

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

Medical Journal of Süleyman Demirel University Faculty of Medicine

SDÜ Tıp Fak Derg / Med J SDU

Süleyman Demirel
Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dergisi

yılda dört sayı
(Mart, Haziran, Eylül,
Aralık) yayınlanan
'peer review' yöntemi
ile çalışan hakemli bir
dergidir,

Türkiye Atıf Dizini
(Turkiye Citation Index),
Pleksus-Türk Medline,
EBSCOHost,
DOAJ
tarafından
dizinlenmektedir.

Baskı/Press
SDÜ Basımevi İSPARTA

Sahibi / Owner

Süleyman Demirel Üniversitesi Adına
In the Name of Süleyman Demirel University
Prof.Dr. İlker Hüseyin ÇARIKÇI
Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörü
President of Süleyman Demirel University

Editör/Editor

Prof. Dr. Hüseyin YORGANCIGİL

Yardımcı Editör / Associate Editor

Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR

Yayın Yürütme Kurulu / Editorial Board

Prof. Dr. Murat Hüseyin YARIKTAŞ

Doç. Dr. Nurhan GÜMRAL

Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK

Başvuru Adresi /Application Address

Dilara PALA ÖZTÜRK(Grafik Tasarımcı)

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi Sekreterliği-SDÜ Tıp Fakültesi Dekanlığı /
32260 İSPARTA

Tel: 0 246 2371727 - 2113230 - Faks: 0 246 2371165 -
2370240

sdu.tip.dergi@gmail.com

<http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sdutfd>

Kapak - Dizgi / Cover - Design

Dilara PALA ÖZTÜRK

Danışma Kurulu / Advisory Board
(Abc sırası ile / In alphabetical order)

A. Cihangir UĞUZ	Isparta	Cem KOÇKAR	Isparta	Gonca SANDAL	Isparta
A. Sedat SOYUPEK	Isparta	Cemal ERONAT	İzmir	Gökhan BAYHAN	Isparta
Abdullah AKPINAR	Isparta	Cemal ÖZCAN	Malatya	Gökhan KESER	İzmir
Abdullah DOĞAN	Isparta	Cihangir EREM	Trabzon	Gül ERGÖR	İzmir
Achim SCHNEIDER	Berlin	Cüneyt AYRIK	Mersin	Gültekin YÜCEL	Antalya
Ahmet AKKAYA	Isparta	Çağatay Üstün	İzmir	H.Erol EROĞLU	Isparta
Ahmet ALTINBAŞ	Isparta	Dildar KONUKOĞLU	İstanbul	H.Serdar ÖZTÜRK	Ankara
Ahmet KOYU	Isparta	Dilek Ertay BAYDAR	Ankara	Hakan ALTUNTAŞ	Ankara
Ahmet KÜPELİ	Isparta	Dilek ÖZMEN	İzmir	Hakan ÇANKAYA	Van
Ahmet ÖCAL	Isparta	Dilek TOPRAK	Afyon	Hakan GÜLLÜ	Ankara
Ahmet ÖZTÜRK	Kayseri	Doğan ERDOĞAN	Isparta	Hakan KORKMAZ	Ankara
Ahmet Nesimi KİŞİOĞLU	Isparta	Duru GÜNDOĞAR	Isparta	Hakan TOPAÇOĞLU	İzmir
Ahmet Rifat ÖRMECİ	Isparta	Ecir Ali ÇAKMAK	Gaziantep	Hakkı GÖKBEL	Konya
Akif ARSLAN	Isparta	Ekrem ÇİÇEK	Isparta	Halil AŞCI	Isparta
Ali AYATA	Isparta	Eldad Ben-Chetrit	Jarusalem	Halil BURÇ	Isparta
Ali İhsan BOZKURT	Denizli	Elif PESTERELİ	Antalya	Halil İbrahim DURAK	İzmir
Alime GÜNEŞ	Isparta	Emre ÇULLU	Manisa	Hamit HANCI	Ankara
Alp USUBÜTÜN	Ankara	Emre YALÇINKAYA	Ankara	Hamit Hakan ARMAĞAN	Isparta
Alper ÖZORAK	Isparta	Emine Güçhan ALANOĞLU	Isparta	Handan KAYA	İstanbul
Altuğ ŞENOL	Isparta	Ercan BAŞ	Isparta	Haner DİRESKENELİ	İstanbul
Arif DEMİRBAŞ	Isparta	Ercan VAROL	Isparta	Hasan ÇETİN	Isparta
Ayça Esra KUYBULU	Isparta	Erkan ALPSOY	Antalya	Hasan TANTARİ	İzmir
Ayhan BİLİR	İstanbul	Erol TURAÇLI	Ankara	Hasan YASAN	Isparta
Aynur ÇİÇEKÇİBAŞI	Konya	Erol GÜRPINAR	Antalya	Hasan Rifat KOYUNCUOĞLU	Isparta
Aysel ARICIOĞLU	Ankara	Ersin USKUN	Isparta	Hatem ARI	Isparta
Aysel KÜKNER	Bolu	Ertan YILMAZ	Antalya	Hayriye SÖNMEZ	Ankara
Ayşe AKMAN	Antalya	Esin KULAÇ	Kocaeli	Hilmi KARATOSUN	Isparta
Ayşen ERDOĞAN	Isparta	Esra KUŞCU	Ankara	Hilmi Baha ORAL	Isparta
Ayşegül A. ŞAHİN	Houston	Esra Nur TOLA	Isparta	Huri ÖZDOĞAN	İstanbul
Aytekin OTO	Chicago	Evrin AKTEPE	Isparta	Hüseyin OFLAZ	İstanbul
Aytül ÇAKMAK	Kırıkkale	Evrin ERDEMOĞLU	Isparta	Hüseyin OKUTAN	Isparta
Bahattin TUNÇ	Isparta	Fahri TERCAN	Ankara	Hüseyin VURAL	Isparta
Bakiye UĞUR	Manisa	Fahri UÇAR	Trabzon	Hüseyin YORGANCIGİL	Isparta
Banu BİLEZİKÇİ	Ankara	Faruk AKGÜNLÜ	Konya	İbrahim BARUT	Isparta
Banu KALE KÖROĞLU	Isparta	Fatma AKTEPE	Afyon	İ. Metin ÇİRİŞ	Isparta
Barbaros BAYKAL	Isparta	Fehmi DÖNER	Bursa	İdris MEHMETOĞLU	Konya
Başar UĞURLU	İzmir	Fehmi MERCANOĞLU	İstanbul	İlhan GÖLBAŞI	Antalya
Behçet İlker BÜYÜKYAVUZ	Isparta	Feray GÜRSOY	Manisa	İlker GÜNYELİ	Isparta
Berent DIŞÇIGİL	Aydın	Figen SEYMEN	İstanbul	İlker Behçet YAVUZ	Isparta
Berit Gökçe CEYLAN	Isparta	Figen SÖYLEMEZOĞLU	Ankara	İlknur TANBOĞA	İstanbul
Beyhan DEMİRHAN	Ankara	Filiz ALKAYA SOLMAZ	Isparta	İnci Meltem ATAY	Isparta
Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN	Isparta	Füsün CAN	Ankara	İrfan DEĞİRMENCİ	Eskişehir
Bumin DEĞİRMENCİ	Isparta	Füsün EROĞLU	Isparta	İsa DÖNGEL	Isparta
Burhanettin IŞIKLI	Eskişehir	Füsün Zeynep AKÇAM	Isparta	İsmail Mete İTİL	İzmir
C.Yıldırım TÜRK	Kayseri	Gazanfer AKSAKOĞLU	İzmir	İsmail ORAN	İzmir
Cansun DEMİR	Adana	Gıyasettin BAYDAŞ	Elazığ	İsmet BAYRAMOĞLU	Ankara
Cem ÇETİN	Isparta	Giray AYNALI	Isparta		

