

## Genç erişkinlerde yeme bağımlılığı ile dürtüsellik arasındaki ilişkinin incelenmesi

Atilla TEKİN<sup>1</sup>, Ayşegül YETKİN<sup>1</sup>, Çağla GÜRSOY<sup>2</sup>

Öz	Yayın Bilgisi
<p>Bu çalışmanın amacı, genç erişkinlerde, yeme bağımlılığı ile dürtüsellik arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Kesitsel ve tanımlayıcı nitelikteki bu çalışmanın örneklemini, İstanbul ilindeki vakıf üniversitelerinde 2018 yılı itibarıyla eğitime devam eden 300 üniversite öğrencisi oluşturdu. Her bir katılımcı, sosyodemografik veri formu ile beraber, Yale Yeme Bağımlılığı Ölçeği (YYBÖ) ile 30 maddelik Barrat Dürtüsellik Ölçeği'ni (BIS-11) doldurdu. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Katılımcıların %21,7'sinde (n=65) yeme bağımlılığı saptandı. Yeme bağımlısı olan bireylerin BIS-11 motor dürtüsellik alt ölçek skoru ile BIS-11 toplam skorları, yeme bağımlısı olmayan bireylere göre yüksek saptandı (sırasıyla, p=0,007 ve p=0,029). Regresyon analizi sonucuna göre, BIS-11 toplam skoru yeme bağımlılığı için bir yordayıcı olarak saptandı (or=1,04, p=0,030). Yeme bağımlısı bireylerde dürtüsellik bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir.</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Bağımlılık, dikkat, dürtüsellik, genç erişkin, yeme</p>	<p>Gönderi Tarihi:18.04.2018</p> <p>Kabul Tarihi:22.06.2018</p> <p>Online Yayın Tarihi:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.416562</p> <p><b>Sorumlu Yazar</b></p> <p>Atilla TEKİN</p>

## Evaluation of the relationship between food addiction and impulsivity among young adults

Atilla TEKİN<sup>1</sup>, Ayşegül YETKİN<sup>1</sup>, Çağla GÜRSOY<sup>2</sup>

Abstract	Article Info
<p>The aim of this study was to investigate the relationship between food addiction and impulsivity in individuals young adults. 300 university students who continuing to their education on 2018 were included in this cross-sectional and descriptive study. Each participants fulfilled Yale Food Addiction Scale (YFAS), 30-item Barrat Impulsivity Scale (BIS-11) and a sociodemographic form. The SPSS 22.0 package program was used to statistical analyses of the datas. The prevalence of food addiction was found %21,7 (n=65) in participants. BIS-11 motor impulsivity subscale and BIS-11 total scores were higher in participants with food addiction than those without food addiction (p=0,007 and p=0,029, respectively). According to the result of regression analysis, BIS-11 total score was found as a predictor for food addiction (or=1,04, p=0,030). Impulsivity may be considered as a risk factor for individuals with food addiction.</p> <p><b>Keywords:</b> Dependence, attention, impulsivity, young adult, food</p>	<p>Received:18.04.2018</p> <p>Accepted:22.06.2018</p> <p>Online Published:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.416562</p> <p><b>Corresponding Author</b></p> <p>Atilla TEKİN</p>

<sup>1</sup> Haliç Üniversitesi, Psikoloji Bölümü, İstanbul

<sup>2</sup> Serbest Klinik Psikolog, İstanbul

## GİRİŞ

Son yıllarda farklı bir bağımlılık tipi olarak tanımlanan yeme bağımlılığı, birçok çalışma için önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Özellikle yüksek kalorili ve glukoz içeriği fazla olan yiyeceklerin, aşırma belirtilerine sebep olduklarının gözlenmesi ile yeme davranışı ve

yeme bağımlılığı daha çok araştırılmaya başlanmıştır.<sup>1,2</sup> Yeme bağımlılığı, yüksek kalorili ve glukozdan zengin “aşırı lezzetli” bazı besinlerin yoğun ve anormal tüketimi olarak tanımlanmıştır. Bazı çalışmalar, yeme bağımlılığı olan bireylerin yeme davranışını kontrol edebilmekte zorluk yaşadıklarını bildirmiştir.<sup>3</sup>

Yakın zamanda madde bağımlılığı tanı ölçütlerine göre geliştirilmiş özdeğerlendirme ölçekleri ile yeme bağımlılığı için risk taşıyan bireyler tanımlanmaya başlamıştır.<sup>3,4</sup> Yeme bağımlılığının madde bağımlılığı tanı ölçütlerine göre tanımlanmasının önemli sebeplerinden birisi, bazı yiyeceklerin santral sinir sisteminde tıpkı psikoaktif maddeler gibi etki göstermesidir. Çikolata gibi bazı yiyeceklerin santral sinir sistemindeki mezolimbik yolda (ödül yolağı) dopamin salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, bağımlılık yapabildiği düşünülen yiyeceklerin insula, orbitofrontal korteks ve singulat korteks gibi madde bağımlılığında da önemli role sahip nöroanatomi bölgelede aktivasyonu arttırdığı saptanmıştır.<sup>5-7</sup>

Bazı davranışların olumsuz sonuçlarına rağmen davranış üzerindeki kontrolün sağlanamaması, içsel veya dışsal uyarana dair bilgi işleme tamamlanmadan eyleme geçilmesi dürtüsellik olarak tanımlanmaktadır.<sup>8</sup> Birçok çalışmada bağımlılık ile dürtüsellik arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Özellikle madde bağımlılarında karar verme mekanizması ile madde kullanımı üzerindeki dürtü inhibisyonunun bozuk olduğu gösterilmiştir. Daha dürtüsel bireylerde, özellikle kompulsif madde kullanımının fazla olduğu bildirilmiştir.<sup>9,10</sup> Literatürde madde bağımlılığı ile dürtüsellik ilişkisini araştırmış çok sayıda yayın mevcuttur.<sup>11,12,13</sup> Ancak yeme bağımlılığı ile dürtüsellik ilişkisi henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, genç

erişkinlerde yeme bağımlılığı ile dürtüsellik arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışmanın örneklemini evreni belli örneklem hesabına göre, %95 güven aralığı ve %5 hata payı dikkate alınarak hesaplanmıştır. Buna göre, çalışmanın örneklemini, 2018 yılında İstanbul'daki vakıf üniversitelerinde eğitimine devam eden 300 üniversite öğrencisi oluşturmuştur. Çalışmanın amacı tüm katılımcılarına yazılı olarak bildirildi. Gönüllü her bir katılımcı bilgilendirilmiş onam formunu imzaladı. Çalışmaya ağır ruhsal hastalığı (bipolar bozukluk, şizofreni, alkol veya madde kullanım bozukluğu) olanlar, halen psikotrop ilaç kullananlar dahil edilmedi. Çalışmanın etik kurul onayı, Haliç Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 24.04.2017 tarih ve 100 sayılı kararı ile alınmıştır.

### Veri Toplama Araçları

*Sosyodemografik Veri Formu:* Katılımcıların yaş, cinsiyet, tıbbi hastalık öyküsü gibi kişisel bilgilerini içermektedir.

*Yale Yeme Bağımlılığı Ölçeği:* Gearhardt ve arkadaşları tarafından, DSM-IV-TR madde bağımlılığı tanı kriterlerini göz önüne alarak geliştirilmiştir.<sup>14</sup> Bayraktar ve arkadaşları tarafından Türkçe'ye uyarlanmıştır.<sup>15</sup> Yeme Bağımlılığı Ölçeği için yapılan güvenilirlik analizinde ölçeğin Cronbach's Alfa değeri 0,93 bulunmuştur. Ölçek 27 sorudan oluşmaktadır.

Yeme bağımlılığı tanısı için 7 tanısal ölçütten en az 3 tanesinin karşılanmasına ek olarak klinik anlamlılığın olması gerekmektedir. Klinik anlamlılık, bireyin yeme davranışının olumsuz sonuçlarını tarif etmesi ve olumsuz sonuçlarına rağmen yeme davranışını denetlemekte yeterince başarılı olamaması olarak tanımlanır.

*Barrat Dürtüsellik Ölçeği (BIS-11):* 30 maddeden oluşan likert tipi bir ölçektir.<sup>16</sup> Dikkatle ilişkili dürtüsellik, plan yapamama ile ilişkili dürtüsellik ve motor dürtüsellik olmak üzere 3 alt boyutu vardır. Ölçekten alınacak toplam puanın yüksekliği ne kadar fazla ise uygulayıcının dürtüsellik düzeyi o kadar yüksektir. Katılımcının dikkat puanının yüksekliği kişinin daha dikkatsiz davranışlarda bulunduğunu, motor puanının yüksekliği motor hareketlilikteki artışı, plansızlık puanının yüksekliği yaşamı planlamasındaki istikrarsızlık ve plan yapamamaya işaretler. Güleç ve arkadaşları tarafından Barrat Dürtüsellik Ölçeği-11'in Türkçe geçerlilik ve güvenilirlik çalışması yapılmıştır.<sup>17</sup>

### ***İstatistiksel Analiz***

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Veriler sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak hesaplandı. Sürekli değişkenlerin normallik dağılımı Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi. Sürekli değişkenler, normal dağılıma uyduğu için verilerin analizinde parametrik testler kullanıldı. Gruplar arasında kategorik değişkenler Chi-

Square testi ile, sürekli değişkenler t-testi kullanılarak karşılaştırıldı. Yeme bağımlılığının olası yordayıcılarını saptamak için ileriye doğru aşamalı regresyon analizi kullanıldı. Elde edilen bulgular %95 güven aralığında, %5 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

### **BULGULAR**

Katılımcıların yaş ortalaması 21,17±1,76 yıl olarak saptandı. Katılımcıların yarısı kadın (n=150) ve yarısı erkeklerden (n=150) oluşmuştur. YYBÖ verilerine göre, yeme bağımlılığı oranı %21,7 (n=65) olarak saptandı. Kadın (%22, n=33) ve erkek (%21,3, n=32) cinsiyetler arasında yeme bağımlılığı oranı açısından istatistiksel fark saptanmadı (p=0,05).

Yeme bağımlılığı olan bireylerin BIS-11 motor dürtüsellik alt ölçek skoru ile BIS-11 total skoru, yeme bağımlılığı olmayan bireylere göre istatistiksel olarak yüksek saptandı (p=0,07 ve p=0,029). Yeme bağımlılığı olan ve olmayan bireylerde, BIS-11 dikkatle ilişkili dürtüsellik ve plan yapamama ile ilişkili dürtüsellik alt ölçek skorları açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı (p=0,05 ve p=0,59) (Tablo 1).

Yeme bağımlılığı yordayıcılarını saptamak amacıyla oluşturulan regresyon modeline cinsiyet (gölge değişken olarak dahil edildi), BIS-11 dikkat ile ilişkili dürtüsellik, BIS-11 motor dürtüsellik, BIS-11 plan yapamama ile ilişkili dürtüsellik ve BIS-11 toplam skorları dahil edildi. Oluşturulan regresyon modelinin,

yeme bağımlılığı tanısı için toplam etki oranının %22,9 olduğu saptandı. İleriye doğru aşamalı regresyon analizi sonucuna göre sadece BIS-11 motor dürtüsellik toplam skoru yeme bağımlılığı için bir yordayıcı olarak saptandı (or=1,04, p=0,030) (Tablo 2).

Bu çalışmanın en önemli bulguları, genç yetişkinlerin önemli bir kısmında yeme bağımlılığı olması ve yeme bağımlılığı olan bireylerde motor dürtüsellik ve dürtüsellik toplam skorlarının daha yüksek olmasıdır.

Son yıllarda yeme bağımlılığı yaygınlığını araştıran birçok çalışmanın verileri yayımlanmıştır. Yakın zamanda Türk toplumunda yapılan bir çalışmanın bulgularına göre, üniversite öğrencilerinde yeme bağımlılığı oranı %11,4 olarak saptanmıştır.<sup>18</sup> Türk toplumunda yapılmış başka bir çalışmada, yetişkinlerde yeme bağımlılığı oranı %11 olarak bildirilmiştir.<sup>19</sup> Başka toplumlarda yapılan çalışmalarda da farklı yeme bağımlılığı yaygınlığı farklı oranlarda saptanmıştır. Brunault ve arkadaşları, klinik olmayan bir örnekleme yeme bağımlılığı yaygınlığını %7,2 olarak saptamıştır.<sup>20</sup> Sağlıklı bireylerin oluşturduğu bir örnekleme yeme bağımlılığı oranının %16,9 olarak bildirilmiştir.<sup>21</sup> Amerika'da sağlıklı gönüllülerle yapılan bir çalışmanın bulgularına göre, katılımcıların %25,7'si yeme bağımlılığı tanı ölçütlerini karşılamaktadır.<sup>22</sup> Almanya'da üniversite öğrencileri ile yapılan bir araştırmada ise, yeme bağımlılığı yaygınlığı %7,8 olarak

saptanmıştır.<sup>23</sup> Bu çalışmanın bulgularına göre ise, üniversite öğrencilerinden oluşan örnekleme yeme bağımlılığı yaygınlığı %21,7'dir. Literatürden elde edilen verilere göre, yeme bağımlılığı oranı geniş bir yelpazede yaygınlık göstermektedir. Çalışmalarda farklı yaygınlık oranlarının elde edilmesi, çalışmaların kesitsel özellikte olması ve çalışma örneklemlerinin farklı özelliklere sahip olmaları ile açıklanabilir. Ayrıca yeme bağımlılığı tanısının bir özdeğerlendirme ölçeği ile konulması, katılımcıların öznel yanıtları sebebiyle farklı yaygınlık oranlarının elde edilmesine sebep olabilir.

Bu çalışmanın bulgularına göre, cinsiyetler arasında yeme bağımlılığı yaygınlığı farklılık göstermemiştir. Gearhardt ve arkadaşları, genel popülasyonda yeme bağımlılığı yaygınlığının cinsiyetler arasında farklılıklar göstermediğini bildirmiştir.<sup>24</sup> Amerikan toplumunda yapılmış bir araştırmanın sonuçları da yeme bağımlılığı yaygınlığının cinsiyetler arasında fark göstermediğini ortaya koymuştur.<sup>25</sup> Ancak özellikle kadınlarda yeme bağımlılığı yaygınlığının daha fazla olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur. Türk toplumunda yapılan bir araştırmanın bulgularına göre, cinsiyetler arasında yeme bağımlılığı yaygınlığı açısından fark saptanmamıştır.<sup>18</sup> Flint ve arkadaşları, yeme bağımlılığı yaygınlığının kadınlarda daha fazla olduğunu bildirmiştir.<sup>26</sup> Literatürde cinsiyetler arasında yeme bağımlılığı yaygınlığının farklı

sonuçlar göstermiş olması, çalışmaların kesitsel özellikte olması ile açıklanabilir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmanın önemli bulgularından biri de, yeme bağımlısı bireylerin motor dürtüsellik ve dürtüsellik toplam puanlarının yeme bağımlısı olmayan bireylere göre daha yüksek olmasıdır. Ayrıca bu çalışmada, dürtüsellik toplam skoru yeme bağımlılığı için yordayıcı olarak saptanmıştır. Her ne kadar literatürde madde bağımlılığı ile dürtüsellik arasındaki ilişkiyi bildiren çok sayıda çalışma olsa da, yeme bağımlılığı ile dürtüsellik arasındaki ilişkiye dair bilgiler oldukça sınırlıdır. Bariatrik cerrahi aday bireylerde yapılan bir araştırma, dürtüsellik total skorları ile yeme bağımlılığı arasında ilişki olduğunu göstermiştir.<sup>27</sup> Meule ve arkadaşları, obez bireylerde dikkatle ilişkili dürtüsellik ve motor dürtüsellik yeme bağımlılığını birlikte yordadığını bildirmiştir.<sup>28</sup> Mevcut bulgular göz önünde bulundurulduğunda, dürtüsellik yeme bağımlılığı ile pozitif yönlü bir ilişkisi olduğu söylenebilir.

Bu çalışmanın birtakım kısıtlılıkları mevcuttur. Araştırmanın kesitsel nitelikte olması, değişkenler arasında kesin olarak bir sebep-sonuç ilişkisi olduğunu göstermez. Bir diğer kısıtlılık, yeme bağımlılığı başta olmak üzere elde edilen bilgilerin özdeğerlendirme ölçekleri ile elde edilmesidir. Elde edilen bilgiler, katılımcıların öznel bildirimleri ile sınırlıdır.

Gelecekte, klinik değerlendirme esas alınarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

## SONUÇ

Yeme bağımlılığı, genç erişkinlerin önemli bir kısmında mevcut olabilir. Dürtüsellik yeme bağımlılığı ile bir ilişkisi olduğu söylenebilir. Yeme bağımlısı bireylerin takip ve tedavisinde, çok disiplinli bir yaklaşım daha olumlu sonuçlar elde edilmesine yardımcı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Pelchat ML. Food addiction in humans. *J Nutr.* 2009;139(3):620-622
2. Avena NM, Gold MS. Food and addiction—sugars, fats and hedonic overeating. *Addiction.* 2011;106(7):1214-1215
3. Tuomisto T, Hetherington MM, Morris MF, Tuomisto MT, Turjanmaa V, Lappalainen R. Psychological and physiological characteristics of sweet food “addiction”. *Int J Eat Disord.* 1999;25(2):169-175.
4. Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD. Food addiction: an examination of the diagnostic criteria for dependence. *J Addict Med.* 2009;3(1):1-7.
5. Blumenthal DM, Gold MS. Neurobiology of food addiction. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010;13(4):359-365.
6. Gearhardt AN, Yokum S, Orr PT, Stice E, Corbin WR, Brownell KD. Neural correlates

- of food addiction. Arch Gen Psychiatry. 2011;68(8):808-816.
7. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, et al. "Nonhedonic" food motivation in humans involves dopamine in the dorsal striatum and methylphenidate amplifies this effect. Synapse. 2002;44(3):175-180.
8. Moeller FG, Barratt ES, Dougherty DM, Schmitz JM, Swann AC. Psychiatric aspects of impulsivity. Am J Psychiatry. 2001;158(11):1783-1793.
9. Krmpotich T, Mikulich-Gilbertson S, Sakai J, Thompson L, Banich MT, Tanabe J. Impaired decision-making, higher impulsivity, and drug severity in substance dependence and pathological gambling. J Addict Med. 2015;9(4):273-280.
10. Crews FT, Boettiger CA. Impulsivity, frontal lobes and risk for addiction. Pharmacol Biochem Behav. 2009;93(3):237-247.
11. Loree AM, Lundahl LH, Ledgerwood DM. Impulsivity as a predictor of treatment outcome in substance use disorders: review and synthesis. Drug Alcohol Rev, 2015;34(2):119-134.
12. Holmes AJ, Hollinshead MO, Roffman JL, Smoller JW, Buckner RL. Individual differences in cognitive control circuit anatomy link sensation seeking, impulsivity, and substance use. J Neurosci. 2016;36(14):4038-4049.
13. Stevens L, Verdejo-García A, Goudriaan AE, Roeyers H, Dom G, Vanderplasschen W. Impulsivity as a vulnerability factor for poor addiction treatment outcomes: a review of neurocognitive findings among individuals with substance use disorders. J Subst Abuse Treat. 2014;47(1):58-72.
14. Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD. Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. Appetite. 2009;52:430-436.
15. Bayraktar F, Erkman F, Kurtuluş E. Adaptation study of Yale food addiction Scale. Klinik Psikofarmakol Bulteni. 2012;22(1):38.
16. Patton JH, Stanford MS, Barratt ES. Factor structure of the Barratt impulsiveness scale. J Clin Psychol. 1995;51:768-74.
17. Güleç H, Tamam L, Yazıcı Güleç M, Turhan M, Karakuş G, Stanford MS. Psychometric properties of the Turkish version of the barratt impulsiveness scale-11. Klinik Psikofarmakol Bulteni. 2008;18:251-258.
18. Kıcalı F. 'Üniversite Öğrencilerinde Beslenme Alışkanlıkları Ve Yeme Bağımlılığının Farklı Kişilik Özellikleri Ve Psikiyatrik Belirtilerle İlişkinin İncelenesi'. Tıpta Uzmanlık Tezi, T.C. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi. Konya, 2015.
19. Balaman İ. 'Bakırköy İlçesindeki Yetişkin Popülasyonda Yeme Bağımlılığı Ve İlişkili Etmenler'. Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Psikoloji Anabilim Dalı Klinik Psikoloji Yüksek Lisans Programı. İstanbul, 2017.

20. Brunault P, Ballon N, Gaillard P, Reveillere C, Courtois R. Validation of the French version of the Yale Food Addiction Scale: An examination of its factor structure, reliability, and construct validity in a nonclinical sample. *Can J Psychiatry*. 2014;59:276–284.
21. Davis C, Levitan RD, Kaplan AS, Kennedy JL, Carter JC. Food cravings, appetite, and snack-food consumption in response to a psychomotor stimulant drug: The moderating effect of “food-addiction”. *Front Psychol*. 2014;5:1-8.
22. Gearhardt AN, Boswell RG, White MA. The association of “food addiction” with disordered eating and body mass index. *Eat Behav* 2014;15:427–433.
23. Meule A, Kubler A. Food cravings in food addiction: The distinct role of positive reinforcement. *Eat Behav*. 2012;13:252–255.
24. Gearhardt AN, Boswell RG, White MA. The association of “food addiction” with disordered eating and body mass index. *Eat Behav*. 2014;15(3);427-433.
25. Eichen DM, Lent MR, Goldbacher E, Foster GD. Exploration of “food addiction” in overweight and obese treatment-seeking adults. *Appetite*. 2013;67;22–24.
26. Flint AJ, Gearhardt A, Corbin W, Brownell K, Field A, Rimm E. Food addiction scale measurement in two cohorts of middleaged and older women. *Am J Clin Nutr*. 2014;99: 578–586.
27. Hernandez J, Cervoni C, Hymowitz G. The effects of impulsivity on food addiction and eating behaviors in a bariatric sample. *Surg Obes Relat Dis*. 2017;13(10):93.
28. Meule A, de Zwaan M, Müller A. Attentional and motor impulsivity interactively predict ‘food addiction’ in obese individuals. *Compr Psychiatry*. 2017;72:83-87.

**Tablo 1.** Yeme bağımlılığı olan ve olmayan katılımcıların Barrat Dürtüsellik Ölçeği alt ölçek ve total skorlarının karşılaştırılması.

	<b>Yeme Bağımlısı Olanlar (n=65) Ortalama±Standart Sapma</b>	<b>Yeme Bağımlısı Olmayanlar (n=235) Ortalama±Standart Sapma</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
Dikkatle İlişkili Dürtüsellik	18,923±3,654	18,038±3,101	-1,956	0,05
Motor Dürtüsellik	24,539±5,534	22,502±4,356	-3,135	0,007
Tasarlanmamış Dürtüsellik	27,462±4,514	27,796±4,379	0,541	0,589
Dürtüsellik Genel	70,923±10,094	68,336±7,926	-2,188	0,029

**Tablo-2.** Genç yetişkinlerde yeme bağımlılığı tanısının yordayıcıları (İleriye doğru aşamalı regresyon analizi ile)

	<b>B</b>	<b>S.Hata</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>%95 Güven Aralığı</b>	
					<b>Alt</b>	<b>Alt</b>
Dürtüsellik Genel	0,035	0,016	0,030	1,036	1,003	1,069
Sabit	-5,015	1,293	0,000	0,007		
Cox&Snell R <sup>2</sup> =0,229; Nagelkerke R <sup>2</sup> =0,324						



## Akciğer kanseri hastalarında dolaşımdaki tümör hücrelerini nasıl tespit ederiz?

### akım sitometrisi ile yapılan kısa bir çalışma

Tuğba Kevser UYSAL<sup>1</sup>, Ender ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Ahmet ÇARHAN<sup>1</sup>, Özen ÖZENSOY GÜLER<sup>1</sup>

Öz	Yayın Bilgisi
<p>Dolaşımdaki tümör hücreleri (CTC'ler) karsinomların metastatik yayılımında önemli role sahiptir. Bu nedenle, son yıllarda birçok kanser türünde hastalığın seyri ve tedavi etkinliğinin anlaşılmasında yardımcı olabileceği düşünülen CTC'ler üzerine yoğunlaşmıştır. Teknik yaklaşımlardaki gelişmeler ile özellikle akciğer kanseri gibi dokularına ulaşılması zor olan tümörlerde sıvı biyopsi olarak tüm kandan CTC tespitinin değeri her geçen gün artmaktadır. Tanı anında sıklıkla metastaz yaptıkları teşhis edilen akciğer kanseri, hem kadınlarda hem de erkeklerde kanser ölüm nedenlerinin birincil sebebidir. Çalışmamızın amacı akım sitometrisi ile akciğer kanserli hastaların periferik kan örneklerinde (7.5 mL) CTC tespitidir. Zenginleştirme ve saptama adımlarından oluşan modifiye ettiğimiz yöntemimiz ile CTC sayısının tespit edilmesi için 9 akciğer kanserli birey ve 9 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Uyguladığımız metotta zenginleştirme basamağı için ficol yoğunluk gradiyent ayırma ve immünomanyetik ayırma tekniği (CD45 negatif seçim) gerçekleştirilmiştir. Sonrasında, zenginleştirilmiş hücreler arasında CTC'leri tespit etmek için, anti-epitelyal hücre adhezyon molekülünün ve sitokeratinlerin ekspresyonuna dayanan çok parametrelili akım sitometrisi ile analiz yapılmıştır. Çalışmamız sonucunda akciğer kanserli hastaların tümünde CTC gözlenirken, sağlıklı bireylerde gözlenmemiştir (Z=3.823; p&lt;0.001). Böylece, modifiye ettiğimiz metodun akciğer kanserinde CTC tespitinde kullanılabilirliği gösterilmiştir.</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Akciğer kanseri, akım sitometrisi, dolaşımdaki tümör hücreleri, kanser, sıvı biyopsi</p>	<p>Gönderi Tarihi:28.03.2018</p> <p>Kabul Tarihi:26.04.2018</p> <p>Online Yayın Tarihi:30.09.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.410582</p> <p><b>Sorumlu Yazar</b></p> <p>Özen ÖZENSOY GÜLER</p>

## How could we detect circulating tumor cells in lung cancer patients?

### A brief study by flow cytometry

Tuğba Kevser UYSAL<sup>1</sup>, Ender ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Ahmet ÇARHAN<sup>1</sup>, Özen ÖZENSOY GÜLER<sup>1</sup>

Abstract	Article Info
<p>Circulating tumor cells (CTCs) play a crucial role in the metastatic spread of carcinoma. Therefore, CTC has been interest of a subject in the past few decades in terms of prognosis and response to the therapy in several cancer diseases. Recent improvements in technical approaches maintain to identify CTCs from whole blood have demonstrated the potential value of CTC detection as a liquid biopsy especially in those tumors where tissue accessibility is often challenging as in lung cancer. Lung cancer is the most common cause of death from cancer worldwide in both men and women which is commonly metastasize before it is diagnosed. The aim of this study is to enumerate of CTCs in peripheral blood sample (7.5 mL) of lung cancer patients by flow cytometry. Our modified method which consists of enrichment and detection steps get involved in 9 patients with lung cancer and 9 healthy volunteers. We performed a density-based ficoll gradient centrifugation and a immunomagnetic separation technique (CD45 negative selection) for the enrichment step. Next, multi-parameter flow cytometry based on the expression of anti-epithelial cell adhesion molecule and cytokeratins was used to detect circulating tumor cells among enriched cells. According to our results, circulating tumor cells were not detected on healthy volunteers but circulating tumor cells were found in all of patients with lung cancer (Z=3.823; p&lt;0.001). We demonstrate that circulating tumor cells were detectable in peripheral blood sample of lung cancer patients by our modified method.</p> <p><b>Keywords:</b> Cancer, circulating tumor cells, flow cytometry, liquid biopsy, lung cancer</p>	<p>Received:28.03.2018</p> <p>Accepted:26.04.2018</p> <p>Online Published:30.09.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.410582</p> <p><b>Corresponding Author</b></p> <p>Özen ÖZENSOY GÜLER</p>

<sup>1</sup> Ankara Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

## INTRODUCTION

Lung cancer is the most common cause of cancer deaths worldwide.<sup>1</sup> According to the current cancer statistics, lung cancer is the first and fourth most common type of cancer among males and females respectively in both Turkey and the World.<sup>1,2</sup> Furthermore, both subtypes of lung cancer (small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC)) have a poor survival rate<sup>3</sup> and it is estimated to be responsible for approximately one in five of total deaths worldwide (1.59 million deaths, 19.4% of the total).<sup>4</sup> Because of its high fatality (the overall ratio of mortality to incidence is 0.87),<sup>4</sup> it has become an important health problem throughout the world.

Since lung cancer is usually asymptomatic in the early stages, the patients are detected in either advanced stage (stage IV) or in locally advanced stage (stage IIIA and stage IIIB).<sup>5</sup> Due to the difficulties in early diagnosis and lack of effective therapeutic methods, the mortality of lung cancer is high.<sup>6</sup> The 5-year mortality from the time of diagnostic is at approximately 85% to 90%.<sup>7</sup>

Metastasis, an important characteristic in cancer progression and is associated with mortality.<sup>8</sup> The metastatic process has a series of steps that takes place to spread primer tumor cells from their original residing of residence to the distant organs. Circulating tumor cells (CTCs) which shed into the peripheral blood from solid tumor,

play a critical role in cancer progression.<sup>3,9</sup> Last decades, CTCs called "liquid biopsy" can be analyzed non-invasive and simple blood tests. Thus, they may be useful for early diagnosis, understanding metastasis development, identification of therapeutic targets and resistance mechanisms (predictive information) and real-time monitoring of therapies.<sup>10</sup> CTC analyzes have been useful in tumors where especially tissue accessibility is challenging such as lung cancer and some advanced applications can detect CTCs in whole blood to assess metastasis and prognosis.<sup>3,11</sup>

In literature, the researches have mostly focused on CTCs enumeration and the process involves in two important steps: enrichment and detection.<sup>12,13</sup> CTC enrichment step might be size-based, density-based, immunomagnetic separation or microfluidic-based. And, the CTC detection approaches include nucleic acid-based techniques and/or protein-based techniques.<sup>13</sup> In our study, we used our modified method described previously by our group.<sup>14</sup> The CTC enrichment step of our modified method was performed by using a combination of two separate methods: density-based ficoll gradient centrifugation and immunomagnetic separation (CD45 negative selection). In the final step, the CTCs were analyzed by flow cytometry. The aim of our study is to examine the applicability of our modified method for the detection of CTCs in patients with lung cancer.

