasılıklarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bu ürünleri satın almayı düşünenler için "GDO'lu" ibaresi taşıyan etiket bulunmasının da önemli olmadığı ortaya konulmuştur

(38). Almanya’da yapılan bir araştırmanın sonucunda kadınların özellikle % 56’sının ekolojik kökenli ürünleri tüketmeyi tercih ettikleri saptanmıştır. Erkeklerde ise bu oranın % 39 olduğu tespit edilmiştir. Araştırmaya katılanların % 48’i özellikle meyve ve sebzelerde değişime uğramamış ürünleri tercih ettiklerini belirtmişlerdir. 1999’da yapılan “European Public Concerted Action Group Anket”inde ise katılanların % 74’ü GDO’lu ürünlerin etiketlenmesi gerektiğine inandıklarını, % 60’ı yeni gelişmelerde kamunun da görüşünün alınmasını istediklerini ve % 53’ü ise mevcut düzenlemelerin kişileri korumada yetersiz kaldığını belirtmişlerdir. 1998’de İngiltere’de yapılan bir diğer çalışmada da yanıt verenlerin % 77’si GDO’lu bitkilerin ve gıdaların yasaklanması gerektiğini, % 61’i ise GDO’lu gıdaları yemeyi tercih etmediklerini ifade etmişlerdir. Ulusal Kadın Enstitüleri Federasyonu’nun üyeleri üzerinde yapılan bir ankete göre kişilerin % 98’i GDO’lar hakkında daha fazla tartışılmasını ve % 93’ü de GDO’lu gıdaların etiketlenmesini istediklerini ifade etmişlerdir (39). Değişik dinlere mensup ve homojen bir dağılım gösteren 18 yaş ve üzerindeki 1118 kişi ile gerçekleştirilen bir anket çalışmasında; GDO’larla ilgili olarak sırasıyla lehinde ve aleyhinde olmak üzere Protestanlar % 57 ve % 37; Katolikler % 52 ve % 42; Müslümanlar % 46 ve % 32; Museviler ise % 35 ve % 55 şeklinde görüş bildirmişlerdir (2). İspanya, İtalya ve Yunanistan’ı kapsayan bir çalışmada da bu ülkelerdeki tüketicilerin GDO’lu ürünlere bakış açılarının farklı olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple, her kültürde GDO’lu ürünlerle ilgili iletişim stratejilerinin farklı olması gerektiği vurgulanmıştır (40). Roe ve Teisl (41)’in yaptıkları çalışmada ise tüketiciler için GDO’lu gıdaların etiketlenmesinin önemli olduğu tespit edilmiştir.

Güney Afrika’da GDO’lu bitkiler yetiştirilmesine rağmen tüketicilerin bu konuda bilgilerinin az olduğu ve en önemlisi tüketicinin tercihini sağlayacak etiketleme ile ilgili bir yasal düzenlemenin bulunmadığı belirlenmiştir (42).

Türkiye’deki tüketiciler de bugüne kadar GDO’lu ürünler hakkında pek fazla bilgi sahibi değil iken çeşitli örgütler, çiftçiler ve gönüllü kuruluşlar, üniversiteler ile yerel ve ulusal basının çeşitli organları aracılığıyla GDO’lu gıdaları Türkiye gündemine taşımaktadırlar. Bu şekilde gerek çevre, ekoloji ve sağlık riskleriyle gerekse getireceği olumlu yanlarıyla üreticisi ve tüketicisiyle birlikte milyonlarca insanın GDO kavramı ile tanışmasını sağlamışlardır (23). Ülkemizde de tüketicilerin genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkındaki bilgi ve düşüncelerinin belirlenmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Marmara Bölgesi ağırlıklı olmak üzere çeşitli illerdeki 18-60 yaş arasında 408 kişiye yönelik anket çalışması sonucunda; katılımcıların genetiği değiştirilmiş ürünler konusunda olumsuz fikirlere sahip oldukları, % 60’ının GDO’lu gıdaların güvenli olmadığını ya da sağlığa zararlı olduğunu düşündükleri tespit edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, toplumun genetiği değiştirilmiş gıdalar hakkında daha fazla bilgilendirilmesi gerektiği ve doğru bir risk iletişimine ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (43). Türkiye’de 2004 yılında yapılan bir anket çalışmasında ise katılımcıların %91,1’i GDO’lu ürünlerin etiketlenmesinin yararlı olduğunu belirtmişlerdir (44). GDO’lara toplumun bakış açısını saptamak amacıyla yapılan başka bir çalışmaya 439’u bayan, 474’ü erkek olmak üzere toplam 913 kişi katılmıştır. Katılımcıların % 41,07’si GDO terimini ilk kez televizyondan, % 28,92’si ise yapılan bu anket çalışmasından duyduğunu belirtmiştir. Ankette katılanların % 45,73’ü GDO’ların sağlık sorunları yaratabileceğini; % 95,62’si ürünlerin üzerinde GDO olup olmadığı belirtilmesi gerektiğini; %85,76’sı üzerinde GDO olduğu belirtilen ürünü satın almayacağını bildirmiştir. Yaş arttıkça ürün etiketi okuma oranı artarken, GDO’lu gıdalara yaklaşım daha olumsuz bir hal almıştır. Bayanlar GDO’lu gıdalara, erkeklere göre daha şüpheci yaklaşmışlardır (45). Ankara’daki okul öncesi özel eğitim kurumlarında çalışan personelin katılımı ile yapılan araştırma

sonucunda ise genetiği değiştirilmiş ürünlerin tüketilmesinin insan sağlığı için risk taşıdığını düşünenler % 78,7 ve bu ürünlerin GDO'lu ibaresi ile etiketinde belirtilerek satılması gerektiğini savunanlar ise % 69,3 olarak tespit edilmiştir (46).

## SONUÇ

Biyoteknolojik ürünlerin önümüzdeki yıllarda tarımsal üretim yanında tüm yaşamımızda önemli bir yer tutacağı görülmektedir. GDO'lar hakkında devam eden çalışmalara rağmen yeterince deneysel bulgu olmadığından yararları veya zararları konusunda kesin

bir yargıya varmanın şu an için mümkün olmadığı düşünülmektedir. Bu bağlamda, çevremize ve gelecek nesillere olabilecek etkilerinin ve risklerin en aza indirilmesi için gerekli önlemler zaman geçirilmeden alınmalıdır (2). Yapılan anketler, tüketicinin alacağı ürünün "GDO'lu" olup olmadığını bilmek istediğini göstermektedir. Bu nedenle tüketicinin tercihinine göre seçim yapabilmesi için ürünlerin "GDO'lu" etiketi taşınmasının ve bu konudaki yasal düzenlemelerinin ivedilikle tamamlanmasının yanısıra GDO konusunda halkın bilinçlendirilmesi ve bu konudaki eğitimlere önem verilmesinin son derece önemli olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Arda M. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler). KÜKEM Derneği Bilimsel Yayınları: 2, Ankara. 1994; 349.
2. Kulaç İ, Ağirdil Y, Yakın M. Sofralarımızdaki Tatlı Dert, Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Halk Sağlığına Etkileri. Türk Biyokimya Dergisi, 2006; 31 (3): 151-5.
3. Beyatlı Y. Biyoteknoloji Ders Notları. Ankara: Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2000: 146.
4. Costa-Font J, Mossialos E. Are Perceptions of Risk and Benefits of Genetically Modified Food in Dependent? Food Quality and Preference, 2007; 18 (2): 173-82.
5. Özer I. Genetik Yapısı Değiştirilmiş Besinler. Klinik Pediatri, 2003; 2 (2): 74-7.
6. Pusztai A, Bardocz S, Ewen SWB. Genetically Modified Foods: Potential Human Health Effects. In: D'Mello JPF, ed. Food Safety: Contaminants and Toxin. UK: CAB International, Wallingford Oxon, 2003; 347-72.
7. Öztürk M. Biyoteknolojiye Genel Bakış. <http://fens.sabanciuniv.edu>, 02.02.2007.
8. Shetty K, Paliyath G, Pometto A, Levin ER. Food Biotechnology. 2. Edition. USA: CRC Press, 2005: 2008.
9. Cummins R, Lilliston B. Genetically Engineered Food. New York, Marlowe Company, 2000; 208.
10. Tunalıoğlu R. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü-Bakış, 2004; 7 (2): 1-4.
11. Domigo JL. Health Risks of Genetically Modified Foods: Many Opinions But Few Data. Science, 2000; 288: 1748-9.
12. Dawe D, Robertson R, Unnevehr L. Golden Rice: What Role Could It Play in Alleviation of Vitamin A Deficiency? Food Policy, 2002; 27: 541-60.
13. Lessick M, Keithley J, Swanson B, Lemon B. Genetically Modified Foods: A Tasted of The Future. Medsurg Nursing, 2002; 11: 242-6.
14. Topal Ş. Genetik Değiştirme İşlemleri ve Biyogüvenlik. <http://www.bugday.org>, 24.12.2009.
15. Yorulmaz S, Ay R. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Entomoloji Alanındaki Uygulama Olanakları. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2006; 1 (2): 53-9.
16. Frewer LJ, Scholderer J, Bredahl L. Communicating About The Risks and Benefits of Genetically Modified Foods: The Mediating Role of Trust. Risk Analysis, 2003; 1117-33.
17. Goldstein DA, Tinland B, Gilbertson LA, et al. Human Safety and Genetically Modified Plants: A Review of Antibiotic Resistance Markers and Future Transformation Selection Technologies. Journal of Applied Microbiology, 2005; 99: 7-23.
18. Bredahl A, Grunert KG, Frewer LJ. Consumer Attitudes and Decision-Making with Regard to Genetically Engineered Food Products-A Review of the Literature and A Presentation of Models for Future Resarch. Journal of Consumer Policy, 1998; 21 (3): 251-7.
19. Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of A Brazil-Nut Allergen in Transgenic Soybeans. The New England Journal of Medicine, 1996; 344: 688-92.