Kadir ÇEVİKER	Isparta	Mustafa Çağrı SAVAŞ	Isparta	Sema BİRCAN	Isparta
Kağan ÜÇÖK	Afyon	Mustafa Kemal ADALI	Edirne	Serap ARBAK	İstanbul
Kamel HAMZAOUİ	Tunis	Mustafa Özgür PİRĞON	Isparta	Serap İNALÖZ	Gaziantep
Kemal KARAKURUMER	Ankara	Muzaffer ŞEKER	Konya	Serdar B.OMAY	Mardin
Kemal Kürşat BOZKURT	Isparta	Münire ÇAKIR	Isparta	Serpil DEMİRCİ	Isparta
Kenan ATEŞ	Ankara	Nadir ARICAN	İstanbul	Serpil SALAÇIN	İzmir
Kıymet BOZ	Mersin	Natalia ZARBAİLOV	Moldova	Serpil SAVAŞ	Isparta
Koray GENÇAY	İstanbul	Necati DEDEOĞLU	Antalya	Servet TATLI	Boston
Köksal YUCA	Van	Nermin KARAHAN	Isparta	Seyfettin ILGAZ	Ankara
Levent DUMAN	Isparta	Nesrin Gökben BECEREN	Isparta	Seyit Ali KÖSE	Isparta
Levent OĞUZKURT	Adana	Nevzat ATKAN	İstanbul	Seza A.GÜLEÇ	Miami
Levent TÖK	Isparta	Nilgün ŞENOL	Isparta	Siddık ÜLGEN	Konya
Leyla URUTÜRK	Ankara	Nilüfer CALAPOĞLU	Isparta	Sıla ÇETİN	Kocaeli
Lütfi YAVUZ	Isparta	Mehmet Numan TAMER	Isparta	Simay SERİN	Denizli
M.Okun ÖZKAYA	Isparta	Nur ÇAKAR	Ankara	Soner UZUN	Adana
Mahmut BÜLBÜL	Isparta	Nurettin HEYBELİ	Edirne	Süleyman KAPLAN	Samsun
Mecit SÜERDEM	Konya	Nurten ÖZÇELİK	Isparta	Süleyman KUTLUHAN	Isparta
Mehmet GÜNEY	Isparta	Nurullah AKKOÇ	İzmir	Süleyman Serhat GÜRPINAR	Isparta
Mehmet ÖZAYDIN	Isparta	Oğuz KÖKTÜRK	Ankara	Ş.Ercan TUNÇ	Isparta
Mehmet SOMTAŞ	Kayseri	Okan AKHAN	Ankara	Şahin ASLAN	Erzurum
Mehmet ŞAHİN	Isparta	Onur URAL	Konya	Şaziye ARAS	Ankara
Mehmet UMUL	Isparta	Orhan DEĞER	Trabzon	Şemsettin KARACA	Afyon
Mehmet ÜNLÜ	Konya	Osman ÇEKİÇ	İstanbul	Şeniz ERGİN	Denizli
Mehmet YILDIRIM	Isparta	Osman GÖKALP	Diyarbakır	Şeref DEMİRKAYA	Ankara
Mehmet Ali ÖZGÜVEN	Ankara	Osman SULAK	Isparta	Şevket Ercan TUNÇ	Isparta
Mehmet Şahin UĞUREL	Ankara	Ömer AKYOL	Ankara	Şirin BAŞPINAR	Isparta
Mekin SEZİK	Isparta	Ömer GÖKTEKİN	Eskişehir	Şükrü TÜZMEN	KKTC
Melda YARDIMOĞLU YILMAZ	Kocaeli	Ömer Rıdvan TARHAN	Isparta	Tahsin YAKUT	İzmir
Melih ELÇİN	Ankara	Ömer UĞUR	Ankara	Tamer KARAASLAN	Isparta
Meltem ÖNDER	Ankara	Önder ÖZTÜRK	Isparta	Taylan OKSAY	Isparta
Meral ÖNCÜ	Isparta	Önder TOMRUK	Isparta	Tekin Ahmet SEREL	Isparta
Meral SAKIZLI	İzmir	Özgür İSMAİLOĞLU	Isparta	Tezer ULUSU	Ankara
Metin ERKILIÇ	Antalya	Özlem TÖK	Isparta	Tolga ATAY	Isparta
Mevlüt AŞAR	Antalya	Pakize KIRDEMİR	Isparta	Tolga Taha SÖNMEZ	Isparta
Muammer ALTOK	Isparta	Peruze ÇELENK	Samsun	Tuğrul SEZER	Isparta
Muhammed Asım Khan	Ohio	Pınar FIRAT	Ankara	Turgut ORTAK	Isparta
Murat Hüseyin YARIKTAŞ	Isparta	Pınar TUNCEL	İzmir	Turhan YAVUZ	Isparta
Murat ACAR	Afyon	Pınar Yüksel BAŞAK	Isparta	Tülin ERGİN	İstanbul
Murat KOÇER	Isparta	Ramazan BAL	Elazığ	Ufuk KATKICI	Manisa
Murat ÖZSAN	Ankara	Ramazan ÖZCANKAYA	Isparta	Vahide BAYSAL AKKAYA	Isparta
Murat TOPBAŞ	Trabzon	Rasih YAZKAN	Isparta	Vecihi KIRDEMİR	Isparta
Mustafa AKÇAM	Isparta	Reha DEMİREL	Afyon	Volkan ADSAY	Atlanta
Mustafa DEMİRER	Isparta	Reyhan UÇKU	İzmir	Yakup Barbaros BAYKAL	Isparta
Mustafa EMRE	Adana	Rıza DOĞAN	Ankara	Yalçın KİMYA	Bursa
Mustafa NAZIROĞLU	Isparta	Russel J.Reiter	Texas	Yonca SÖNMEZ	Isparta
Mustafa PARILDAR	İzmir	S.Murat ASLAN	Isparta	Yeşim AYTÜR	Ankara
Mustafa SARGON	Ankara	Saim ÖZDAMAR	Kayseri	Yusuf YAVUZ	Newyork
Mustafa SÜNBÜL	Samsun	Salih İNAL	Isparta	Yusuf YÜRÜMEZ	Afyon
Mustafa TÜZ	Isparta	Sedat AKAR	Erzurum	Zafer SABUNCUOĞLU	Isparta
Mustafa YILDIZ	Isparta	Selim ÖZKÖK	Manisa	Zeynep Dilek AYDIN	Isparta
Mustafa Asım AYDIN	Isparta	Selman Hakkı ALTUNTAŞ	Isparta	Zühal KIRZIOĞLU	Isparta