## MATERIALS AND METHODS

### *Sample Preparation*

Human blood samples were obtained from Ankara Atatürk Training and Research Hospital affiliated with Ankara Yıldırım Beyazıt University, Turkey. The patient group was composed of lung cancer patients who were newly diagnosed, untreated and identified stage while the control group consisted of healthy volunteers carrying no suspicion of cancer in this study. All experiments were approved by the social and human sciences ethics committee (AYBU, Ankara/Turkey, 03.02.2015-12) and the informed consent forms obtained from all patients and healthy volunteers. The peripheral blood samples (7,5 mL) from 9 lung cancer patients and 9 healthy volunteers were collected into EDTA-coated tubes. Blood samples were stored at room temperature and then the protocol of CTC detection defined in our previous study was applied.<sup>14</sup>

### *Detection of CTCs*

The detection of CTCs were performed as our published protocol.<sup>14</sup> Enrichment steps were implemented in the CTC enumeration process to increase the detection success rate. Improved enrichment methods using specific markers aim to identify the cells by distinguishing them from leukocytes. In this study, we used a density gradient separation (ficoll) and an immunomagnetic separation [Cluster of Differentiation 45 (CD45) for the negative

selection] in the enrichment step. Enriched cells were incubated with the anti-epithelial cell adhesion molecule (Anti-EpCAM), the anti-cytokeratins (anti-CKs) and the leukocyte specific marker (anti-CD45). After, flow cytometry (The BD FACSAria™ III Cell Sorter) was used for the identification of CTCs in a highly specificity with multiple parameters. Consequently, Anti-CK14,15,16,19(+), Anti-CK7,8(+), Anti-EpCAM(+) and Anti-CD45(-) phenotypes were defined CTCs and counts of them were obtained.

### *Statistical Analysis*

The IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) software was used to perform statistical analysis. The distribution of age and CTC counts was examined by Shapiro-wilk test. The CTC counts were expressed in terms of median (min-max: minimum-maximum), categorical variables such as gender were expressed in number (%). The Mann-Whitney U test was used for comparison between groups. All data were subjected to the above statistical methods, and P-values less than 0,05 were considered significant.

## RESULTS

### *The characteristics of patients and healthy volunteers*

In the present study, the average age of the lung cancer patients and healthy volunteers

regardless of gender was  $63,78 \pm 8,01$  and  $61,67 \pm 11,38$  years, respectively. The average age was  $62,72 \pm 9,61$ . There were 8 male and 1 female in both the patient and control group. The clinical characteristics of patients are presented in [Table 1](#).

### **Comparisons of CTC levels**

We compared CTC levels in patients with lung cancer and healthy volunteers. As shown in [Table 2](#), the CTC levels in lung cancer patients (median 8 CTC) was significantly higher than healthy volunteers (median 0 CTC,  $p < 0,001$ ). However, about CTC levels there was no statistically significant difference in patients with stage III and stage IV ( $p=0,111$ ; [Table 2](#)). Additionally, we did not find a significant difference in CTC levels between SCLC and NSCLC ( $p=0,333$ ; [Table 2](#)). The results suggested that patients with lung cancer have high level of CTCs compared with healthy volunteers. The results of flow cytometry are presented in [Fig. 1](#) and [Fig. 2](#) respectively for P1 patient, C1 volunteer.

## **DISCUSSION AND CONCLUSION**

Although CTCs were observed more than 100 years ago, for the first time, their clinical significance has recently recognized.<sup>15</sup> Detection of CTCs might be difficult because of their rare numbers comparing with the number of leukocytes ( $\sim 1$  CTC per  $10^5$ - $10^8$  leukocytes) in blood.<sup>13</sup> Although there are many different

techniques applied for the detection of CTC, only the CellSearch system which has been approved by the U.S. Food and Drug Administration is often preferred in CTC researches.<sup>16</sup> In this system, CTCs were immunomagnetically enriched with EpCAM and immunofluorescent staining was performed using CD45 for excluding the leukocytes and CK 8/18/19 and DAPI are used for identification of CTC.<sup>3,17</sup> The cut off value was identified in breast, colorectal and prostate cancers for determining the efficacy of treatment and prognosis.<sup>13</sup> On the other hand, the CellSearch system has not yet been approved for lung cancer and there is still no accepted cut off value. However, many studies have been conducted using the CellSearch system on the role of CTCs in lung cancer lately and significant data have been reported.<sup>3</sup> One of the first study using the Cellsearch system in lung cancer patients and reported that CTC was detected in three out of four additional SCLC patients and CTCs may be useful for SCLC diagnosis.<sup>18</sup> In another study, CTCs in NSCLC and SCLC patients by CellSearch system were detected in 30,6% of lung cancer patients and in 12,0% of non-malignant patients and there were differences between stage I and stage IV tumors.<sup>19</sup>

The prognostic significance of CTC detection by the CellSearch system in 101 chemo-naive stage III-IV NSCLC patients was demonstrated by Krebs et al. The results showed a

significantly higher CTC count in stage IV than that in stage III (60 and 27, respectively) and the CTC numbers were associated with prognostic factor for progression-free survival (PFS) and predictor of overall survival (OS) after one cycle of chemotherapy.<sup>20</sup>

There are other studies about besides CellSearch in CTC detection. Krebs and colleagues analyzed CTCs in patients with NSLC using epithelial marker-dependent CellSearch system and epithelial marker-independent the size-based discrimination method (ISET). Although both technology platforms detected CTCs, ISET counted higher numbers of CTCs compared with using CellSearch.<sup>21</sup> However, as a result of other studies with the filtration system, it has been determined that this method is not specific and sensitive.<sup>22</sup> Because, even in the same patient, the size of tumor cells that have been captured has been changed.<sup>23</sup>

Unlike filtration and CellSearch, in our study, we preferred the Ficoll gradient centrifugation as the first step. After centrifugation, the PMBC layer containing CTCs were separated erythrocytes and granulocytes in the blood samples.<sup>24</sup> We performed magnetic-activated cell sorting (MACS) for an immunomagnetic depletion of leukocytes in collected PBMCs and thus CTCs are enriched with negative selection. For the detection of CTCs, the negative selection has higher efficiency compared to the positive selection or the combination of negative and positive enrichments.<sup>25</sup>

Although a wide variety of methods were preferred in the detection step applied after the enrichment step, CTCs were detected by flow cytometry (FC) using with fluorescent monoclonal antibodies (anti-CD45, anti-EpCAM, anti-CK 7, 8 and anti-CK 14, 15, 16, 19) in our study. EpCAM is an ideal tumor antigen that is overexpressed in various cancers including lung cancer and widely used for the diagnosis of CTCs.<sup>26</sup> Another protein family commonly used in CTC detection is CKs. They are expressed in very specific patterns according to epithelial types and CK markers are generally identified for cancer classification. The analysis of CK-5/6, CK-7, CK-10/13, CK-14, CK-17 and CK-18 expressions in lung cancer provides important information about cancer progress.<sup>27</sup> We aimed to eliminate false positives in the blood samples of healthy volunteers using our selected markers together.

Due to the highly heterogeneous nature of CTCs, quantitative analysis of these rare cells appears advantageous. Quantifiable fluorescence-based FC analysis is therefore an attractive alternative to CTC detection. FC which is used clinically in many disciplines including hematology and oncology has been proven to be an extremely powerful technology.<sup>13</sup> FC also provides advantages such as the ability to easily perform multiple marker analysis on the same sample, the ability to measuring and quantifying the level of expression, and the ability to collecting

sorted cells.<sup>13</sup> Therefore, FC was used in our CTC detection step.

More recently, Huang et al. identified CTCs from patients with NSCLC using FC to observe the effects of surgical approaches on the levels of CTCs. The cells were enriched immunomagnetically with EpCAM (positive selection) were analyzed by FC with anti-CK-PE and anti-CD45-FITC fluorescent-labeled monoclonal antibodies for CTC enumeration.<sup>28</sup> In another study, immunomagnetic nanobeads were effectively used for the detection of CTCs, CTCs were enriched with CD45 and analyzed by FC in 84 blood samples of lung cancer patients. Three of them were NSCLC patients and detection rate was 100%.<sup>25</sup>

In our study, 9 patients with lung cancer and 9 healthy volunteers were studied and the CTC count was determined as 0 in all healthy individuals and different number of CTCs was detected in all of patients in [Table 3](#).

In addition to the significance of the CTCs in lung cancer, some studies suggested CTCs related with disease stage.<sup>19,20</sup> The potential of differentiate among disease stages of CTC counts was demonstrated in 150 NSCLC patients by Tanaka and colleagues reporting that CTC was in different counts between stage I and stage IV.<sup>19</sup> Krebs et al. reported the prognostic role of CTCs in 101 NSCLC patients with stage III-IV and CTC counts were found to

be significantly higher in stage IV patients than in stage III patients.<sup>20</sup>

Several studies have indicated that CTCs are detected in different types of cancer patients as an important clinical marker for the diagnosis of cancer, monitoring of disease progression, treatment efficacy.<sup>29</sup> Similarly, we suggest that CTC can be a multifunctional biomarker due to the successful detection of CTC using our modified method in lung cancer patients. In our study, there was no significant difference between CTC counts and lung cancer subtypes, although the CTCs in peripheral blood of patients with lung cancer was successfully detected. In present study, the number of individuals was low; however, more extensive study will be performed in future study. In addition, CTCs will be sorted with the fluorescence active cell sorting (FACS) device and molecular characterization will be performed too. Therefore, more information about the biology and pathology of cancer disease can be obtained and more effective and successful treatment can be provided by applying for individualized treatment therapies.

**Acknowledgments:** The authors thank to Ankara Ataturk Training and Research Hospital (Ankara, Turkey) Oncology Department staff for providing their wide experiences on patients.

**Conflict of interest:** The authors report no conflict of interest.

**KAYNAKLAR**

1. The Globocan Project. Cancer Fact Sheets: Population Fact Sheets. [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx). Accessed June 06, 2016.
2. Turkey Cancer Statistics. [http://kanser.gov.tr/Dosya/ca\\_istatistik/ANA\\_rapor\\_2013v01\\_2.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/ANA_rapor_2013v01_2.pdf). Accessed June 06, 2016.
3. Truini A, Alama A, Dal Bello MG, et al. Clinical applications of circulating tumor cells in lung cancer patients by cellsearch system. *Front Oncol.* 2014; 4: 242.
4. The Globocan Project. Lung Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/lung-new.asp>. Accessed June 24, 2016.
5. Spiro SG, Porter JC. Lung cancer-where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166(9): 1166-1196.
6. Wong BS, Hsiao YC, Lin TW, et al. The in vitro and in vivo apoptotic effects of *Mahonia oiwakensis* on human lung cancer cells. *Chem Biol Interact.* 2009; 180(2): 165-174.
7. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, et al. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest.* 2003; 123: 97-104.
8. Chambers AF. The metastatic process: basic research and clinical implications. *Oncol Res.* 1999; 11(4): 161-168.
9. Gao W, Yuan H, Jing F, et al. Analysis of circulating tumor cells from lung cancer patients with multiple biomarkers using high-performance size-based microfluidic chip. *Oncotarget.* 2017; 8(8): 12917-12928.
10. Rolfo C, Castiglia M, Hong D, et al. Liquid biopsies in lung cancer: the new ambrosia of researchers. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1846(2): 539-546.
11. Zhang Z, Ramnath N, Nagrath S. Current status of CTCs as liquid biopsy in lung cancer and future directions. *Front Oncol.* 2015; 5: 209.
12. Hong B, Zu Y. Detecting circulating tumor cells: current challenges and new trends. *Theranostics.* 2013; 3(6): 377-394.
13. Lowes LE, Allan AL. Recent advances in the molecular characterization of circulating tumor cells. *Cancers (Basel).* 2014; 6(1): 595-624.
14. Simsek E, Guler OO, Carhan A, et al. The determination of circulating tumor cells in peripheral blood by flow cytometry. *Niche.* 2014; 3. doi: 10.5152/niche.2015.246.
15. Wang L, Wu C, Qiao L, et al. Clinical Significance of Folate Receptor-positive Circulating Tumor Cells Detected by Ligand-targeted Polymerase Chain Reaction in Lung Cancer. *J Cancer.* 2017; 8(1): 104-110.

16. Joosse SA, Gorges TM, Pantel K. Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO Mol Med.* 2015; 7(1): 1-11.
17. Welinder C, Jansson B, Lindell G, et al. Cytokeratin 20 improves the detection of circulating tumor cells in patients with colorectal cancer. *Cancer Lett.* 2015; 358(1): 43-46.
18. Bevilacqua S, Gallo M, Franco R, et al. A “live” biopsy in a small-cell lung cancer patient by detection of circulating tumor cells. *Lung Cancer.* 2009; 65(1): 123-125.
19. Tanaka F, Yoneda K, Kondo N, et al. Circulating tumor cell as a diagnostic marker in primary lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(22): 6980-6986.
20. Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2011; 29(12): 1556-1563.
21. Krebs MG, Hou JM, Sloane R, et al. Analysis of circulating tumor cells in patients with non-small cell lung cancer using epithelial marker-dependent and-independent approaches. *J Thorac Oncol.* 2012; 7(2): 306-315.
22. Alunni-Fabbroni M, Sandri MT. Circulating tumour cells in clinical practice: Methods of detection and possible characterization. *Methods.* 2010; 50(4): 289-297.
23. Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004; 10(20): 6897-6904.
24. Bøyum A, Løvhaug D, Tresland L, et al. Separation of leucocytes: improved cell purity by fine adjustments of gradient medium density and osmolality. *Scand J Immunol.* 1991; 34(6): 697-712.
25. Liu Z, Fusi A, Klopocki E, et al. Negative enrichment by immunomagnetic nanobeads for unbiased characterization of circulating tumor cells from peripheral blood of cancer patients. *J Transl Med.* 2011; 9: 70.
26. Went P, Vasei M, Bubendorf L, et al. Frequent high-level expression of the immunotherapeutic target Ep-CAM in colon, stomach, prostate and lung cancers. *Br J Cancer.* 2006; 94(1): 128-135.
27. Domanski D, Perzanowska A, Kistowski M, et al. A multiplexed cytokeratin analysis using targeted mass spectrometry reveals specific profiles in cancer-related pleural effusions. *Neoplasia.* 2016; 18(7): 399-412.
28. Huang HB, Ge MJ. The effects of different surgical approaches on the perioperative level of circulating tumor cells in patients with non-small cell lung cancer. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2016; 64(6): 515-519.
29. Ren C, Han C, Wang D, et al. Detection of circulating tumor cells: Clinical relevance of



a novel metastatic tumor marker. *Exp Ther Med.* 2011; 2(3): 385-391.

**Table 1.** Clinical characteristics of lung cancer patients.

Features	Individual numbers and percentage distributions n (%)
Stage	
IIIA	2 (22.2%)
IIIB	2 (22.2%)
IV	5 (55.6%)
Histology	
SCLC	2 (22.2%)
NSCLC	7 (77.8%)
Subgroups of NSCLC	
Adenocarcinoma	5 (71.4%)
Squamous cell carcinoma	2 (28.6%)
Sites of 5 metastatic patients	
Brain	3 (60.0%)
Bone	2 (40.0%)

SCLC: small cell lung cancer; NSCLC: non-small cell lung cancer

**Table 2.** Distribution of CTC counts in control and patient groups.

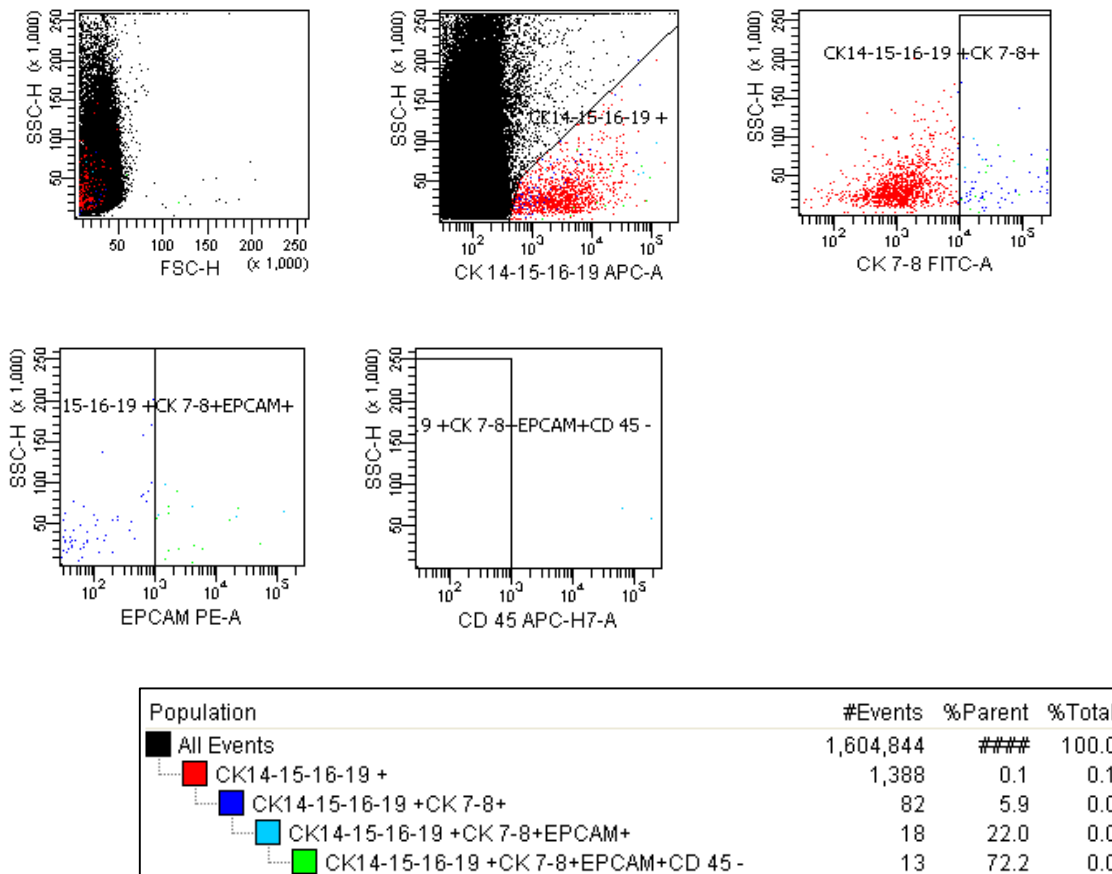
Group variable	CTC Counts <sup>1</sup>	Test statistic	p value
Group		3,823	<0,001
Patients	8,0 (4,0-15,0)		
Control	0,0 (0,0-0,0)		
Histological types		1,176	0,333
SCLC	11,0 (9,0-13,0)		
NSCLC	6,0 (4,0-15,0)		
Stage		1,722	0,111
Stage III	5,0 (4,0-10,0)		
Stage IV	9,0 (6,0-15,0)		

<sup>1</sup> Median (min-max); CTC: circulating tumor cell; SCLC: small cell lung cancer; NSCLC: non-small cell lung cancer

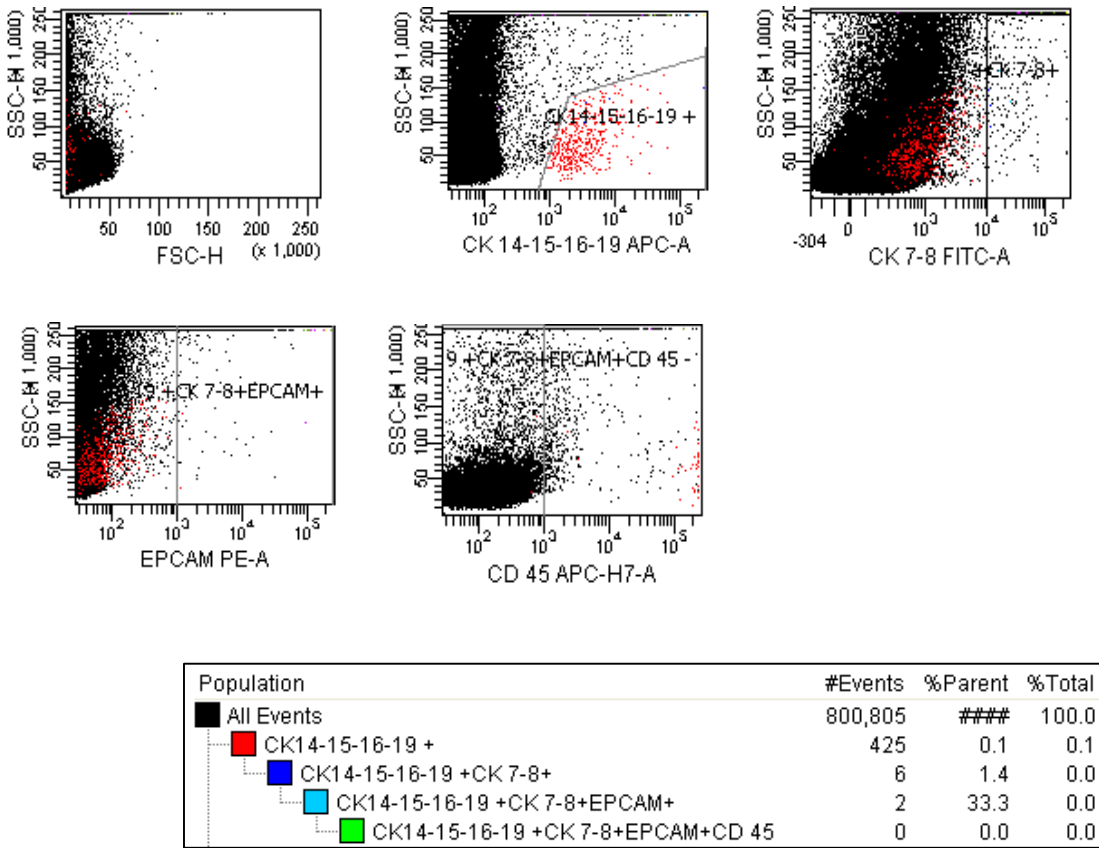
**Table 3.** CTC counts of control and patient groups.

Control group	CTC counts	Patients	CTC counts
C1	0	P1	13
C2	0	P2	6
C3	0	P3	4
C4	0	P4	15
C5	0	P5	10
C6	0	P6	9
C7	0	P7	8
C8	0	P8	5
C9	0	P9	5

CTC: circulating tumor cell



**Figure 1.** The result of flow cytometry for the P1 patient.



**Figure 2.** The result of flow cytometry for the C1 volunteer.

## Sağlık çalışanlarının maruz kaldıkları iş stresi ile iş doyumu ilişkisinin incelenmesi: bir meta-analiz çalışması

Sait SÖYLER<sup>1</sup>

### Öz

İşletmelerin rekabet üstünlüğü elde edebilmeleri adına sahip oldukları insan kaynağının verimliliğini maksimum seviyelere çıkarmaları gerekmektedir. İnsan kaynaklarının yüksek performans ile çalışabilmesi ise iş tatminleri ile doğrudan bağlantılıdır. Her ne kadar iş tatminini etkileyen çok sayıda unsur olsa da, maruz kalınan iş stresi bu unsurların en önemlilerinden biri olarak dikkat çekmektedir. Bu bağlamda bu çalışmanın amacı sağlık çalışanlarında iş stresi ve iş tatmini arasındaki ilişkinin etki büyüklüğünü açıklamaktır. Araştırmada yöntem olarak meta analiz kullanılmıştır. Veri niteliğindeki çalışmalara ulaşabilmek amacı ile PubMed ve ulusal tez merkezi veri tabanları kullanılmıştır. Ulusal ve uluslararası çalışmalar taranmış ve iş tatmini ile iş stresi ilişkisini inceleyen, dahil edilme kriterlerini sağlayan çalışmalar araştırmaya dahil edilmiştir. Yapılan meta analiz sonuçlarına göre, iş stresinin iş tatmini üzerindeki etki büyüklüğü -0,275 olarak tespit edilmiştir. Dolayısı ile araştırma sonucunda iş stresinin iş tatminini negatif yönde ve orta düzeyde etkilediği sonucuna ulaşılmıştır. Sağlık çalışanları, yapılan hataların bedellerinin çok ağır olduğu bir sektörde faaliyet göstermektedirler. Bu nedenle sağlık çalışanlarının maruz kaldıkları stresi azaltıcı önlemler alınmalı ve iş doyumları artırılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** İş tatmini, iş stresi, sağlık, sağlık çalışanları, meta analiz

## Examining the relationship between job stress and job satisfaction that health workers are exposed to: a meta-analysis study

Sait SÖYLER<sup>1</sup>

### Abstract

Businesses need to maximize the efficiency of their human resources in order to have competitive advantage. The ability of human resources to work with high performance is directly related with job satisfaction. The occupational stress is one of the most important factors although there are many affecting it. In this context, the purpose of this study is to determine the effect size of job stress on job satisfaction in healthcare sector. Method: Meta-analysis has been used in the study. The PubMed and national thesis center databases have been searched by the keywords to achieve papers. National and international papers have been overviewed. The studies examining the relationship between job satisfaction and job stress and having the inclusion criteria are included in the study. According to the results of the meta-analysis, the effect size of job stress on job satisfaction is found -0.275. As a result of this study, it is observed that there is negative and moderate effect of occupational stress on job satisfaction. Healthcare sector cannot tolerate mistakes because it is strongly related with human life. For this reason, measures should be taken to reduce the stress that health workers are exposed to and their job satisfaction should be increased.

**Keywords:** Job satisfaction, occupational stress, health, health workers, meta analysis

### Yayın Bilgisi

Gönderi Tarihi:19.03.2018

Kabul Tarihi:13.05.2018

Online Yayın Tarihi:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.407771

### Sorumlu Yazar

Sait SÖYLER

### Article Info

Received:19.03.2018

Accepted:13.05.2018

Online Published:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.407771

### Corresponding Author

Sait SÖYLER

<sup>1</sup> Altınbaş Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul

## GİRİŞ

Günümüzde rekabet ortamı, geçmişin herhangi bir döneminden çok daha yüksek seviyelere ulaşmıştır. Bunun başlıca sebepleri arasında, yirminci yüzyılın sonlarında zirveye çıkan küreselleşme, hızlanan ulaşım imkânları, internetin günlük yaşamda önemli bir yer kaplamaya başlaması ve uluslararası/çok uluslu şirketlerin pazar rekabeti gelmektedir. Yoğun rekabet ortamında işletmeler minimum maliyet ile maksimum seviyede çıktı elde etmeye odaklanmaktadır. Bunu başarabilmenin yolu da nitelikli ve yüksek performanslı insan kaynaklarından geçmektedir. İnsan kaynaklarının yüksek performansla çalışabilmesi de çok çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörlerin en önemlilerinden biri, çalışanların iş tatminlerinin yüksek olmasıdır. İş tatmini yüksek olan çalışanlar diğer çalışanlara göre daha yüksek verimlilik ile çalışabilmekte, işletmelerine rekabet avantajı sağlayabilmektedir. Çalışanların maruz kaldıkları iş stresi göz önünde bulundurulduğunda, iş streslerinin iş tatminlerini etkilediği ve dolayısıyla iş stresinin çalışan performansı üzerinde de etkisi olduğu net olarak görülebilecektir.

Sağlık sektörünün hataya tolerans gösterilemeyecek bir sektör olması ve hem beşeri hem de teknik bilginin aynı anda kullanılmasını gerektirmesi, bu alanda çalışan bireylerin iş stresini artırmakta, bu durum da iş tatminlerine ve dolayısı ile performanslarına

olumsuz olarak yansımaktadır. Bu bağlamda bu çalışmada, literatürde yer alan ve farklı örneklerle ile çalışılmış olan araştırmaların meta analiz yöntemi ile incelenmesi ve iş stresinin iş tatmini üzerindeki etki büyüklüğünün hesaplanması amaçlanmıştır.

## Stres kavramı

Literatürde stres ile ilgili çok sayıda tanım yer almaktadır. Bu tanımlar üzerinde ise bir fikir birliğine varılamamakta, her araştırmacı kendi disiplini ile ilgili olarak stres kavramına farklı açılardan yaklaşmaktadır. Stres kavramı ile ilgili terminoloji yarım asırdan uzun bir süredir tıp, davranış bilimleri, sosyal bilimler gibi alanlarda çalışmalar yapan kişiler tarafından farklı şekillerde tanımlanmış, bu durum da literatürde ortak bir tanımın yer almasının önüne geçmiştir. Stres genellikle üç farklı açıdan ele alınmış ve tanımlarda stresi bir yanıt, uyarıcı veya çevre ile ilişkiden kaynaklanan bir etkileşim olarak tanımlayan ifadeler yer almıştır.<sup>1</sup> Fen ve doğa bilimleri ile davranış bilimlerinde de stres farklı şekillerde tanımlanmıştır. Fen ve doğa bilimlerine göre stres; vücut üzerinde deformasyon veya şekil değişikliklerine yol açan bir güç olarak tanımlanırken, davranış bilimlerine göre stres; gerginlik yaratan bir durum ile ilgili olarak yaşanan gerginlik, hasar ve gerilime karşı direnç sonuçları doğuran ekstrem durumlar olarak tanımlanmaktadır.<sup>2</sup> Bir diğer tanıma göre ise stres, bireylerin çevreleri ile yaşadıkları uyumsuzluklar neticesinde, çevrelerinden gelen mevcut ve potansiyel

tehditlere ilişkin gösterdikleri fiziksel ve psikolojik belirtilerdir. Strese maruz kalan kişilerde nabızın ve solunumun artması, yorgunluk, uyku bozuklukları gibi hem fiziksel hem de psikolojik belirtiler görülebilmektedir. Bireyler en fazla çalışma ortamlarında stresle karşılaşmaktadırlar. İş yaşamında stres nedenleri arasında aşırı ses, ışık, ısı, kişinin becerilerine uygun olmayan, çok hafif veya çok ağır oranlardaki sorumluluklar, aşırı veya çok az denetim gibi unsurlar gösterilebilir. Her bireyin yaşanan stres neticesinde göstereceği tepki farklıdır. Stres kimi bireylerde yükselen iş performansı ve verimlilik ile sonuçlanırken kimilerinde ise rahatsızlık, saldırganlık, işi aksatma gibi sonuçlara yol açabilmektedir.<sup>3</sup>

Stresin oluşumunda etkili olan çok sayıda faktör sekiz ana başlık altında; bireyin kendisi ile ilgili faktörler, iş çevresi ile ilgili faktörler, bireyin yaşamını sürdürdüğü genel çevresi ile ilgili faktörler, ülke ve dünya ekonomisinde yaşanan belirsizlikler ile ilgili faktörler, politik hayatın belirsizliği ile ilgili faktörler, çalışılan kente ilişkin faktörler, teknolojik değişim ile ilgili faktörler ve sosyal ve kültürel değişimlerden kaynaklanan faktörler olarak toplanabilir.<sup>4</sup>

Çalışanların iş çevreleri ile ilgili stres kaynakları geniş bir yelpazede ele alınabilmektedir. Çalışma koşulları ve işin yapısı bir stres kaynağı olabilmektedir.<sup>5</sup> Çalışılan yerdeki kaza ve hastalık riskleri, hava kirliliği, mikroplu ve nemli ortamlar, çalışanların kendilerini tehlikede hissetmelerine ve dolayısı ile sürekli

alarm halinde olmalarına neden olmaktadır. Diğer taraftan işyeri organizasyonu ile ilgili yaşanan problemler, iş bölümü ve iş akışının düzensiz olması bireylerin çalışma kalitesini ve verimini düşürmekte, bu durum hem çalışanlar hem de yöneticiler açısından stres oluşturabilmektedir. İş yerinde yapılması beklenen işler ile kişilerin yetenek ve kapasitelerinin uyumsuz olması diğer bir stres kaynağıdır.<sup>6</sup> Günümüzde özellikle İstanbul gibi metropollerde yaşayan insanların stres kaynaklarından biri de iş yerine olan fiziksel uzaklıklarıdır. Bireylerin ulaşım ile ilgili kaygıları, işe gidiş ve dönüş saatlerinde yaşadıkları stres, hem kendilerini hem de çalışma arkadaşlarını etkileyebilen bir stres kaynağıdır.<sup>4</sup> İş ile ilgili faktörlerden bir diğeri ise ücret yetersizliğidir.<sup>7</sup> Hızlı teknik gelişmeler, bireylerin sürekli ayak uydurmak zorunda oldukları değişikliklerdir ve bu durum çalışanlarda stres yaratabilmektedir.<sup>8</sup> Örgütsel yapı içerisinde daha üst konumlara yükselme isteği hem güdüleyici hem de stres yaratıcı bir faktör olabilmektedir. Ayrıca yükselme beklentisinin karşılanmaması kişide hayal kırıklığı ve stresin görülmesine sebep olabilmektedir.<sup>9</sup> Bireylerin kişilik yapılarına ve verimli çalışma yöntemlerine uygun olmayan işlerde ve koşullarda çalışması da önemli bir stres kaynağı olarak görülmektedir.<sup>4,10</sup>

### **Stresin etkileri**

Stres hem bireyler üzerinde hem de örgütler üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Stresin

bireysel bazda neden olduğu sorunlar hem fiziksel hem de psikolojik olabilmektedir. Bu problemler başlangıçta çeşitli düzeylerde stres belirtileri iken ilerleyen aşamalarda hayati tehlikeye sebebiyet verebilecek hastalıklara yol açabilmektedir.<sup>11</sup> Stres öncelikle kalp ve damar hastalıkları ve sindirim, boşaltım ve solunum sistemleri ile ilgili problemlere sebep olabilmektedir. Bu kapsamda çarpıntı, damar sertleşmesi, yüksek tansiyon, astım, gastrit, ülser gibi hastalıklar görülebilmektedir. Aynı zamanda egzama, saç dökülmesi gibi cilt problemleri, cinsel iktidarsızlık gibi üreme problemleri ve kas ağrıları ile spazmlar gibi hareket sistemi hastalıkları da görülebilmektedir.<sup>11</sup> Psikolojik olarak ise duygusal travmalar, depresyon, anksiyete, uyku bozuklukları, madde bağımlılıkları, tükenmişlik sendromu gibi sorunlar ile karşılaşılabilmektedir.<sup>4,11,12</sup>

Stresin örgüt üzerindeki olumsuz etkileri, iş görenin veriminin ve yaptığı işin kalitesinin düşmesi, işe yabancılaşma, devamsızlıkların artması, iş gören devir oranlarının yükselmesi olarak sıralanabilir. Öte yandan iş görenlerin yoğun stres altında çalışması iş kazalarının görülme sıklığını artırabileceği ve çeşitli hastalıklara sebep olabileceği için örgüt hem iş gücünden yoksun kalabilmekte hem de çeşitli masraflara katlanarak ekonomik olarak zarar görebilmektedir.<sup>13</sup>

Stres bireyler açısından makul düzeyde kaldığı sürece motive edici olabilmektedir. İlimli bir

düzeyde stres yaşamak monoton ve tekdüze bir çalışma yaşamını engelleyerek çalışan üzerinde pozitif etkiler yaratmaktadır.<sup>14</sup> Ancak aşırı strese maruz kalan çalışanların iş yerindeki verimlilikleri düşmekte, kişiler arası ilişkileri bozulabilmekte, örgüt bu durumdan zarar görebilmektedir.<sup>7</sup> Bu nedenle stresin kontrol edilmesi ve stres ile başa çıkma yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır.