20. Altıntaş A. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) İle İlgili Gen-Etik Ve Çevresel Sorunlar. <http://www.kaymakli.com>, 14.11.2006.
21. Goodman RE. Assessing Genetically Modified Crops to Minimize the Risk of Increased Food Allergy: A Review: International Archives of Allergy and Immunology, 2005; 137 (2): 153.
22. Anonmymous. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Deklarasyonu-GDO'ya Hayır Platformu. <http://www.bugday.org>, 02.02.2007.
23. Tiryaki İ. Soru ve Cevaplar İle Tarımsal Biyoteknoloji. <http://ciftci.ksu.edu.tr>, 02.02.2007.
24. Hail RS. Genetically Modified Plants-The Debate Continues. Trend in Ecology and Evolution, 2000; 15 (1): 14-8.
25. Çelik V, Turgut-Balık D. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO). 2007; 23 (1-2): 13-23.
26. Özgen M. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar. Dünya Gıda Günü 2005 Sempozyumu (14-15 Ekim 2005, Ankara). Ankara: Kozan Ofset Matbaacılık San. Ve Tic. Ltd. Şti., 2005; 170-84.
27. Moellenbeck DJ, Peters ML, Bing IW, et. al. Insectisidal Proteins From Bacillus thuringensis Protect Corn From Corn Rootworms. Nature Biotechnology, 2001; 19 (7): 668-72.
28. Anonmymous. Gıda Güvenliği Modern Biyoteknoloji. II. Tarım Şurası V. Komisyonu, 2007; 12-3.
29. Kefi S. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO'ların) Dünyada 2002 Yılı İtibariyle Mevcut Durumu, Ortak Tarım Politikası. 7. Dönem AB Uzmanlık Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2002; 16.
30. Anonmymous. BM BÇS Cartagena Biyogüvenlik Protokolü. T.C. Çevre Bakanlığı, Çevre Koruma Genel Müdürlüğü, Bitki ve Erozyonla Mücadele Daire Başkanlığı Yayını, 2003:37.
31. Kaynar P. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) Avrupa Birliği'ndeki ve Türkiye'deki Mevcut Durumu, Gıda. 39. Dönem AB Temel Eğitim Kursu, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2007:40.
32. Anonmymous. Life Sciences and Biotechnology-A Strategy for Europe. Brussels: Commission of The European Communities, 2002; 27-35.
33. Boyacıoğlu D. AB Sürecinde Gıda Güvenliği. <http://www.destekpatent.com.tr>, 14.11.2006.
34. Anonmymous. Transboundary Movement of Genetically Modified Organisms. <http://www.europa.eu>, 02.02.2007.
35. Akdur R. Sağlık Sektörü Temel Kavramlar, Türkiye ve Avrupa Birliği'nde Durum ve Türkiye'nin Birliğe Uyum. Genişletilmiş ve Güncellenmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Araştırma Dizisi No: 25, 2006: 349.
36. Özdemir O. Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmaların (GDO'ların) Etkilerinin Küreselleşme Çerçevesinde Ele Alınması. Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü-DOA Dergisi, 2003; (9): 113-33.
37. Hall C. Identifying Farmer Attitudes Towards Genetically Modified (GM) Crops in Scotland: Are They Pro- or Anti-GM? Geoforum, 2008; 39: 204-12.
38. O'Fallon MJ, Gursoy D, Swanger N. To Buy or Not To Buy: Impact of Labeling on Purchasing Intentions of Genetically Modified Foods. Hospitality Management, 2007; 26: 117-30.
39. Anonmymous. <http://www.geocities.com>, 02.02.2007.
40. Costa-Font M, Gil JM. Structural Equation Modelling of Consumer Acceptance of Genetically Modified (GM) Food in the Mediterranean Europe: A Cross Country Study. Food Quality and Preference, 2009; 20: 399-409.
41. Roe B, Teisl MF. Genetically Modified Food Labeling: The Impacts of Message and Messenger on Consumer Perceptions of Labels and Products. Food Policy, 2007; (32): 49-66.
42. Botha GM, Viljoen CD. South Africa: A Case Study for Voluntary GM Labelling. Food Chemistry, 2009; 112: 1060-4.
43. Gülbay D, Özçelik B, Kahveci D. Türk Tüketicisinin Genetiği Değiştirilmiş Gıdalar Hakkındaki Görüşleri. In: Türkiye 9. Gıda Kongresi (24-26 Mayıs 2006, Bolu) Bildiriler Kitabı. 2006: 845-8.
44. Anonmymous. <http://www.bugday.org>, 02.02.2007.
45. Demir A, Pala A. Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların Toplumun Bakış Açısı. Hayvansal Üretim, 2007; 48 (1): 33-43.
46. Ozer BC, Duman G, Cabuk B. Turkish Preschool Staff's Opinions about Hormones, Additives and Genetically Modified Foods. Procedia Social and Behavioral Sciences, 2009; (1): 1734-43.



# TELOMERLERİN YAŞLANMA VE KANSER İLİŞKİSİNDEKİ ROLÜ

## The Role of Telomeres in Aging and Cancer Relationships

Merve GÜNERİ YILDIZ<sup>1</sup>, Sümer ARAS<sup>1</sup>, Demet CANSARAN DUMAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi,  
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
ANKARA  
<sup>2</sup>Refik Saydam Hıfzısıhha  
Merkezi Başkanlığı,  
İlaç ve Kozmetik Araştırma  
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 05.11.2009  
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:  
Sümer ARAS  
Ankara Üniversitesi,  
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
ANKARA  
Tel : 0312 212 67 20  
E-posta : aras@science.ankara.edu.tr

### ÖZET

Telomerlerin yaşlanma ve kanser ilişkisindeki rolü oldukça önemlidir. Kanser tedavisinde ve teşhisinde geleneksel yöntemlerin yanı sıra telomerez aktivitesinin ölçümü özgün bir belirteç olarak kullanılabilir. Telomerez enzimleri ile ilgili yapılmış olan çalışmalar kanser tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabilirlerini göstermektedir. Ayrıca telomerlerin yaşlanma üzerindeki rolleri de birçok araştırmacının odak noktası olmuştur. Telomer kısalmasının insan hücresinin ömür uzunluğunun kısalmasında evrensel bir rol oynadığı yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Telomerlerin, kanser tedavisinde ve yaşlanmayı geciktirici olarak kullanıma geçmiş olması umut verici bir gelişme olmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Telomer, yaşlanma, kanser

### ABSTRACT

Telomeres have a major role in aging and cancer relationships. In cancer treatment and diagnosis, in addition to the traditional methods, the measurement of telomerase activity would be used as specific markers. The studies conducted on telomerase enzymes showed that they would be used effectively in the treatment of cancer. The role of telomeres in aging has also been the focus of many researches. It has been confirmed that telomere shortening plays universal role in shortening of the life of the human cells. Recent applications in the usage of telomeres as a retardant in aging and also in cancer treatment are happened to be a promising development in this area.