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Yayın Kuralları

1. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin bilimsel yayın organıdır.

2. Yılda 4 sayı olarak yayınlanan dergi, sadece online makale başvurusu kabul eder. Online değerlendirme sistemine (<http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sdutfd/>) adresinden ulaşılabilir.

3. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisinde yayınlanabilecek yazılar; Klinik ve Deneysel Araştırmalar: Kliniklerde yapılan çalışmalar öncelikli olarak yayınlanır. Bunun yanı sıra her türlü deneysel araştırmalar yayınlanır.

Makalede, Türkçe başlık, öz ve anahtar kelimeler, İngilizce başlık, öz (abstract) ve anahtar kelimeler (keywords) bulunmalı. İngilizce ve Türkçe özet yapılandırılmış öz (Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular Sonuç ve Tartışma / Objective, Materials and Methods, Results, Conclusion) olarak düzenlenmeli ve en fazla 300 kelime olmalıdır. Giriş (amacı içerecek şekilde), Gereç (veya hastalar) ve Yöntem, Bulgular, Tartışma Sonuç(lar), Kaynaklar düzeninde olmalıdır. Takiben tablolar, şekil yazıları ve şekiller eklenmelidir. Yazının tamamı eğer İngilizce ise düzen : Title, Abstract, Introduction, Material(s) (veya Patients) and Method(s), Results, Discussion, Conclusion ve References şeklinde olmalıdır. Takiben tablolar, şekil yazıları ve şekiller eklenmelidir. Araştırma yazılarının 5000 kelimeyi geçmemesi önerilmektedir.

Derlemeler : Dünya ve Türk tıp çevrelerinin gündeminde olan konularda yeterli sayıda yerli ve yabancı bilimsel çalışmayı tarayarak hazırlanmış, mümkünse yazarların deneyimlerini de içeren 5000 kelimeyi aşmayacak şekilde hazırlanmış derleme makaleler,

Olgu Sunumları: 1500 kelimeyi geçmeyecek şekilde, yeterli sayıda fotoğraf ve şemalarla desteklenmiş, öğretici özelliği olan olguların sunumlarıdır, Olgu sunumlarında; Türkçe başlık, Türkçe öz, Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce başlık, İngilizce öz, İngilizce anahtar kelimeler, Giriş, Olgu Sunumu, Tartışma ve Kaynaklar yer almalıdır. Olgu sunumlarının 1500 kelimeyi geçmemesi önerilir.

Editöre Mektuplar: Daha önce dergimizde yayınlanan yazılara eleştiri getirmek ya da katkı sağlamak amacıyla okuyucuların değişik görüş, tecrübe ve sorularını içeren yazılardır. Kısa-öz, en fazla 500 kelime olmalı, öz içermemeli ve kaynak sayısı en fazla 10 ile sınırlı olmalıdır.

Bilimsel özetler: Uluslararası tıp literatüründe yayınlanmış önde gelen bilimsel çalışmaların 100-150 kelimelik özetleri, Yeni yayınlanan kitapları ve bilimsel çalışmaları özet olarak tanıtan, kritik eden makaleler ilgili kurulların onayından geçirdikten sonra yayınlanır.

4. Derginin resmi yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir. Türkçe yazılarda Türk Dil Kurumunun Türkçe Sözlüğü ve Yazım Kılavuzu temel alınmalıdır (<http://tdk.org.tr>). Yazılarda konuşulan Türkçe kullanılmalı, Türkçe'de karşılığı olmayan yabancı kelimelerden mümkün olduğu kadar kaçınılmalıdır. Ancak bütün tıp mensuplarının bildiği yabancı kelimeler (Nomina Terminologica) kullanılabilir.

5. Anatomik terimlerin Latinceleri kullanılmalıdır. Günlük tıp diline yerleşmiş terimler ise okudukları gibi Türkçe yazım kurallarına uygun olarak yazılmalıdır. İngilizce veya başka bir yabancı dildeki şekli ile yazılan terimler tırnak içinde belirtilmelidir.