### ***İş tatmini kavramı***

İş doyumunu veya iş tatmini, çalışanın işten kaynaklanan maddi kazancı ile takım çalışması sonucunda ortaya koyduğu somut eserlerden sağladığı mutluluk olarak tanımlanabilir.<sup>15</sup> İş tatmini, en geniş anlamda çalışanların iş ile ilgili hissettikleri olumlu duygular olarak ifade edilmektedir.<sup>16</sup> İş tatmini çalışanların elde ettiği ekonomik kazançlar ile çalışılan ortamın güvenliği ile, yapılan iş ile yeteneklerin uyumu ile, elde edilen çıktılardan duyulan mutluluk ile, iş yerindeki insan ilişkileri ile, amirin veya amirlerin tutumu ve işletmenin içerisinde bulunduğu durum ile ilişkilendirilebilmektedir.<sup>17</sup> Bireylerin beklentileri ile gerçekleşen durumlar arasındaki uyum veya uyumsuzluk da iş tatminini doğrudan etkilemektedir.<sup>18</sup>

İş tatmini hem çalışanların bireysel olarak iyi oluşlarını hem de işletmelerin faaliyetlerini sağlıklı olarak yürütebilmesini etkilemesi nedeni ile üzerinde önemle durulması gereken bir konudur. İş tatmini birebir görüşmeler yolu

ile ölçülebilse de genellikle ölçek kullanımı tercih edilmektedir. Ölçeklerde genellikle; ücretler ve ücret artışları ile ilgili tatmin, terfi olanakları ile ilgili tatmin, gözeteciler ile ilgili tatmin, yan ödemeler ile ilgili tatmin, ödüller ile ilgili tatmin, iş arkadaşları ile ilgili tatmin, yapılan iş ile ilgili tatmin ve örgütsel iletişim ile ilgili tatmin alt boyutları ve bunlara ilişkin sorular yer almaktadır.<sup>19</sup>

Çalışanların işlerinden tatmin olmaması nedeni ile sergileyebilecekleri bir takım davranışlar vardır. Bu davranışlar genel anlamda dört ana başlık altında incelenmektedir: “Çıkış, söz hakkı, sadakat ve ihmal”.<sup>16</sup>

*Çıkış:* Çıkış davranışı çalışanı işletmeden ayrılmaya yönelmektedir. Çalışanlar yeni bir iş arayışına girişirler.

*Söz hakkı:* Söz hakkı davranışı çalışanı amirleri ile iletişim kurmaya, sorunlara çözüm getirmeye ve yapıcı öneriler getirmeye yönlendirmektedir.

*Sadakat:* Bu davranış çalışanın örgüte bağlı kalarak, yöneticilere güvendiğini belli ederek ve gelen eleştirilere karşın işletmeyi savunarak problemlerin düzeleceği inancından ileri gelmektedir.

*İhmal:* Bu davranışta ise çalışan probleme karşı pasif kalarak durumun daha da kötüleşmesine izin verme yolu ile tatminsizliğini ifade etmektedir.

Burada söz hakkı ve sadakat davranışları problemlerin çözülmesine ve koşulların yeniden

yapılandırılmasına katkı sağlayabilecek şekilde yapıcı, çıkış ve ihmal davranışları ise üretkenliği azaltıcı, işe devamsızlığı ve iş gören devrini artırıcı şekilde yıkıcıdır.<sup>16</sup>

Günümüzün rekabet koşullarında çalışanlar bir işletmeyi diğerinden farklı kılacak, o işletmeye rekabet üstünlüğü kazandıracak ve ileriye götürecek olan belki de en önemli unsurdur. Bu nedenle iş tatmini yüksek çalışanlar, hem bireysel performanslarını hem de kurumsal performansı üst seviyelere çekebilecektir.<sup>20</sup> İş tatmini ile ilgili yapılan çok sayıda araştırma vardır ve bu araştırmaların bazılarında iş tatmini bağımlı değişken iken bazılarında bağımsız değişkendir. Yani iş tatminini etkileyen çok sayıda değişken varken iş tatmininin etkilediği de bir o kadar değişken vardır. İş tatmini; bireysel ve kurumsal performansı, örgütsel vatandaşlık tutumlarını, müşteri tatminini, devamsızlık oranlarını ve iş gücü devir oranlarını direkt olarak etkileyen önemli bir faktördür.<sup>16</sup> Aynı şekilde ücret, terfi imkanları, işin çalışan kişinin becerileri ile uyumlu olması gibi faktörler de iş tatminini doğrudan etkilemektedir.<sup>16</sup> Bu faktörlerin yanı sıra son zamanlarda iş stresinin iş tatmini üzerindeki etkisini inceleyen çok sayıda çalışma da literatürdeki yerini almıştır. Çalışmaların çoğunda iş stresinin iş tatminini olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmış, bazı araştırmalarda ise iş tatmini ile iş stresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.



Bu çalışmanın amacı sağlık çalışanlarında iş stresi ve iş tatmini arasındaki ilişkiyi inceleyen bilimsel çalışmaların meta analiz yöntemi ile analiz edilerek iş stresinin iş tatmini üzerindeki etki büyüklüğünü açıklamaktır.

## MATERYAL VE METOT

Araştırmada yöntem olarak meta analiz kullanılmıştır. Meta analiz, belirli bir konu ile ilgili olarak, farklı coğrafi alanlarda farklı örneklemeler ile yapılan çalışmaların örneklemelerinin ve sonuçlarının bir araya getirilmesi ve kantitatif verilerin yorumlanması ile yapılan bir analizdir. Bu kapsamda sağlık çalışanlarından oluşan örneklemelerde yapılan tez ve makalelerden meta analiz çalışması açısından uygun olanlar seçilmiştir. Bu kriterler genel olarak araştırma hipotezleri, uygulanan analiz yöntemleri ve örnekleme alınan kişilerin meslekleri olarak belirlenmiştir.

Araştırmada veri tabanı olarak YÖK Ulusal Tez Merkezi ve PubMed kullanılmıştır. Bu veri tabanları içerisinde yapılan değerlendirmeye “son on yıl içerisinde yapılan çalışmalar” dahil edilmiştir. Ulusal tez merkezinde içerisinde “iş stresi” ve “iş doyumunu/iş tatmini” kelimelerinin beraber geçtiği tezler araştırılmıştır. Elde edilen 42 yüksek lisans ve doktora tezi içerisinde öncelikle tez özetlerinin incelenmesi ve ardından araştırma yöntemi, örneklem ve hipotezlerinin uygun olup olmadığının incelenmesi sureti ile 32 tez elenmiş, toplamda

9 yüksek lisans ve 1 doktora tezi araştırmaya dahil edilmiştir.

Bir diğer veri tabanı olan PubMed üzerinde “occupational stress/job stress” ile “job satisfaction” kelimelerinin aynı anda geçtiği çalışmalar incelenmiştir. Bu kapsamda elde edilen çalışma sayısı 68 olarak belirlenmiştir. Çalışma özetleri ve yöntemleri araştırma kapsamına uygunluk açısından incelenmiş ve 4 makale araştırmaya dahil edilmiştir. Aynı veri tabanında “iş stresi” ve “iş doyumunu/iş tatmini” kelimeleri taranmış, ancak araştırma kapsamına dahil edilebilecek, kriterleri sağlayan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Toplamda 14 adet çalışma bu araştırmanın örneklemini oluşturmuştur.

Çalışmaların araştırmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

*1.Kriter:* Araştırma kapsamında incelenen konular çeşitli değişkenler açısından sıklıkla incelse de bu iki kavramın birbirleri ile ilişkisini araştıran az sayıda yayın olmasından dolayı son on yıl içerisinde yayınlanmış bütün tezler ve makaleler araştırılmıştır.

*2.Kriter:* Araştırma Ulusal Tez Merkezi ve PubMed veri tabanları ile kısıtlanmıştır. Ulusal Tez Merkezinde tezler taranırken; PubMed, sağlık alanında yayın yapan çok sayıda alan indeksli dergiyi taraması nedeni ile seçilmiştir.

*3.Kriter:* Veri tabanlarında “İş stresi” ve “iş tatmini/iş doyumunu” değişkenlerini aynı anda içeren Türkçe makaleler ile “Occupational

stress/job stress” ve “job satisfaction” kelimelerini içeren İngilizce makaleler taranmıştır.

**4.Kriter:** Örnekleme sağlık çalışanlarından seçilmiş olan araştırmalar çalışmaya dahil edilmiştir.

**5.Kriter:** Elde edilen bilimsel çalışmaların özetleri ve araştırma yöntemleri incelenmiştir. Buna göre araştırmalardan kantitatif özellik gösterenler araştırmaya dahil edilmiştir.

**6.Kriter:** Elde edilen araştırmaların hipotezleri ve/veya çalışma soruları incelenmiştir. Buna göre iş stresinin iş doyumunu/tatmini üzerindeki etkisini incelemiş olan çalışmalar araştırmaya dahil edilmiştir.

**7.Kriter:** Elde edilen araştırmalardan “genel iş tatmini/doyumu” ve “iş stresi” puanları ile korelasyon analizi yapan çalışmalar seçilmiştir. Puanları gruplandırarak bağımsız gruplar arasındaki farkların incelendiği araştırmalar kapsam dışı bırakılmıştır.

Bu kapsamda araştırmaya dahil edilen ve edilmeyen çalışmaların profili aşağıdaki gibidir ([Tablo 1](#)).

## BULGULAR

Dahil edilme kriterlerini sağlayan toplam 9 yüksek lisans ve 1 doktora tezi ile 4 makale araştırmaya dahil edilmiştir. Araştırmaya dahil edilen çalışmalara ilişkin tablo aşağıdaki gibidir ([Tablo 2](#)).

Araştırmaya dahil edilen çalışmaların verileri, Comprehensive Meta Analysis (CMA) programına girilmiş ve analiz edilmiştir.

Çalışmada öncelikle sabit etkiler veya rastgele etkiler modellerinden hangisinin kullanılacağına tespiti için heterojenlik testi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analiz sonucuna göre analiz yöntemi olarak rastgele etkiler modelinin kullanılması gerektiği tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).<sup>21</sup> Analize ilişkin tablo aşağıdaki gibidir ([Tablo 3](#)).

$X^2$  Tablosunda yer alan %95 güven aralığında 13 serbestlik derecesine karşılık gelen değer 22,362 olarak tespit edilmiştir. Q değeri,  $X^2$  tablosundan elde edilen kritik değeri aşmaktadır. Dolayısı ile bu analiz de meta analizde rastgele etkiler modelinin kullanılması gerektiğini göstermektedir.

Diğer taraftan, meta analize tabi tutulan çalışmaların örneklemelerinin farklı kurumlar, bölgeler ve farklı tip sağlık çalışanlarından elde edilmesinden dolayı teorik olarak da rastgele etkiler modelinin kullanılması gerekmektedir. Yapılan homojenlik testinin ardından, araştırmaya dahil edilen çalışmalar açısından yayın yanlılığının olup olmadığının tespit edilebilmesi için araştırmalara ait “Funnel Plot” grafiği incelenmiştir ([Şekil 1](#)).

Araştırmaya dahil edilen çalışmalarda yayın yanlılığının olup olmadığını gösteren grafiğe göre (Funnel Plot) araştırmalarda yayın yanlılığının olmadığını söylemek mümkündür.

Zira yayın yanlılığı olduğunu gösteren bir grafikte çalışmaların büyük çoğunluğu bir tarafta toplanmakta veya grafiğin alt kısımlarına doğru yoğunlaşmaktadır.

Çalışma kapsamında homojenlik ve yayın yanlılığı incelemelerinin ardından, rastgele etkiler modeline göre etki büyüklüğü hesaplanmıştır. Elde edilen meta analiz diyagramı (orman grafiği-forest plot) aşağıdaki gibidir (Şekil 2).

Gerçekleştirilen analiz sonucunda elde edilen meta analiz diyagramına göre, sağlık çalışanlarında iş stresinin iş tatminini olumsuz yönde ve orta düzeyde etkilediği söylenebilmektedir. Korelasyon analizlerinin meta analize tabi tutulması ile elde edilen sonuç -0,275 olarak tespit edilmiştir. Tek tek çalışmalar incelendiğinde bir adet çalışma dışında 0,00 noktasını kesen hiçbir çalışma olmadığı görülmektedir. P değerlerine bakıldığında da durum anlaşılmaktadır. Buna göre “Ertürk, 2011” isimli çalışma dışında anlamlılığı olumsuz etkileyen bir çalışma yoktur.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

İş stresi ile iş tatmini literatürü incelendiğinde hem Türkiye hem de dünya literatüründe bu alanlar ile ilgili çok sayıda araştırma yapıldığı görülecektir. Araştırmalar genellikle çeşitli değişkenlerin iş stresine ve iş doyumuna etkisinin incelenmesi amacı ile

gerçekleştirilmiştir. Ancak iş stresinin iş doyumuna etkisini doğrudan inceleyen araştırma sayısı kısıtlıdır. Kısıtlı da olsa bu araştırmaların çoğunda çalışanların stres düzeylerinin iş doyumlarını olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır. Aynı şekilde bu araştırmaları sağlık çalışanları örneğinde gerçekleştiren çalışmalar da son derece azdır. Bu araştırmaların çoğunda da iş stresinin iş doyumunu üzerinde negatif bir etkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Farklı örneklemler ile yapılan araştırmalarda bu etkinin gücü ile ilgili sonuçlar da değişkenlik göstermektedir. Bu kapsamda, farklı örneklemler ile gerçekleştirilmiş farklı çalışmaların sonuçlarının bir araya getirilerek analiz edildiği bu çalışmada iş stresinin iş doyumunu üzerindeki etki büyüklüğü -0,275 olarak saptanmıştır. Dolayısı ile iş stresinin iş doyumunu orta düzeyde olumsuz yönde etkilediği söylenebilir. Bu durum özellikle yoğun stres altında çalışan sağlık çalışanları açısından önem kazanmaktadır. Zira sağlık çalışanları yüksek stres altında ve hataların bedellerinin çok yüksek olduğu bir iş ortamında faaliyet göstermektedirler.<sup>22</sup> İş doyumunu yüksek bir çalışanın işe bağlılığı, motivasyonu ve performansı da yüksek düzeylerde olmakta, dolayısı ile hastaların memnuniyetleri de artmaktadır. Aynı zamanda hata oranlarında azalmalar sağlanabilmektedir. İşine motive olmuş bir çalışanın takım arkadaşlarını motive etmesi de daha kolay olmakta ve ortaya yüksek

performanslı ekipler çıkmaktadır.<sup>23</sup> Bu nedenle sağlık çalışanlarına yönelik olarak stres yaratan unsurların ortadan kaldırılması ve çalışanlara stres ile başa çıkma yöntemlerinin aktarılması çok önemlidir.

İş tatmininin düşük olduğu durumlarda iş doyumsuzluğu söz konusu olmaktadır. İş doyumsuzluğunun olduğu durumların iş görenin iş ile ilişkisini doğrudan etkilediği açıktır. İş doyumsuzluğu iş görenlerin performanslarını düşürmek ile kalmamakta; aynı zamanda işten ayrılma niyetlerini artırmakta, psikolojik sağlıklarını bozmakta ve bazı fiziksel problemleri de beraberinde getirmektedir. Bununla beraber işten ayrılmasalar dahi çalışanların işe devamsızlık oranlarını artırarak üretim süreçlerinde aksamalara sebep olmaktadır. Bu durum sağlık gibi devamlılığın ve takibin önemli olduğu sektörlerde müşteri memnuniyetinde ciddi düşümlere sebep olabilmektedir. İş doyumunu düşük olan çalışanların hata yapma olasılıkları da artmakta, sağlık gibi hata kabul etmeyen alanlarda hizmet kalitesinin olumsuz etkilenmesi müşteri/hasta pozisyonunda olan bireylere yansımakta ve ilk aşamalarda sadece bireysel memnuniyetsizlikler ortaya çıksa da ilerleyen dönemlerde kurum imajını büyük ölçüde zedelemektedir. İş doyumsuzluğun diğer bir sonucu da örgütsel bağların zayıflayarak kopma noktasına gelmesidir. Örgütsel bağların ve iletişimin zayıflaması hem aynı düzey çalışanlar arasında yatay, hem de ast-üst arasında dikey

çatışmaların yaşanmasına yol açabilmektedir. Böyle bir durumda örgütler kırılğan bir yapıya dönüşebilir ve en ufak problemlerde dahi büyük krizlerin içine sürüklenebilirler.

Örgütlerde iş doyumunun yüksek olması, yöneticilerin değerlendirilmesi açısından önemli bir kriter olarak görülebilmektedir. Bu anlamda örgüt çalışanlarının doyum düzeyinin yüksek olması, örgütün iyi yönetildiği düşüncesini de doğurmaktadır. Dolayısı ile sağlık yöneticileri açısından sağlık çalışanlarının yüksek bir doyum düzeyine ulaşmaları ve yüksek iş doyumunun sürdürülebilirliğinin sağlanması önemli bir başarı faktörü olarak ifade edilebilir. Ülkemizde sağlık alanında son zamanlarda gündeme gelmiş olan ve Toyota ile özdeşleşmiş olan yalın üretim de esasında yüksek performans ve sıfır hata ile üretim yapılması üzerine odaklanmıştır. Yüksek performans, minimum maliyet ve yüksek verimlilik ile çalışılabilmesinin ön koşullarından bir tanesi de nitelikli çalışanlardır. Ancak çalışanların nitelikleri ne kadar yüksek olursa olsun, iş doyumsuzluğu ve stres gibi unsurlar hata oranlarını ve fireleri artırmakta, iş kazalarına ve iş güvenliği sorunlarına yol açmakta, dolayısıyla işletmeleri hem maddi hem de hukuki açıdan zor durumda bırakmaktadır. Bu bağlamda yalın hastanecilik konusundaki ilerlemenin de çalışanların yüksek iş doyumuna sahip olması ile yakından ilişkili olduğu iddia edilebilmektedir. Özellikle sağlık sektöründe son zamanlarda gündeme gelen malpraktis

vakaları ve açılan davalar konunun öneminin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Bu noktada sağlık sektöründe minimum hata, hatta mümkünse sıfır hata ile çalışılması hedeflenmelidir.

Sağlık çalışanlarının yüksek bir iş doyumuna ulaşabilmeleri adına, iş ortamlarında stres yaratan faktörlerin minimum seviyeye indirilmesi, çalışanlara stres ile mücadele eğitimlerinin verilmesi gibi önlemler alınmalıdır. Böylece yüksek iş doyumuna sahip olan sağlık çalışanları, daha yüksek bir performans ile çalışabilecek ve sağlık kurumlarının verimliliklerine katkı sağlayabilecektir. Aynı zamanda, stres ile başa çıkma konusunda eğitilmiş ve başarılı sağlık çalışanlarının malpraktis oranlarının düşmesi ile sağlık kurumlarının özellikle hukuki anlamda problemlerden kaçınması olanaklı olacaktır. Benzer şekilde iş sağlığı ve güvenliği sorunlarının yaşanmaması adına, sağlık yöneticileri sağlık çalışanlarının stres düzeylerini minimize ederek iş doyumlarını artıracak önlemler almalıdır.

## KAYNAKLAR

(\*) ile işaretli olanlar meta analizde kullanılan çalışmalardır.

1. Cooper CL, Dewe PJ, O'Driscoll MP. Organizational Stress: A Review and Critique of Theory, Research, and Applications. California: Sage; 2001.
2. Harigopal K. Organizational Stress: A Study of Role Conflict. Universities Press; 1995.
3. Şimşek Ş, Çelik A, Akgemci T. Davranış Bilimlerine Giriş ve Örgütsel Davranış, 9. Baskı, Ankara: Eğitim Kitabevi; 2015.
4. Eren E. Örgütsel Davranış ve Yönetim Psikolojisi. 11. Baskı, İstanbul: Beta Yayıncılık; 2008.
5. Soysal A. İş yaşamında stres. Çimento İşveren Dergisi. 2009; 3(23): 17-40.
6. Balcı A. Öğretim Elemanlarının İş Stresi, Kuram ve Uygulamalar. Ankara: Nobel Yayınevi; 2000.
7. Erdoğan T, Ünsar AS, Süt N. Stresin çalışanlar üzerindeki etkileri: bir araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi. 2009; 14(2): 447-461.
8. Balcı A. Çalışanlarda stres kaynakları, stresle başa çıkma yöntemleri ve sağlık sektörü. Yüksek Lisans Tezi. Beykent Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü; 2014.
9. Ergun G. Sağlık işletmelerinde örgütsel stresin işgücü performansı ile etkileşiminin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü; 2008.
10. Hubbard JR (Ed.). Handbook of Stress Medicine: An Organ System Approach. New York: CRC Press; 1997.
11. Wilson B. Understanding Autoimmune Disease and Stress-Related Illness, NC: Lulu Publishing; 2009.

12. Sabuncuoğlu Z, Tüz M. Örgütsel Psikoloji. 1. Baskı, Bursa: Ezgi Kitabevi; 1995.
13. Okutan M, Tengilimoğlu D. İş ortamında stres ve stresle başa çıkma yöntemleri: bir alan uygulaması. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi. 2002; 4(3): 15-42.
14. Eren Gümüştekin G, Öztemiz AB. Örgütlerde stresin verimlilik ve performansla etkileşimi. Çukurova Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi. 2005; 14(1): 271-288.
15. Eren E. Yönetim Psikolojisi. 4. Baskı, İstanbul: Beta Yayıncılık; 1993.
16. Robbins SP, Judge TA. Organizational Behavior. Çeviri: İnci Erdem, Örgütsel Davranış. 14. Baskı, İstanbul: Nobel Yayıncılık; 2015.
17. Bingöl D. Personel Yönetimi. 2. Baskı, İstanbul: Beta Yayıncılık; 1996.
18. İşcan ÖF, Sayın U. Örgütsel adalet, iş tatmini ve örgütsel güven arasındaki ilişki. Atatürk Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi. 2010; 24(4): 195-216.
19. Spector PE. Job Satisfaction: Application, Assessment, Causes, and Consequences. California: Sage Publication; 1997.
20. Kaptangil K. İşletmelerde insan kaynakları eğitiminin çalışanların performansları üzerine olan etkileri. Çankırı Karatekin Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi. 2012; 2(2); 25-44.
21. Yalçın İ. İyi Oluş ve sosyal destek arasındaki ilişkiler: Türkiye’de yapılmış çalışmaların meta analizi. Türk Psikiyatri Dergisi. 2015; 26(1): 21-32.
22. Kavuncubaşı Ş. Hastane ve Sağlık Kurumları Yönetimi, Ankara: Siyasal Kitabevi; 2000.
23. Hoş C, Oksay A. Hemşirelerde örgütsel bağlılık ile iş tatmini ilişkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi. 2015; 20(4): 1-24.
- \*Arız T. İş tatmini ile stres düzeyleri ilişkisi: Ankara Gölbaşı Hasvak ve Kalecik Devlet Hastaneleri örneği. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara; 2010.
- \*Chao MC, Jou RC, Liao CC, Kuo CW. Workplace stress, job satisfaction, job performance, and turnover intention of health care workers in rural Taiwan. Asia Pacific Journal of Public Health. 2015; 27(2), 1827-1836.
- \*Ertürk S. Kuruma aidiyet bağlamında adanmışlık algısı ile kişilik, iş doyumunu ve stres ilişkisi. Doktora Tezi, Kara Harp Okulu, Savunma Bilimleri Enstitüsü, Ankara; 2011.
- \*Göçeri F. Sorumlu hemşirelerin iş stresinin iş doyumunu üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul; 2014.
- \*Kara T. Hemşirelerde stresin iş tatmini ve işten ayrılmaya etkisinin çalışma saatleri açısından değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Beykent Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul; 2010.

- \*Kurumahmut D. İstanbul’ daki özel diyaliz merkezlerinde çalışan hemodiyaliz hemşirelerinin stres düzeyleri ve stres düzeylerinin iş doyumuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul; 2010.
- \*Melnik BM, Hrabe DP, Szalacha LA. Relationships among work stress, job satisfaction, mental health, and healthy lifestyle behaviors in new graduate nurses attending the nurse athlete program: a call to action for nursing leaders. *Nursing administration quarterly*. 2013; 37(4), 278-285.
- \*Narin Y. İstanbul ilinde bir eğitim araştırma hastanesinde çalışan hemşireleri rol çatışması, iş doyumunu ve stres düzeylerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul; 2010.
- \*O'Donnell P, Farrar A, BrintzenhofeSzoc K et al. Predictors of ethical stress, moral action and job satisfaction in health care social workers. *Social Work in Health Care*. 2008; 46(3), 29-51.
- \*Şahin, Z. Bir devlet hastanesinde çalışan hemşireler ile bir vakıf üniversitesi hastanesinde çalışan hemşirelerin iş stres ve iş doyumunu düzeylerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Maltepe Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul; 2011.
- \*Tanşu M. Örgütsel stres kaynakları ve iş tatmini arasındaki ilişkinin incelenmesi ve sağlık sektöründe bir uygulama. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul; 2009.
- \*Tremolada M, Schiavo S, Tison T et al. Stress, burnout, and job satisfaction in 470 health professionals in 98 apheresis units in Italy: A SIdEM collaborative study. *Journal of Clinical Apheresis*. 2015; 30(5), 297-304.
- \*Vural Z. Sağlık çalışanlarında örgütsel stresin iş tatmini ile ilişkisi (Antalya Atatürk Devlet Hastanesi hemşireleri örneği). Yüksek Lisans Tezi, Beykent Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul; 2014.
- \*Yalnız H. Ebelerde iş stresinin iş doyumuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir; 2010.