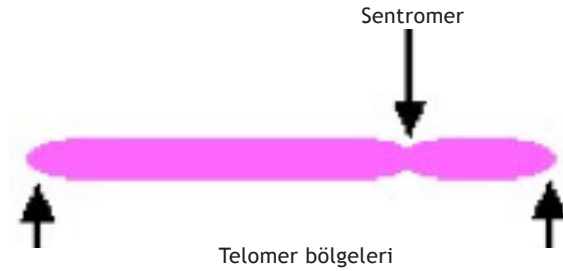
**Key Words:** Telomere, aging, cancer

## GİRİŞ

### 1. KROMOZOMLARDA TELOMER BÖLGELERİ

#### 1.1. Telomer Nedir?

Telomerler, kromozomların DNA ve protein içeren terminal (uç) bölgeleridir. Diğer kromozomal DNA dizilerinden hem yapısal hem de fonksiyonel olarak farklıdır. Telomer sentezinden telomeraz (telomer terminal transferaz veya revers transkriptaz) enzimi sorumludur (1).



Şekil 1: Telomerlerin kromozomlardaki yeri (1)

Telomer kavramı, 1930'lu yıllardan bu yana bilinmektedir. Bu yıllarda Hermann J. Müler *Drosophila melanogaster* ve Barbara Mc Clintock Zea mays kromozomları üzerinde çalışmışlardır. Müler, X radyasyonundan sonraki yapı değişiklikleri ve bu değişikliklerin görülme sıklığını incelemiştir. Çalışmalarının sonucunda, terminal bölgelerdeki delesyonların ve inversiyonların çok az görüldüğünü bildirmiştir. Araştırmalar ilerledikçe kırık uçlu kromozomların daha kolay birleştiği ve normal kromozomların telomer yapılarının kararlı olduğu, ne kırık uçlu kromozomların uçları ile ne de diğer telomerlerle birleşmediği görülmüştür. Bu bilgilerden sonra kromozomların bütünlüğünü sağlayan özel terminal (uç) yapıların varlığı kabul edilmiştir (1-4).

Telomerler iki problemi çözmek için bulunmaktadırlar. Birincisi; kromozom uçlarının replikasyonlarının tamamlanmasına olanak vermek; ikincisi ise bu uçların birbirleri ile karışmasını ya da kromozomların iç kısımları ile reaksiyon vermelerini önlemektir (1, 2).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda telomerlerde bulunan G4-DNA yapıları keşfedilmiştir. G4-DNA guanin bakımından zengin nükleik asit dizileri olup G- kuadrupleks (G-tetrad veya G4- DNA) adı verilen guaninlerin oluşturduğu dört zincirli bir yapıyı ifade etmektedir. G-4 DNA'yı stabilize eden ve telomeraz aktivitesini durdurabilen bileşikler kanser terapisinde ilgi çekmeye başlamıştır. Bu bileşikler G-4 kuadrupleks yapıyı stabilize etmek suretiyle telomeraz enziminin telomere ulaşmasını engellemektedir (5).

#### 1.2. Telomerlerin Fonksiyonları

Telomeraz enzimi ile gerçekleştirilen telomer sentezi kromozomların uç bölgesinin bütünlüğünün korunması için gereklidir. Telomer içermeyen kırık uçlar disentrik, halkalı veya diğer kararsız kromozom yapıları oluşturacak şekilde uç uca eklenebilirler. Bu kararlı ve kararsız yapılar arasındaki farklılıklar, telomerlerin normal kromozom uçlarında bulunan özel yapılar olduğunu ve bu yapılar olmadığı zamanlarda kromozomların dayanıksız olduğunu göstermiştir. Telomerler DNA replikasyonunun düzensizliği konusunda sentromer bölgeleri ile aynı derecede önemlidir. Ayrıca interfaz çekirdeğinin üç boyutlu yapısının kurulmasında da etkili olduğu düşünülmektedir (1, 2, 4).

Hücre içinde telomer çekirdekleri zara yakın konumda olup sentromerlerle 180° açı oluştururlar. Telomerler homolog kromozomlarla homolog olmayan kromozomlar arasında geçiş sağlarlar (4).

Telomerlerin organizmalarda az miktarda bulunması nedeni ile -total DNA'nın yaklaşık %0.003'ü telomerik DNA'dır- bunların fonksiyonlarının ve sentezlenmelerinin anlaşılması ancak yakın zamanlarda başarılabilmektedir. Bu alandaki çalışmalar daha sonraları kısa ve doğrusal DNA'ları olan silli protozoalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Günümüzde telomerlerin yapı, fonksiyon ve sentez mekanizmaları; protozoalarda, küf mantarlarında, bitki ve hayvan



hücrelerinde incelenmeye devam etmektedir (1, 2).

Bugüne kadar çalışılan tüm organizmalarda kromozom uçlarının G ve T'den oluşan kısa, basit ve tekrar eden zincirler olduğu bilinmektedir. Tekrar edilen bu zincirlerin sayısı kazanılan ve kaybedilen zincirlerle belirlenir (2, 4).

### 1.3. Telomerik Proteinler

Kromozomal DNA'nın ucunda bulunan yapıları ile etkileşen kısımlar, telomeraz enzimi ve telomer yapısal proteinleridir. Telomerik DNA tekrarlarına tutunan özel amino asit dizisine sahip olan proteinler, telomerik kararlılığın sağlanmasına ve telomer uzunluklarının düzenlenmesine yardım ederler. Telomerlerin, TTAGGG dizi tekrarları ve telomer bağlayıcı proteinlerden oluşan kısmına "telesom" denilmektedir (4).

## 2. TELOMERİK DİZİLERİN DÜZENLENMESİ

### 2.1. Telomerik Diziler

Aralarında önemli evrimsel farklılıklar bulunan ökaryotik organizmaların telomer bölgelerindeki DNA dizileri ve yapıları benzerdir. Bu telomer bölgeleri, oldukça basit olan ve arka arkaya tekrar eden özel diziler içerir. DNA ipliklerinden bir tanesi guanin yönünden zengindir; 5' yönüne doğru uzar ve sitozin yönünden zengin olan iplikten daha uzundur. Dışarıya doğru uzantı yapan bu tek iplik kendi üzerinde kıvrılıp, Watson-Crick eşleşmesi göstermeyen, saç tokası şeklinde ve guanozin-guanozin eşleşmesi yapan bir yapı oluşturur (1, 2, 4).

Telomer bölgelerinde, bir anlamda düzenli bir düzensizlik olduğu söylenebilir. Bu farklı yapılar, tek iplikli kırılmalara neden olabilir. Sonuçta, DNA'daki açık noktalarda çalışabilen ligaz enzimi bağlanamaz ve bu bölgelerin nükleazlar tarafından tanınması önlenir. Saç tokası yapısı ve telomerik dizisi olmayan kırık uçlu kromozomlar, serbest DNA uçları ile birleşebilirler. Bu yapılar, aynı zamanda ekzonükleotik

yıkıma karşı da duyarlıdırlar. Telomerlerin telomerik proteinleri sayesinde yıkımdan kurtuldukları bilinmektedir. Telomerlerin kendilerine özgü yapıları sayesinde; disentrik kromozomların oluşması, kromozom birleşmeleri ve kromozomun alt telomerik bölgelerinden genetik bilgi kaybı önlenmiş olur (4-6).

Telomerik diziler tanımlanırken, iki nokta üzerinde önemle durmakta fayda vardır: Bu diziler kromozomların uç noktalarında bulunmalıdır ve doğrusal DNA molekülüne dayanıklılık sağlamalıdır (6).

Telomer bölgesinin kararlılığının sağlanabilmesi için, bu tekrarlayan dizilerden, maya ve diğer bazı tek hücreli canlılarda bir kaç yüz ve omurgalılarda bir kaç bin baz çifti kadar bulunması gereklidir (2, 4, 6).