6. Yayın metni "Times New Roman" karakterinde 10 punto, çift satır aralığında ve Word dosyası olarak hazırlanmış olmalıdır. Sayfanın her iki kenarında 2 cm boşluk bırakılmalıdır. Sayfalara başlık sayfasından başlayarak sırayla numara verilmelidir. Numaralar sayfanın sağ alt köşesinde yer almalıdır. Yazının gönderildiği ana metin dosyasının içinde yazar isimleri ve kurumlara ait bilgi yer almamalıdır. Yazar isimleri ve kurumlara ait bilgiler başka bir dosyada ek dosya olarak yüklenmelidir.

7. Yazının başlık sayfasında, yazının Türkçe ve İngilizce başlığı ve sayfa üstünde kullanılmak üzere boşluklar da dahil 40 karakteri aşmayacak şekilde Türkçe ve İngilizce kısa başlık önerisi bulunmalı. Ayrıca yazarların açık ad, soyadları akademik ünvanları ile birlikte yazılmalıdır. Çalışmaların yapıldığı klinik, anabilim dalı/bilim dalı, enstitü ve kuruluşun adı belirtilmelidir. Başlık sayfasında yazışmaların yapılacağı kişinin adı, yazışma adresi, elektronik posta adresi, telefon ve faks numaraları yer almalıdır. Çalışma, daha önce bir kongre ya da sempozyumda bildiri olarak sunulmuş ise yer ve tarih belirtilerek bu sayfada yer almalıdır.

8. Makalede kullanılan kısaltmalar uluslararası kabul edilen şekilde olmalı, ilk kullanıldıkları yerde açık olarak yazılmalı ve parantez içinde kısaltılmış şekli gösterilmelidir. Tüm metin boyunca kısaltılmış şekil kullanılmalıdır. Uluslararası kullanılan kısaltmalar için "Bilimsel Bir Makale Nasıl Yazılır ve Yayınlanır (<http://journals.tubitak.gov.tr/kitap/maknasyaz/>)" kaynağına başvurulabilir.

9. Yayınlanması amacıyla gönderilen yazılar Uluslararası Tıp Dergi Editörleri Komitesi (ICMJE) tarafından oluşturulan ve güncellenen, Biyomedikal Dergilere Gönderilen Makalelerde Bulunması Gereken Standartlara (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals Editors) uygun olarak hazırlanmış olmalıdır (<http://www.ulakbim.gov.tr/cabim/vt/uvt/tip/>).

10. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Helsinki Bildirgesi etik standartlarına (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>) uymayı prensip olarak kabul eder. Bu nedenle insanlar üzerinde yapılan tüm çalışmalarda, yazının Gereç ve Yöntem kısmında etik kurul onayı alındığı belirtilmelidir. Çalışmanın yapıldığı hasta veya gönüllüler bilgilendirilerek yazılı onayları alınmalı ve makalenin Gereç ve Yöntem kısmında yazılmalıdır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, yazının Gereç ve Yöntem kısmında çalışmanın Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu (www.nap.edu/catalog/5140.html) prensipleri doğrultusunda yapıldığı ve ilgili kurumdan etik kurul onayı alındığı belirtilmelidir. Gerek görülürse editör tarafından etik kurul onayının bir örneği yazarlardan istenebilir.

11. Editör yayın koşullarına uymayan yazıları; düzeltmek üzere yazarına geri gönderme, biçimce düzenleme veya reddetme yetkisine sahiptir. Yazılarını geri çekmek isteyen yazarlar bunu yazılı olarak editöre bildirmek durumundadır. Editör görülen lüzum halinde bazı makaleler hakkında yayın yürütme kurulunun görüşüne başvurur.

12. Gönderilen yazılar, editör ve yardımcı editörler ile en az iki danışman (hakem) tarafından incelenir. Editör ve yardımcı editörler gerek gördüğünde makaleyi üçüncü bir danışmana gönderebilir. Danışman belirleme yetkisi tamamen editör ve yardımcı editörlere aittir. Danışmanlar belirlenirken derginin

uluslararası yayın danışma kurulundan isimler seçilebileceği gibi yazının konusuna göre ihtiyaç duyulduğunda yurt içinden veya yurt dışından bağımsız danışmanlar da belirlenebilir. Yazıların kabulüne editör karar verir.

13. Yazıların geliş tarihleri ve kabul ediliş tarihleri makalenin yayımlandığı sayıda belirtilir.

Yazıların sorumluluğu yazarlara aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmemektedir.

14. Online değerlendirme sisteminde yer alan, yazının daha önce bir dergide yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere gönderilmemiş olduğunu ve gönderilen yazıya tüm yazarların onay verdiğini bildiren Yayın Hakkı Devir Formu makaledeki isim sırasına uygun biçimde yazarlarca imzalanmalıdır. Bu form makalenin kaydı sırasında online değerlendirme sistemine ek dosya olarak yüklenebilir, scanner ile taranarak e-posta yolu ile (sdu.tip.dergi@gmail.com) adresine veya 0246 237 11 65 numaraya faks aracılığıyla da gönderilebilir. Formda ayrıca tüm yazarların makale ile ilgili bilimsel katkı ve sorumlulukları yer almalı, çalışma ile ilgili herhangi bir mali ya da diğer çıkar çatışması alanı varsa bildirilmelidir.

15. Teknik yardım, yazma ve düzeltme yardımı, veri toplama, analiz vs. gibi konularda yazılara katkısı olan; ancak yazarlık kriterlerini tam karşılamayan kişilerin tümü kaynaklardan önce yer alan teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Söz konusu yazıda çalışmaya yapılan tüm mali katkılar ve varsa sponsoru da belirtilmelidir. Sponsorun desteği sadece finansal destek boyutunda ise "teşekkür" kısmında belirtilmelidir. Sponsor kurum, yöntem, istatistik değerlendirme veya makale yazımında yer almışsa, bu katkı "gereç ve yöntem" bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar ya da çalışma sonuçları ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması yoksa bu durum da bildirilmelidir.