**Tablo 1.** Veri tabanlarından elde edilen çalışmaların profili

Çalışma Türü	Dâhil Edilen	Dâhil Edilmeyen	Toplam
Yüksek Lisans ve Doktora Tezi	10	32	42
Makale	4	64	68
TOPLAM	14	96	110

**Tablo 2.** Araştırmaya dahil edilen çalışmalar

Çalışma	Çalışmanın Tam İsmi	Türü	Örneklem Büyüklüğü	Temel Bulgular (r)
Arız, 2010	İş tatmini ile stres düzeyleri ilişkisi: Ankara Gölbaşı Hasvak ve Kalecik Devlet Hastaneleri örneği	Yüksek Lisans Tezi	276	-0,350
Chao, 2015	Workplace stress, job satisfaction, job performance, and turnover intention of health care workers in rural Taiwan	Makale	344	-0,530
Ertürk, 2011	Kuruma aidiyet bağlamında adanmışlık algısı ile kişilik, iş doyumunu ve stres ilişkisi	Doktora Tezi	200	-0,115
Göçeri, 2014	Sorumlu hemşirelerin iş stresinin iş doyumuna üzerine etkisi	Yüksek Lisans Tezi	165	-0,395
Kara, 2010	Hemşirelerde stresin iş tatmini ve işten ayrılmaya etkisinin çalışma saatleri açısından değerlendirilmesi	Yüksek Lisans Tezi	175	-0,309
Kurumahmut, 2010	İstanbul' daki özel diyaliz merkezlerinde çalışan hemodiyaliz hemşirelerinin stres düzeyleri ve stres düzeylerinin iş doyumuna etkisi	Yüksek Lisans Tezi	171	-0,357
Melnyk, 2013	Relationships among work stress, job satisfaction, mental health, and healthy	Makale	61	0,530

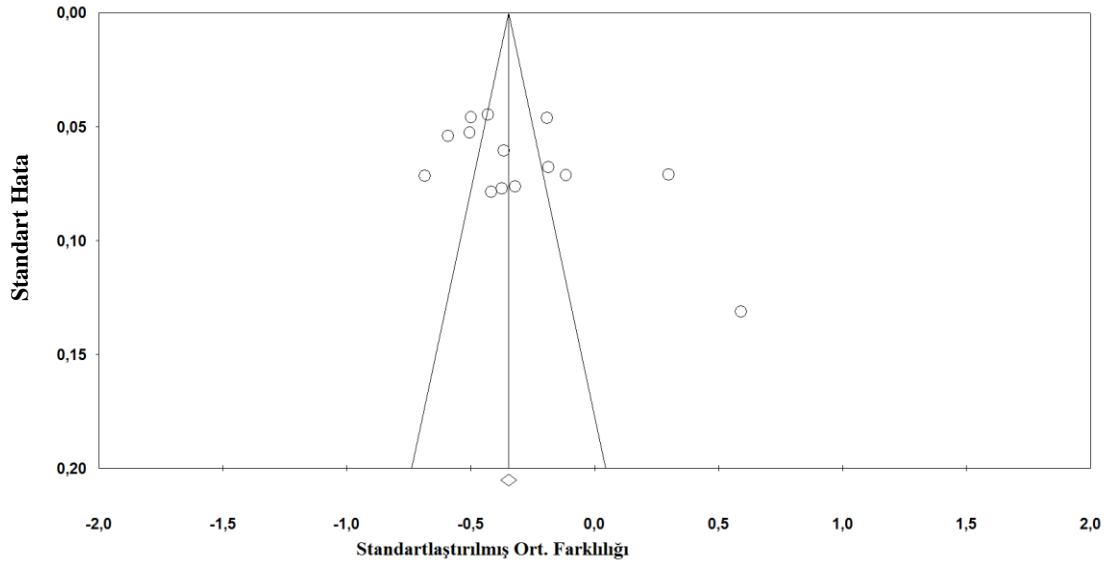


lifestyle behaviors in new graduate nurses attending the nurse athlete program: a call to action for nursing leaders

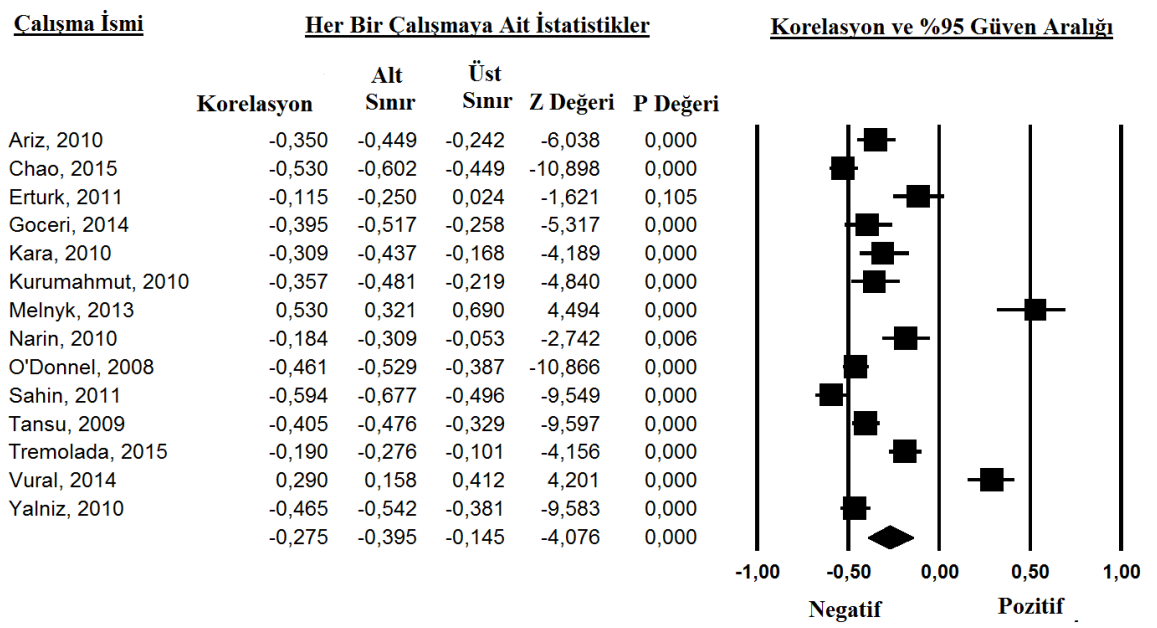
Narin, 2010	İstanbul ilinde bir eğitim araştırma hastanesinde çalışan hemşireleri rol çatışması, iş doyumunu ve stres düzeylerinin belirlenmesi	Yüksek Lisans Tezi	220	-0,184
O'Donnel, 2008	Predictors of ethical stress, moral action and job satisfaction in health care social workers	Makale	478	-0,461
Şahin, 2011	Bir devlet hastanesinde çalışan hemşireler ile bir vakıf üniversitesi hastanesinde çalışan hemşirelerin iş stres ve iş doyumunu düzeylerinin incelenmesi	Yüksek Lisans Tezi	198	-0,594
Tansu, 2009	Örgütsel stres kaynakları ve iş tatmini arasındaki ilişkinin incelenmesi ve sağlık sektöründe bir uygulama	Yüksek Lisans Tezi	502	-0,405
Tremolada, 2015	Stress, burnout, and job satisfaction in 470 health professionals in 98 apheresis units in Italy: A SIdEM collaborative study	Makale	470	-0,190
Vural, 2014	Sağlık çalışanlarında örgütsel stresin iş tatmini ile ilişkisi (Antalya Atatürk Devlet Hastanesi hemşireleri örneği)	Yüksek Lisans Tezi	201	0,290
Yalnız, 2010	Ebelerde iş stresinin iş doyumuna etkisi	Yüksek Lisans Tezi	365	-0,465

**Tablo 3.** Heterojenlik analizi

Q Değeri	Serbestlik Derecesi	P	I <sup>2</sup> Değeri
227,439	13	0,000	94,284

**Şekil 1.** Araştırmaya dahil edilen çalışmalara ilişkin yayın yanlılığı grafiği

**Şekil 2.** Çalışmaya ilişkin meta analiz diyagramı



**Meta Analiz**

## Çocuk yoğun bakım hastalarında hiponatreminin klinik önemi

Fatih AYGÜN<sup>1</sup>, Seda ARAS<sup>2</sup>, Fatih VAROL<sup>1</sup>, Ahmet İRDEM<sup>3</sup>

Öz	Yayın Bilgisi
<p>Hiponatremi çocuk acil ve yoğun bakım ünitelerinde sık görülen bir elektrolit bozukluğudur. Yetişkin hastalarda hiponatreminin mortalite için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmesine karşın özellikle çocuk yoğun bakım (ÇYB) hastalarında hiponatreminin klinik önemi ve prognoza etkisi yeterince irdelenmemiştir. Bu çalışmada çocuk yoğun bakım ünitesi'nde (ÇYBÜ) yatırılan hastalarda ilk gün hiponatremi sıklığı ve erken dönem prognoz ile olan ilişkisinin araştırılması planlanmıştır. Ekim 2016 ile Mart 2018 tarihleri arasında yatırılan tüm hastaların verileri geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışmaya alınan 435 hastanın 22'sinde orta ve ağır düzeyde hiponatremi saptandı. Hastaların 12'si (%54,5) erkek, 10'u (%45,5) kızdı. Yaş dağılımları 1,5 ay ile 17 yaş arasında olup ortalama hasta yaşı 3,67±2,00 yıldır. Hiponatremi saptanan hastaların ortalama yatış süresi 14,91±22,17 gündür. Serum sodyum (Na) düzeyinin düşüklüğü (Na&lt;130 mmol/L) ile mekanik ventilatöre bağlanma, inotrop ilaç kullanımı, ÇYBÜ yatış süresi, çocuk mortalite (PRISM ) skoru, kan ürünü kullanımı, ölüm, akut böbrek hasarı ve kalp yetmezliği arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı. Çocuk hastalarda ilk başvuru sırasında Na&lt;130mmol/L olması mortalite ve morbidite ile ilişkili önemli bir prognostik belirteç olarak değerlendirilmelidir.</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Çocuk yoğun bakım ünitesi, hiponatremi, prognoz, mortalite</p>	<p>Gönderi Tarihi:14.06.2018</p> <p>Kabul Tarihi:29.07.2018</p> <p>Online Yayın Tarihi:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.434105</p> <p><b>Sorumlu Yazar</b></p> <p>Fatih AYGÜN</p>

## The clinical importance of hyponatremia in pediatric intensive care unit patients

Fatih AYGÜN<sup>1</sup>, Seda ARAS<sup>2</sup>, Fatih VAROL<sup>1</sup>, Ahmet İRDEM<sup>3</sup>

Abstract	Article Info
<p>Hyponatremia is a common electrolyte deficiency in the setting of the pediatric emergency and intensive care unit. It is already known that hyponatremia is an independent risk factor in the mortality of adult patients. However, the clinical frequency and the importance of hyponatremia are not definitely described in Pediatric Intensive Care Unit (PICU) patients. Herein, we aimed to study the frequency and effect of Hyponatremia to the early prognosis of patients in pediatric intensive care unit. The medical records of patients followed in PICU between October 2016 and March 2018 were evaluated retrospectively. Moderate or severe hyponatremia was determined in 22 of 435 patients included in the study. Twelve (54.5%) of patients were male, 10 were (45.5%) female. Average age of patients was 3.67±2.00 years, ranging between 1.5 months-17 years. The average duration of hospitalization was 14.91±22.17 days for patients with hyponatremia. We found a statistically significant correlation between hyponatremia (Na&lt;130 mmol/L) and need for mechanical ventilation, use of inotrop drugs, length of hospitalization in PICU, PRISM-III score, blood product need, death, acute kidney injury and cardiac failure. Hyponatremia (Na&lt;130mmol/L) during admission to pediatric intensive care unit should be considered as an important prognostic factor in mortality and morbidity of critically ill children.</p> <p><b>Keywords:</b> Pediatric intensive care unit, hyponatremia, prognosis, mortality</p>	<p>Received:14.06.2018</p> <p>Accepted:29.07.2018</p> <p>Online Published:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.434105</p> <p><b>Corresponding Author</b></p> <p>Fatih AYGÜN</p>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Yoğun Bakım Bilim Dalı

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Okmeydanı Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Okmeydanı Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Kardiyolojisi

## GİRİŞ

Hiponatremi, klinik pratikte en sık karşılaşılan elektrolit bozukluğu olup hastane içi mortalitenin önemli bir habercisidir.<sup>1</sup> Yoğun

bakım ihtiyacı olan yetişkin hastalarda yapılan çalışmalarda hiponatreminin mortalite için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.<sup>2,3</sup> Hiponatreminin kalp

yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, santral sinir sistemi hastalıkları ve pnömoni gibi birçok önemli hastalıkla birlikteliği bildirilmiş ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.<sup>3</sup> Hiponatremi mortalitede artışın yanı sıra hastane yatış süresini de uzatmaktadır.<sup>3-5</sup> Uzamış yatış süresi ve hiponatremiye ikincil gelişen komplikasyonlar aynı zamanda hastane maliyetlerinde de artışa neden olmaktadır.<sup>3,5</sup>

Çocuk hastalarda yapılan çalışmalarda hiponatreminin alt solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili olduğu bildirilmiş, özellikle bronşiolitli bebeklerde mekanik ventilatör ihtiyacında ve yoğun bakım mortalitesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir.<sup>6,7</sup> Hiponatremi tek başına da morbidite ve mortaliteyi olumsuz etkilemektedir. Yetişkin hastalarda sodyum (Na) ve hiponatremi ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen çocuk yoğun bakım hastalarında başvuru sırasındaki hiponatremi sıklığı ve prognoza etkisi konusunda az şey bilinmektedir.

Bu çalışmada çocuk yoğun bakım ünitesine (ÇYBÜ) yatırılan hastalarda ilk gün hiponatremi sıklığı ve hiponatreminin erken dönem prognoz ile olan ilişkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

## MATERYAL ve METOT

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi 12 yatak ile hizmet veren üçüncü düzey bir yoğun bakımdır. Hasta potansiyeli yüksek olan ÇYBÜ'ne Ekim 2016 ile Mart 2018

tarihleri arasında yatırılan tüm hastaların verileri geriye dönük olarak hasta dosyaları ve elektronik kayıt sistemleri üzerinden incelendi. Çalışma için Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurulundan 2018-907 sayılı numarası ile onam alındı.

Kayıtlarında eksiklik olan ve 24 saatten kısa yatış süresi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hafif hiponatremisi ( $130 < Na < 135$  mmol/L) saptanan ve başvuru sırasında kan şekeri  $>250$ mg/dl olan hastalar çalışmaya alınmadı. Kan gazında ve izlemdeki laboratuvar değerlendirmelerinde serum Na düzeyleri karşılaştırılarak uyumsuz olanlar da değerlendirmeye alınmadı.

Çalışmaya alınan hastaların demografik bilgileri ve yatış sonrası ilk laboratuvar değerleri kaydedildi. Serum Na düzeyleri ( $Na > 130$  mmol/L ve  $Na < 130$  mmol/L) ile cinsiyet, yaş, mekanik ventilasyon, non-invaziv mekanik ventilasyon (NIV) ihtiyacı, inotrop ilaç kullanımı, yatışı sırasında akut böbrek hasarı (ABH) gelişmesi, sürekli renal replasman tedavisi (SRRT), yatış süresi, kan ürünü kullanımı, plazma değişimi, kalp yetmezliği ve mortalite ilişkisi değerlendirildi. Ayrıca anlamlı ilişki saptanan prognostik faktörlerin relatif risk oranlarına da bakıldı.

İstatistiksel analizde SPSS programı (20.0 sürümü, IBM Company, SPSS Inc.) kullanıldı. Sayısal veriler ortalama±standart sapma, kategorik veriler ise sıklık (n) ve yüzde (%) ile

belirtilirdi. İki grup arasındaki sayısal farklılıkların istatistiksel anlamlılığının değerlendirilmesinde oneway ANOVA kullanıldı. İki değişken arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Pearson ki kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık p değerinin 0.05'in altı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Toplamda 459 hastanın verilerine ulaşıldı. Hastaların 24'ünde kayıtlarında eksiklik, kan şekeri>250mg/dl veya 24 saatten kısa yatış süresi olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Toplam 435 hasta çalışmaya alındı. Hiponatremi ile yatırılan hastaların 12'si (%54,5) erkek, 10'u (%45,5) kız idi. Ortalama yaşı 3,67±2.00 (1,5 ay ile 17 yaş) yıld (Tablo 1). Ortalama yatış süresi 14,91±22,17 gündü. Mekanik ventilatör desteği 13 (%59,1) ve NIV 9 (%40,9) hastaya uygulandı. On (%23,7) hastada yatışı sırasında ABH gelişti ve bu hastaların 3'üne (%13,6) SRRT yapıldı. On bir (%22,7) hastada inotrop ilaç kullanıldı. Pediatrik mortalite risk skorlaması (PRISM-III) 29,62±17,19 saptandı. Beş hastaya yoğun bakıma yatışı sonrası kalp yetmezliği tanısı konuldu. Mortalite %13,6 (n=3) saptandı (Tablo 2).

Serum Na<130 mmol/L ile mekanik ventilatör ihtiyacı, inotrop ilaç kullanımı, ÇYBÜ yatış süresi, PRISM-III skoru, kan ürünü kullanımı, mortalite, ABH ve kalp yetmezliği arasında

istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (sırası ile p=0,001, p=0,001, p=0,00, p=0,001, p=0,021, p=0,004, p=0,024, p=0,004). Serum Na<130 mmol/L olan hastaların mekanik ventilatör, inotrop ilaç kullanımı, ölüm, kan transfüzyonu ihtiyacı, ABH ve kalp yetmezliği için relatif risk ve güven aralığı Tablo 3' te gösterilmiştir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Hiponatremi hastanede yatan hastalarda en sık görülen elektrolit bozukluğu olmasına karşın semptomatik olmadığı sürece sıklıkla önemsenmemektedir. Hafif hiponatremide (130≤Na<135mmol/L) ciddi semptomlar gelişmezken ciddi hiponatremide (Na<120mmol/L) konvülziyon, beyin ödemi, akciğer ödemi ve ölüm gibi çok ciddi komplikasyonlar bildirilmiştir.<sup>8</sup> ÇYBÜ hastalarında başvuru sırasında hiponatremi sıklığı ile ilgili az çalışma bulunmaktadır. Sachdevve ark.<sup>9</sup> nın prospektif çalışmasında ÇYBÜ başvurusunda hastaların %19,3'ünde hiponatremi saptanmıştır. Fakat bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak hafif hiponatremisi olan hastalarda çalışmaya dahil edilmiştir. Hafif hiponatreminin sık görülmesi ve genellikle semptom vermemesi nedeniyle çalışmamıza dahil edilmemiştir ve hiponatremi sıklığımız %5.0 olarak daha düşük saptanmıştır. Literatüre bakıldığında bizim çalışmamıza benzer şekilde yoğun bakım hastalarında

Na<130mmol/L saptanma oranı %4-14 arasındadır.<sup>2,5,7</sup>

Hiponatremi etiyolojisinde kronik hastalıklar ve hipervolemiye ikincil gelişimin yanında en sık suçlanan mekanizma stres gibi durumlarda salınımı artan anti-diüretik hormon (ADH) olmuştur.<sup>8,10</sup> Renin-anjiyotensin-aldosteron (RAA) sisteminin aktivasyonu da sorumlu tutulan diğer bir mekanizmadır.<sup>10</sup> Stres durumunda aktive olan ADH ve RAA sistemi hiponatremi sıklığını artırırken, artmış streste hiponatremi derecesinin derinleşeceği düşüncesiyle yaptığımız bu çalışmada hiponatremik grupta mortalite ve morbidite literatür ile uyumlu olarak yüksek saptandı. Çalışmamızda Na<130mmol/L olan grupta mortalite 5,77 kat daha fazlaydı. Funk ve ark.<sup>5</sup> 151486 yetişkin yoğun bakım hastasını içeren çok merkezli retrospektif çalışmasında hiponatreminin kritik hastalarda hastane mortalitesi için bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. ÇYBÜ hastalarında yapılan çalışmalarda da benzer olarak hiponatreminin mortaliteyi arttığı gösterilmiştir.<sup>7</sup> Çalışmamızda PRISM-III skorunun hiponatremik grupta belirgin yüksek olması serum Na düzeyinin prognoz ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Hiponatremik hastalarda yoğun bakım ve mekanik ventilatör ihtiyacında artış ile daha uzun yatış süresi daha önce bildirilmiştir.<sup>9,11,12</sup> Bizim çalışmamızda da hiponatremik grupta mekanik ventilatör ihtiyacı belirgin yüksekti.

Yirmi iki hastanın 13'ünde (%59,1) mekanik ventilatör ihtiyacı vardı. Ayrıca ÇYBÜ yatış süresi de iki kat daha uzun saptandı. Luu ve ark.<sup>7</sup> ÇYBÜ hastalarında yaptıkları çalışmada bronşiolitli çocuklarda hiponatreminin yoğun bakım yatış süresini ve mekanik ventilatöre bağlı kalma süresini uzattığı bildirilmiştir. Yoğun bakım yatış süresi uzadıkça maliyetlerinde artacağı beklenen bir durumdur. Fakat çalışmamızda hasta maliyetleri değerlendirilmemiştir.

Hipervolemik hiponatreminin en sık nedenleri kalp yetmezliği, siroz ve böbrek hasarıdır.<sup>13</sup> Ayrıca kalp yetmezliği olan hastalarda en sık görülen elektrolit bozukluğu hiponatremi olup artmış mortalite ve morbidite ile ilişkilidir.<sup>14</sup> Kalp yetmezliği tanısı ile yatırılan çocuk hastalarda yapılan bir çalışmada serum Na<138mmol/L olmasının kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>15</sup> Bizim çalışmamızda da kalp yetmezliği ve inotrop kullanımı ile serum Na'u arasında anlamlı ilişki saptandı. Ayrıca hastalarımızda hiponatremi ile ABH arasında da anlamlı ilişki vardı. Akut hipoalbuminemi, hastanede yatan hastalarda organ disfonksiyonu, malnütrisyon, sistemik inflamasyona bağlı artmış endotel geçirgenliği ve artmış kapiller kaçak gibi nedenlerden dolayı sık görülür.<sup>16</sup> Hastalarımızın albümin değerlerini incelediğimizde hiponatremik gruptaki 10 hastada hipoalbuminemi saptandı.

Sonuç olarak bu çalışma ile ÇYBÜ hastalarında ilk başvuru Na<130mmol/L olmasının mortalite

ve morbidite ile ilişkili prognostik bir belirteç olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda bazı eksiklikler ve kısıtlamalar bulunmaktadır. Retrospektif ve tek merkezli olması eksik yönleridir. Ülkemizde ÇYBÜ hastalarında başvuru Na düzeyi ile prognoz arasındaki ilişkiyi karşılaştıran başka bir çalışma olmaması ve hasta topluluğumuzun karma olması çalışmamızı değerli kılmaktadır. Tabii ki bu sonuçlarımızı destekleyecek prospektif ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Hoorn EJ, Lindemans J, Zietse R. Development of severe hyponatraemia in hospitalized patients: treatment-related risk factors and inadequate management. *Nephrol Dial Transplant*.2006; 21(1):70-76.
2. Bennani SL, Abouqal R, Zeggwagh AA et al. Incidence, causes and prognostic factors of hyponatremia in intensive care. *Rev Med Interne*.2003;24(4):224–229.
3. Upadhyay A, Jaber BL, Madias NE. Epidemiology of hyponatremia. *Semin Nephrol*.2009; 29(3):227-238.
4. Chawla A, Sterns RH, Nigwekar SU, Cappuccio JD. Mortality and serum sodium: do patients die from or with hyponatremia? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 ;(5):960-965.
5. Funk GC, Lindner G, Druml W et al. Incidence and prognosis of dysnatremias present on ICU admission. *Intensive Care Med*. 2010; 36(2):304-311.
6. Al Shibli A, Abukhater D, Al Kuwaiti N et al. Hyponatraemia and neurological complications in children admitted with bronchiolitis. *Paediatr Int Child Health*. 2016;36(3):175-180.
7. Luu R, DeWitt PE, Reiter PD, Dobyns EL, Kaufman J. Hyponatremia in children with bronchiolitis admitted to the pediatric intensive care unit is associated with worse outcomes. *J Pediatr*. 2013;163(6):1652-1656.
8. Lavagno C, Milani GP, Uestuener P et al. Hyponatremia in children with acute respiratory infections: A reappraisal. *Pediatr Pulmonol*. 2017; ;52(7):962-967.
9. Sachdev A, Pandharikar N, Gupta D, Gupta N, Gupta S, Venkatraman ST. Hospital acquired Hyponatremia in Pediatric Intensive Care Unit. *Indian J Crit Care Med*. 2017;21(9):599-603.
10. Hausman KM, Reif S, Danino D et al. Mechanism of hyponatremia in community-acquired pneumonia: does B-typenatriuretic peptide play a causative role? *Pediatr Emerg Care*. 2016 May 31:01–06.
11. Waikar SS, Mount DB, Curhan GC. Mortality after hospitalization with mild, moderate, and severe hyponatremia. *Am J Med*. 2009;122(9):857-865.
12. Dasta J, Waikar SS, Xie L. Patterns of treatment and correction of hyponatremia in



- intensive-care-unit patients. *J CritCare.* 2015;30(5):1072-1079.
13. Braun MM, Barstow CH, Pyzocha NJ. Diagnosis and Management of Sodium Disorders: Hyponatremia and Hypernatremia. *Am Fam Physician.* 2015;91(5):299-307.
14. Price JF, Kantor PF, Shaddy RE et al. Incidence, Severity, and Association With Adverse Outcome of Hyponatremia in Children Hospitalized With Heart Failure. *Am J Cardiol.* 2016;118(7):1006-1010.
15. Patel MS, Berg AM, Vincent RN, Mahle WT. Serum parameters and echocardiographic predictors of death or need for transplant in newborns, children, and young adults with heart failure. *Am J Cardiol.* 2010;105(12):1798-801.
16. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(1):98-104.

**Tablo 1.** Ekim 2016 ile Şubat 2018 tarihleri arasında Çocuk Yoğun Bakım yatışı sırasında serum sodyumu<130mmol/L olan hastaların demografik özellikleri

Hasta	Cinsiyet	Yaş	Na (mmol/L)	Yatış Tanısı	Yatış Süresi
1	Erkek	5 ay	127	Kronik akciğer, pnömoni	21
2	Erkek	12 ay	129	Down Sendromu, konjenital kalp hst	23
3	Kız	4 ay	117	Hidrocefali, şantenfeksiyonu	31
4	Kız	6 ay	127	Akut Karaciğer yetmezliği	2
5	Kız	4 yaş 8 ay	118	Enfektifendokardit	14
6	Kız	15 yaş	119	Milier Tüberküloz,	15
7	Erkek	5 yaş	129	Epilepsi	2
8	Kız	2 yaş	123	Asetaminofenintoksikasyonu, konvülziyon	2
9	Kız	11 yaş	129	Septik şok	8
10	Kız	2 yaş 1ay	129	Konjenital kalp hastalığı, pnömoni	11
11	Erkek	2.5 ay	128	Bronşiolit	4
12	Erkek	1.5 ay	128	Bronkopnömoni	11
13	Kız	3 ay	127	Konjenital kalp hastalığı, bronşiolit	6
14	Erkek	12 ay	111	Mitokondriyal hastalık	18
15	Erkek	10 ay	119	Stroke, epilepsi	40
16	Erkek	4 ay	128	Ani bebek ölümü, preterm doğum	3
17	Kız	15 yaş	120	Mide perforasyonu, sepsis	7
18	Erkek	12 ay	128	Febrilkonvülziyon	2
19	Erkek	13 yaş	128	Astım, solunum yetmezliği	2
20	Erkek	5 yaş	129	West sendromu, trakeostomi	2
21	Erkek	17 yaş	128	Ewing sarkom, akciğer metastaz	10
22	Kız	1 yaş	129	Meningomyelosele, şantenfeksiyonu	2

*Na: Sodyum*

**Tablo 2.** Serum sodyumu ile hastaların prognostik faktörlerinin karşılaştırılması.

	<b>Tüm hastalar (n=435)</b>	<b>Na&lt;130 mmol/L (n=22)</b>	<b>Na≥130 mmol/L (n=413)</b>	<b>P</b>
Na (mmol/L)	138.04±5.42	124.73±6.04	138.75±4.37	0.000
Cinsiyet				
Erkek	236 (%54.3)	12 (%54.5)	224 (%54.2)	0.977
Kız	199 (%45.7)	10 (%45.5)	189 (%45.8)	
Yaş (yıl)	3.78±4.72	4.35±5.73	3,75±4.66	0.560
Mekanik Ventilatör Kullanımı	122 (%28.0)	13 (%59.1)	109 (%26.4)	0.001*
İnotrop ilaç kullanımı	96 (%22.1)	11 (%50.0)	85 (%20.6)	0.001*
Non-invazif Mekanik Ventilasyon	197 (%45.3)	9 (%40.9)	188 (%45.5)	0.657
Yoğun Bakım Yatış Süresi	7.41±10.39	14.91±22.17	7.01±9.25	0.000*
PRISM-III skoru	17.41±13.29	29.62±17.19	16.80±12.81	0.001*
Mekanik ventilatör süresi (gün)	8.99±14.06	10.38±12.37	8.81±14.31	0.706
NIV süresi (gün)	3.81±3.83	3.67±2.00	3.82±3.89	0.907
Kan ürünü transfüzyonu	157 (%36.1)	13 (%59.1)	144 (%34.9)	0.021*
Plazma değişimi yapılan hastalar	14 (%3.2)	2 (%9.1)	12 (%2.9)	0.085
Ölüm	14 (%3.2)	3 (%13.6)	11 (%2.7)	0.004*
Akut böbrek hasarı	109 (%25.1)	10 (%45.5)	99 (%24.0)	0.024*
Sürekli renalreplasman tedavisi	49 (%11.3)	3 (%13.6)	46 (%11.1)	0.721
Kalp Yetmezliği	31 (%7.1)	5 (%22.7)	26 (%6.3)	0.004*
Albumin≤2.5g/dl	92 (%21.1)	10 (%45.5)	82 (%19.9)	0.005*

*Na: Sodyum, NIV: Non-invazif ventilasyon, PRISM: Pediatrik risk mortalite skoru*

**Tablo3.** Serum Na<130 mmol/L ile risk faktörlerinin karşılaştırılması.

<b>Na&lt;130 mmol/L</b>	<b>RR</b>	<b>95%GA</b>
Mekanik Ventilatör Kullanımı	4.02	1.67-9.66
İnotrop ilaç kullanımı	3.86	1.62-9.20
Ölüm	5.77	1.49-22.42
Kan ürünü transfüzyonu ihtiyacı	2.70	1.13-6.46
Akut böbrek hasarı	2.64	1.11-6.28
Kalp yetmezliği	4.38	1.49-12.81

*RR: relatif risk oranı; GA: güven aralığı*

## Meme kitle muayenesi: histopatolojik analiz

Gurmeet Singh SARLA<sup>1</sup>

### Öz

Maharashtra/ Nasik bölgesindeki periferik bir hastanenin cerrahi bölümünde küçük göğüs kitlesi nedeniyle eksizyonel biyopsi yapılan hastaların histolojik tanıların gözden geçirilmesi. Bu çalışma biyopsi metaryallerinin, histopatolojik raporlarının 2 yıllık bir döneminin incelendiği retrospektif bir çalışmadır. İki yıllık dönem geriye doğru tarandı. Memede kitle ile başvuran 20-60 yaşları arasındaki toplam 90 hastanın eksizyon biyopsisi raporuna ulaşıldı ve çalışmaya alındı. 35 hastaya sağ ve 55 hastaya sol meme kitlesi nedeniyle biyopsi yapıldığı tespit edildi. Histolojik tanımlar incelendiğinde 88 hastanın (% 97,77) benign, 2 hastanın ise malign tümörünün (% 2,22) olduğu saptandı. Fibroadenom en sık görülen benign tümördü ve filloides tümörü nispeten nadirdi. Fibroadenomlu hastaların yaşları 20 ile 40 arasındaydı. Karsinomu olan 2 hastanın biri 40 yaş altı, diğeri 50 yaşın üzerindediydi. Fibroadenom, fibroadenosis, filloides tümörleri vb gibi benign meme hastalıkları yaygın görülen meme kitleleridir ve tüm meme kitleleri kanser değildir. 40 yaşın üzerindeki hastalarda meme kanseri ve meme kitleleri için yaş önemli bir belirleyicidir, bu yaş hastalara eksizyon biyopsisi ve histopatolojik inceleme yapılmalıdır. Tümör kitlesinin histopatolojik analizinin önemi üzerinde fazla durulmamıştır. Kitle büyüklüğündeki artış, artan yaşla orantılıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kitlesi, benign meme hastalığı, fibroadenoma, fibroadenosis

## Breast lump excision: histopathological analysis

Gurmeet Singh SARLA<sup>1</sup>

### Abstract

The presence of a lump in the breast is a great cause of anxiety and apprehension in females. Of these lumps, the most important diagnosis is cancer of the breast and the most common lumps are benign. The aim of this study is to review and analyse the histological diagnosis of breast lumps of patients seen in the department of surgery in a peripheral hospital in Nasik, Maharashtra. This is a retrospective study covering a period of 2 years wherein histopathology reports of 90 patients aged 20-60 years who presented with breast masses underwent excision biopsy in the department of surgery in a peripheral hospital in Nasik, Maharashtra were studied. During the 2-year period, 90 patients aged 20-60 years who presented with breast masses underwent excision biopsy. 35 patients had right sided breast lumps, while the left breast was involved in 55 cases. The histological diagnosis showed that 88 patients (97.77%) had benign disease while 2 had malignant tumours (2.22%). Fibroadenoma was the commonest benign tumour encountered, phyllodes tumour was relatively uncommon. The ages of patients with fibroadenoma ranged from 20 to 40 years. Of the 2 patients who had carcinoma, one was below the age of 40 years and the other one was above 50 years of age. Benign breast diseases, i.e., fibroadenoma, fibroadenosis, phyllodes tumour are the commoner breast diseases and not all breast lumps are cancerous. Age is a strong determinant of risk for breast cancer and breast lumps in patients above 40 years of age should be offered excision biopsy and subsequent histopathological examination. The importance of histopathological analysis of lumps cannot be overemphasized. The increase in the size of the lump increases proportionately with increasing age.