### 2.2. Telomer Uzunluğu ve Telomer Kaybı

Telomer uzunluğunu etkileyen değişik bir çok genetik ve fizyolojik faktör vardır. Dengeleyici bir mekanizma olmasaydı yarı korumalı (semi konservatif) DNA replikasyonu sonucunda kromozomlar giderek uç kısımlarından kılacaklardı. Hücre kültüründeki ölü hücrelere ait telomerlerin birinci jenerasyon başına 65 baz çifti (bp) kadar kısaldığı bildirilmektedir. İnsana ait üreme dizisi hücrelerinin kromozomal uçlarında 10 kb'lık telomerik AGGGTT tekrarları vardır. Telomer uzunluğu ile yaş arasındaki ilişkiyi aydınlatmak amacı ile farklı yaşlardaki insanlara ait hücrelerde, insan fibroblastlarının ön kültürlerinde ve bazı kanser hücrelerinde çalışmalar yapılmış; telomer uzunluğunun artan hücre bölünme hızı veya yaşı ile azaldığı anlaşılmıştır. Ölümsüz HeLa doku kültürü hücrelerinde telomeraz aktivitesi saptanmaktadır. Aynı bulgular maya, Tetrahymena hücreleri ve insan üreme hücreleri için de geçerlidir. İnsan somatik hücrelerinde ise, telomeraz enzim aktivitesi tespit edilememiş ve bu hücrelerin telomerlerinin daha kısa olduğu görülmüştür. Tek istisna fare telomerleri için bilinmektedir: fare telomerleri insan telomerlerinin 5-10 katıdır ve yaşlı ile genç farelerin telomerleri

arasında dikkate değer bir farklılık yoktur. İlk defa 1973 yılında Olovnikov adlı bir araştırmacı, telomer kısalmasının ileride ölüme yol açabileceğini, somatik hücrelerde çoğalmayı sınırlayıp hücre yaşlanmasına neden olabileceğini bildirmiştir (7). Daha sonra yapılan araştırmalar Olovnikov'un bulgularını destekler niteliktedir.

Telomerik tekrarlar her hücre döngüsünde kaybedilir; ancak bu tekrarlar telomeraz enziminin etkisiyle kazanılır. Telomeraz, telomerik tekrarları 3' ucundan ekleyerek işlev görür. Bazı durumlarda ise rekombinasyonel replikasyon mekanizması ile tekrarları bir kromozom telomerinden diğer kromozoma kopyalayabilir. Telomeraz yokluğunda telomerlerde meydana gelen kayıpları azaltmak için kromozomların 3' ucundaki TnGn zincirlerinin DNA polimeraz enzimleri için iyi kalıp olmaları gereklidir. Bu husus tekrar eden telomerik dizilerin DNA polimeraz tarafından öncelikle belirlendiği olasılığını güçlendirmektedir (6).

DNA replikasyonu sonucu telomer dizilerinde kayıp olduğu takdirde telomeraz enzimi bu bozuklukları düzeltebilir. Düzeltmediğinde telomer bölgelerinin koruyuculuğu kaybolur. Son yıllarda telomer bölgelerinin yapılarının ve telomeraz aktivitesinin hücre yaşlanması ve kanser oluşumu üzerinde etkili olduğu görülmüştür (4, 6).

Telomerlerin keşfi ile kromozom uçlarının kararlı yapıda olmadığı kesinleşmiştir. Kıvrılan uçlar uç uca kaynaşabilirler ya da diğer kararlı olmayan kromozom formlarını meydana getirebilirler. Moleküler analizler telomerlerin her bir DNA zincirinin 5' ucunda terminal noktasında kayıp olmadan lineer kromozomal DNA ucunun replikasyonuna izin verdiğini göstermiştir. Böyle bir kaybın, geleneksel yarı korunumlu replikasyon mekanizmasının bir özelliği olduğu tahmin edilmektedir (4).

Hücre bölünmesi sırasında meydana gelen telomerik zincirlerin kaybı kromozomal anomalilere

sebeplendir. Örneğin mayadaki "est1" mutasyonu ile meydana gelen telomer uzunluğunun kısalması, kromozom kaybına ve ölüme sebep olmaktadır (2, 6).

Eşey hücreleri yavru hücrelere uzunluğu tam olan kromozomları transfer etmek zorundadırlar. Fakat telomer hipotezi somatik dokularda yaşlanmayla telomer uzunluğunun azaldığını ileri sürmektedir. Sperm hücreleri uzun telomer dizilerine sahiptir ve telomer uzunluğu istikrarlı bir biçimde korunmaktadır. Buna karşın kan hücrelerinde telomer uzunluğunun yaşlanma ile azaldığı anlaşılmıştır. Bu sonuçlar, eşey hücrelerinin telomer bütünlüğünü sağladığını fakat somatik dokuların bunu yapamadıklarını göstermektedir (8).

### 2.3 Telomeraz ve Yapısı

Telomeraz, kromozomal uçlardaki TTAGGG tekrarlarının sentezinden sorumlu olan ribonükleoprotein yapıda özel bir DNA polimerazdır. İlk defa Tetrahymena'da tanımlanan telomeraz enzimi, daha sonraları insanlarda HeLa hücrelerinde gösterilmiştir. Embriyonik hücreler ve erişkin kök hücrelerinde aktif olan bu enzim, normal somatik hücrelerde saptanmamakta, kanser hücrelerinde yeniden aktive olmaktadır (8).

#### 2.3.1. Telomerazın Fonksiyonu

Ökoryotik hücrelerdeki DNA replikasyonunda lider zincirdeki sentez tek RNA primeri kullanılarak 5' yönünde kesintisiz olarak tamamlanırken, kesikli zincirdeki sentez 8-12 bp'lik RNA primerleri kullanılarak 'Okazaki fragmanları' şeklinde gerçekleşmektedir. Terminal RNA primerlerinin uzaklaşmasına bağlı olarak yeni sentezlenen yavru zincirin 5' ucunda, -12 bp'lik bir boşluk oluşmaktadır. Kalıp DNA'nın 3' ucunun normal replikasyon mekanizmasıyla kopyalanamamasına "replikasyon sonu problemi" denmektedir. Bunu telafi edecek moleküler mekanizmaların yokluğunda, her hücre bölünmesinde kromozomal DNA'nın 3' ucunda, yaklaşık 50-200 nükleotidlik kayıp olmakta ve

hücrel yaşlanma gelişmektedir. Telomerlerin 3' ucunda bulunan guanin ve timin yönünden zengin 12-16 nükleotidlik uzantının, uzama evresinde kalıp görevi gördüğü düşünülmektedir. İnsan telomeraz enzimi (hTR), telomerik DNA dizisine komplementer olan 8-30 bazlık kısa bir segmentini, zincirin 3' ucunun uzatılmasında kalıp olarak kullanmaktadır. Telomerazın katalitik alt birimi olan insan telomeraz katalitik alt ünitesi (hTERT), bu diziyeye komplementer GGTTAG dizi tekrarlarını sentezleyerek guanin yönünden zengin olan 3' ucuna ekler. RNA kalıbı, yeni sentezlenen telomerik dizinin 3' ucuna doğru kayar ve DNA polimeraz, telomeraz enziminin sentezlediği bu diziyi kalıp olarak kullanarak, karşı tamamlayan zincirin sentezini gerçekleştirir (2, 9).

### 3. TELOMERLER ve YAŞLANMA

Normal dokulardaki telomerin uzatılmasından sorumlu sistemler bölünme sırasında etkinliklerini sürdürmezler. Bu nedenle telomerler hücre bölünmesi sırasında kısalırlar. Telomer uzunluğu hücrelerin replikatif yaşama süresini belirler. Telomerler kritik uzunluğa kadar kısalırlarında yaşlanma programı aktive olur. Bundan sonra hücre bölünmesi durur. Fakat yaşamaya ve fonksiyon görmeye devam ederler. Eşey hücrelerinde telomerlerin bakımı aktif olarak yapılmaktadır. Bunun sebebi, bir sonraki nesle kromozom transferi yapılma zorunluluğudur. Bu durum telomer replikasyonunda görevli olan telomeraz enzimi aktivitesi ile gerçekleşmektedir (1).

#### 3.1. Hücre Yaşlanmasında Telomer Hipotezi

Telomer kısalmasının replikatif yaşam uzunluğunu kontrol edebileceği ve zamanı ayarlayabileceği ilk kez Olovkinov 1973'de tespit edilmiştir (7). Fakat telomer yapısı ve fonksiyonu ile ilgili halen günümüzde geçerli olan bilgiler 1990 yılında Harley tarafından açıklanmıştır (10).