16. Editöre mektup dışındaki tüm yazı türlerinde Türkçe ve İngilizce öz yer almalıdır. Öz bölümünde kısaltmalardan mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Kaynak, şekil, tablo ve atıf yer almamalıdır.

17. Anahtar kelimeler Türkiye Bilim Terimleri arasından seçilmeli ve Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH)'e uygun olacak şekilde en az üç en fazla beş adet olmalıdır. Anahtar kelimeler için www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html ve <http://www.bilimterimleri.com> adreslerine başvurulmalıdır.

Tablolar, Şekil, Grafik ve Resimler

Tablolar, şekil, grafik ve resimler metin içinde atıfta bulunulan sıraya göre arabik rakamlar ile numaralandırılmalıdır. Tek olduklarında "Tablo" veya "Şekil" ifadesi yeterlidir, numara vermeye gerek yoktur. Tablolar, şekil, grafik ve resimlerin metin içindeki yerleri belirtilmelidir.

Her tablo ayrı bir sayfaya çift aralıklı şekilde hazırlanmış olmalıdır. Her bir tabloya kısa bir başlık verilmelidir. Açıklamalar başlıkta değil, dipnotlarda yapılmalıdır. Dipnotlarda standart olmayan tüm kısaltmalar açıklanmalıdır. Dipnotlar için semboller sırasıyla şu şekilde kullanılmalıdır: (*, **, ***, ...). Metin içinde her tabloya atıfta bulunulduğuna emin olunmalıdır.

Şekiller ve grafikler profesyonel olarak çizilmeli veya fotoğraflanmalı, fotoğraflar dijital baskı kalitesinde olmalıdır. Şekiller ve grafiklerin JPEG formatında yüksek çözünürlükte (300 piksel) görüntü oluşturacak biçimlerde elektronik dosyaları kaydedilmeli ve kaydedilmeden önce bu dosyaların görüntü kaliteleri bilgisayar ekranında kontrol edilmelidir.

Röntgen, BT, MRG filmleri ve diğer tıbbi görüntülemeler ve patolojik örneklerin fotoğrafları JPEG formatında, yüksek çözünürlükte görüntü oluşturacak elektronik dosya şeklinde

kaydedilebilir. Resimlerin üzerindeki harfler, sayılar ve semboller açık ve tüm makalede eşit, yayın için küçültüldüklerinde bile okunabilecek boyutlarda olmalıdır. Resimler mümkün olduğunca tek başlarına anlaşılabilir olmalı, fotoğrafların siyah-beyaz olarak basılacağı unutulmamalıdır. Eğer hasta(lar)ın fotoğrafı kullanılacaksa, ya hasta(lar) fotoğraftan tanınmamalı ya da hasta(lar) veya yasal olarak hasta(lar)dan sorumlu yakınından yazılı izin alınmalıdır.

Ayrı bir sayfadan başlayarak şekiller, grafikler ve resimler için alt yazılar ve dipnotlar çift aralıklı olarak ve numaralar ile hangi şekle karşı geldikleri belirtilerek yazılmalıdır. Semboller, oklar, sayılar ya da harfler şeklin parçalarını belirtmek için kullanıldığında, şeklin altında her biri açıkça tanımlanmalıdır. Makale yazarları; eğer makalede daha önce yayınlanmış; alıntı yazı, tablo, şekil, grafik, resim vb. varsa, yayın hakkı sahibi ve yazarlardan yazılı izin almak ve bunu belirtmek durumundadır.

Kaynakların Yazımı

Kaynaklar yazımında Vancouver style sistemi kullanılmaktadır. Kaynaklar metinde geçiş sırasına göre ve çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Peş peşe ikiden fazla kaynak kullanımında sadece ilk ve son kaynak numaraları belirtilmelidir, (2-6) gibi. Dergi isimleri Index Medicus ve Ulakbim/Türk Tıp Dizinine göre kısaltılmalıdır. Index Medicus ve Ulakbim/Türk Tıp Dizini'nde yer almayan dergi isimleri kısaltılmadan yazılır. Kaynaklardaki yazar sayısı 6 veya daha az ise hepsi yazılmalı, 7 veya daha çok ise 6. isimden sonrası "ve ark.", "et al." olarak kısaltılmalıdır. Dergi için: Yazarların Soyadı Adı. Yazının başlığı. Dergi ismi baskı yılı; cilt (sayı): ilk ve son sayfa numaraları şeklinde yazılmalıdır. Dergilerin isimleri kısaltılacaksa Index Medicus'ta geçtiği gibi kısaltılmalıdır. Örneklerdeki noktalama işaretlerinin kullanımına titizlikle uyulmalıdır.

Örnekler;

Dergi için

Neville K, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. Chest 1994;1(4):45-8

Kitap için

Mygind N. Nasal Allergy. Oxford, Blackwell Scientific 1979;257-70

Kitaptan Bir Bölüm İçin

Collins P. Embryology and development, Neonatal anatomy and growth. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. Gray's Anatomy (38th Ed) London, Churchill Livingstone, 1995; 91-342.

Burada açıklanmayan diğer hususlar için "Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals" (Vancouver style) Ann Intern Med 1997;126:36-47 başlıklı yazı incelenmelidir.

İletişim adresi:

S.D.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi

Yayın Kurulu Sekreterliği

32246 - ISPARTA

Tel : +90(246) 2113230

Faks : +90(246) 2371165

E-mail : sdu.tip.dergi@gmail.com

Web : <http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sdufd>

1. Süleyman Demirel University Medical Journal is the scientific journal of Süleyman Demirel University.
2. The journal is published four times per year. Manuscripts must only be submitted electronically through the following website:
(<http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sduftfd/>)
3. Possible manuscripts for SDU Medical Journal;
Clinical and Experimental Studies: Clinical studies are primarily published. In addition to this, every kind of experimental study is published.
Manuscripts should include both Turkish and English titles, abstracts and keywords.
Turkish abstracts must be organized as objective, materials and methods, results, conclusion in 300 words.
Manuscript format is; Introduction (should state the purpose), Material(s) (or patients) and Method(s), Results, Discussion, Conclusion and References followed by tables, figures and graphics. When the manuscript is in English the format is structured as follows: Title, Abstract, Introduction(should state the purpose), Material(s) (or patients) and Method(s), Results, Discussion, Conclusion ve References followed by figures and graphics. Research articles should not exceed 5000 words.
Review articles : Review articles are attempt to sum up the current state of the research on recent issues of medical communities in Turkey and in the world. Review articles should not exceed 5000 words but include the writers' own experiences if possible.
Case Reports: These are informative reports in 1500 words supported by sufficient images and tables. In case reports; both Turkish and English title, abstract, keywords; Introduction, Case Report, Discussion and References should all be included.
Letters to the Editor: Letters to the editor are critical or supporting comments, experiences or queries of readers on the articles previously published in our journal. A letter should not exceed 500 words or include abstract, also references are limited to 10.
Literature Reviews: Literature articles are summary of leading scientific studies published in international medical literature in 100-150 words. Introducing or criticising the recently published books and scientific studies, reviews are posted after approved by concerned authorities.
4. The language of the journal is Turkish and English. Manuscripts in Turkish should be based on the official Turkish Dictionary and the Turkish Writing Guide of Turkish Language Association (<http://tdk.org.tr>). Spoken Turkish should be used and loan words should be avoided. However, terminology of medical community (Nomina Terminologica) can be used.
5. Anatomical terms should be used in Latin. Daily used medical terms should be written according to the rules of Turkish writing guide. Terms written in English or another language form should be stated in quotation marks.
6. Manuscripts should be in Times New Roman font 10 pt, double-spaced on standart-sized paper with 2 margins on both sides and submitted as Word document. Including the title page, pages should be numbered in order. Numbers should be flush right. Names of the authors and information about associations should not be stated within the main file of the manuscript. This information should be sent as an attachment in a seperate file.
7. The title page should contain Turkish and English titles of the manuscript and shortened version of Turkish and English titles which cannot exceed 40 characters including spacing and punctuation. Moreover, author's first name, middle initial(s) and last name should be given with the academic title. The name of the clinic, department and institute of the study should be stated. The title page should contain the concerned person's name, address, email address, phone and fax numbers. If the study has already been presented in a congress or a symposium, this information should also be given on the same page with exact date and place of the presentation.
8. Internaitonally accepted abbreviations should be used and when abbreviating the term, the full term should be used the first time, followed immediately by the abbreviation in parantheses. Throughout the article the abbreviation should be used. For internaitonal abbreviation (<http://journals.tubitak.gov.tr/kitap/maknasyaz/>) "How to Write and Publish a Scientific Paper" can be referred.
9. Manuscripts to be published should be in accordance with Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals Editors which is developed and updated by Interantional Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) (<http://www.ulakbim.gov.tr/cabim/vt/uvt/tip/>).
10. Süleyman Demirel University Medical Journal accepts the ethical principles of the Declaration of Helsinki (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>). For that reason, in the Materials and Methods part of the manuscript it should be stated that every medical research on human is approved by the ethical committee. Patients or the volunteers of the study should be informed and it should be stated in Materials and Methods part with their written approvals. For the medical research on animals, it should be included in the Materials and Methods part that the research has been made in accordance with the principles of Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (www.nap.edu/catalog/5140.html). Editor might ask for a sample copy of ethical committee approval when necessary.
11. Editor reserves the right to edit, reject or return the manuscript that does not meet the criteria for additional changes. When the authors want to withdraw their manuscript, they need to notify this written to the editor. When necessary, editor might refer to the executive board for their opinion on some of the manuscripts.
12. All manuscripts are examined by the editor and associate editors with at least two reviewers. Editor and associate editors might send the manuscript to a third reviewer if necessary. Editor and the associate editors are the authority to determine the reviewers. While determining the reviewers, names can be selected from the journal's international publishing committee; or depending on the topic of the manuscript, an independent reviewer within the country or abroad can be determined. Editor will decide on the acceptance of the manuscripts.
13. Submission date and approval date of the manuscripts are indicated on the volume that the article is published. Authors are responsible for the manuscripts. Authors are not paid any copyright.
14. Papers should be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere and are not currently un

der consideration by another journal. Also, Copyright Transfer Agreement form should be approved by all the other coauthors according to the order of their names in the paper. This form can be uploaded as an attachment file with the submission of the manuscript, can be scanned and sent to (sdu.tip.dergi@gmail.com) as an email or can be sent as a fax to 0246 237 11 65. Form should include all the coauthors' scientific contributions and responsibilities for the paper, or any conflict of interest or financial conflict.

15. Any other names who has contributed to the paper with technical, writing and editing assistance; without meeting the criteria for authorship, should be stated in the acknowledgements section just before the references section. Any financial support and sponsorship should be indicated. When the funding source support is only financial it should be indicated in the acknowledgements section; however, when there is any support of funding source with method, statistics and assessment, this should be stated in "materials and methods" section. If there is no conflict of interest, it should also be stated.

16. All kinds of manuscripts, except from letters to the editor, should include Turkish and English abstracts. Abbreviations, reference, figures, tables and attribution should not be used in the abstract.

17. Keywords must be selected from the Turkish Scientific Terms and be at least three and not more than five appropriate to the MeSH. For the keywords use the link www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html and <http://www.bilimterimleri.com>

Tables, Figures, Graphs and Images

Tables, figures, graphs and images should be numbered with arabic number according to their order in the paper.

Each chart should be placed double spaced on a separate page with short headings. Information should be given as footnote, not within the heading. The full term of all the nonstandard abbreviations should be given in the footnote. Symbols for the footnotes are in order: (*, **, ***) and authors need to be sure that each chart is cited in the text.

Tables and graphs should be illustrated or photographed professionally, photographs must have digital print quality. tables and graphs must be saved as electronic files in JPEG format at high resolution (300 pixels) and the quality of these files need to be checked on the computer before the submission. X-ray, CT, MRI and other diagnostic images and the photos of pathological samples should be in JPEG format at high resolution. Letters, numbers and symbols on the images should be clear and identical throughout the article and be legible even downsized for publishing. Images should be as clear as possible and it should be noted that the images will be printed black and white. For the usage of patients' photographs, either the patients should be unrecognisable or written permission should be taken from the patients or the person who is legally responsible for the patient.