**Keywords:** Breast lump, benign breast disease, fibroadenoma, fibroadenosis

### Yayın Bilgisi

Gönderi Tarihi:13.09.2018

Kabul Tarihi:06.10.2018

Online Yayın Tarihi:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.459624

### Sorumlu Yazar

Gurmeet Singh SARLA

### Article Info

Received:13.09.2018

Accepted:06.10.2018

Online Published:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.459624

### Corresponding Author

Gurmeet Singh SARLA

<sup>1</sup> Classified Specialist Surgery, Military Hospital Devlali, Devlali Cantt Nasik, Maharashtra, Pin 422401,India

## INTRODUCTION

The presence of a lump in the breast is a great cause of anxiety and apprehension in females, young and old.<sup>1</sup> Of these lumps, the most important diagnosis is cancer of the breast.<sup>1</sup> Benign breast disease is the most common cause of breast problems and up to 30% of women will suffer from benign breast disorder requiring treatment at some time in their lives. Benign lesions of Breast are classified into non-proliferative lesions which include Fibrocystic disease and cysts and proliferative lesions which include Fibroadenoma, Phylloides tumour and Ductal Ectasia.<sup>2</sup> Carcinoma of Breast is extremely rare below 20 years of age but thereafter the incidence steadily rises so that by the age of 90 years nearly 20% women are affected. Prognosis of Breast cancer is closely related to stage at diagnosis. Fibroadenomas are rarely seen as new masses in women after the age of 40-45 years.<sup>3</sup> Clinically they present as firm masses that are easily movable and may increase in size over a period of several months.<sup>3</sup> On excision, fibroadenomas are well encapsulated masses that may detach easily from surrounding breast tissue.<sup>3</sup> Literature reveals that approximately 10% of breast lumps ultimately lead to a diagnosis of breast cancer.<sup>4</sup> The aim of this study is to impress upon that not all breast lumps are cancerous and majority of breast lumps are benign. Age is a strong determinant of risk for breast cancer and breast lumps in patients above 40 years of age should be offered excision

biopsy and subsequent histopathological examination.

## MATERIALS AND METHODS

This is a retrospective study of all patients with breast lumps seen in the department of surgery at a peripheral hospital in Nasik, Maharashtra from 2016 to 2018. Only one surgeon attended to the patients. They were examined in the clinic, before being scheduled for excision. Most of the biopsies were done under LMA. The specimens collected were sent to the histopathology laboratory for histopathological examination. Patient information was obtained from department of General Surgery and Histopathology reports were obtained from the department of Pathology Military Hospital Devlali.

**Ethical Approval** : Approval for the study was granted by Military Hospital Devlali Ethics Committee (+919717121247), and permission to analyze the histopathological reports of the patients was taken from the Pathologist of the hospital who reported upon these specimens.

## RESULTS

During the 2-year period, a total of 90 patients aged 20-60 years who presented with breast lumps or masses underwent excision biopsy. All 90 patients were females. 35 patients had right breast lumps, while the left breast was involved

in 55 cases ( Figure 1). All patients had their operative procedure under LMA. The histological diagnosis showed that 88 patients (97.77%) had benign disease while 2 had malignant tumours (2.22%) (Table 2). Fibroadenoma was the commonest benign tumour encountered, phyllodes tumour was relatively uncommon (Table 2). The ages of patients with fibroadenoma ranged from 20 to 40 years (Table 1). Of the 2 patients who had carcinoma, one was below the age of 40 years, and the other one was above 50 years of age (Table 1).

Out of 90 patients, 35 patients (38.88%) presented with Right sided lump whereas 55 patients (61.11%) presented with Left sided lump (Figure 1).

## DISCUSSION

Patients complaining of breast disorders form a large proportion of out-patients in general surgical clinics. The presence of a lump in the breast is a great cause of anxiety and apprehension in females. Public awareness of breast cancer has contributed largely to this, and the consequence is a steady flow of frightened females attending surgical outpatient clinics, with complaints of cyclical mastalgia, nodularity, or asymmetry, but a small proportion will indeed present with breast lumps.<sup>1</sup> Breast lumps are a common finding in women of all ages, but are particularly common during the

reproductive years (from menarche to menopause). In our study all patients were of the reproductive age group and nobody had attained menopause. Of these lumps, the most important diagnosis is cancer of the breast. Having a breast lump does not automatically mean a patient has breast cancer, as only 10% of people presenting with breast lumps turn out to have breast cancer.

Most breast lumps are benign breast disease, a range of conditions that can cause breast lumps but are not cancerous. However, some benign breast diseases are associated with a slightly increased risk of cancer in the future, depending on that patient's medical history, family history and risk factors. Benign breast disease is the most common cause of breast problems and upto 30% of women will suffer from benign breast disorder requiring treatment at some time in their lives. The most common symptoms are pain, lumpiness or a lump. Patients with a lump, nipple discharge, or mastalgia represent a considerable workload in general surgery.<sup>1</sup> Fear of breast cancer causes a great increase in the number of patients attending surgical clinics, especially the young.<sup>1</sup> Even though cancer of the breast is strongly age related, majority of the patients seen in this study were young, under the age of 40 years. Excision of the breast lumps was performed and they were labelled as benign or malignant based on the histopathology report. The American Cancer Society (ACS) estimates that 182,460 women in the United States were

diagnosed with breast cancer in 2008 and that 40,480 women died of the disease during the year.<sup>5</sup> The incidence of breast cancer appears to have a sigmoid function in women less than 55 years of age with 6.6% of all cases diagnosed before age 40, 2.4% diagnosed before age 35, and 1% diagnosed before age 30.<sup>6</sup> The individual average risk of a woman developing breast cancer was 1 in 173 by the age of 40 and approximately 1 in 1,500 by the age of 30.<sup>6</sup> Breast cancer at an early age is more likely to be associated with an increased familial risk, especially in women harboring a germline *BRCA1* mutation.<sup>7</sup> In a study of women with breast cancer diagnosed before age 30, *BRCA1*, *BRCA2*, and *TP53* mutations were found in about half who had strong family histories of breast cancer and in less than 10% of women with non-familial breast cancer.<sup>8</sup>

The Histopathology reports showed that 88 patients (97.77%) had benign breast disease, while 2 patients (2.22%) had malignant disease. This demonstrates that benign mammary lesions occurred more frequently than the malignant ones. Most of the breast lesions occurred in young patients, especially those aged 20-30 years and majority were fibroadenomas (60%). Hyperplastic lobules were shown to be histologically identical with fibroadenomas,<sup>9</sup> which are thought to be hyperplastic lesions associated with aberration of the normal maturation of the breast, rather than true neoplasms. There are two subtypes of

fibroadenomas: Giant fibroadenomas that attain unusually large size, typically greater than 5 cm and juvenile fibroadenomas that occur in adolescents and young adults and histologically are more cellular. Phyllodes tumours have been described as rare fibroepithelial tumours that account for about 1% of all breast neoplasms.<sup>9</sup> Phyllodes tumour contain a biphasic proliferation of stroma and mammary epithelium. First called Cystosarcoma Phyllodes, the name has been changed to phyllodes tumour in recognition of its usually benign course.<sup>3</sup> However with increasing cellularity, an invasive margin and sarcomatous appearance, these tumours may be classified as malignant phyllodes.<sup>3</sup> Benign phyllodes tumours are recognised as firm, lobulated masses that can range in size with an average size of approximately 5cm (larger than average fibroadenoma).<sup>3</sup> Histologically these tumors are similar to fibroadenoma but the whorled stroma forms larger clefts lined by epithelium that resembles clusters of leaflike structures. The sarcoma is more cellular than a fibroadenoma, but fibroblastic cells are bland and mitoses are infrequent. Ductal Ectasia presents with palpable lumpiness beneath the areola.<sup>2</sup> Nipple discharge is a common feature with periductal scarring and inflammation and progresses to destruction and dilatation of the ductular system and eventually periductal fibrosis and ectasia.<sup>2</sup> These lesions typically occur in peri-menopausal or late premenopausal age groups.<sup>2</sup>



The usual management of a dominant breast mass is based on the assumption that the mass is cancerous until proven otherwise.<sup>10</sup> While most reports indicate that breast lumps are predominantly benign and mostly non-proliferative epithelial lesions, there has, however, been an increasing recognition of the risk of developing cancer from the various forms of premalignant lesions, especially atypical ductal and atypical lobular hyperplasia.<sup>11</sup> A new system has been developed and described by the Cardiff Breast Clinic – ANDI (Aberrations of normal development and involution) involves disturbances in the breast physiology extending from an extreme of normality to well defined disease processes.<sup>12</sup> The disease consists of 4 features which vary in extent and degree in any one breast: Cyst formation, Fibrosis, Hyperplasia, Papillomatosis. Many alternative terms have been applied to this condition including fibrocystic disease, fibroadenosis, chronic mastitis and mastopathy.<sup>12</sup> The symptoms of ANDI include an area of lumpiness and/or breast pain (mastalgia). Cancer of the breast under the age of 30 is extremely rare and carcinoma under the age of 20 might be considered a medical curiosity.<sup>13</sup>

Fibroadenomas are benign solid tumours composed of stromal and epithelial elements.<sup>3</sup> Fibroadenoma is the second most common tumour in the breast after carcinoma and is the most common tumour in women younger than 30 years.<sup>3</sup> Fibroadenomas most often arise in late

teens and in women during their early reproductive years. They present as well encapsulated, firm, movable masses which may increase in size over a period of several months. In the adolescent population, the overall incidence of fibroadenoma is 2.2%.<sup>14</sup> They account for 68% of all breast masses and 44%–94% of biopsied breast lesions.<sup>15</sup> The exact etiology of fibroadenoma is unknown. However, several studies show that estrogen influences the development of fibroadenomas.<sup>16</sup> Fibroadenomas usually form during menarche, a time when lobular structures are added to the ductal system of the breast.

It is important for surgeons to recognize and distinguish benign and premalignant lesions from breast cancer through biopsy. This study, therefore, reviews the histological diagnosis of breast lumps of patients seen in the department of surgery at a peripheral hospital in Nasik, Maharashtra from 2016 to 2018, a period of 2 years. It is also believed that the result of this analysis will further improve experience in advising patients about the correct attitude toward breast lumps in all ages.

## CONCLUSION

This study shows that not all breast lumps are cancerous and majority of breast lumps in our study are benign (Table 2). Age is a strong determinant of risk for breast cancer (Table 1) and breast lumps in patients above 40 years of

age should be offered excision biopsy and subsequent histopathological examination. The importance of histopathological analysis of lumps cannot be overemphasized, especially by the uncommon findings of breast cancer in two

females wherein one was below the age of 40 years, and the other one was above 50 years of age. The increase in the size of the lump increases proportionately with increasing age (Table 3).

## REFERENCES

1. Njeze GE. Breast Lumps: A 21 –year single – center clinical and histological analysis. Nigerian J of Surg. 2014;38-41.
2. Swartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC. Breast In :International ed. Principles of Surgery. 7<sup>th</sup> ed.Vol.1; 1999: 550-552.
3. Courtney M Townsend, R Daniel Beauchamp, B Mark Evers, Kenneth L Mattox. Diseases of the Breast In: Restricted South Asia ed. 19<sup>th</sup> ed. Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice. Vol1: 2012; 839.
4. Barton MB, Elmore JG, Fletcher SW. Breast symptoms among women enrolled in a health maintenance organization: frequency, evaluation, and outcome. Ann Intern Med. 1999;130:651–7.
5. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin. 2008;58:71–96.
6. Ries L, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005. National Cancer Institute; Bethesda, MD: [http://seercancer.gov/csr/1975\\_2005/](http://seercancer.gov/csr/1975_2005/), based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER website, 2008.
7. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. Am J Hum Genet. 2003;72:1117–30.
8. Lalloo F, Varley J, Moran A, et al. BRCA1, BRCA2 and TP53 mutations in very early-onset breast cancer with associated risks to relatives. Eur J Cancer. 2006;42:1143–50.
9. Hughes LE, Mansel RE, Webster DJ. Aberration of normal development and involution: A new perspective on pathogenesis and nomenclature of benign breast disorders. Lancet. 1987;2:1316-9.
10. Canny PF, Berkowitz GS, Kelsey JL, LiVolsi VA. Fibroadenoma and the use of exogenous hormones: A case control study. Am J Epidemiol. 1988;127:454-61.
11. Parker SJ, Harris SA. Phyllodes tumors. Postgrad Med J. 2001;77:4258-435.
12. Ralph EL, Daniel RS, Wilma D, Kent CW, Nicholas PL. Breast masses in young women. Am J Surg. 1980;140:779-82.

13. Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, *et al.* Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. *Cancer.* 2006;71:1258-65.
14. Russell RC, Williams NS, Bulstrode CK. The Breast In: International students ed. Bailey & Love's Short Practice of Surgery. 23<sup>rd</sup> ed:2000; 758
15. Stephens WP, Breast lumps in adolescent girls. *Br Med J.* 1978;1:260-1.PMCID : PMC1602749
16. Santen RJ, Mansel R. Benign breast disorders. *N Engl J Med.* 2005;353(3):275-285.

**Table 1. Age distribution of patients with Breast Lumps.**

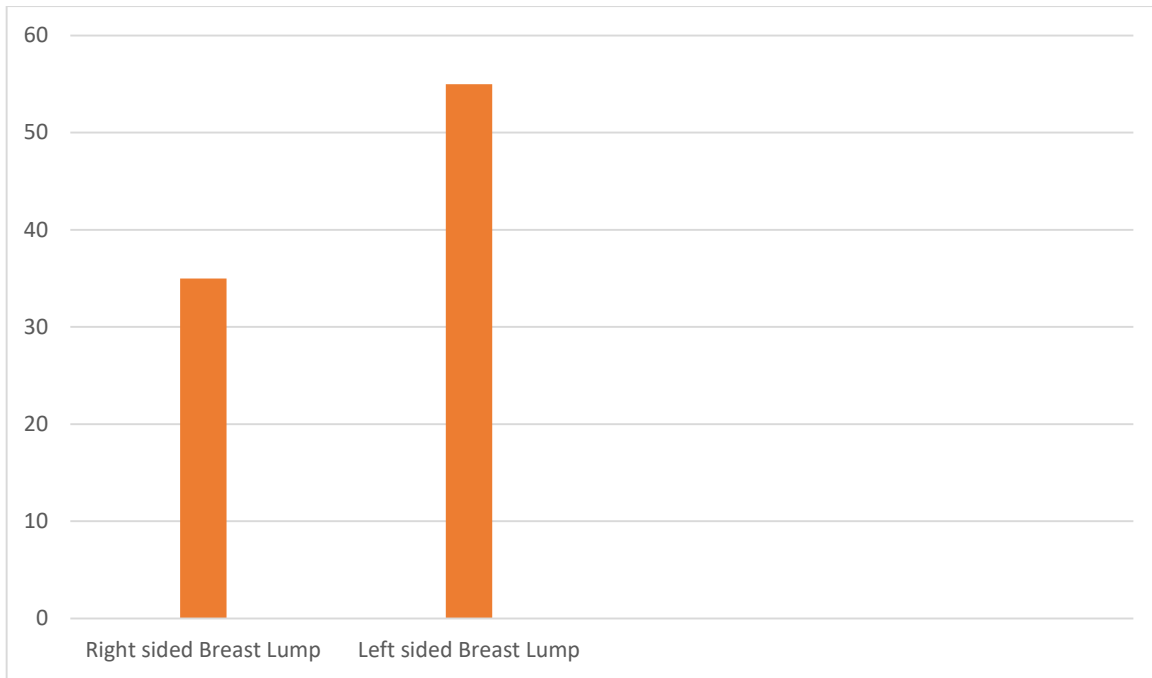
Age in years	Number	Percentage
21-30 years	30	33.33%
31-40 years	24	26.66%
41-50 years	27	30%
51-60 years	9	10%
Total	90	100%

**Table 2. Distribution of histological types.**

Histopathology	Number	Percentage
Fibroadenoma	54	60%
Fibrocystic disease	28	31.11%
Benign Phylloides tumour	6	6.66%
Carcinoma	2	2.22%

**Table 3. Co-relation of size of the lump to age of the patient.**

Age of the patient	Size of the lump	Percentage
21-30 years	2 cm	62.5%
31-40 years	3 cm	66.66%
41-50 years	4 cm	64%
51-60 years	5 cm	68.4%



**Figure 1. Left sided Breast lumps were commoner as depicted above.**

## Yüksek sekans içerikli fare beyin zarından VDAK'ın (voltage dayalı anyon kanalları) kütle spektroskopisi haritalandırılması

Natalia AKENTIEVA<sup>1</sup>

### Öz

Voltaj bağımlı anyon kanalları (VDAK) spesifik olmayan difüzyon gözenekleri veya mitokondriyal membran aracılı substratların taşınması için özel sistemler olarak hizmet veren entegre membran proteinleridir. VDAK'ın fonksiyonel rolü birçok çalışmada araştırılmış ve VDAK'ın farklı işlevleri gösterilmiştir. VDAK'ın post-translasyon modifikasyonları regülasyonu için önemlidir. VDAK'ın post-translasyon modifikasyonları regülasyonu için önemlidir. Araştırmamızın amacı, VDAK'ların post-translasyonel ve diğer zar proteinlerinin modifikasyonları ve primer yapının karakterizasyonu için yaklaşım geliştirmektir. Fare beyin zarları diferansiyel santrifüjleme ile fare beyininden izole edildi. Fare beyin zarlarından gelen mitokondriyal izoform VDAK'ın primer yapısı tripsin ile proteolitik yıkımdan sonra peptit karışımlarının LTQ-FTMS haritalama ve SDS-PAGE 'nin kombinasyonu ile neredeyse tamamı (%95, 283 amino asitin 258'i) tanımlanmıştır. VDAK'ın bulunan her bir peptid dizisi doğru kütle, izotopik dağılım ve MS / MS tandem analizine göre analiz edilmiş ve doğrulanmıştır. VDAK'ın peptitlerinin post-translasyon modifikasyonları gösterilmiştir. VDAK'ın yüksek dizi içeriği 11 transmembran alanı dahil olmak üzere elde edilmiştir. 30-34 kDa'da diğer bazı proteinler için geniş çaplı sekans içeriği de tespit edilmiştir. Sırasıyla; östrojen reseptörü baskılayıcısı aktivitesinin içeriğinin %76'sı, malat dehidrogenazın %55'i, sintaksin 1A ve sintaksin 1B2'nin %60 ve %65'i belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kütle spektrometrik haritalamanın ana yapı membran proteinlerinin karakterizasyonu ve bunların post-translasyonel modifikasyonlarının tanımlanması için güvenilir ve duyarlı bir yaklaşım olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** VDAK, ana yapı, sekans içeriği

### Yayın Bilgisi

Gönderi Tarihi:10.09.2018

Kabul Tarihi:02.10.2018

Online Yayın Tarihi:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.458683

### Sorumlu Yazar

Natalia AKENTIEVA

## Mass-spectrometric mapping of VDAC (voltage dependent anion channel) from mouse brain membranes with high sequence coverage

Natalia AKENTIEVA<sup>1</sup>

### Abstract

Voltage dependent anion channels (VDAC) are integral membrane proteins serving as nonspecific diffusion pores or as specific systems for the transport of substrates through mitochondrial membranes. The functional role of VDAC has been investigated in many studies, and different functions of VDAC have been shown. Posttranslational modifications of VDAC are significant for its regulation. The aim of our research was to develop approach for characterization of primary structure and posttranslational modifications of VDACS and other membrane proteins. Mouse brain membranes were isolated from mouse brains by differential centrifugation. Primary structure of mitochondrial isoform VDAC1 from mouse brain membranes has been identified almost completely (95%, 258 of 283 amino acids) by combination of SDS-PAGE and LTQ-FTMS mapping of peptide mixtures after proteolytic degradation with trypsin. Sequence of each found peptide of VDAC has been analysed and confirmed according to accurate mass, isotopic distribution and MS/MS tandem analysis. Posttranslational modifications of VDAC's peptides have been shown. High sequence coverage of VDAC has been obtained, including 11 transmembranes domains. Extensive sequence coverage has been also detected for some other proteins at 30-34 kDa. A repressor of estrogen receptor activity has been identified with 76% coverage, malate dehydrogenase with 55 % sequence coverage, syntaxin 1A and syntaxin 1B2 have been sequenced with 60% and 65% coverage, respectively. These results demonstrated that mass spectrometric mapping is reliable and sensitive approach for characterization of primary structure membrane proteins and identification of their posttranslational

### Article Info

Received:10.09.2018

Accepted:02.10.2018

Online Published:31.12.2018

DOI: 10.26453/otjhs.458683

### Corresponding Author

Natalia AKENTIEVA

modifications.

**Keywords:** VDAC, primary structure, sequence coverage

<sup>1</sup> Institute of Problems of Chemical Physics Russian Academy of Sciences, 142432, Moscow region, Chernogolovka, prospect Akademika Semenova d.1.

## INTRODUCTION

VDAC (voltage dependent anion channel) is involved in the choice the cells make to survive or die, which is particularly relevant to cancer cells. For these reasons, VDAC has become a potential therapeutic target to fight cancer but also other diseases, in which mitochondrial metabolism is modified. Mitochondrial VDACs (or so called “mitochondrial porins”) are a small, 30-34 kDa proteins, originally discovered in the outer membrane of mitochondria, where they constitute the major pore-forming proteins.<sup>1, 2</sup> The role of VDACs is very different and significant for cells. For instance, recent studies strongly suggest, that VDAC is involved in release of apoptogenic factors, such as cytochrome c.<sup>3-6</sup> Moreover, VDAC acts as a platform for many proteins and in so doing supports glycolysis and prevents apoptosis by interacting with hexokinase, or members of the Bcl-2 family, respectively. Thus, the

mitochondrial expressed VDAC presents itself as a core component that can be targeted in tumors, which has the potential to debilitate the aberrant metabolic fluxes of tumors and initiate apoptotic signaling cascades.<sup>7</sup> Due to its large pore, VDAC is presumed to play important role as a controlled passage for adenine nucleotides and other metabolites to and from mitochondria.<sup>8, 9</sup>

Mitochondrial VDACs have no primary sequence homology, or very minor, with bacterial channel porins. A large number of bacterial porins have been isolated and purified from bacterial outer membrane of *Rhodobactercapsulatus*, and the proteins functionally characterized in reconstitution experiments.<sup>10</sup> It has been demonstrated, most porins are trimeric and the structure of porin consists of a barrel formed by 16 tilted anti parallel beta-sheets.<sup>11</sup> The porin from *R. capsulatus* has been characterized by MALDI-



MS determination of peptides, while the total sequence coverage of porin *in-situ* gel digestion has been identified by 56%. The large protein fragment has not been characterized because it poorly eluted from the gel matrix.<sup>12</sup>

In contrast to bacterial porins, which primary and third dimensional structure has been well identified, the mammalian mitochondrial VDACs are not so well characterized. For example, the partial protein sequence for two fragments of the 36 kDa polypeptide has been detected by isolation of cDNA clones from a rat hippocampal library.<sup>13</sup> Five human cDNA clones have been identified to date showing 75-94% homology, however, only two mammalian proteins have been isolated and identified.<sup>14,15</sup>

The mammalian VDAC is also a  $\beta$  barrel, but it is monomer. The crystal structure of mitochondrial VDAC is not available and, therefore, new studies about structure of VDAC are so important.

It is possible, that the activity of VDAC can be regulated by posttranslational modifications. Moreover, different VDAC isoforms may have various posttranslational modifications, which

can effect on their specialized functions. Hence, the identification of posttranslational modifications of VDAC is very important to understand the molecular mechanism of its regulation and role in cell function. Therefore, it would be important to develop approach for rapid and total characterization of primary structure and posttranslational modifications of VDACs from cell's lysates.

Many different methods of mass-spec analysis exist, but the FTICR is the most effective approach to measure exact masses of peptides and mapping the sequence protein.<sup>16</sup> Mass spectrometric peptide mapping, particularly, by rapid-acquisition LTQ-FTMS, has recently been shown to be an efficient tool for characterization the primary structure of proteins. In combination with *in-situ* proteolytic digestion of proteins separated by one/two SDS-PAGE, mass spectrometric mapping permits identification of proteins from complex mixtures such as cell's lysates. LTQ-FTMS allows to perform accurate mass measurements (2-5 ppm) with greater sensitivity, accuracy and speed.<sup>17</sup>

Traditionally, proteomics analyses of complex protein samples involve the resolution of proteins using two-dimensional gel electrophoresis followed by the identification of resolved proteins by mass spectrometry. The limitations of this approach for membrane proteins are well documented. The major obstacle remains solubility for two reasons: first, many hydrophobic proteins are not solubilized in the non-detergent isoelectric focusing sample buffer; and second, solubilized proteins are prone to precipitation at their isoelectric point.

Therefore, in the present study we used the one-dimensional SDS-PAGE and coupled it with mass spectrometry for protein identification. We have studied the membrane protein–VDAC from MBM lysate, its primary structure by peptide mapping upon digestion in-gel matrix. We have applied electrospray ionisation-MS/LTQ-FTMS to identify total sequence coverage of mitochondrial VDAC from the MBM. LTQ-FTMS analysis allowed the complete characterization the primary structure of this membrane protein. This result confirms

that LTQ-FTMS can be used to identify the primary structure of membrane proteins in crude cell's lysates.

## MATERIAL AND METHODS

### *Material*

Reagents were of analytical grade and were used without further purification. Male mouse brains [VDAC<sup>(+/+)</sup> (*Mus.musculus*, strain CD1)] have been used for membrane preparation. Mouse brains were purchased from “BrainBits” (USA) and stored until use at –20 °C.

Reagents for SDS-PAGE and Western blot were purchased from “Amersham Biosciences” (USA) and “Calbiochem” (USA). Sypro Ruby staining kit was from “Invitrogen” (USA). The anti-Porin 31HL (Ab-1) mouse mAb (anti-VDAC1 isoform) monoclonal antibody were purchased from “Calbiochem” (USA). Goat anti-mouse IgG –HRP antibody were from “Santa Cruz Biotechnology” (USA).

### *Membrane Preparation*

The membrane preparation for mouse brain regions has been followed.<sup>18</sup> Frozen mouse brain regions were homogenized in 0.32 M

sucrose and centrifuged for 10 min at 1000 g at 0-4 °C. The supernatant was centrifuged again at 100.000 g for 45 min. This pellet was disrupted osmotically in the distilled water, then washed twice with wash buffer (20 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer with 50 mM KCl, pH 7.5), and stored in frozen state. For lysate preparation, mouse brain membranes were thawed, pellet and washed twice with wash buffer. The membranes were recovered by centrifugation at 100.000 g for 20 min, washed once again with wash buffer and re-suspended in lysis buffer (50 mM Tris-HCl buffer with 150 mM NaCl, pH 7.5, 1mM EDTA, 1% Triton X-100) to a final protein concentration of 1 mg/ml, incubated for 60min at 4 °C. The suspension was then centrifuged at 16.000 g, and the supernatant (lysate) loaded on 10% one-dimensional SDS-PAGE.

### ***Electrophoresis***

Polyacrylamide gel electrophoresis was performed using 10% polyacrylamide SDS-PAGE, under reducing conditions.<sup>19</sup>

After electrophoresis, the gel was stained or used for Western blot. Proteins from the SDS-

PAGE gel were transferred onto Tropifluor™ polyvinylidenedifluoride membrane. Then the membrane was blocked with 5% dried milk for 1h, washed three times with Tris-buffered saline (0.05%)-Tween 20 and incubated overnight with anti-Porin 31HL (Ab-1) mouse mAb (anti-VDAC-1 isoform) monoclonal antibody (1:500).The membrane was then incubated for 1 h with goat anti-mouse IgG-HRP antibody (1:10000). Immuno-reactive bands were visualized using the ECL-plus Western blotting detection system.

### ***Digestion in SDS-PAGE matrix (in-situ gel digestion)***

Proteolytic digestion in the SDS gel matrix was carried out according to the procedure.<sup>20</sup> Staining and destaining of the gel were kept to a minimum, because both steps lead to partial fixing of the protein to the gel. The protein bands were excised from the gel by robotic instruments and washed for 1h in 40% (v/v) aqueous acetonitrile in order to remove staining dye, gel buffers and SDS. The destained gel plugs were dried at room temperature in a vacuum centrifuge and swollen in 100 µl 50

mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , containing 12.5 ng /  $\mu\text{l}$  modified trypsin in an ice bath. After the gel plug had reached its original size, the supernatant was removed, and 100  $\mu\text{l}$  50 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  was added. Proteolytic digestion was carried out for 24h at 37 °C under gentle shaking. Peptides were extracted with a 1:1 mixture of acetonitrile and 50 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  for 24 h and lyophilized to dryness. The lyophilized extracts were dissolved in UHQ water, and the peptides were precipitated by the addition of 10% TCA. After 30 min at 0 °C the samples were centrifuged for 10 min at 15.000 g. After the pellet was washed with cold acetone, it was dried and stored at -20 °C.

***Molecular mass determinations by Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS)***

ESI-MS was used to identify the sequence coverage of VDAC. Following enzymatic degradation with trypsin, peptides were dissolved in 0.12% (vol / vol) TFA/water and analysed by LTQ-FTMS (Thermo Fisher, San Jose, CA). The mass spectrometer was set up in nanospray configuration with a Pico

Viewnanospray source (New Objective, Woburn, MA) and coupled to a 1D plus nano-LC system (Eksigent, Livermore, CA) running at a flow rate of 200 nl/min. Sample injection was performed with an autosampler (Endurance, Spark, Plainsboro, NJ). The column was a C-18 PicoFrit (75m × 10cm) (New Objective). The mobile phases were HPLC grade water (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), containing 1% formic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (Solvent A) and acetonitrile were (Honeywell, Burdick & Jackson, Muskegon, MI) containing 1% formic acid (Solvent B). The sample (5 L) was loaded at 600 nl/min at 5% B for 10 min. The flow was then decreased to 200 nl/min with isocratic elution for 5 min followed by linear increase in Solvent B (2%/min) for 45 min. The LTQ-FTICR (7T) mass spectrometer was operated in the data dependent mode. The survey scans ( $m/z = 450-1500$ ) were acquired using the FTICR-MS with resolution of ~100.000 at  $m/z = 421.75$  after ion accumulation in the trap to a value of ~1.000.000. The MS/MS isolation width was 2.5 Da, and the normalized collision energy was 35%.

Electrospray ionization was accomplished with a spray voltage of 2.8-3.1kV without sheath gas. The ion transfer tube was 70V and the capillary temperature was 250 °C.

### Data Analysis

Theoretical lists of the masses for singly, doubly and triply unmodified tryptic peptides for VDAC1 (gi code: 56207177) was prepared by *in silico* digestion using Protein Prospector.<sup>21</sup> Missed trypsin cleavages (0, 1, 2, 3, and 4) and the following variable modifications were considered: acetylation (N-term), carbamidomethylation of cysteine (C), oxidation of methionine (M), Pyro-glu (N-term Q) and phosphorylation of serine, threonine, and tyrosine residues.