Genel olarak incelendiğinde, insan hücrelerinde yaşlanma ve ölüm iki evrede gerçekleşir: M1 evresi; "Mortalite 1 Evresi" olarak adlandırılır. Bu evrede telomerlerin kısalması ile kromozomlar kritik boya ulaşırlar. Kritik nokta Hayflick and Moorhead tarafından "Hayflick Limiti (Proliferasyon Limiti)" olarak adlandırılmıştır. Bu olay hücre döngüsünü durdurur ve yaşlılık programını başlatır. M1 noktası replikatif hayat uzunluğunu temsil eder. Eğer bir hücre bu noktayı atlarsa, özellikle onkogenik transformasyonla telomerleri M2 noktasına kadar kısalırlar. M2 noktası da "kriz noktası" olarak adlandırılır. M2 noktasında büyük hücre ölümü meydana gelir. Bu, zayıflayan telomer fonksiyonuna bağlı olarak kromozom ölümünden dolayı olabilir. Bu krizi aşmak için telomeraz aktivitesine ihtiyaç vardır. Böylelikle telomer uzunluğu ve yapısı yeniden sağlanabilir ve devam ettirilebilir. M2 noktasında ortaya çıkan hücreler sınırsız şekilde bölünebilir. Normal somatik dokular ya da hücreler sadece senesens durumuna ulaşabilirler; yalnızca eşey hücreleri ya da dönüşüm yapabilen hücreler limitsiz hücre bölünme yeteneğine sahiptirler (11). Böylece telomerlerin telomerazın ve telomer proteinlerinin yaşlılık ve kanser mekanizmaları belirleyici ve geçerli modeller olarak kabul edilebilirler.

Simian virüs 40 (SV 40), insan papilomavirüs (HPV), adenovirüs gibi DNA tümör virüsleri ile transformasyon sonucu hücre yaşlanmasının üstesinden gelinebilir. Bir çok durumda, transforme olan hücre kültürleri uzamış bir yaşam döngüsüne sahip olurlar. Tümör virüsleri p53 ve p110RB hücrel tümör baskılayıcı proteinlere bağlanan ve onları inaktive eden proteinlere sahiptirler. Bu bulgu aynı zamanda viral transforme hücrelerin uzun hayat döngüsünün bu moleküllerin inaktivasyonu ile meydana geldiğini belirtmek için iyi bir kanıt oluşturmaktadır. Pek çok ölümsüz hücre, mutasyonlar ve gen delesyonları sonucu p53 ve p110RB bulundurmazlar (12).

#### 4. TELOMERLER ve KANSER

Kanser vakalarında, hücrenin telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi incelendiğinde bazı önemli bulgular elde edilmiştir. Örnek olarak in vivo ortamda tümör oluşumu ve telomeraz aktivitesinin birbiri ile ilintili olduğuna dair ipuçları vardır. İyi huylu tümörlerde telomeraz aktivitesi yoktur ve telomerazları kısaltıkça erken evrelerine geri dönmektedirler. Daha saldırgan seyreden metastatik tümörlerde ise yüksek telomeraz aktivitesi gösterilmiştir. Telomeraz inhibitörü ilaçlar telomerlere karşı etkili ajanlar olarak önerilebilmektedir (1).

##### 4.1. Kanser Tanısında Belirleyici Olarak Telomeraz

Kim ve arkadaşları (1994) hücre ve dokulardaki telomeraz aktivitesinin tayininde kullanılmak üzere TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol-Telomerik Tekrarların Çoğaltılması) yöntemi geliştirmiş ve 24 farklı kanser türünde çalışarak, kanser ile telomeraz ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Bugüne kadar incelenen farklı tip tümörlerin % 85'inden fazlasında telomeraz aktivitesinin tespit edilmesi, ölümsüz hücrelerde telomerazın tekrar aktive olduğunu göstermektedir (13).

TRAP metodunun geliştirilmesi ile dokulardaki telomeraz aktivitesinin belirlenmesi, çok sayıda kanser türünde telomeraz ekspresyonunun araştırılmasını sağlamıştır. Günümüzde çok sayıda tümörde telomeraz ekspresyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu sonuçlar telomerazın en yaygın olarak bilinen kanser belirleyicisi olduğunu göstermektedir. Shay ve Wright'in 1996 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre habis tümörlerin % 85'inin telomeraz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Habis dokularda tespit edilen bu bulgu, telomerazın tanısal kanser için oldukça önemli bir gösterge olduğunu düşündürmektedir (14).

Tüm eşeyssel dokularda telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bununla beraber periferik kan

lökositlerinde ve bazı vücut hücre popülasyonlarında zayıf telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bazı normal dokularda da (% 6) tümörlerde olduğu gibi telomeraz pozitif olarak belirlenmiştir. TRAP metodunun telomeraz aktivitesini tespit etmek için yeterince hassas olması tümörlü olması muhtemel dokuları belirlemeyi de sağlamaktadır. Son dönemlerde gerçekleştirilen bir çalışmada 266 premalignant dokunun 38'inin (% 14) telomeraz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (14).

Kanser teşhisi için standart histopatolojik tekniklerle biyopsi yapılarak tanı konmaktadır. Bu geleneksel yöntemlerin yanı sıra telomeraz aktivitesinin ölçümü oldukça özgün bir gösterge olarak kullanılabilir. Telomerazın en önemli klinik yararı idrar, kan, tükürük gibi vücut sıvılarından tespit edilebilmesidir. Örneğin; kan kanseri için yapılan çeşitli tanılar çok kesin sonuçlar verememektedir. Bu nedenle daha duyarlı belirteçler kan kanserini tespit etmek için önemli bulgular sunmaktadır. Kan kanseri olan bir hastanın idrarından ya da kan hücrelerinden telomeraz aktivitesi belirlenebilir (15).

Beyin tümörlerinin telomerazla ilişkisini araştıran Nakatani ve arkadaşları, normal beyin dokusunda telomeraz aktivitesi saptayamazken habis tümörlerde % 81, metastatik tümörlerde % 100 aktivite tespit etmişlerdir. Telomeraz (+) olan hastaların prognozunun, telomeraz (-) olanlara göre daha kötü, yaşam sürelerinin ise daha kısa olduğunu belirleyen araştırmacılar, telomeraz aktivitesinin beyin tümörlerinin teşhisinde ve prognoz tayininde kullanılabileceğini ileri sürmektedirler (16).

Bednarek ve arkadaşları meme kanserlerinin % 95 (99/104)'ünü, fibroadenomların ise % 20'sinde telomeraz aktivitesi bulmuşlardır. Enzim aktivitesi ile tümörün boyutu, evresi, lenf nodu metastazı, östrojen-progesteron reseptör miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptayamadıklarından, prognoz tayininde güvenilir olmadığını düşünmektedirler (17).

Yoshida ve arkadaşları, mesane doku örneklerinin % 86'sında telomeraz aktivitesini (+) bulurken, tümör evresiyle telomeraz aktivitesi arasında korelasyon saptayamamıştır (18). Tümörlü ve komşu normal dokuları RT-PCR (ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) ile inceleyen Ito ve arkadaşları telomeraz aktivitesiyle hTERT mRNA ekspresyonu arasında belirgin bir ilinti bulunduğunu ve hTERT ekspresyonunun telomeraz aktivitesinin hız sınırlayıcısı olduğunu ileri sürmüşlerdir (19).

Endometrium kanseri, ABD'li kadınlarda sık görülen bir kanser tipi olup, özellikle menapoz sonrası dönemde zirveye çıkmaktadır. Kyo ve arkadaşları endometriumdaki telomeraz aktivitesi ile hücrelerin çoğalma kapasitesinin ilişkili olduğunu ve hTERT ekspresyonunun menstrüel döngü fazlarında karakteristik olarak değiştiğini saptamışlardır (20). Bu nedenle telomeraz aktivitesinin, post menopozal kadınlardaki endometrial kanserin erken dönemde teşhisinde belirleyici olması mümkündür. Ayrıca 2008 yılında Akbay ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada da meme kanseri ve telomer kısalması arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (21).