Captions and footnotes for the figures, graphs and images should be double spaced and numbered on a separate paper by corresponding the illustrations. When symbols, arrows, numbers or letters are used to identify the parts of the image, each one should be clearly defined below the figure.

If the article includes previously published quotations, tables, figures, graphs, images, etc.; the authors are required to get and state written permission from the copyright holders and authors.

References

Vancouver style font should be preferred for the references section. All references must be double spaced and written consecutively. While using more than one consecutive references, only the first and the last numbers should be stated, such as; (2-6). Names of the journals must be abbreviated according to Index Medicus and Ulakbim/Turkish Medical Index. The full names of the journals should be written if they are not included in Index Medicus and Ulakbim/Turkish Medical Index. All the authors, when there are 6 or fewer, should be listed, when there are 7 or more, after the 6th name "et al" should be added. For the journal: Last names and first names of the authors. Title of the article. Name of the journal, year of publication; volume (number): the first and the last page numbers should be stated in order. Abbreviation must be used according to Index Medicus. The use of punctuation marks in the following samples should be noted carefully.

Sample references:

Journals:

Neville K, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. *Chest* 1994;1(4):45-8

Books:

Mygind N. Nasal Allergy. Oxford, Blackwell Scientific 1979;257-70

Section from a book:

Collins P. Embryology and development, Neonatal anatomy and growth. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. *Gray's Anatomy* (38th Ed) London, Churchill Livingstone, 1995; 91-342.

For further information the article "Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals" (Vancouver style) *Ann Intern Med* 1997;126:36-47 can be analyzed.

Application Address:

Süleyman Demirel Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanlığı

S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi Sekreterliği

32260 - ISPARTA-TÜRKİYE

Tel : +90(246) 2113230

Fax : +90(246) 2371165

E-mail : sdu.tip.dergi@gmail.com

Web : <http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/sduftd>

İçindekiler

Araştırma Makaleleri

Silybum marianum bitkisinin in vitro ortamda karaciğer kanseri hücre hatları üzerine etkisi

Dilek Bayram, Alpaslan Gökçimen, Meral Öncü, İbrahim Aydın Candan, Meltem Özgöçmen.....87

2.45 GHz radyo frekansı radyasyonunun rat testisinde oluşturduğu değişiklikler ve bu değişikliklere vitamin E ve vitamin C' nin koruyucu etkisi

Cemil Bilkay, Gülnur Özgüner, Ahmet Dursun, Selçuk Çömlekçi, Kemal Deniz, Sıraç Erten.....97

Meme kanseri hücre hatları üzerine ökse otu ekstraktlarının apoptotik etkisinin araştırılması

Esin Sakallı Çetin, Nurten Özçelik, Serap Çelikler Kasımoğulları, Engin Ulukaya.....104

Isparta il merkezinde görev yapan toplum lideri bazı meslek gruplarının sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi

Habibe Özçelik, Yonca Sönmez.....115

KOAH alevlenme tanısıyla yatırılan hastaların ekonomik yükü ve maliyete etki eden faktörler

Sami Deniz, Jülide Çeldir Emre, Ayşegül Baysak, Özer Özdemir.....126

Olgu Sunumları

Akut miyokard infarktüsü hasta ve Leriche sendromu

Filiz Alkaya Solmaz, Pınar Karabacak, Mustafa Etili, Lütfi Yavuz, Hüseyin Okutan.....131

Yanakta dev keloid olgusu

Salim Yüce, Kerem Polat, Emine Elif Altuntaş, Suphi Müderris, Ebuzer Bekar.....135

Konka bulloza kaynaklı fungus topu (miçetoma)

Murat Şahan, Hamdi Sözen, Serhan Derin, Mehmet Deveer, Özgür İlhan Çelik.....140

Derlemeler

Migren patogeneğinde oksidatif strese duyarlı TRP kanallarının rolleri

Ahmi Öz, Abdülhadi Cihangir Uğuz.....144

Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte neden olduğu hasarda oksidatif stresin rolü

İlkay Armağan.....151

Contents

Clinical Investigations

Effect of silybum marianum plant on liver cancer cell lines: an in vitro study

Dilek Bayram, Alpaslan Gökçimen, Meral Öncü, İbrahim Aydın Candan, Meltem Özgöçmen.....87

2.45 GHz radio frequency radiation exposure induced changes on rat testes and protective effects of vitamins E and C

Cemil Bilkay, Gülnur Özgüner, Ahmet Dursun, Selçuk Çömlekçi, Kemal Deniz, Sıraç Erten.....97

Investigation of the apoptotic effect of mistletoe extracts on the breast carcinoma cell lines

Esin Sakallı Çetin, Nurten Özçelik, Serap Çelikler Kasımoğulları, Engin Ulukaya.....104

Evaluation of healthy lifestyle behaviours of community leader some professional groups in Isparta city center

Habibe Özçelik, Yonca Sönmez.....115

The economic burden of patients hospitalized with COPD exacerbation and the factors affecting costs.

Sami Deniz, Jülide Çeldir Emre, Ayşegül Baysak, Özer Özdemir.....126

Case Reports

Patient with acute myocardial infarction and Leriche syndrome

Filiz Alkaya Solmaz, Pınar Karabacak, Mustafa Etili, Lütfi Yavuz, Hüseyin Okutan.....131

A case of huge keloid at the cheek

Salim Yüce, Kerem Polat, Emine Elif Altuntaş, Suphi Müderris, Ebuzer Bekar.....135

Fungal Ball (mycetoma) arise from concha bullosa: A rare Case.