The MS data were collected in the profile mode as were the MS/MS spectra. The "raw" files were processed using LCQ-DTA software (Thermoelectron), and the resulting text files were exported to MASCOT 1.9.05 software (Matrix Science, Oxford, U.K.). The LCQ-DTA settings were as follows: grouping tolerance, 0.0001 Da; "intermediate scans", 1; and "minimum number of scans per group", 1. The

tandem MS data were searched using the following settings and databases (considering 0, 1, 2, 3 or 4 missed trypsin cleavages): (1) enzyme, trypsin, MS tolerance 3 ppm, MS/MS tolerance 0.8Da, NCBI nonredundant database (July 26, 2005), and carbamidomethylation of cysteines and oxidation on methionines as "variable modifications"; (2) no enzyme, MS tolerance 3ppm, MS/MS tolerance 0.8 Da, VDAC1 (gi code: 56207177), and carbamidomethylation of cysteines, oxidation on methionines and phosphorylation of all serine, threonine, and tyrosine residues as variable modifications.

## RESULTS AND DISCUSSION

The protein profiles of mouse brain membranes are shown in [Fig.1A](#).

The presence of protein band, which cross-reacted with monoclonal antibodies, directed against VDAC1 in these membranes, as detected by SDS-PAGE and Western blot analysis, is shown in [Fig.1C](#). Only one protein band at 30-34 kDa was found to cross-react with

the VDAC1-monoclonal antibody. Localization of this protein band is correlated with molecular mass of VDAC. Nevertheless, it is possible, that the available monoclonal VDAC antibodies to the N-terminus of human VDAC1 are not be highly specific. Therefore, multiple proteins of around 30-34 kDa could cross react with VDAC antibody and were visible by Western blot. As example, it has been reported recently to label proteins in the plasma membrane despite the absence of VDAC there.<sup>22-25</sup>

In our case, the procedure of preparation MBM is supposed the content of enriched fraction of mitochondrial membranes. Therefore, immunoreactive band at 30-34 kDa is belong to the mitochondrial VDAC1. In addition to, the mass spec analysis of the digests of detected band definitely identified the amino acid sequence of mammalian VDAC1.

The stained band corresponding to that detected by Western blotting has been selected and spots have been excised by robotic instrument (Fig.1B), digested with trypsin and examined by LTQ-FTMS analysis. At first, we investigated the utility of finding MS/MS spectra of VDAC

peptides in this large data set using the accurate mass measurements. We determined the overlap (within 3ppm) of m/z values (+1, +2 and +3 charge states) for tryptic peptides (0.1-4 missed cleavages and variable modifications for carbamidomethylation of cysteines, oxidation of methionines and phosphorylation of all serine, threonine, and tyrosine residues for VDAC<sup>(+/+)</sup> from MBM.

The MS/MS spectrum of sufficient quality signal (m/z value) has been interpreted and found to be attributable to the peptides of VDAC1. The predicted M.w. of VDAC1 should be 30756 D, according to MS-Digest Search Results (<http://prospector.ucsf.edu>). We detected the experimental M.w. of VDAC1, it was 30754 D. This M.w. has been found by MASCOT Search Results Program and perfectly correlated with predicted molecular mass.

Then we analysed all possible theoretical m/z values of the singly, doubly, triply charged species from peptides. We analysed the FTMS spectra according to the accurate peptide masses of VDAC1 peptides in either +1, +2 or +3

charge states. Every FTMS spectrum, containing signals corresponding to these accurate m/z values, was then inspected to confirm the theoretical charge state and isotopic distribution. The observed peptides have shown in Table 1, they have obtained from MS/MS spectra and deduced the peptide sequence of VDAC1.

In addition, Table 1 compares the theoretical and observed (experimental) masses of the VDAC1 peptides produced after analysis with nano-FTMS. The theoretical masses of the VDAC1 peptides have been found, using Protein Prospector Program (<http://prospector.ucsf.edu>). Observed masses of the VDAC1 peptides were detected as singly, doubly and triply charged ions, using MASCOT search program.

All VDAC1 peptides have been found as singly, doubly and triply charged peptides and tandem MS/MS spectra have been observed for each peptide. Fig. 2A shows the total spectrum of single liquid chromatography spectrum (time detection from 0-45 min).

Eluted peptides were analysed by MASCOT Search Program. For example, Fig. 2B shows the MS/MS spectrum of the peptide eluting at 20.05 min. The theoretical mass of this peptide (947.5202), which is correspond to singly charged state with the sequence <sup>275</sup>LGLGEFQA<sub>280</sub>. We calculated delta, the difference between theoretical, predicted mass and observed, experimental mass (947.5202-946.5223=0.0021). A delta value (-0.0021/947.5202) divided on theoretical mass, it gave value of tolerance. The tolerance for peptide <sup>275</sup>LGLGEFQA<sub>280</sub> was -2.2 ppm, which is less than 5 ppm. All peptides with tolerance less than 5 ppm have been chosen as real peptides, corresponding to theoretical, predicted sequences. The theoretical mass of this peptide corresponded to singly charged peptides with the sequence <sup>275</sup>LGLGEFQA<sub>280</sub>. To confirm the sequence of peptide, we compared the experimental MS/MS spectrum with theoretical pattern fragmentation, found from Prospector Program. The MS/MS spectrum of this peptide showed almost the complete suite of y- and b-

ions, which confirmed the theoretical sequence of peptide (Fig. 3).

The complete set of b-ions and y-ions for interpretation the sequence  $_{275}\text{LGLGEFQA}_{280}$  is shown in Fig. 4. Some of other ions, such as a, b-NH<sub>3</sub>, b-H<sub>2</sub>O and y-NH<sub>3</sub> ions were also observed.

We were not detected b<sub>1</sub>- and y<sub>1</sub>-, y<sub>2</sub>- ions, because of low mass values. Sequence of each found peptide has been analysed and confirmed according to accurate mass, isotopic distribution and MS/MS tandem analysis.

As a matter of fact, we identified two peptides, modified by phosphorylation. The first peptide  $_{94}\text{GLKLTFDSSFSPNTGKKNAKIK}_{115}$

(M.m=2781.1508) is belong to transmembrane domain and contains 5 PO<sub>4</sub> groups. The second peptide is  $_{111}\text{NAKIKTGYKREHINLGCDVDFDIAGPSIR}_{139}$  (M.m.=3310.6405). It contains 29 amino acids, which belong to soluble loop and transmembrane part. This peptide has one phosphorylated residue.

It has been shown that PKA can phosphorylate VDAC.<sup>26,27</sup> Moreover, *in vitro* studies

demonstrated that PKA can directly bind and phosphorylate VDAC1 and modulate its function. In addition to, the selective tyrosine phosphorylation of VDAC1 and VDAC2 isoforms have been shown following hypoxic stimulus.<sup>28,29</sup> However, the number of added phosphates per VDAC molecule has not been detected. In the present study, we identified phosphorylated peptides and found, at least, 6 phosphorylation sites on VDAC1, which is consistent with previous studies showing that PKA can phosphorylate this protein. We can suggest, that phosphorylation of VDAC1 can modulate of VDAC function and its interactions with other membrane proteins.

Our data showed, that the complete structural characterization and high identification (95%, 258 of 283 amino acids) sequence coverage of VDAC1 was obtained by LTQ-FTMS mapping of peptide mixtures after proteolytic degradation with trypsin (Fig. 5).

It has been shown earlier, that VDACs are very abundant proteins. They have been isolated and purified from *Torpedo* electric fish, wheat plant, from mitochondrial membranes *Arabidopsis*,



from *Saccharomyces cerevisiae* and mammalian cells, including human B lymphocytes and bovine skeletal muscle, human heart mitochondria, mouse liver mitochondria.<sup>30-36</sup> However, the sequence coverage of many VDAC proteins has been found by the isolation of cDNA clones.<sup>15-17</sup>

Moreover, the sequence coverage of mitochondrial VDAC proteins was not very high in mass spectrometric studies. For example, the rat liver mitochondrial outer membranes have been purified and loaded on SDS-PAGE. VDAC bands have been electroeluted from gel, reduced/alkylated, trypsin digested and analyzed by MALDI-TOF MS.<sup>18,36</sup> By using peptide mass fingerprinting, sequence coverage of VDAC1 was identified only of 49%. Analysis the tryptic digest by ESI-MS/MS showed the 85% sequence coverage VDAC1 protein.<sup>36</sup> In addition, just combination of MALDI-TOF analysis with ESI-MS/MS experiments of the tryptic and proteinase K digestions have increased the total coverage of VDAC to 99%.<sup>36</sup>

Mass spectrometry methods including electrospray ionization and matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-TOF) have been used broadly for protein sequencing over the past ten years. The four primary advantages of mass spectrometric sequencing include: the high sensitivity, the rapid speed of the analysis, the large amount of information generated in each experiment and the ability to characterize posttranslational modifications. The developments of accurate mass-based proteomics and gas fragmentation methods have provided huge specificity for database-assisted protein identification and characterization of posttranslational modifications of proteins.<sup>37-39</sup> In our study, we identified 95% (258 of 283 amino acids) of total sequence coverage the primary structure of VDAC1, using just one approach-LTQ-FTMS analysis. In addition to, we identified some other proteins in this molecular weight range (30-34 kDa excised band) with high sequence coverage. For example, repressor of estrogen receptor activity (M.w: 33276 D) was identified with 76% coverage (227 of 299 amino acids sequenced).

Syntaxin 1A (M.w: 33034 D) and syntaxin 1B2 (M.w: 33224 D) have been sequenced with 60% and 65% coverage, respectively. For malate dehydrogenase (EC.1.1.1.37, M.w: 35588 D) 185 of 338 amino acids were detected with 55% total coverage. Our results show, that LTQ-FTMS is very sensitive, accurate and powerful tool to characterize primary structure of membrane proteins. It allows obtain high sequence coverage of membrane proteins from crude cell's lysates, without additional purification steps.

It is known already, that VDACs of *Neurospora crassa* are formed from a single layer of protein, consisting of one alpha-helix and 12 beta strands, curved into a cylinder that forms the pore.<sup>40</sup> The structure of five bacterial porins has been determined by X-ray crystallography: *Rodobacter capsulatus*, *Escherichia coli* OmpF and PhoE, *Rhodospseudomonas blastica*, and maltoporin from *E.coli*.<sup>41-44</sup>

The secondary structure of typical VDACs is a transmembrane  $\beta$ -barrel. It has been detected in eukaryotic VDACs based on computer

programs.<sup>45,46</sup> VDAC folding pattern has been generated and supported by analysis of regular alternation of polar and non-polar residues of proposed beta strands.<sup>47</sup> The topological model of VDAC presented in this work is the 12 $\beta$ -strand/one  $\alpha$ -helix model designed for yeast.<sup>48</sup> We used this model to show the sequence coverage of transmembrane domains of VDAC1 from MBM. The transmembrane 12 beta strands produce hydrophobic peptides during the proteolytic digestion. These hydrophobic peptides sticky, they are binding at the active site in the polyacrylamide. It is not easy extract them from gel and identify by mass spec analysis. However, in our case the LTQ-FTMS analysis allowed to identify 11 transmembrane strands (Fig. 6), just one strand  ${}_{140}\text{ALVGYEGWLAGYQMNFETSKSR}_{160}$  has not been detected.

We determined 137 of 147 amino acids, which belong to the transmembrane strands. This result indicates, that LTQ-FTMS analysis is a very accurate and effective approach to identify the transmembrane hydrophobic domains.

## CONCLUSIONS

In summary, we make conclusion, that the combination of SDS-PAGE and mass-spectrometric mapping of the specific gel bands should be developed as a powerful tool for the identification primary structure of membrane proteins. The great advantage of mass spec peptide mapping is ability to identify sequence coverage of interest protein in protein mixture. This approach is also useful in detection of posttranslational modifications membrane proteins and receptors. Furthermore, the mass spec mapping of peptides combined with photolabeling approach will allow study the structure of ligand-protein sites.

The work was supported by the FASE (State Registration Number No. 01201361874).

## REFERENCES

1. Colombini M. A candidate for the permeability pathway of the outer mitochondrial membrane. *Nature*. 1979;279(5714):643-645. PMID:450112.
2. De Pinto V, Messina A, Accardi R, et al. New functions of an old protein: the eukaryotic porin or voltage dependent anion selective channel (VDAC). *Ital. J. Biochem.* 2003;52(1):17-24. PMID: 12833633.
3. Tsujimoto Y, Shimizu S. *Biochimie*. The voltage-dependent anion channel: an essential player in apoptosis. 2002;84(2-3):187-193. PMID: 12022949.
4. Crompton M, Barksby E, Johnson N, et al. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death. *Biochimie*. 2002;84(2-3):143-152. PMID: 12022945.
5. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*. 1999;341(Pt2):233-249. PMID: 10393078.
6. Lawen A, Ly JD, Lane DJ, et al. Voltage-dependent anion-selective channel 1 (VDAC1)-a mitochondrial protein, rediscovered as a novel enzyme in the plasma membrane. *Internat. J. Biochemistry and Cell Biology*. 2005;37(2):277-282. DOI: 10.1016/j.biocel.2004.05.013.
7. Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature*. 1999;399(6735):483-487. DOI: 10.1038/20959.
8. Rostovtseva T, Colombini M. VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys. J*.

- 1997;72(5):1954-1962. DOI: 10.1016/S0006-3495(97)78841-6.
9. Hodge T, Colombini M. Regulation of metabolite flux through voltage gating of VDAC channels. *J. Membr. Biol.* 1997;157(3):271-279. PMID: 9178614.
10. Schiltz E, Kreusch A, Nestel U. et. al. Primary structure of porin from *Rhodobacter capsulatus*. *Eur. J. Biochem.* 1991;199(3):587-594. PMID: 1651239.
11. Przybylski M, Glocker MO, Nestel U, et al. X-ray crystallographic and mass spectrometric structure determination and functional characterization of succinylated porin from *Rhodobacter capsulatus*: implications for ion selectivity and single-channel conductance. *Protein Sci.* 1996;5(8):1477-1489. DOI: 10.1002/pro.5560050804.
12. Buhler S, Michels J, Wendt S, et al. Mass spectrometric mapping of ion channel proteins (porins) and identification of their supramolecular membrane assembly. *Proteins.* 1998; Suppl.2:63-73. PMID: 9849911.
13. Bureau MH, Khrestchatisky M, Heeren MA, et al. Isolation and cloning of a voltage-dependent anion channel-like Mr 36.000 polypeptide from mammalian brain. *J. Biol. Chem.* 1992;267(12):8679-8684. PMID: 1373732.
14. Blachly-Dyson E, Baldini A, Litt M, et al. Human genes encoding the voltage-dependent anion channel (VDAC) of the outer mitochondrial membrane: mapping and identification of two new isoforms. *Genomics.* 1994; 20 (1): 62-67. DOI: 10.1006/geno.1994.1127.
15. Ha H, Hájek P, Bedwell DM, et al. A mitochondrial porin cDNA predicts the existence of multiple human porins. *J. Biol. Chem.* 1993; 268 (16):12143-12149. PMID: 7685033.
16. Zhang H, Li XJ, Martin DB, et al. Identification and quantification of N-linked glycoproteins using hydrazide chemistry, stable isotope labeling and mass spectrometry. *Natl. Biotechnol.* 2003;21(6):660-666. DOI: 10.1038/nbt827.
17. Chalmers MJ, Hakansson K, Johnson R, et al. Protein kinase A phosphorylation characterized by tandem Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Proteomics.* 2004;4(4):970-981. DOI: 10.1002/pmic.200300650.
18. Sapp DW, Witte U, Turner DM, et al. Regional variation in steroid anesthetic modulation of [35S] TBPS binding to gamma-aminobutyric acid A receptors in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992;262(2):801-808. PMID: 1323664.
19. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970;227(5259):680-685. PMID: 5432063.

20. Shevchenko A, Jensen ON, Podtelejnikov AV, et al. A strategy for identifying gel-separated proteins in sequence databases by MS alone. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996;93(25):14440-14445. PMID: 8962070.
21. Clauser KR, Baker P, Burlingame AL. Role of accurate mass measurement (+/- 10 ppm) in protein identification strategies employing MS or MS/MS and database searching. *Anal. Chem.* 1999;71(14):2871-2882. PMID: 10424174.
22. Dermietzel R, Hwang TK, Buettner R, et al. Cloning and in situ localization of a brain-derived porin that constitutes a large-conductance anion channel in astrocytic plasma membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1994;91(2):499-503. PMID: 7507248
23. Sabirov RZ, Sheiko T, Liu H, et al. Genetic demonstration that the plasma membrane maxi-anion channel and voltage-dependent anion channels are unrelated proteins. *J. Biol. Chem.* 2006;281(4):1897-904. DOI: 10.1074/jbc.M509482200.
24. Yu WH, Forte M. Is there VDAC in cell compartments other than the mitochondria? *J. Bioenerg. Biomembr.* 1996;28(2):93-100. PMID: 9132422.
25. Rostovtseva TK, Tan W, Colombini M. On the role of VDAC in apoptosis: fact and fiction. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2005;37(3):129-142. DOI: 10.1007/s10863-005-6566-8.
26. Bera AK, Ghosh S. Dual mode of gating of voltage-dependent anion channel as revealed by phosphorylation. *J. Struct. Biol.* 2001;135(1):67-72. DOI: 10.1006/jsbi.2001.4399.
27. Bera AK, Ghosh S, Das S. Mitochondrial VDAC can be phosphorylated by cyclic AMP-dependent protein kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995;209(1):213-217. DOI: 10.1006/bbrc.1995.1491.
28. Baines ChP, Song ChXu, ZhengYuT, et al. Protein kinase C interacts with and inhibits the permeability transition pore in cardiac mitochondria. *Circ. Res.* 2003;92(8):873-880. DOI: 10.1161/01.RES.0000069215.36389.8D.
29. Liberatori S, Canas B, TaniCh, et al. Proteomic approach to the identification of voltage-dependent anion channel isoforms in guinea pig brain synaptosomes. *Proteomics.* 2004;4(5):1335-1340. DOI: 10.1002/pmic.200300734.
30. Shafir I, Feng W, Shoshan\_Barmataz VV. Voltage-dependent anion channel proteins in synaptosomes of the Torpedo electric organ: immunolocalization, purification, and characterization. *J. Bioenergetics and Biomembranes.* 1998; 30 (5): 499-510. PMID: 9932652.
31. Blumental A, Kahn K, Beja O, et al. Purification and characterization of the voltage-dependent anion-selective channel protein from wheat mitochondrial

- membranes. *Plant Physiol.* 1993;101(2):579-587. PMID: 12231713.
32. Brugiere S, Kowalski S, Ferro M, et al. The hydrophobic proteome of mitochondrial membranes from *Arabidopsis* cell suspensions. *Phytochemistry.* 2004;65(12):1693-1707. DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.03.028.
33. Prinz T, Muller J, Kuhn K, et al. Characterization of low abundant membrane proteins using the protein sequence tag technology. *J. Proteome Res.* 2004;3(5):1073-1081. DOI: 10.1021/pr049925u.
34. Florke H, Thinnes FP, Winkelbach H, et al. Channel active mammalian porin, purified from crude membrane fractions of human B lymphocytes and bovine skeletal muscle, reversibly binds adenosine triphosphate (ATP). *Biol. Chem. Hoppe Seyler.* 1994;375(8):513-520. PMID: 7529026.
35. Taylor S, Warnock D, Glenn G, et al. An alternative strategy to determine the mitochondrial proteome using sucrose gradient fractionation and 1D PAGE on highly purified human heart mitochondria. *J. Proteome Res.* 2002;1(5):451-458. PMID: 12645917.
36. Da Cruz S, Xenarios I, Langbridge J. et al. Proteomic analysis of the mouse liver mitochondrial inner membrane. *J. Biol. Chem.* 2003;278 (42):41566-41571. DOI: 10.1074/jbc.M304940200.
37. Bogdanov B, Smith RD. Proteomics by FTICR mass spectrometry: top down and bottom up. *Mass Spectrom. Rev.* 2005;24(2):168-200. DOI: 10.1002/mas.20015.
38. Aebersold R, Mann, M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature.* 2003;422(1):198-207. DOI: 10.1021/bc034150l
39. Distler A, Kerner J, Peterman S, et al. A targeted proteomic approach for the analysis of rat liver mitochondrial outer membrane proteins with extensive sequence coverage. *Analytical Biochemistry.* 2006;356(1):18-29. DOI: 10.1016/j.ab.2006.03.053.
40. Song J, Midson C, Blachy-Dyson E, et al. The sensor regions of VDAC are translocated from within the membrane to the surface during the gating processes. *Biophys. J.* 1998;74 (6):2926-2944. DOI: 10.1016/S0006-3495(98)78000-2.
41. Weiss M, Kreuzsch A, Schiltz E, et al. The structure of porin from *Rhodobacter capsulatus* at 1.8 Å resolution. *FEBS Lett.* 1991;280(2):379-382. PMID: 1707373.
42. Cowan S, Schirmer T, Rummel G, et al. Crystal structures explain functional properties of two *E. coli* porins. *Nature.* 1992;358(6389):727-733. DOI: 10.1038/358727a0.
43. Kreuzsch A, Neubuser A, Schiltz E, et al. Structure of the membrane channel porin from *Rhodospseudomonas blastica* at 2.0 Å

- resolution. *Protein Sci.* 1994; 3 (1):58-63. DOI: 10.1002/pro.5560030108.
44. Schirmer T, Keller T, Wang Y, et al. Structural basis for sugar translocation through maltoporin channels at 3.1 Å resolution. *Science.* 1995;267(5197):512-512. PMID: 7824948.
45. Forte M, Guy HR, Mannella CA. Molecular genetics of the VDAC ion channel: structural model and sequence analysis. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1987;19(4):341-350. PMID: 2442148.
46. Rauch G, Moran O. On the structure of mitochondrial porins and its homologies with bacterial porins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996;200(2):908-915. DOI: 10.1006/bbrc.1994.1536.
47. Blachly-Dyson E, Peng SZ, Colombini M, et al. Selectivity changes in site-directed mutants of the VDAC ion channel: structural implications. *Science.* 1990;247(4947):1233-1236. PMID: 1690454.
48. Song J, Midson C, Blachly-Dyson E, et al. The sensor regions of VDAC are translocated from within the membrane to the surface during the gating processes. *Biophys. J.* 1998;74(6):2926-2944. DOI: 10.1016/S0006-3495(98)78000-2.

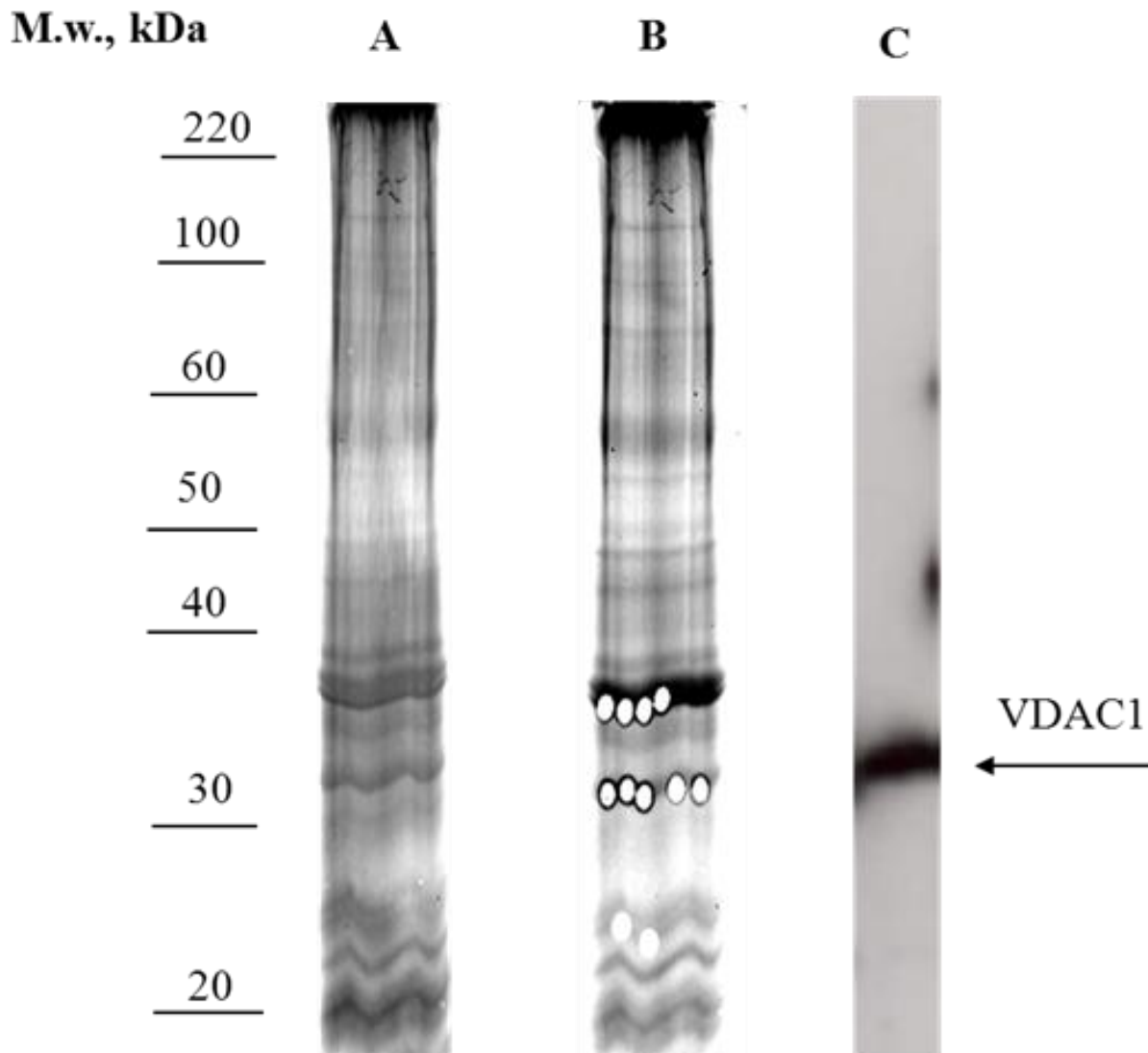
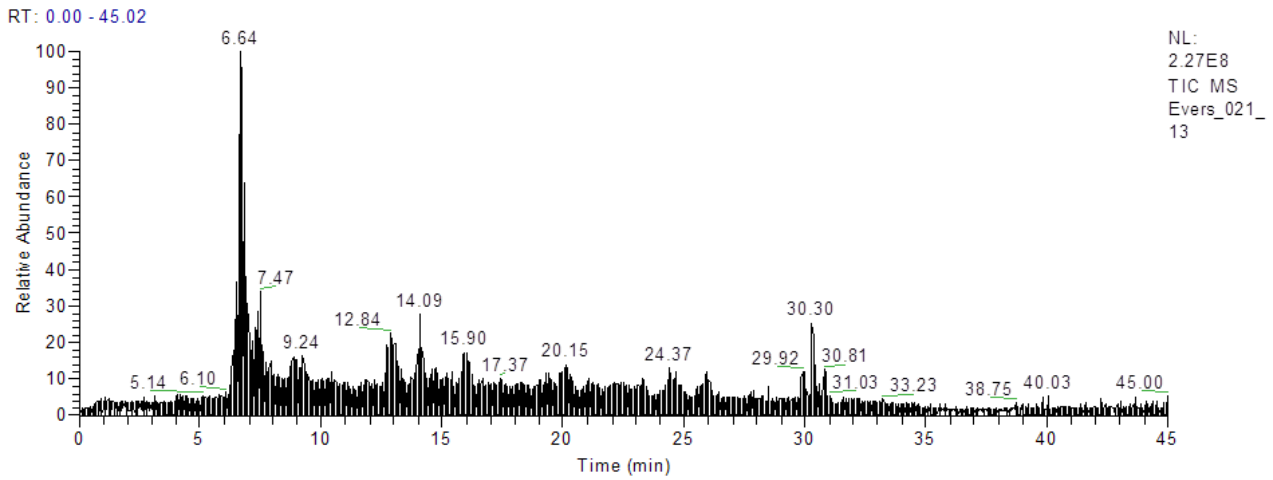


Figure 1. SDS-PAGE electrophoresis gel the membrane lysate (mouse brain), submitted for mass-spec analysis. (A) Sypro Ruby stained gel, (B) Cut gel by robotic instruments, (C) Cross-reactivity of proteins band with the anti-VDAC1 antibody. Marker proteins (left) are indicated, with their molecular weights in kDa. Arrow points the localization of VDAC1.



Evers\_021\_13

11/4/2005 4:16:38 PM



Evers\_021\_13 #4264 RT: 20.05 AV: 1 NL: 7.22E2  
T: ITMS+ p NSI d w Full ms2 947.52@35.00 [250.00-2000.00]

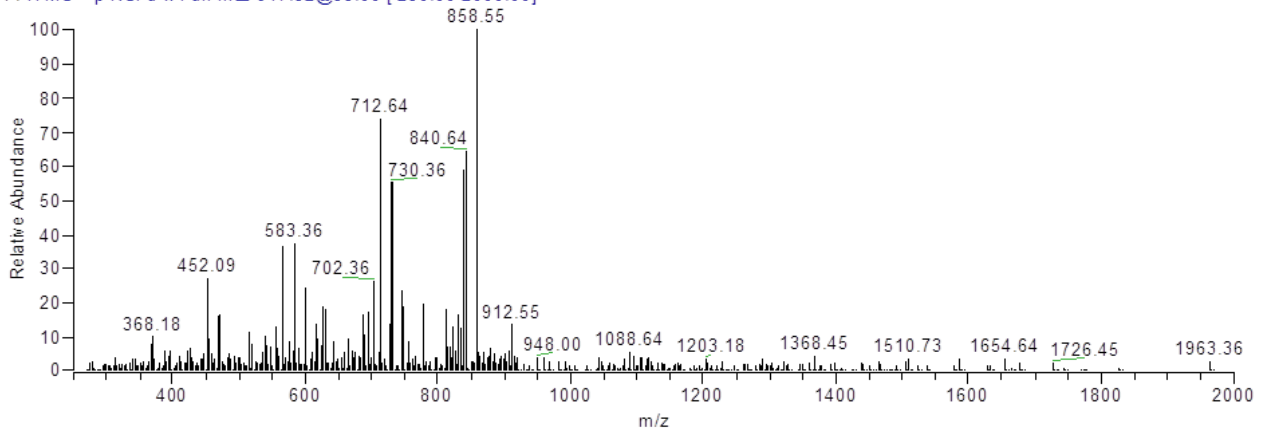


Fig.2. LTQ-FTMS analysis of tryptic digestion of VDAC1 mouse brain. Panel A, total profile of liquid chromatography of tryptic-cleaved peptides of VDAC1. Panel B, total profile of MS/MS fragmentation spectrum of the peptide eluting at 20.05 min.