Over kanserleri, kadın genital sistem tümörleri içerisinde en kötü prognoza sahip olan tümörlerdir. Epitelyal over tümörlerinin ayırıcı tanısının doğru yapılması, özellikle üreme çağındaki kadınların tedavilerinin planlanmasında çok önemlidir.

#### 4.2. Kanser Tedavisinde Telomeraz

Telomeraz enzimleri kanserin tedavisinde iyileştirici etkiye sahiptirler. Kanser, vücutta belirli hücre popülasyonunun kontrolsüz çoğalması ile karakterize bir hastalıktır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar kanserin hücre büyümesinin kontrolü ve hücre çoğalma mekanizmalarını anlamaya yöneliktir. Bu çalışmalar çok sayıda onkogenlerin keşfini sağlamış ve hücre bölünmesi kontrolünün düzensiz mekanizmalar ile meydana geldiği belirlenmiştir. Kanser çalışmalarında sınırsız replikasyon kapasitesi

ya da malignant hücrelerin ölümsüz yapıları üzerine odaklanılmıştır (15).

Somatik hücrelerin sınırlı bölünme potansiyelleri telomerlere bağlıdır. Bu bir tümör baskılayıcı mekanizma olarak düşünülebilir. Ökaryotik canlılar hücre bölünmelerini sınırlandırarak kontrolsüz hücre çoğalmasını denetleyebilirler. Fakat kanser hücreleri bu engeli aşmış ve hücre ölümsüzlüğü başlatabilmek için büyük ve önemli bir yol bulmuşlardır: telomeraz enziminin aktivasyonu. Habis hücrelerin ölümsüz yapılarını hedefleyen tedavi ve tanıya yönelik ilerlemeler diğer uygulamalara nazaran kanser tanısı ve tedavisinde daha etkili bir yöntem olabilmektedir (14,15).

Mc Clintock'un 1941'de yapmış olduğu orijinal çalışmadan beri, telomer yapılarının kromozomal bütünlüğün sağlanması için önemli olduğu bilinmektedir (3). Omurgalılarda telomerazın telomer kaybını dengede tutan bir mekanizma olduğu hakkında bir çok çalışma mevcuttur. Telomerazlar bu nedenle kanser tedavisinde olağanüstü ilgi görmektedir. Telomerazların inhibisyonu kritik önemi olan telomerlerin kısalmasına yol açar; bu kısa kromozomlar kararsızlığa ve hücre ölümüne neden olur. Telomeraz ekspresyonu hücre ölümsüzlük ve hücre farklılaşmanın erken evreleri ile yakından alakalıdır fakat çoğalma oranı ile ilişkili değildir. Diğer bir deyişle, ölümsüz hücreler telomeraz ekspresyonunu düzenler. Bu olay hücre bölünmesinin telomeraz aktivasyonu için önemli olduğunu gösterir (2).

Hızlı bölünen iyi farklılaşmış hücreler genelde telomeraz aktivitesi göstermezler. Bu tip hücreler TRAP metodu ile de belirlenemezler. Yapılan çalışmalarda telomeraz inhibisyonunun habis hücreler için rastgele ve çoğalmış hücrelere etki yapan geleneksel kanser tedavilerine göre daha etkili bir uygulama olduğu gösterilmektedir (15).

Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalarda telomerlerde G4-DNA (G-kuadrupleks veya G-tetrad)

adı verilen yapıların varlığı bulunmuştur. G4-DNA, guanince zengin diziler olup, guaninlerin oluşturduğu dört zincirli bir yapıyı ifade etmektedir. G-4 DNA'yı kararlı hale getirebilen, bunu yaparken telomeraz enziminin telomere ulaşmasını engelleyen ve telomeraz aktivitesini durdurabilen bileşikler de kanser terapisi için umut ışığı olmaktadır (5).

#### 4.2.1. Telomeraz İnhibitörlerinin Kanser Tedavisindeki Yeri

Henüz spesifik inhibitörleri bulunmamış olmakla beraber, telomerazın DNA ile bağlantısını sağlayan kısmın bloke edilmesi kanser tedavisinde yeni bir umut kaynağı olarak düşünülmektedir. Telomeraz inhibitörleri, dirençli kanser hücrelerinin yeniden çoğalmasını önlemek için diğer tedavilerle bir arada veya onları takiben kullanılabilir. Tümöre özel olan ilk tedavi şekli olmakla birlikte, özellikle telomeraz aktivitesi gösteren hücrelerde (hematopoetik hücreler, üreme hücreleri, aktive T ve B lenfositler, proliferatif hücreler) yan etkileri görülebilir (14, 15).

## 5. SONUÇ

### 5.1. Yaşlanma ve Telomeraz

Telomer-yaşlanma ilişkisinin tam olarak açıklığa kavuşabilmesi için çok sayıda yeni araştırmaya ihtiyaç vardır. Hatırı sayılır bir ilerlemeye karşın alınacak yol epeyce uzundur. Cevaplanması gereken üç önemli soru bulunmaktadır:

1. Transplantasyon yapılmış dokularda, telomerazın dışarıdan ekspresyonu ile yaşlanma önenebilir mi?

2. Telomeraz ekspresyonu, transplantasyon yapılmış dokularda hassas onkogenik değişikliklerin oluşma olasılığını artırabilir mi?

3. Telomer artışı yapay olarak sağlanırsa ne olur?

Telomeraz aktivitesi, TTAGGG tekrarlarının normal insan kromozomlarının ucuna eklenmesi ile gerçekleşir. Hücrelere yapay olarak telomer eklenmesi

ile büyüme potansiyelinde çok büyük artışlar gözlenmiştir. İnsan primer hücrelerinin kullanıldığı deneylerde, belli sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanmanın görüldüğü fakat telomeraz pozitif olan hücrelerde, yaşlanma özelliğinin ortadan kalktığı ve bölünmeye devam ettiği görülmüştür. Bazı hücre hatları, normal yaşlanma noktalarından sonra 20 popülasyon boyunca incelenmiş ve sadece büyümelerine devam etmekle kalmadıkları, aynı zamanda normal bir karyotip ve genç bir morfoloji gösterdikleri görülmüştür. Retinal epitelyal hücreler, fibroblastlar gibi farklı hücre tiplerinde yapılan deneyler de benzer sonuçlar vermiş ve telomer kısalmasının insan hücrelerinin ömür uzunluğunun kısalmasında evrensel bir rol oynadığı doğrulanmıştır. Telomeraz holoenziminin katalitik alt ünitesi olan hTERT'nin ekspresyonunun insan hücrelerinin sonsuz sayıda çoğalmasını sağlayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, hTERT'nin ekspresyonuna izin veren retinal pigment epiteli hücreleri ve fibroblastlar üzerinde yapılan çalışmalarda yaşlanmanın, telomerlerin tükenme noktaları olan kriz aşamalarında atlatıldığı gözlenmiştir (2, 6, 14).

Telomer uzunluğu artırılarak sonsuz gençliğe ve canlılığa sahip olunabilir mi? Yapılan son çalışmalar, hücre içindeki telomeraz miktarının yapay olarak artırılması ile yaşlanmanın tersine çevrilebileceğini göstermiştir. Kültüre edilmiş insan hücrelerindeki telomeraz genlerini klonlayan araştırmacılar; 1000 baz çifti uzayan telomerlerle hücrenin, yaşlanma noktasından sonra bile bölünmeye devam ettiğini göstermişlerdir. Fakat böyle bir işlemin yüksek oranda kanser riski taşıdığını da belirtmek gerekir (1, 2).

### 5.2. Kanser ve Telomeraz

Farklı kanser tiplerinde yapılan çalışmalar, telomeraz aktivitesinin tanısal bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Küçük miktardaki örneklerin ve vücut sıvılarının (idrar örnekleri, plevra/ bronko alveoler lavaj sıvıları, asit sıvısı, pelvik/periton yıkama sıvıları) bu yöntemle incelenebilmesi,

telomerazın belirteç olarak kullanım değerini arttırmaktadır.