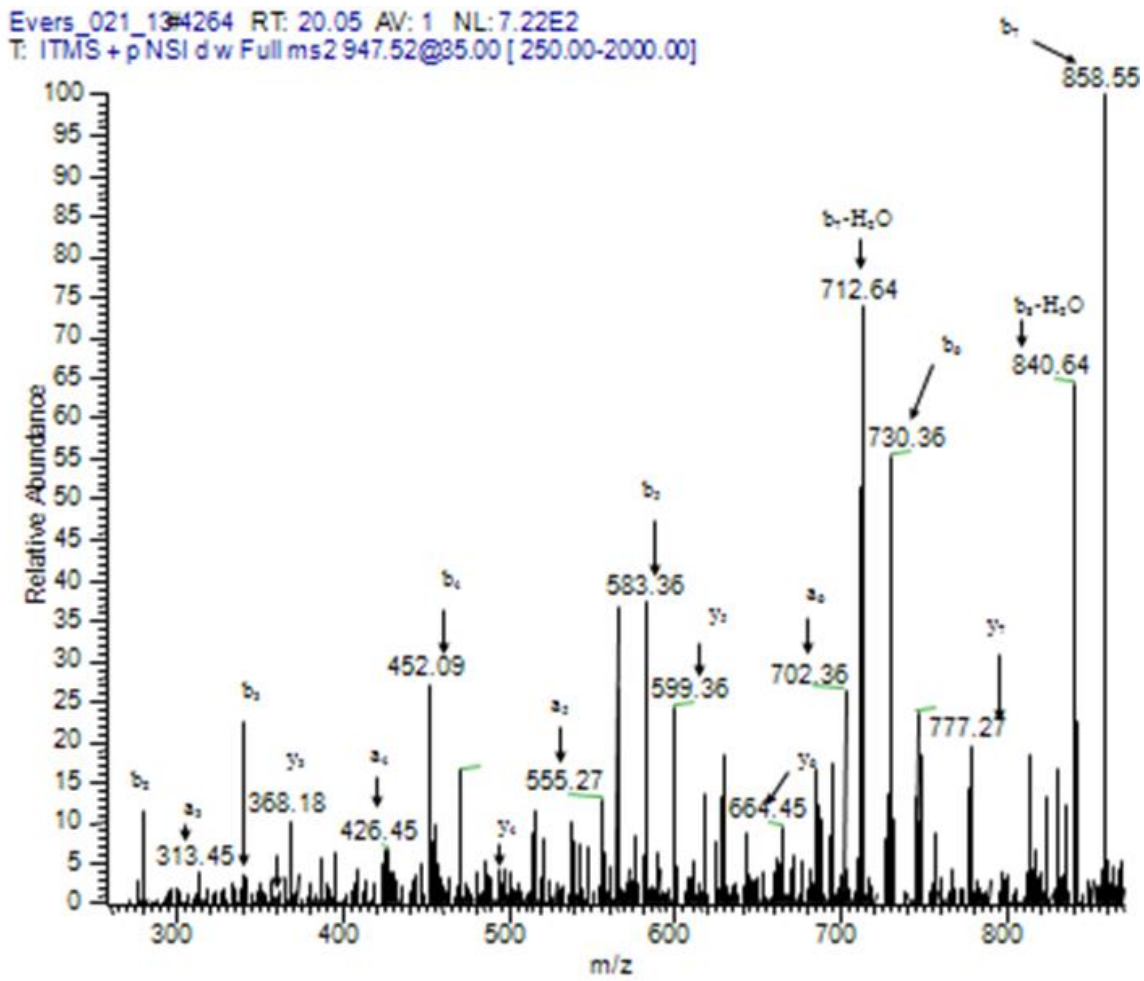


Fig.3. Selected region of MS/MS fragmentation spectrum of the  $[M+1H]^+=947.5223$  with  $t_r=20.05$  min from 275 LGLGEFQA280 acquired by LTQ-FTMS as described in the Experimental Section.

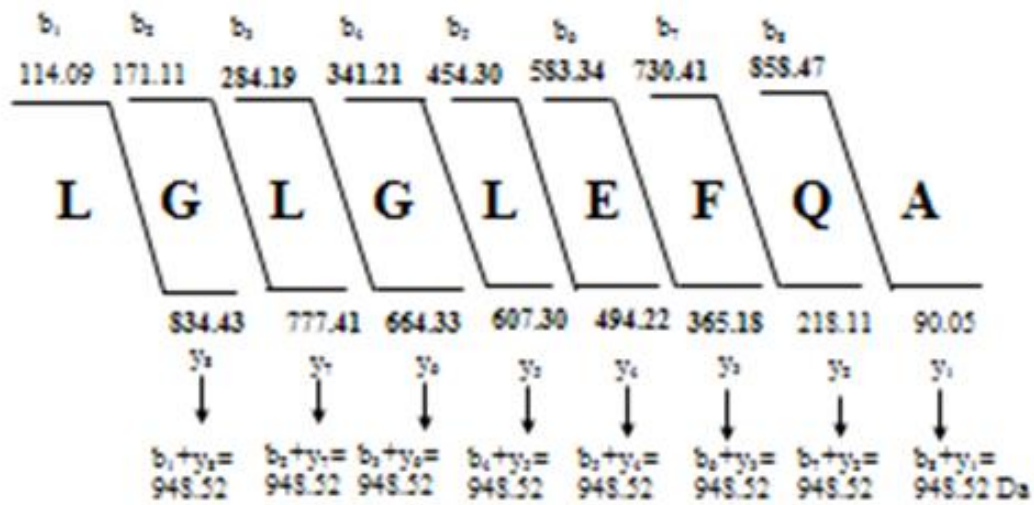


Fig.4. A summary of the interpretation of the product ion spectrum shown in Fig. 3. Specifically, the calculated m/z of the b-ions are shown above the amino acid sequence and the calculated m/z of the y-ions are shown below the amino acid sequence. All values refer to the monoisotopic m/z of the product ion in its singly protonated form. The calculated m/z are shown to two decimal place. The calculated b-and y-ions series of predicted sequence are shown in bold.

1	10	20	30	40	50	60
MAVPPTYADL	GKSARDVFTK	GYGFGLIKLD	LKTKSENGLE	FTSSGSANTE	TTKVNGSLET	
	70	80	90	100	110	120
KYRWTEYGLT	FTEKWNTDNT	LGTEITVEDQ	LARGLKLTFD	SSFSPNTGKK	NAKIKTGYKR	
	130	140	150	160	170	180
EHINLGCDVD	FDIAGPSIRG	<b>ALVLGYEGWL</b>	<b>AGYQMFETS</b>	KSRVTQSNFA	VGYKTDEFQL	
	190	200	210	220	230	240
HTNVNDGTEF	GGSIYQKVNK	KLETAVNLAW	TAGNSNTRFG	IAAKYQVDPD	ACFSAKVNNS	
	250	260	270	280	283	
SLIGLGYTQT	LKPGIKLTLS	ALLDGKNVNA	GGHKLGLGLE	FQA		

Fig.5. Sequence coverage VDAC1 from mouse brain deduced from LTQ-FTMS data. The sequence for VDAC1 identified from the 34kDa band is shown. The sequence of the protein is shown with those residues not covered by LTQ-FTMS highlighted in bold. The total coverage of VDAC1 was 95%.

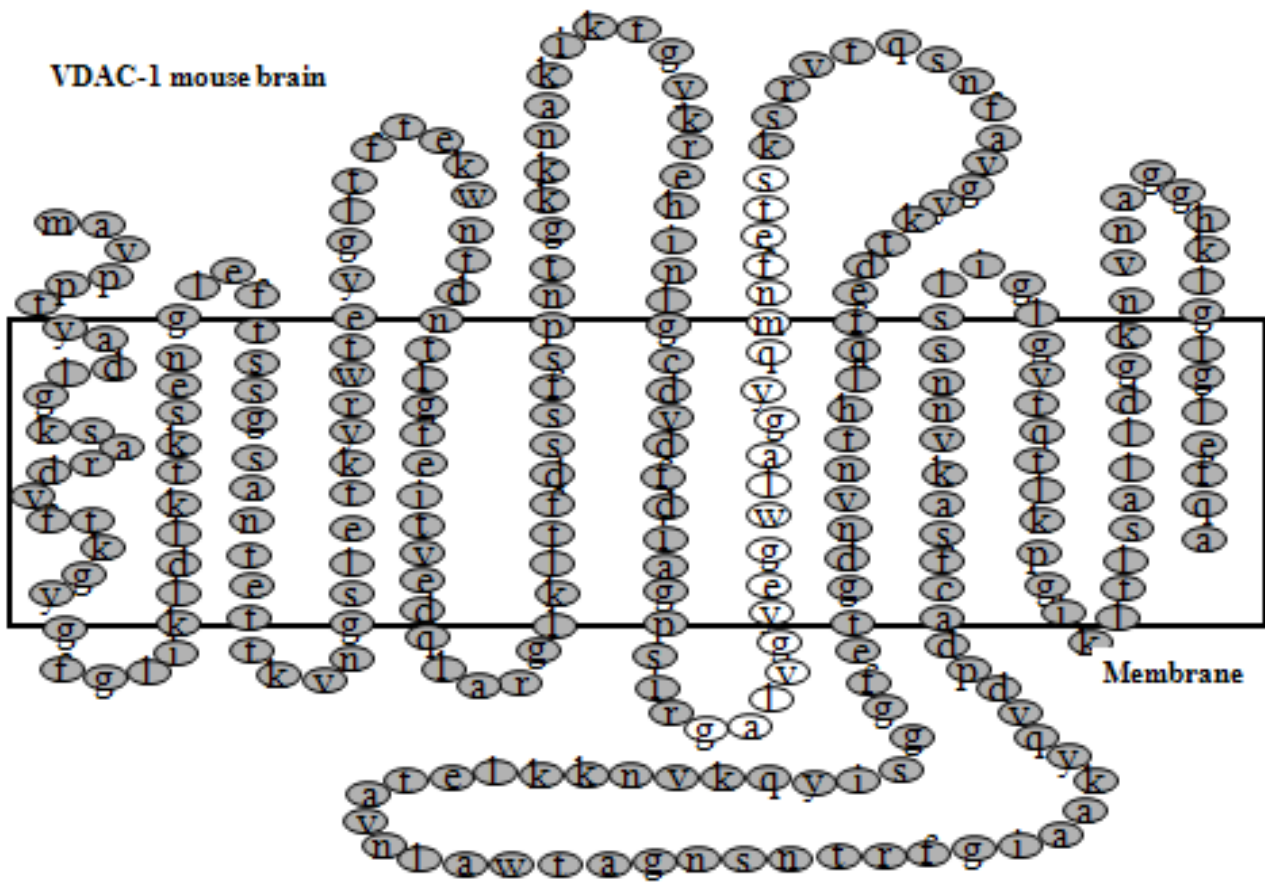


Figure 6.Coverage map of VDAC1 isoform. The topological model of eukaryotic VDACS designed for yeast [40]. Identified amino acids (gray circles), non-identified (white circles). The lines show the boundary of the hydrophobic part of the membrane.

**Table.1. Peptides identified in VDAC1 tryptic digestions of VDAC1 using LTQ-FTMS. All sequences were confirmed from manual interpretation of the MS/MS spectra. Calculated masses were determined from the observed m/z values of singly, doubly, triply charged species.**

Sequence	start-end	missed cleavages	theoretical mass	calculated mass
MAVPPTYADLGKSAR	1--15	1	1624,8382	1624,8383
AVPPTYADLGK	2--12	0	1172,6054	1172,6077
DVFTKGYGFLIKLDLK	16-32	2	1913,2282	1913,2261
GYGFGLIK	21-28	0	853,6854	853,6897
GYGFGLIKLDLK	21-32	1	1323,1122	13223,1137
TKSENGLEFTSSGSANTETTK	33-53	1	2187,109	2187,1093
SENGLEFTSSGSANTETTK	35-53	0	1959,6714	1959,6705
VNGSLETK	54-61	0	846,4454	846,4447
SENGLEFTSSGSANTETTKVNGSLETK	35-61	1	2788,0882	2788,0845
TKSENGLEFTSSGSANTETTKVNGSLETK	33-61	2	3016,8682	3016,8672
YRWTEYGLTFTEK	62-74	1	1692,3982	1692,4047
WTEYGLTFTEK	64-74	0	1373,4406	1373,4403
WNTDNTLGTEITVEDQLAR	75-93	0	2175,9772	2175,9744
GLKLTFDSSFSPTGK	94-109	1	1698,7509	1698,7524
GLKLTFDSSFSPTGRKNAKIKTYK	94-119	5	2858,4982	2858,4949
LTFDSSFSPTGK	97-109	0	1399,6654	1399,6619
LTFDSSFSPTGKK	97-110	1	1527,6802	1527,6769
KNAKIKTYKREHINLGCDFVDFDIAGPSIR	110-139	4	3406,0582	3405,0585
NAKIKTYKREHINLGCDFVDFDIAGPSIR	111-139	4	3317,7985	3317,7901
REHINLGCDFVDFDIAGPSIR	120-139	0	2225,2286	2225,2251
EHINLGCDFVDFDIAGPSIR	121-139	0	2118,0654	2118,0651
SRVTQSNFAVGK	160-172	1	1456,5982	1456,5947
VTQSNFAVGK	162-172	0	1212,9265	1212,9238
SNFAVGK	165-172	0	912,7254	912,7253
TDEFQLHTNVNDGTEFGGSYQK	173-195	0	2599,5309	2599,5326
KLETAVNLAWTAGNSNTR	199-216	0	1945,9282	1945,9217
LETAVNLAWTAGNSNTR	200-216	0	1817,3654	1817,3667
FGIAAKYQVDPDACFSAK	217-234	1	2028,0082	2028,0063
VNSSLIGLGYTQTLKPGIK	235-254	1	2102,2056	2102,2035
LTLALLDGK	255-264	0	1029,2254	1029,2271
LTLALLDGKNYNAGGHK	255-271	1	1806,8482	1806,8451
NVNAGGHKLGLEFQA	265-280	1	1724,1382	1724,1305
LGLGLEFQA	274-280	0	946,5202	946,5223

## Motivasyonel görüşmenin çocuk ve adölesanlarda kullanımı

İlknur YILDIZ<sup>1</sup>, Meral BAYAT<sup>2</sup>

Öz	Yayın Bilgisi
<p>Sağlık davranışlarının kazanılmasında ve sürdürülmesinde çocukluk dönemi ve aile önemli rol oynar. Çocuk ve adölesanlarda riskli ya da olumsuz sağlık davranışlarının değiştirilmesinde ve tedaviye uyum sağlanmasında farklı girişimlere ihtiyaç duyulmaktadır. Davranış değişikliğinde etkin bir yaklaşım olarak görülen motivasyonel görüşme sağlığın korunması, hastalıkların tedavisi ve rehabilitasyonunda önemli yararlar sağlar. Motivasyonel görüşme değişim için içsel motivasyon sağlayan, bireyin kendi davranış değişim nedenlerini ortaya çıkaran işbirliğine dayalı bir yaklaşımdır. Çocuk ve aileye yönelik uygulamalarda motivasyonel görüşmenin kullanımı tedaviye uyumu kolaylaştırır. Çocuk sağlığı alanında çalışan sağlık profesyonellerinin motivasyonel görüşme konusundaki bilgi ve becerilerini artırarak çocuk ve ailenin bakımında etkin şekilde kullanmaları önerilmektedir.</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Adölesan, aile, çocuk, hemşirelik, motivasyonel görüşme</p>	<p>Gönderi Tarihi:11.11.2017 Kabul Tarihi:14.02.2018 Online Yayın Tarihi:31.12.2018 DOI: 10.26453/otjhs.351343</p> <p><b>Sorumlu Yazar</b> İlknur YILDIZ</p>

## Using motivational interviewing in children and adolescents

İlknur YILDIZ<sup>1</sup>, Meral BAYAT<sup>2</sup>

Abstract	Article Info
<p>Childhood period and family play an important role in the develop and maintenance of health behaviors. Different interventions are needed to change risky or negative health behaviors and adherence to treatment in children and adolescents. Motivational interviewing, seen as an effective approach to maintaining behavioral change, provides important benefits in the health protection, in the treatment and rehabilitation of diseases. Motivational interviewing is a collaborative approach that provides intrinsic motivation for change and revealing the individual's reasons for behavior change. The use of motivational interviewing in child and family practices facilitates adherence to the treatment. Health professionals who working with children are advised to increase the knowledge and skills of motivational interviewing and use them effectively in child and family care.</p> <p><b>Keywords:</b> adolescent, family, children, nursing, motivational interviewing</p>	<p>Received:11.11.2017 Accepted:14.02.2018 Online Published: 31.12.2018 DOI: 10.26453/otjhs.351343</p> <p><b>Corresponding Author</b> İlknur YILDIZ</p>

<sup>1</sup> Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği AD, SİVAS

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği AD, KAYSERİ

## GİRİŞ

Birçok sağlık probleminin çözümü ve tedavisi davranış değişikliği yapmayı gerektirir. Davranış değişikliği sağlamada tavsiye, ikna, eğitim gibi yöntemler yeterli olmayabilir. Değişime hazır ya da istekli olmayı ifade eden

motivasyon, içsel bir durum olup, insan davranışlarında önemli rol oynar.<sup>1-5</sup> Motivasyonu geliştirmede Motivasyonel Görüşme (MG)'den yararlanılabilir. MG, bireyin kendi davranış değişim nedenlerini ortaya çıkararak, değişim için isteksiz ya da dirençli olan bireylerin sorunlarını anlamalarını

ve eyleme geçmelerini sağlar.<sup>6,7</sup> Bireyin mantıklı ve ulaşılabilir amaçları geliştirmesini sağlayarak, değişime yönelik içsel motivasyonu artırır.<sup>5,8</sup> İlk olarak W. Miller (1983) tarafından alkolizm tedavisi için geliştirilen MG, daha sonra birçok mental ve fiziksel soruna yönelik olarak Miller ve Rollnick tarafından genişletilerek kullanılmıştır.<sup>6,7</sup> Empatinin ifadesi, bireyin şimdiki davranışı ile tedavi amaçları arasında çelişkilerin giderilmesi, danışanın direnciyle çalışma, öz etkililiğin desteklenmesi MG'nin temel ilkeleridir.<sup>6,8,9</sup> MG'de açık uçlu soru sorma, yansıtıcı dinleme, destekleme, özetleme, değişimi konuşma kullanılan temel etkileşim teknikleridir.<sup>6-8</sup> MG, özellikle davranış değişimini sağlamak için etkisi kanıtlanmış teknik ve becerilerle tıbbi uygulamalar için oldukça uygundur.<sup>10</sup> Sağlık sorunlarının tedavisinde iş yükü, zaman kısıtlılığı, bireyin değişime dirençli olması, koruma yerine tedavi odaklı çalışılması, iletişim problemleri, bilgi eksikliği ve ekonomik sorunlardan dolayı davranış değişikliği hemen görülmeyebilir.<sup>9,11</sup> Sağlık bakım uygulamalarına MG tekniği eklenmesinin bireyin uyumunda artışla birlikte sağlık sonuçlarında önemli düzelmeler sağladığı bildirilmektedir.<sup>9,10,12</sup> Danışan merkezli ve işbirlikçi yaklaşımı benimseyen MG'nin kısa sürede tedaviye uyumu arttırdığı ve olumlu sağlık davranışları geliştirmeye katkı sağladığı belirtilmektedir.<sup>7-13</sup> Yapılan bazı çalışmalarda MG'nin alkol-madde kullanımı<sup>14</sup>, kilo kontrolü<sup>15</sup> ve Tip 2 diyabet<sup>16</sup>

tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur. Madde kullanım bozukluklarında bir-iki seans uygulanan MG'nin davranışı bırakma yönünde kalıcı etkilerinin olduğu belirlenmiştir.<sup>3,17</sup> Davranış değişikliği sağlamada kısa ve etkili bir yöntem olan MG'nin sağlık bakım hizmetleriyle birleştirilmesinin yararlı olacağı belirtilmektedir.<sup>9,10,18</sup> MG eğitimi alan hemşirelerle yapılan bir çalışmada, hemşireler MG'nin hastalar ve hemşireler açısından kolaylaştırıcı ve yararlı bir uygulama olduğunu ifade etmiştir.<sup>19</sup> Sağlık geliştirilmesi ve hastalıkların önlenmesinde önemli rolleri olan hemşirelerin çocuk ve ailenin bakımında MG'yi kullanmasının çocuğun ve ailenin sağlığına olumlu katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu derlemede çocuk ve adölesanlarda motivasyonel görüşmenin etkileri incelenmiş ve tartışılmıştır.

### ***Çocuk, Aile ve Motivasyonel Görüşme***

Olumlu sağlık davranışlarının kazanılmasında ve sürdürülmesinde çocukluk dönemi ve aile önemlidir. Sağlık sorunlarının tedavisi ve kronik hastalıkların yönetiminde çocukların önerilen tedavilere uymaması veya ebeveynlerin çocuklarına yeterli bakımı verememesi olumsuz sonuçlara yol açar.<sup>8,20</sup> Birçok sağlık sorunu çocuğun ve ailenin alabileceği bazı önlemler ile tedavi edilebilir. Ancak yalnızca ikna etmeye odaklı yaklaşımlar dirence neden olarak davranış değişikliği sağlamada yetersiz kalabilir.<sup>2</sup> Cleveland (2005) sağlık sorunlarının çözümünde davranış değişikliği olmamasının



nedenerini; çocuğun gelişimsel düzeyi, ailenin tedavi planına katılmaması, çocuğa verilen tedavinin etkileri konusunda ebeveynlerin şüpheleri, çocuk ve ailenin isteksizliği, durumsal engeller, aileye verilen desteğin yetersizliği olarak belirtmiştir. Ailenin çocuğun hayatındaki rolünü ve katılımını ifade eden aile merkezli bakım, ebeveyn ile sağlık çalışanı arasında etkin iletişimi gerektirir.<sup>21</sup> Davranış değişimi sağlamak amacıyla yapılan uygulamalarda çocuğun ailesiyle kurulan terapötik iletişimin tedavi üzerine etkileri dikkat çekicidir.<sup>10</sup> Çocuk sağlığı alanında çalışan sağlık profesyonellerinin terapötik iletişim yoluyla davranış değişimi sağlamaya yönelik planlamalar yapması ve etkili müdahaleler geliştirmesi gerekir.<sup>10</sup> Bu amaçla değişimin önemli ve ihmal edilen bileşeni olan motivasyona odaklanılmalı ve tedaviye ebeveynlerin katılım ve desteği sağlanmalıdır.<sup>20</sup> Çocuk ve ailenin davranışa yönelik motivasyonu değerlendirilerek, değişimin hem çocukta hem de ebeveynlerde olması sağlanmalıdır.<sup>2</sup> Lask<sup>20</sup> pediatri kliniklerinde motivasyon artırıcı tekniklerin büyük yararlar sağladığını, Erikson<sup>8</sup> pediatrik uygulamalarda MG'nin davranış değişikliği sağlamada etkili bir yaklaşım olduğunu belirtmiştir. Son yıllarda literatürde MG'nin pediatrik uygulamalarda etkisine yönelik çalışmalar artmıştır. Obezite, diyabet, astım gibi hastalıklarda MG'nin etkili olduğu ve tedavi sonuçlarında düzelmeler sağladığı bulunmuştur.<sup>22-25</sup> Willgerodt ve ark.<sup>26</sup>

motivasyona dayalı müdahalenin okul çağı çocuklarda uyku örüntülerini değiştirdiğini belirtmiştir.

Bütüncül ve aile merkezli yaklaşımı benimseyen MG'nin çocuk ve ebeveynleriyle yakınlık kurmayı sağladığı; tedavi, koruma ve bakım gibi süreçlere ailenin katılımını desteklediği belirtilmektedir.<sup>8</sup> Borelli ve ark.<sup>27</sup> çocuk ve ebeveynlerle yapılan MG'nin sağlık davranışlarında düzelmeye sağladığını ve ebeveyn-çocuk ikilisine odaklanan girişimlerin yalnızca çocuk veya yalnızca ebeveyne yönelik girişimlerden daha etkili olduğunu belirtmiştir. Bunun nedenini müdahalenin sadece bir çocuğu değil, ailedeki diğer çocukları da etkilemesi olarak açıklamıştır.<sup>27</sup> Saelens ve ark.<sup>28</sup> çalışmasında pediatrik obezite tedavisinde MG içeren aile temelli davranışsal yaklaşımların etkili olabileceğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalarda obezite, pasif içicilik, fiziksel aktivite gibi alanlarda çocuklarla birlikte ebeveynlerin dahil olduğu MG müdahalelerinin davranış değişiminde etkili olduğu bulunmuştur.<sup>19-22</sup> Pediatrik uygulamalarda motivasyon odaklı kısa ve etkili müdahalelerin kullanımı sağlıkla ilgili davranışsal, gelişimsel ve sosyal problemlerden korunmayı sağlayarak, erken müdahale ile tedavinin hızlı bir şekilde planlanmasını sağlar.<sup>8</sup> Geçmişte çocuk, adölesan ve aileye verilen bakımda davranışsal ve psikososyal açıdan eksikler olduğu, MG'nin destekleyici ve empatik bir yaklaşımla sağlık sorunlarının tartışılmasını kolaylaştırdığı ve

teşvik edici bir yaklaşım olduğu belirtilmektedir.<sup>8,10,17,33</sup> Malas ve ark.<sup>34</sup> nın çalışmasında pediatri uzmanlık eğitimi sırasında verilen dört saatlik MG eğitiminin; asistanların sağlık davranışı değiştirmede, kendilerine olan güveni ve empatik dil kullanımını arttırdığı belirlenmiştir. Yapılan bir meta analiz çalışmasında MG'nin kilo kontrolü, uyku, egzersiz gibi sağlığı geliştirici davranışların kazanılmasında olumlu etkiler sağladığı ve çocukların davranış değişiminde etkin ve uygun bir yaklaşım olduğu bulunmuştur.<sup>35</sup> Davranışsal bir müdahale olarak MG'nin sağlıklı/hasta çocuğun tedavisi ve bakımında çalışan sağlık profesyonelleri tarafından kullanımı önerilmektedir.<sup>2</sup> Cleveland (2005) hemşirelerin MG tekniğini kullanarak çocuğa ve aileye danışmanlık sağlamanın sağlıklı yaşam alışkanlıklarının kazanılmasında ve bakımda önemli yararlar sağlayacağını belirtmiştir. Bu amaçla hemşire, çocuk ve ailenin özelliklerini değerlendirerek, MG'nin direnci azaltan ve etkileşimi teşvik eden ilkelerini bakımında uygulamalıdır.

### ***Adölesan ve Motivasyonel Görüşme***

Adölesan dönem bebeklikten sonra en fazla biyolojik, bilişsel ve sosyal değişimlerin olduğu, otonomi ve kimlik kazanımı ile karakterize bir dönemdir.<sup>10,36</sup> Erikson'un Psikososyal Gelişim Kuramı'na göre adölesan bu dönemde kimlik gelişimine karşın rol karmaşası ve yoğun ambivalans yaşar, otoriteye meydan okur, otonomisini kurmaya çalışır.<sup>10</sup>Bu değişimler bir

yandan riskli davranışlara eğilimi arttırabilir, diğer bir yandan da olumsuz davranışları değiştirmek için fırsat sağlar.<sup>36</sup> Çünkü adölesanlar yetişkinler gibi riskli veya olumsuz bir davranışın fiziksel ve psikososyal sonuçlarını henüz yaşamamıştır.<sup>10</sup> Adölesanın ambivalansı ve bireysel seçimlerini kabul eden MG, değişim için motivasyon sağlar. MG, adölesanın gelişimsel değişimlerini, kendi davranışları hakkındaki doğru ve değiştirilemeyen yeteneklerini ve otonomisini kabul ederek riskli ve olumsuz davranışlarını değiştirmeye çalışır. Daha gerçekçi ve ulaşılabilir amaçlarla problemleri davranışın azalmasını sağlar, tedaviye uyumu artırır.<sup>7,10,36,37</sup> Bu nedenle MG'nin adölesanlarda kullanımının uygun olduğu belirtilmektedir.

MG'nin adölesanların ihtiyaçlarına cevap verecek nitelikte çok yönlü, yeterli ve uygulanabilir olduğu, bu nedenle yaşanan mental ve fiziksel sorunların çözümünde etkili olduğu belirtilmektedir.<sup>10,36</sup> Yapılan çalışmalarda; MG'nin adölesanlarda sigara, alkol, ilaç kullanma davranışlarını azalttığı ve adölesanın fiziksel ve zihinsel sağlığına olumlu katkılar sağladığı bulunmuştur.<sup>36-40</sup> Knight ve ark.<sup>41</sup> diyabet kontrolü yetersiz olan 20 adölesanla yapılan MG'nin adölesanlarda kabul ve kontrol duygularını arttırarak diyabet algısında pozitif değişimler sağladığını belirtmiştir. Walpole ve ark.<sup>42</sup> aşırı kilolu veya obez 10-18 yaş grubu çocuk ve adölesanlara

uygulanan MG'nin, sağlık davranışlarına olumlu katkı sağladığını, Berg-Smith ve ark.<sup>43</sup> MG ve kısa görüşmelerin, diyetle kolesterol ve yağ alımını azalttığını, Chen ve ark.<sup>44</sup> HIV/AIDS'li gençlerde riskli cinsel davranışları önlediğini, Naar- King ve ark.<sup>45</sup> HIV/AIDS tedavisine uyumu desteklediğini belirtmiştir. Tip 1 diyabetli adölesanlarla yapılan bir çalışmada ise MG'nin iyilik hali ve yaşam kalitesini arttırdığı, HbA1C düzeyini düşürdüğü bulunmuştur.<sup>46</sup> Riekert ve ark.<sup>47</sup> MG'nin astımlı adölesanlarda tedaviye uyumu arttırdığını ve olumlu değişimler sağladığını belirtmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada adölesanlarda değişim aşamalarına dayalı MG'nin sigara bırakmada etkili olduğu bulunmuştur.<sup>48</sup> Yurt<sup>49</sup> çalışmasında MG'nin kilolu adölesanların kilo vermelerinde etkili olduğu, beslenme ve egzersizle ilgili tutum ve davranışları olumlu yönde etkilediği saptamıştır. Astımlı adölesanlara yapılan bir çalışmada da MG'nin astım kontrolünü ve öz etkililiği arttırdığı belirlenmiştir.<sup>50</sup> MG, adölesanlarda değişimi ortaya çıkaran öz etkililiğin artmasında etkilidir. Destekleyici, esnek, bireysel farklılıkları araştıran, açık, otonomiye destekleyen bir yöntem olarak MG adölesanların bağımsızlık isteği, kimlik gelişimi gibi gelişimsel özellikleriyle örtüşür.<sup>26</sup> Ayrıca adölesanların ebeveynlerine yönelik bir müdahale olarak da kullanılabilir.<sup>8</sup> Adölesanlarla yapılan görüşmelerde bağımsızlık, aile ilişkileri, destek kaynakları

değerlendirilmeli ve MG uygulamalarına adölesanla birlikte ebeveynlerin katılımı da sağlanmalıdır.<sup>37</sup> Aşırı kilolu ve obez adölesanlarda dislipidemi yönetimine ilişkin yapılan bir çalışmada bir grup adölesanla yalnız, bir grup adölesanla ebeveynleriyle birlikte MG yapılmış ve her iki grupta da MG'nin sağlıklı yaşam tarzının kazanılmasında ve fizyolojik değişikliklerde etkili bir strateji olduğu bulunmuştur.<sup>51</sup> Hemşireler gelişim teorilerini temel alarak ve adölesanların gereksinimlerini belirleyerek terapötik bir müdahale yöntemi olarak MG'yi kullanabilir.<sup>37</sup> Hemşirenin adölesan sağlığı alanında MG'yi kullanması, olumlu tedavi sonuçlarının yanı sıra hasta hemşire iletişimini geliştirmektedir. Bu nedenle adölesanlarda MG kullanımı bireysel ve grup çalışması şeklinde planlanarak yaygınlaştırılabilir.

## SONUÇ

Davranış değişiminde ve tedaviye uyum sağlamada olumlu sonuçlar sağlayan MG, çocuk/adölesan sağlığını geliştirmede, hastalıkların önlenmesinde ve rehabilitasyonunda kullanılabilir. Birey merkezli ve işbirlikçi yaklaşımı benimseyen MG uygulamalarına ailelerin dahil edilmesi, hem çocuk hem de ailedeki davranış değişimi süreci açısından önemlidir. Çocuk sağlığı alanında çalışan sağlık profesyonelleri MG tekniği konusundaki bilgi ve becerilerini artırarak, aile ile işbirliği yaparak bu tekniği

çocuk ve adölesanın bakımında aktif bir şekilde kullanmalıdır. Ayrıca çocuk ve adölesanlarda MG'nin kullanımına yönelik kapsamlı araştırmalar yapılması önerilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Britt E, Hudson SM, Blampied NM. Motivational interviewing in health settings: a review. *Patient Educ Couns*. 2004; 53(2):147-55.
2. Gance-Cleveland B. Motivational interviewing: Improving patient education. *Journal of Pediatric Health Care* 2007; 21: 81-88.
3. Rubak S, Sandbaek A, Lauritzen T, et al. Motivational interviewing: A systematic review and meta-analysis. *BJGP* 2005; 55: 305-312.
4. Ögel K. Motivasyonel görüşme tekniği. *Türkiye Klinikleri Psychiatry-Special Topics* 2009; 2(2):41- 4.
5. Işıl Ö. Motivasyon ve Davranış Değişikliğinde Ailenin Rolü. Kuşuoğlu S, Demirbağ BC (ed) *Aile Temelli Sağlık Yaklaşımı*. Akademisyen Tıp Kitabevi, Ankara, 2015: ss 121-133.
6. Miller WR, Rollnick S. *Motivational interviewing: Preparing people for change*. second edition. New York, Guilford Press, 2002: ss 123-129.
7. Miller WR, Rollnick S. *Motivasyonel Görüşme Bağlam, Pratik, Uygulamalar*. Karadağ F, Ögel K, Tezcan AE. (Çev), Motivasyonel Görüşme. Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 2009: ss 40-104.
8. Erickson SJ, Gerstle M, Feldstein SW. Brief interventions and motivational interviewing with children, adolescents, and their parents in pediatric healthcare settings. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005; 159: 1173-1180.
9. Bisonó AM, Manuel JK, Forcehimes A.A. Promoting Treatment Adherence Through Motivational Interviewing. [https://www.corwin.com/sites/default/files/upm-binaries/11867\\_Chapter\\_5.pdf](https://www.corwin.com/sites/default/files/upm-binaries/11867_Chapter_5.pdf). Erişim Tarihi: 16 Haziran 2015
10. Sindelar HA, Abrantes AM, Hart C, et al. Motivational interviewing in pediatric practice. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2004; 34: 322-339.
11. Lambe B, Collins C. A qualitative study of lifestyle counselling in general practice in Ireland. *Fam. Pract*. 2010; 27:219-223.
12. Lundahl B, Kunz C, Brownell C, et al. A meta-analysis of motivational interviewing: Twenty-five years of empirical studies. *Res Soc Work Pract* 2010;20: 137-160.
13. Hettema J, Steele J, Miller WR. Motivational interviewing. *Annu Rev Clin Psychol*. 2005; 1:91-111.
14. Stephens R, Roffman R, Curtin L. Comparison of extended versus brief treatments for marijuana use. *JCCP* 2000; 68: 898-908.
15. Smith D, Heckemeyer C, Kratt P, et al. Motivational interviewing to improve

- adherence to a behavioral weight-control program for older obese women with NIDDM: A pilot study. *Diabetes Care* 1997; 20: 53-54.
16. Chen SM, Creedy D, Lin HS, et al. Effects of motivational interviewing intervention on self-management, psychological and glycemic outcomes in type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *IJN* 2012; 49: 637-644.
17. Burke BL, Arkowiz H, Mechola M. The efficacy of motivational interviewing: a meta-analysis of controlled clinical trial. *J Consult Clin Psych* 2003;71:843-61.
18. Soderlund LL, Madson MB, Rubak S, et al. A systematic review of motivational interviewing training for general health care practitioners. *Patient Educ. Couns.* 2011; 84:16-26.
19. Östlund AS, Wadensten B, Kristofferzon ML, et al. Motivational interviewing: experiences of primary care nurses trained in the method. *Nurse Educ Pract.* 2015;15(2):111-8.
20. Lask B. Motivating children and adolescents to improve adherence. *J Pediatr* 2003; 143: 430-433.
21. Conk Z, Başbakkal Z, Yardımcı F. Çocuk Sağlığına Genel Bakış. Conk Z, Başbakkal Z, Balyılmaz H, Bolşık B (Ed), *Pediatric Hemşireliği*. 1. Baskı, Akademisyen Tıp Kitabevi, Ankara, 2013.
22. Resnicow K, Davis R, Rollnick S. Motivational interviewing for pediatric obesity: conceptual issues and evidence review. *J Am Diet Assoc.* 2006; 106:2024-33.
23. Wong EMY, Cheng MMH. Effects of motivational interviewing to promote weight loss in obese children. *J Clin Nurs.* 2013; 22:2519-30.
24. Stanger C, Ryan SR, Delhey LM, et al. A multicomponent motivational intervention to improve adherence among adolescents with poorly controlled type 1 diabetes: a pilot study. *J Pediatr Psychol.* 2013; 38:629-637.
25. Halterman JS, Szilagyi PG, Fisher SG, et al. Randomized controlled trial to improve care for urban children with asthma: results of the school-based asthma therapy trial. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011; 165:262-8.
26. Willgerodt MA, Kieckhefer GM, Ward TM, et al. Feasibility of using actigraphy and motivational-based interviewing to improve sleep among school-age children and their parents. *J Sch Nurs* 2014; 30: 136-148.
27. Borrelli B, Tooley EM, Scott-Sheldon LA. Motivational interviewing for parent-child health interventions: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Dent.* 2015;37(3):254-65.
28. Saelens BE1, Lozano P, Scholz K. A randomized clinical trial comparing delivery of behavioral pediatric obesity treatment using standard and enhanced motivational

- approaches. *J Pediatr Psychol.* 2013;38(9):954-64.
29. Davoli AM, Broccoli S, Bonvicini L, et al. Pediatrician-led motivational interviewing to treat overweight children: an RCT. *Pediatrics* 2013;132:1236-1246.
30. Haines J, McDonald J, O'Brien A, et al. Healthy Habits, Happy Homes: randomized trial to improve household routines for obesity prevention among preschool-aged children. *JAMA Pediatr* 2013;167:1072-9.
31. Harutyunyan A, Movsisyan N, Petrosyan V, Petrosyan D, Stillman F. Reducing children's exposure to secondhand smoke at home: a randomized trial. *Pediatrics* 2013;132:1071-80.
32. Barkin SL, Gesell SB, Poe EK, Ip EH. Changing overweight Latino preadolescent body mass index: the effect of the parent-child dyad. *Clin Pediatr (Phila)* 2011;50:29-36.
33. Suarez M, Mullins S. Motivational interviewing and pediatric health behavior interventions. *J Dev Behav Pediatr.* 2008; 29:417-28.
34. Malas N, Rofey D, Kuchera AM, Pletcher J, Ortiz-Aguayo R, Douaihy A, Gold M. Motivational interviewing in paediatric residency. *Clin Teach.* 2017;14(1):20-26.
35. Gayes LA, Steele RG. A meta-analysis of motivational interviewing interventions for pediatric health behavior change. *J Consult Clin Psychol* 2014;82:521-35.
36. Naar-King S. Motivational interviewing in adolescent treatment. *Can J Psychiatry* 2011; 56: 651-657.
37. Jackman K. Motivational interviewing with adolescents: an advanced practice nursing intervention for psychiatric settings. *Journal of Child and Adolescent Psychiatric Nursing* 2012; 25: 4-8.
38. D'amico E, Miles JNV, Stern SA, et al. Brief motivational interviewing for teens at risk of substance use consequences: A randomized pilot study in primary care clinic. *J. Subst Abuse Treat* 2008; 35: 53-61.
39. Spirito A, Monti PM, Barnett NP, et al. A randomized clinical trial of a brief motivational intervention for alcohol-positive adolescents treated in an emergency department. *J Pediatr* 2004; 145: 396-402.
40. Colby SM, Monti PM, O'Leary TT, et al. Brief motivational intervention for adolescent smokers in medical settings. *Addict Behav* 2005; 30: 865-874.
41. Knight KM, Bundy C, Morris R, et al. The effects of group motivational interviewing and externalizing conversations for adolescents with Type-1 diabetes. *Psychology, Health & Medicine* 2003; 8: 150-157.
42. Walpole B, Dettmer E, Morrongiello B, et al. Motivational interviewing as an intervention to increase adolescent self-efficacy and promote weightloss: Methodology and

- design. BMC Public Health 2011; 11: 459-467.
43. Berg-Smith SM, Stevens VJ, Brown KM, et al. A brief motivational intervention to improve dietary adherence in adolescents. Health Educ Res Theory Pract 1999; 14: 399-410.
44. Chen X, Murphy DA, Naar-King S, Parsons JT. Adolescent medicine trials network for HIV/AIDS interventions a clinic-based motivational intervention improves condom use among subgroups of youth living with HIV. J Adolesc Health. 2011; 49:193-8.
45. Naar-King S, Outlaw AY, Saar M, et al. Motivational enhancement system for adherence (MESA): pilot randomized trial of a brief computer-delivered prevention intervention for youth initiating antiretroviral treatment. J Pediatr Psychol. 2013; 38:638-48.
46. Channon SJ, Huws-Thomas MV, Rollnick S, et al. A multi center randomized controlled trial of motivational interviewing in teenagers with diabetes. Diabetes Care 2007; 30: 1390-1395.
47. Riekert KA, Borrelli B, Bilderback A, et al. The development of a motivational interviewing intervention to promote medication adherence among inner-city, African-American adolescents with asthma. PEC 2011; 82: 117-122.
48. Erol S, Erdogan S. Application of a stage based motivational interviewing approach to adolescent smoking cessation: The Transtheoretical Model-based study. PEC 2008; 72: 42-48.
49. Yurt S. Fazla Kilolu Adölesanlara Uygulanan Motivasyon Görüşmelerinin Beslenme Tutumu, Davranışları ve Kilo Üzerine Etkisi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Hemşireliği AD, Doktora Tezi, İstanbul, 2008: 76-78.
50. Yıldız İ, Bayat M. Effect of motivational interviewing on asthmatic adolescents. SYLWAN Journal 2017;161(8):315-332.
51. Chahal N, Rush J, Manliot C, et al. Dyslipidemia management in overweight or obese adolescents: A mixed-methods clinical trial of motivational interviewing. SAGE Open Medicine 2017;5: 1-15.

## ***Erysipelothrix rhusiopathiae*'nin etken olduğu nadir bir osteomyelit olgusu**

Tuğba Ayhancı<sup>1</sup>, Hüseyin Agah Terzi<sup>2</sup>, Mehmet Köroğlu<sup>1</sup>, Alper Erkin<sup>3</sup>, Mustafa Altındış<sup>1</sup>

Öz	Yayın Bilgisi
<p><i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> doğada yaygın olarak bulunan hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob, gram pozitif basildir. İnsanlarda nadiren hastalık yapar ve genellikle meslek hastalığı ile ilişkili olarak lokalize deri enfeksiyonları şeklinde görülür. Ortopedik literatürde nadiren enfeksiyon etkeni olduğundan bahsedilse de son on yıldaki raporlar, <i>E. rhusiopathiae</i>'nin reaktif artrit, osteomyelit, prostetik enfeksiyon ve spondilit için bakteriyel etkenlerden biri olarak kabul edildiğini göstermektedir. Bu olgu sunumunda diyabet ve hipertansiyonu bulunan hastada <i>E. rhusiopathiae</i>'nin etken olduğu osteomyelit vakası sunulmaktadır. Tip 2 diyabet mellitus ve hipertansiyonu olan 65 yaşında kadın hasta üç ay öncesinde sağ ayak topuğu medial bölgesinde hatırlayamadığı şekilde ortaya çıkan ve iyileşmeyen yara nedeni ile yara bakım birimine yönlendirildi. Radyolojik olarak hastanın direkt grafisinde yaranın bulunduğu bölge altındaki kemik dokularında osteomyelit ile uyumlu görünüm izlendi. Debridman sonrası hastadan alınan kemik doku kültüründe 48 saat sonra üreyen bakterinin kütle spektrofotometresi (VITEK MS, bioMerieux, Fransa) ile identifikasyonu sonucunda <i>E. rhusiopathiae</i> olduğu saptandı. Bir ay süre ile intramüsküler yoldan 3X1500 mg/gün ampicilin-sulbaktam tedavisi sonrası hastada iyileşme görüldü.</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>, zoonoz, meslek hastalığı, yumuşak doku bozukluğu, osteomyelit</p>	<p>Gönderi Tarihi:13.06.2018</p> <p>Kabul Tarihi:25.09.2018</p> <p>Online Yayın Tarihi:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.433710</p> <p><b>Sorumlu Yazar</b></p> <p>Tuğba AYHANCI</p>

## **A rare case of osteomyelitis caused by *erysipelothrix rhusiopathiae***

Tuğba Ayhancı<sup>1</sup>, Hüseyin Agah Terzi<sup>2</sup>, Mehmet Köroğlu<sup>1</sup>, Alper Erkin<sup>3</sup>, Mustafa Altındış<sup>1</sup>

Abstract	Article Info
<p><i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> is a nonmotile, nonspore-forming, facultative anaerobic, gram positive rod commonly found in nature. It rarely causes disease in humans and usually occurs as localized skin infections associated with occupational disease. Although <i>E. rhusiopathiae</i> is mentioned as a rare infection agent in orthopedic literature, the reports of the last decade show that is considered to be one of the bacterial agent for reactive arthritis, osteomyelitis, prosthetic infection and spondylitis. In this case report, we present a case of osteomyelitis which is caused by <i>E. rhusiopathiae</i> in a patient with diabetes mellitus and hypertension. A 65-year-old woman with type 2 diabetes and hypertension was referred to the wound care unit with a wound that occurred with an unknown reason three months before. Radiologically, direct gross appearance of the patient showed osteomyelitis-compatible appearance in the bone tissues beneath the wound-compatible region. <i>E. rhusiopathiae</i> was identified as a result of mass spectrophotometry after 48 hours in the bone tissue culture taken from the patient after debridement. Patient recovered with the completion of the treatment ampicillin-sulbactam 1X500 mg / day intramuscularly.</p> <p><b>Keywords:</b> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>, zoonoses, occupational disease, soft tissue disorder, osteomyelitis</p>	<p>Received:13.06.2018</p> <p>Accepted:25.09.2018</p> <p>Online Published:31.12.2018</p> <p>DOI: 10.26453/otjhs.433710</p> <p><b>Corresponding Author</b></p> <p>Tuğba AYHANCI</p>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

<sup>3</sup> Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Sakarya

## **GİRİŞ**

*Erysipelothrix. rhusiopathiae*, eski adıyla *E. insidiosa* ilk defa Koch tarafından izole edilmiş olup; 0,2-0,4µm eninde ve 0,8-2,5µm uzunluğunda, hareketsiz, sporsuz gram pozitif basildir.<sup>1</sup> Ancak bu bakteri çok hızlı dekolorize

olabildiği için Gram negatif boyanabilmektedir.<sup>2</sup>

Bakteri, çeşitli biyokimyasal özelliklerinin yanı sıra; katalaz (-) ve H<sub>2</sub>S üreten tek Gram pozitif basil olması ile tanımlanmaktadır.<sup>3</sup>

İnsanlarda başlıca üç klinik şekilde hastalığa neden olur. Bunlar; erizipeloid olarak



isimlendirilen lokalize deri enfeksiyonu, yaygın deri enfeksiyonu ve genellikle endokardit ile seyreden bakteriyemi şeklindedir.<sup>4,5</sup> Ayrıca; beyin apsesi, menenjit, epidural apse, paravertebral apsesi, endoftalmi, pnömoni, osteomyelit, septik artrit, prostetik eklem enfeksiyonu, nekrotizan fasiit, karaciğer apsesi, intraabdominal abse ve peritonit gibi fokal enfeksiyonlar da nadir olarak bildirimi yapılmış enfeksiyonlardır.<sup>4,6-12</sup>

Bu olgu sunumunda *E.rhusiopathiae* suşunun etken olduğu bir osteomyelit vakası sunulmaktadır.

## OLGU

65 yaşında kadın hasta üç ay önce sağ ayak topuğunda hatırlayamadığı bir şekilde ortaya çıkan ve iyileşmeyen bir yara nedeniyle hastanemiz yara bakım birimine yönlendirildi. Muayenede sağ ayak topuk medialinde yaklaşık 3x2 cm, yüzeyi nekrotik görümlü yara olduğu gözlemlendi. Hasta obez ve bacaklar ödemli görünümde idi. Ayrıca hastanın özgeçmişinde Tip 2 Diabetes Mellitus ve hipertansiyon bulunmaktaydı. Laboratuvar testlerinde; Lökosit sayısı: 8,53K/ $\mu$ L (4,6- 10,2 K/ $\mu$ L) , Eritrosit sayısı: 3,87M/ $\mu$ L (4,04- 6,13M/ $\mu$ L), Hemogloblin: 10,2g/dL (12,2- 18,1g/dL), Hematokrit: 32,9% (37,7- 57,7%), C Reaktif Protein: 46,4mg/L (0-0,5mg/L), Glukoz: 131mg/dL (70-100 mg/dL), Üre:91mg/dL (17- 43mg/dL), Kreatinin: 1,36mg/dL (0,67- 1,17mg/dL), Albumin: 3,1g/dL (3,2-4,6g/dL), Sedimantasyon: 95mm/saat (<30mm/saat) bulundu. Radyolojik olarak hastanın direkt

grafisinde yaranın bulunduğu bölge altındaki kemik dokularda osteomyelit ile uyumlu görünüm izlendi. Hastaya cerrahi debridman planlandı. Hasta bir hafta süre ile sefalekssin 1X1gr/gün ve siprofloksasin 2X750mg/gün kullandı. Debridman sonrası hastadan alınan kemik doku örneği, bakteriyolojik açıdan değerlendirilmesi amacıyla işleme alındı. Kemik dokunun Gram boyamasında çok sayıda polimorfonükleer lökositler ve Gram pozitif basiller görüldü. Hastadan alınan doku; kanlı agar, çikolata agar ve eosin metilen mavisi (EMB) agara ekilerek, 35-37°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün yetersiz üreme nedeniyle inkübasyon süresi 24 saat uzatıldı. İki gün sonra kanlı agar plaklarında küçük, beyaz koloniler ürettiği gözlemlendi. İzole edilen bakterinin identifikasyonu VITEK® 2 ve kütle spektrofotometresi ile (VITEK MS, bioMerieux, Fransa) yapıldı ve izolat *E. rhusiopathiae* olarak tanımlandı.

Antibiyotik duyarlılık testi CLSI kriterlerine göre gerçekleştirildi. Test sonucunda bakterinin penisilin dirençli; imipenem, eritromisin, tetrasiklin, sefotaksim, siprofloksasin duyarlı olduğu bulundu. Bir ay süreyle intramüsküler yoldan 3X1500mg/gün ampisilin-sulbaktam tedavisi sonrası tamamen iyileşme görüldü. Hastanın daha sonraki kontrollerinin de normal sınırlarda olduğu saptandı.

## SONUÇ

*E.rhusiopathiae* doğada yaygın olarak bulunan hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob, gram

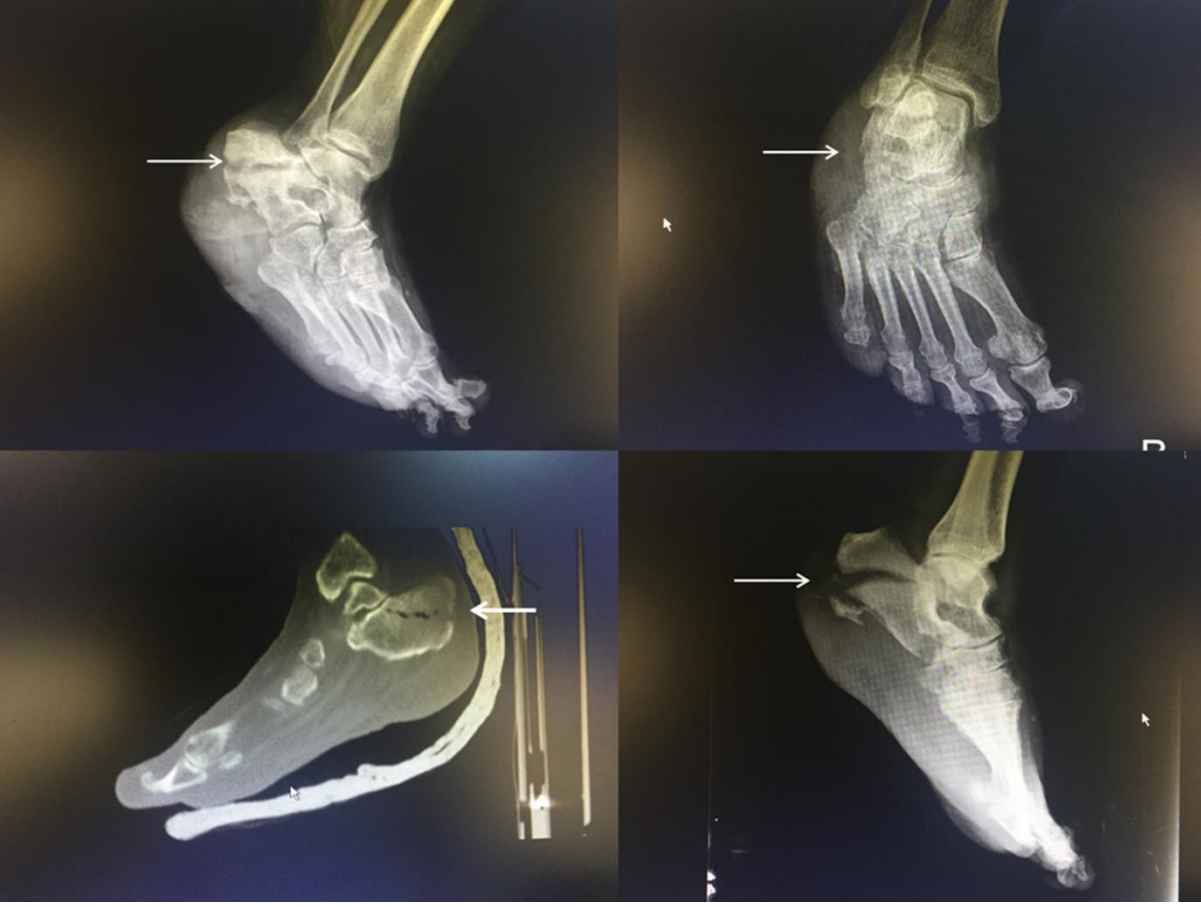
pozitif basildir. Domuz, balık ve kuş gibi birçok omurgalı hayvan bu bakterinin doğal rezervuarıdır. İnsanda nadiren hastalık yapar ve genellikle meslek hastalığı şeklinde veteriner, balıkçı, kasap ve çiftçilerde görülür.<sup>3,5,13</sup> Tan ve ark. çalışmalarında hayvan maruziyeti dışında immüsupresyon, diabetes mellitus ve böbrek hastalığının da risk faktörleri arasında olduğunu bildirmiştir.<sup>14</sup> Bizim olgumuzda etkenin meslek hastalığı ile ilişkili olmadığı anlaşılmalı beraber hastada bulunan diyabet mellitus tip 2 tanısı enfeksiyona yatkınlığı düşündürmektedir. İnsanlara bulaş genellikle hayvan ürünleriyle kontamine aletlerin cildi delmesiyle olur ve tipik olarak erizipeloid tarzda enfeksiyon ortaya çıkar. Ortopedik literatürde nadiren enfeksiyon etkeni olduğundan bahsedilmektedir.<sup>15</sup> Ancak literatürde osteomyelit vaka sayısı oldukça az olsa da son on yıldaki raporlar, *E.rhusiopathiae* reaktif artrit<sup>16</sup>, osteomyelit<sup>16</sup>, protektik enfeksiyon<sup>10</sup> ve spondilit<sup>6</sup> için bakteriyel etkenlerden biri olarak kabul edildiğini göstermektedir.<sup>17</sup> *E.rhusiopathiae* suşları penisilin, sefalosporin, eritromisin, klindamisine yüksek oranda duyarlılık gösterirler.<sup>18-20</sup> Bu sebeple penisilin, sefalosporinler, florokinolonlar ve linkozamidler *E.rhusiopathiae* enfeksiyonlarına karşı tedavide kullanılan temel antibiyotiklerdir.<sup>15</sup> Ancak birçok yayında bakterinin penisiline duyarlı olduğu bildirilmesine rağmen bizim vakamızda penisiline dirençli *e.rhusiopathiae* izole edilmesi dikkat çekicidir. Bakterinin kloromfenikol ve tetrasiklinlere duyarlılık oranlarının giderek

değiştiğini rapor eden yayınlar vardır.<sup>20</sup> Trimethoprim Sulfamethoxazol, sülfonamid, aminoglikozid, vankomisin, novobiyosin ve polimiksinler ise bakterinin doğal direnç gösterdiği antibiyotiklerdir.<sup>21</sup> Bu olguda hastaya ampirik olarak sefaleksim 1X1 gr/gün ve siprofloksasin 2X750 mg/gün tedavisi başlandı. Ancak bakteri kinolon ve sefalosporinlere in vitro duyarlı olsa da bu antibiyotiklerin in vivo etkinliği yeterli olmayabileceği için ampisilin sulbaktam ile revize edildi. Penisilinlere direnç büyük oranda bakteride bulunan beta-laktamaz enzim aktivitesi ile gerçekleşmektedir. Bu bilgi göz önüne alınarak tedavide bir beta-laktamaz inhibitörü olan sulbaktam ve ampisilin kombinasyonu bir ay süreyle intramüsküler yoldan 3X1500 mg/gün uygulanarak tedavide başarı sağlandı. Osteomyelit, reaktif artrit, protektik enfeksiyon ve spondilit gibi enfeksiyonlarda *e.rhusiopathiae*'nin da etken olabileceği akılda tutulmalı ve özellikle ampirik tedavi verirken bu bakteri de dikkate alınmalıdır. Ayrıca antibiyotik duyarlılık testi yapılmalı ve gerektiğinde tedavi buna göre revize edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Koch R, Cheyne WW. Investigations into the etiology of traumatic infective diseases. London: New Sydenham Society Publications; 1880.
2. MicrobeWiki. Erysipelothrix. <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Erysipelothrix> (Erişim: 01.06.2018)
3. Venditti M, Gelfusa V, Castelli F, Brandimarte C, Serra P. Erysipelothrix rhusiopathiae

- endocarditis Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990;1:50-2.
4. Grieco MH, Sheldon C. Erysipelothrix rhusiopathiae. Ann NY Acad Sci. 1970; 174: 523-532.
  5. Robson JM, McDougall R, van der Valk S, Waite SD, Sullivan JJ. Erysipelothrix rhusiopathiae: An uncommon but ever present zoonosis Pathology. 1998; 30: 391-4.
  6. Andrychowski J, Jasielski P, Netczuk T, Czernicki Z. Empyema in spinal canal in thoracic region, abscesses in paravertebral space, spondylitis: in clinical course of zoonosis Erysipelothrix rhusiopathiae. EurSpine J. 2012; 21: S557-563.
  7. Elvy J, Hanspal I, Simcock P. A case of Erysipelothrix rhusiopathiae causing bilateral endogenous endophthalmitis. J Clin Pathol. 2008; 61: 1223-1224.
  8. Feasi M, Bacigalupo L, Cappato S, Pontali E, Usiglio D, Rollandi GA, Filauro M, Mori M, Cassola G. Erysipelothrix rhusiopathiae intra-abdominal abscess. Int J Infect Dis. 2010; 14: e81-83.
  9. Hardman SC, Carr SJ, Swann RA. Peritoneal dialysis-related peritonitis with bacteraemia due to Erysipelothrix rhusiopathiae. Nephrol Dial Transplant. 2004; 19: 1340-1341.
  10. Hocqueloux L, Poisson DM, Sunder S, Guilbert S, Prazuck T. Septic arthritis caused by Erysipelothrix rhusiopathiae in a prosthetic kneejoint. J Clin Microbiol. 2010;48: 333-335.
  11. Jones N, Khoosal M. Erysipelothrix rhusiopathiae septicemia in a neonate. Clin Infect Dis. 1997; 24: 511.
  12. Kim SR, Kwon MJ, Lee JH, Lee NY. Chronic meningitis caused by Erysipelothrix rhusiopathiae. J Med Microbiol. 2007; 56: 1405-1406.
  13. Norman B, Kihlstrom E. Erysipelothrix rhusiopathiae septicemia. Scand J Infect Dis. 1985; 17: 123-4
  14. Tan EM, Marcelin JR, Adeel N, Lewis RJ, Enzler MJ, Tosh PK. Erysipelothrix rhusiopathiae bloodstream infection - A 22-year experience at Mayo Clinic, Minnesota. 2017; 64(7): e65-e72.
  15. K. Tolis, S. Spyridonos, S. Tsiplakou and E. Fandridis Tenosynovitis of a digit due to Erysipelothrix rhusiopathiae: case report and review of the literature New Microbes New Infect. 2015; 8: 128–130.
  16. Mukhopadhyay C, Shah H, Vandana KE, Munim F, Vijayan S. A child with Erysipelothrix arthritis beware of the little known. AsianPac J Trop Biomed. 2012; 2: 503–504.
  17. Romney M, Cheung S, Montessori V. Erysipelothrix rhusiopathiae endocarditis and presumed osteomyelitis Can J Infect Dis. 2001; 12(4): 254–256.
  18. Gorby GL, Peacock JE Jr. 1988. Erysipelothrix rhusiopathiae endocarditis: microbiologic, epidemiologic, and clinical features of an occupational disease. Rev. Infect. Dis. 10: 317-325.
  19. Heilman FR, Herrell WE. 1944. Penicillin in the treatment of experimental infections due to Erysipelothrix rhusiopathiae. Proc. Staff Meet. Mayo. Clin. 19: 340-345.
  20. Poretz DM. 1985. Erysipelothrix rhusiopathiae, p. 1185-1186. In G. L. Mandell, R. G. Douglas, Jr., and J. E. Bennett (ed.), Principles and practice of infectious diseases, 2nd ed. J. Wiley&Sons, Inc., New York.
  21. Reboli AC, Farrar WE. 1989 Erysipelothrix rhusiopathiae: An Occupational Pathogen. Clin Microbiol Rev. 1989; 2(4): 354–359.



**Şekil 1.** Sağ ayakta görülen osteomyelitin radyolojik direkt grafi görüntüleri