Telomeraz inhibisyonu ile özellikle kısa telomerli tümör hücrelerinde yaşam süresinin kısalması, ölümsüzleşmede ve kanser gelişiminde telomeraz reaktivasyonunun rol aldığını desteklemektedir. Ancak bazı insan tümörleri ve ölümsüz hücre serilerinin, telomeraz aktivitesi göstermemelerine rağmen uzun telomere sahip olmaları, telomer uzamasını sağlayan alternatif mekanizmaların

bulunduğunu düşündürmektedir. İnsan telomerazının alt birimlerinin klonlanması, telomeraz aktivitesini düzenleyen genlerin keşfedilmesi ve telomerazın dışında ölümsüzleşmeye yol açan diğer mekanizmaların aydınlatılmasıyla, gerontolojide ve kanser tedavisinde sürpriz gelişmelerin olması beklenmektedir (1, 2, 9).

Tüm bu bilgiler ışığında, kromozomların 'mutlu sonlarını' oluşturan bu yapıların insanlık için de mutlu bir geleceğe imza atabilecek potansiyele sahip olduklarını söylemek yerinde olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Atlı K, Bozcuk AN. Telomerler ve Hücrel Yaşlanma. Geriatri 2002; 5: 111-4.
2. Blasco MA. Telomeres and Human Disease: Aging, Cancer and Beyond. Nature Reviews: Genetics 2005; 6: 611-22.
3. Mc Clintock B. The Stability of Broken Ends of Chromosomes in Zea mays. Genetics 1941; 41: 234-82.
4. Blackburn E. Structure and Function of Telomeres. Nature 1991; 350: 569-72.
5. Smith JS, Johnson FB. Isolation of G-Quadruplex DNA Using NMM-Sepharose Affinity Chromatography. In Baumann P. (eds), G-Quadruplex DNA: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 608 DOI 10.1007/978-1-59745-363-9\_13, Humana Press; 2010.
6. Murray A. All's Well That Ends Well. Nature 1990; 797-8.
7. Olovnikov A. Theory of Marginotomy. J. Theor. Biol. 1973; 41:181-90.
8. Morin GB. Telomere Control of Replicative Lifespan. Exp Gerontol 1997; 32: 375-82.
9. Dikmen G, Doğan P. Telomeraz ve Kanser. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci. 2003; 23: 334-41.
10. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres Shorten During Ageing of Human Fibroblasts. Nature 1990; 345: 458-60.
11. Hayflick L, Moorhead PS. The Serial Cultivation of Human Telomerase Activity Diploid Cell Strains. Exp Cell Res 1961; 25: 585-621.
12. Bryan TM, Reddel RR. Telomere Dynamics and Telomerase Activity in In vivo Immortalised Human Cells. Europ J Canc 1997; 33(5): 767-73.
13. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer. Science 1994; 266: 2011-5.
14. Shay JW, Wright WE. Telomerase Activity in Human Cancer. Curr Opin Oncol 1996; 8(1): 66-71.
15. Kim NW. Clinical Implications of Telomerase in Cancer. Europ J Canc 1997; 33(5): 781-6.
16. Nakatani K, Yoshimi N, Mori H, Yoshimura S, Sakai H, Shinoda J, Sakai N. The significant role of Telomerase Activity in Human Brain Tumors. Cancer 1997; 80(3): 471-6.
17. Bednarek AK, Sahin A, Brenner AJ, Johnston DA, Aldaz CM. Analysis of Telomerase activity levels in Breast Cancer. Clin Canc Resear 1997; 3(1): 11-6.
18. Yoshida K, Sugino T, Tahara H, Woodman A, Bolodeoku J, Nargund V. Telomerase activity in Bladder Carcinoma and its implication for noninvasive diagnosis by detection of exfoliated cancer cells in urine. Cancer 1997; 79: 362-9.
19. Ito H, Kyo S, Kanaya T, Takakura M, Koshida K, Namiki M, Inoue M. Cancer Research Detection of Human Telomerase Reverse Transcriptase Messenger RNA in Voided Urine Samples as A Useful Diagnostic Tool for Bladder Cancer. Clin Canc Resear 1998; 4(11): 2807-10.
20. Kyo S, Takakura M, Kohama T, Inoue M. Telomerase Activity in Human Endometrium. Canc Resear 1997; 57: 610-4.
21. Akbay, E., Contreras, C.M, Perera, S.A., Sullivan, J.P, Broaddus, R.R., Schorge, J.O., Raheela A., Saboorian, H., Wong, K.K, Castrillon, H.D. Differential Roles of Telomere Attrition in Type I and II Endometrial Carcinogenesis. Am J Pathol 2008;173: 536-44.





## YAZAR DİZİNİ &amp; AUTHOR INDEX

<b>A</b>		<b>İ</b>	
AKIN L. ....;	3/123	İNÇİ M. ....;	2/59
AKSARAY S. ....;	2/35	<b>K</b>	
AKSEBZECİ A.T. ....;	2/59	KALA E. ....;	4/145
ALACADAĞLI E. ....;	3/123	KARAASLAN E. Ö. ....;	2/49
ALİM A. ....;	3/101	KARABİBER N. ....;	1/1-3/89,117
ALPUĞUZ G. ....;	3/107	KARTAL B. ....;	2/59
ARABACI F. ....;	4/161	KAYNAR P. ....;	4/177
ARAZ E. ....;	1/25	KILIÇ M. ....;	2/49-4/169
ARAS S. ....;	4/187	KILIÇ S. ....;	1/15
ATA EREN P. ....;	3/133	KOENHEMSİ L. ....;	3/95
ATAŞ A.D. ....;	3/101	<b>M</b>	
ATAŞ M. ....;	3/101	MALATYALI E. ....;	1/7
ATEŞ A. ....;	2/35	MERT DİNÇ B. ....;	1/1-3/89,117
ATAY M. ....;	2/49-4/169	MUTLUER B. ....;	3/107
AYDIN M. ....;	2/49	<b>O</b>	
AYDIN TUTAK G. ....;	1/21	OĞUZKAYA ARTAN M. ....;	3/101
AYKUT ARCA E. ....;	1/1-3/89,117	OĞUZTÜZÜN S. ....;	2/49-4/169
AYTEKİN M. ....;	3/123	OLDACAY M. ....;	4/161
<b>B</b>		OR E. ....;	3/95
BABÜR C. ....;	1/7	<b>Ö</b>	
BARANI. ....;	2/35	ÖNAL A.E. ....;	2/73
<b>C</b>		ÖZÇELİK S. ....;	1/7
CANSARAN DUMAN D. ....;	4/153,187	ÖZGEN Z. ....;	1/21
CEVİZCİ S. ....;	2/73	ÖZHAVZALI M. ....;	2/49-4/169
CEYHAN İ. ....;	2/83	ÖZTÜRK L. ....;	4/169
<b>Ç</b>		<b>S</b>	
ÇAKMAKZ.A. ....;	2/49	SAFİ ÖZ Z. ....;	1/29
ÇELEBİ B. ....;	3/95	SECCOMBE D.W. ....;	3/123
ÇITAK S. ....;	4/145	SELVİ M. ....;	3/107
<b>D</b>		<b>T</b>	
DANIŞMAZO. ....;	1/15	TANYÜKSEL M. ....;	1/25
<b>E</b>		TAŞTABAN S. ....;	1/15
EMİROĞLU M. ....;	2/59	TATMAN OTKUN M. ....;	1/21
ERDEM S. ....;	3/133	TAYLAN ÖZKAN A. ....;	1/15-3/95,123
ERDEM Y. ....;	2/59	TOYRAN A. ....;	2/35
ERDEN G. ....;	2/67	<b>Y</b>	
ERDOĞAN S. ....;	2/67	YAĞCI S. ....;	3/117
ERKOÇ F. ....;	3/107	YAĞCI ÇAĞLAYIK D. ....;	2/83
ESEN B. ....;	1/15	YAĞMUR G. ....;	2/59
<b>G</b>		YAZICI GÖKBULUT Z. ....;	4/169
GÖNÜL R. ....;	3/95	YENİCESU M. ....;	1/25
GÜÇLÜ KILBAŞ Z. ....;	1/25	YILDIRIMKAYA M.M. ....;	2/67
GÜÇLÜTÜRK Ü. ....;	4/169	YILMAZ E. ....;	2/49
GÜLŞEN E. ....;	1/21	YIRTICI Ü. ....;	2/49-4/169
GÜNDOĞAN N. ....;	4/145		
GÜNERİ YILDIZ M. ....;	4/187		
GÜNEŞ T. ....;	3/101		
GÜRSOY N. ....;	1/7		
GÜVENER E. ....;	2/35		



## YILLIK DİZİN / ANNUAL INDEX

## Sayı: 1 Cilt: 66 Yıl: 2009

1.	Ebru AYKUT ARCA, Bedia MERT DİNÇ, Nihal KARABİBER Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Kliniklere Dağılımı	1-5
2.	Erdoğan MALATYALI, Semra ÖZÇELİK, Nevcihan GÜRSOY Kekik ( <i>Thymus Vulgaris</i> ), Kimyon ( <i>Cuminum Cyminum</i> ) ve Mersin ( <i>Myrtus Communis</i> ) Bitkilerinden Elde Edilen Yağların <i>in vitro</i> Antileishmanial Etkileri	7-13
3.	Cahit BABÜR, Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Selçuk KILIÇ, Saadet TAŞTABAN, Orhan DANIŞMAZ, Berrin ESEN Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Parazitoloji Laboratuvarında 2000-2004 Yıllarında Saptanan Barsak Parazitlerinin Değerlendirilmesi	15-19
4.	Müşerref TATMAN OTKUN, Gülten AYDIN TUTAK, Emrah GÜLŞEN, Zeren ÖZGEN <i>Campylobacter fetus</i> spp. <i>fetus</i> 'a Bağlı Bakteriyemi Olgusu ve Laboratuvar Tanıda Gram Boyamanın Önemi	21-24
5.	Zeynep GÜÇLÜ KILBAŞ, Müjdat YENİCESU, Engin ARAZ, Mehmet TANYÜKSEL Renal Transplantlı Bir Hastada <i>Cyclospora cayetanensis</i> Enfeksiyonu	25-27
6.	Zehra SAFİ ÖZ <i>Trichomanas vaginalis</i> 'in Fagositik Aktivitesi	29-34

## Sayı: 2 Cilt: 66 Yıl: 2009

1.	Irmak BARAN, Aşkın ATEŞ, Sebahat AKSARAY, Alparslan TOYRAN, Engin GÜVENER İleri Dönem Romatoid Artrit (Ra) Hastalarında Anti-Siklik Sitrülinlenmiş Peptid (Anti-CCP) Antikorumun Hastalık Aktivitesi İle İlişkisi ve Prognostik Değeri	35-47
2.	Serpil OĞUZTÜZÜN, Mehtap AYDIN, Z.Aytül ÇAKMAK, Murat KILIÇ, Ümit YIRTICI, Meral ATAY, Müzeyyen ÖZHAVZALI, Erdal YILMAZ, Emine Ö.KARAASLAN Endüstriyel Kimyasallara Maruz Kalan İşçilerde Mesane ve Akciğer Kanseri Oranlarının Sitolojik İncelemeyle Değerlendirilmesi	49-57
3.	Melek İNCİ, Ayşe Tülin AKSEBZECİ, Gülhan YAĞMUR, Bedriye KARTAL, Marziye EMİROĞLU, Yeşim ERDEM Hastane Çalışanlarında HBV, HCV ve HIV Seropozitifliğinin Araştırılması	59-66
4.	Serpil ERDOĞAN, Gönül ERDEN, M. Metin YILDIRIMKAYA 18-60 Yaş Arası Türklerde Elecsys 2010 İnsülin Testinin Referans Aralığının Belirlenmesi	67-72
5.	Sibel CEVİZCİ, Ayşe Emel ÖNAL Halk Sağlığı Açısından Hijyen ve İyi Üretim Uygulamaları	73-82
6.	Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İsmail CEYHAN Enfeksiyöz Maddelerin Hava Yoluyla Uluslararası Taşınması	83-88

## Sayı: 3 Cilt: 66 Yıl: 2009

1.	Bedia MERT DİNÇ, Nihal KARABİBER, Ebru AYKUT ARCA Klinik Örneklerden İzole Edilen Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus Aureus</i> (MRSA) İzolatlarında Makrolid - Linkozamid - Streptogramin B Direnci ve Fusidik Asit Duyarlılığı	89-94
2.	Bekir ÇELEBİ, Lora KOENHEMSİ, Aysegül TAYLAN ÖZKAN, Remzi GÖNÜL, Erman OR <i>Bartonella vinsoni subsp. berkhoffi</i> 'nin Kan Kültürü İle İstanbul'daki Barınak Köpeklerinde Taranması	95-99
3.	Ahmet ALİM, Müge OĞUZKAYA ARTAN, Ahmet D. ATAŞ, Turabi GÜNEŞ, Mehmet ATAŞ Sivas Belediyesi Temizlik İşçilerinde HBV, HCV ve HIV Seroprevalansı	101-105
4.	Gamze ALPUĞUZ, Figen ERKOÇ, Bülent MUTLUER, Meryem SELVİ Gençlerin (14-24 Yaş) Gıda Hijyeni ve Ambalajlı Gıdaların Tüketimi Konusundaki Bilgi ve Davranışlarının İncelenmesi	107-115
5.	Bedia MERT DİNÇ, Ebru AYKUT ARCA, Serap YAĞCI, Nihal KARABİBER Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Enterococcus Faecalis</i> ve <i>Enterococcus Faecium</i> Suşlarında İn-Vitro Antibiyotik Duyarlılığı	117-121
6.	Müjdat AYTEKİN, Esmeray ALACADAĞLI, Lütfi AKIN, Aysegül TAYLAN ÖZKAN, David W. SECCOMBE Ulusal Bir Dış Kalite Kontrol Programına Olan İhtiyaç ve Ülkemiz Şartları	123-131
7.	Solmaz ERDEM, Pınar ATA EREN Tedavi Amacıyla Kullanılan Bitkiler ve Bitkisel Ürünlerin Yan Etkileri	133-141

## Sayı: 4 Cilt: 66 Yıl: 2009

1.	Sumru ÇITAK, Neslihan GÜNDOĞAN, Erol KALA Ankara İlindeki Dondurulmuş Et ve Sebzelere Koliform ve Enterokokların Fekal İndikatör Bakteri Olarak Değerlendirilmesi	145-151
2.	Demet CANSARAN DUMAN Türkiye'de Bazı Liken Türlerindeki Usnik Asitin Hplc Yöntemi ile Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri	153-160
3.	Filiz ARABACI, Mehmet OLDACAY Çanakkale İlinde Farklı Diyaliz Merkezlerinde Tedavi Gören Hastalarda Hepatit B, C Seroprevalansı ve Hepatit Kronikleşme Oranları	161-167
4.	Serpil OĞUZTÜZÜN, Murat KILIÇ, Meral ATAY, Ükü GÜÇLÜTÜRK, Latif ÖZTÜRK, Zuhai YAZICI GÖKBULUT, Müzeyyen ÖZHAYZALI, Ümit YIRTICI Üriner Şikâyeti Olan Hastalarda İdrar Sitopatolojisi ile Mesane Kanseri Araştırılması	169-176
5.	Pınar KAYNAR Genetik Olarak Değiştirilmiş Organizmalar (GDO)'A Genel Bir Bakış	177-185
6.	Merve GÜNERİ YILDIZ, Sümer ARAS, Demet CANSARAN DUMAN Telomerlerin Yaşlanma Ve Kansere İlişkisindeki Rolü	187-195

## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

REFİK SAYDAM HYGIENE CENTER

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology Publishing Agreement Form

.../.../20..

Makale Türü/Article Type: (...)Araştırma/Research (...)Derleme/Review (...)Olgu/Case  
Makale Başlığı/Article Entitled:.....

Sayın Editör,

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

Bu çalışmanın:

1. Bilimsel, etik ve hukuki sorumluluğunun bize ait olduğunu,
2. Daha önce yurt içinde veya yurt dışında Türkçe veya yabancı bir dilde yayınlanmadığını,
3. Başka bir yayın organına yayınlanmak üzere gönderilmediğini,
4. Yayın için kabulü halinde tüm 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 legally,
2. The article is not currently being considered for publication by any other journal and will not be submitted for such review while under evaluation by this bulletin,
3. The article contains no libellous or other 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: 1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz.  
2. Formu aşağıdaki adrese faks/posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz.

- Note: 1. Please indicate the corresponding author with (X).  
2. Please send this form to the address below by faks or mail, or deliver personally.

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 06100 Sıhhiye-ANKARA  
Tel/Phone: 0312 458 23 64 Faks/Fax: 0312 458 24 08 e-posta/e-mail: turkhijyen@rshm.gov.tr