Murat Şahan, Hamdi Sözen, Serhan Derin, Mehmet Deveer, Özgür İlhan Çelik.....140

Review

Role of oxidative stress sensitive TRP channels in pathogenesis of migraine

Ahmi Öz, Abdülhadi Cihangir Uğuz.....144

The role of oxidative stress in methotrexate-induced damage in liver and kidney of rats

İlkay Armağan.....151

Silybum marianum bitkisinin in vitro ortamda karaciğer kanseri hücre hatları üzerine etkisi

Effect of silybum marianum plant on liver cancer cell lines: an in vitro study

* Dilek Bayram
** Alpaslan Gökçimen
* Meral Öncü
* İbrahim Aydın Candan
* Meltem Özgöçmen
* Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Histoloji ve
Embriyoloji AD Isparta
** Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Histoloji ve
Embriyoloji AD Aydın

Öz

Amaç: Hepatosellüler Karsinom (HSK) karaciğerin en sık (%75) rastlanan primer tümördür. HSK'nin etkin bir tedavisi yoktur. HSK'da radyoterapi ve kemoterapi tedavisi ile genellikle başarılı sonuçlar alınamamaktadır. Hep3B, hepatit B virüsü pozitif ve p53 geni mutasyona uğramış hepatosellüler karsinoma hücre soyudur. Silibin devedikeni (Silybum marianum) bitkisinden elde edilen bir ekstraktır. Yapılan çalışmalarda silibinin akciğer tümörü büyümesini baskıladığı, meme, kolon, mesane kanseri hücre hatlarında hücre siklusunu durdurduğu ve apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir. Çalışmamızda silibinin Hep3B hücre soyu üzerine etkisini hem monolayer hem de sferoid kültür ortamında incelemeyi amaçladık. **Gereç Yöntem:** Çalışmamızda silibinin Hep3B hücre soyu üzerine etkisini hem monolayer hem de sferoid kültür ortamında incelemek amacıyla 100 µM/ml doz silibin hücrelere uygulandı. Silibin (100 µM/ml) uygulandıktan sonra 24, 48 ve 72 saat süreler sonunda BrdU işaretleme indeksi ve aktif kaspaz-3 tayinine immünohistokimyasal yöntemle bakıldı. **Bulgular:** Sonuç olarak silibinin hem monolayer hem de sferoid kültürde BrdU ile işaretlenen hücrelerin sayısını azalttığı, kaspaz-3 ile boyanan hücrelerin sayısını ise arttırdığı görüldü. Buradan da anlaşılacağı üzere silibin Hep3B hepatosellüler karsinoma hücre soyunda hücre proliferasyonunu inhibe edici ve apoptozisi tetikleyici etki göstermiştir. Üç boyutlu sferoid model vücuttaki tümör yapısını daha iyi yansıttığı için elde ettiğimiz sonuçların hepatosellüler karsinoma tedavisine ışık tutacağı kanısındayız.

Anahtar Sözcükler: Hep3B hücre soyu, apoptozis, silibin

Abstract

Aim: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most seen primer tumor in liver (75%). There isn't exact cure for HCC. No successful results can be obtained with the treatment of chemotherapy, radiotherapy in liver cancer. Hep3B cell line is hepatit B virus positive and p53 gene-mutated hepatocarcinoma cell line. Silibinin is extracted from milk thistle (Silybum marianum). Previous studies showed extracts of plant suppressed lung tumor growth, interrupted cell cycle and promoted apoptosis on breast, colon and bladder cancer cell lines. In our study we aimed to investigate the effect of silibinin on Hep3B cell line in monolayer and spherid culture. **Material Method:** In this study the effect of silibinin on Hep3B cell line in both monolayer and spheroid in the culture medium to examine the 100 microM/ml dose silibinin was applied. After Silibinin (100 microM/ml) applying 24, 48 and 72 hour periods of time marking the end of BrdU labelling index and the determination of active caspase-3 were measured by immunohistochemistry. **Results:** In conclusion, silibinin reduced the number of cells marked with BrdU, increase the number of cells stained with caspase-3 in both monolayer culture and spheroid culture. Silibin Hep3B hepatocellular carcinoma cell line inhibiting cell proliferation and trigger apoptosis in effect. Three-dimensional tumor spheroids in the body structure of the model to better reflect the results we obtained shed light on the treatment of hepatocellular carcinoma think.

Keyword: Hep3B cell line, apoptosis, silibinin

Yazışma Adresi:
Yrd. Doç. Dr. Dilek Bayram
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji
A.D. Isparta
Tel: 0 246 2113244
Fax: 0246 237 1165
e-mail: dilekbayram@sdu.edu.tr

28-31 Mayıs 2013 tarihinde 21. Ulusal Elektron Mikroskopi kongresi (Uluslararası katılımlı) (Mersin) poster sunumu olarak değerlendirilmiştir.

Giriş

Etyolojisi birden çok faktöre bağlı olan Hepatosellüler karsinomunun (HSK) tedavisinde birçok güçlüç mevcuttur. Erken dönemdeki HSK'nın tipik özelliği sessiz olması ve yavaş büyüyecek ilerleyinceye kadar çok az belirti vermesidir (1). HSK için bazı risk faktörleri mevcuttur: Siroz, HSK'lı olguların büyük çoğunluğunda (%75-95'inde) risk faktörüdür. Hepatit B enfeksiyonu siroza neden olarak dünyadaki en önemli HSK sebebidir. Hepatosellüler karsinom karaciğerin en sık (%75) rastlanan birincil tümörüdür. Dünyada kansere bağlı ölümlerin yarısından sorumlu olan HSK teşhisi konan hastalarda uygulanabilecek tedavi seçenekleri oldukça kısıtlıdır. HSK tedavisinde kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarının sınırlı düzeyde yapılması sebebiyle insanlar alternatif yöntemlere başvurmaktadır. Alternatif yöntemlerin arasında da bitkisel tedavi yöntemleri ilk sırada gelmektedir.

Silybum marianum (meryem ana dikenli, dedekeni), Asteraceae familyasından bazı dikenli bitkilerin ortak adıdır. Meyveleri yaklaşık olarak 2000 yıldır karaciğer hastalıklarında kullanılmasına karşın, bitki ile ilgili ilk araştırmalar 1958 yılında başlamıştır (2, 3). Silimarin deve dikenli bitkisinin tohumlarında bulunan farmakolojik olarak aktif, silibin (silibinin), izosilibin, silikristin, silidianin, taksifolin ve dehidrosilibinin gibi flavonolignanlardan meydana gelmektedir. Silimarinin biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen temel bileşeni silibindir (4).

Silibin uygulama alanları karaciğer ve sindirim sisteminin yanı sıra diğer organ sistemlerini de kapsamaktadır. Silibin, adenokarsinomayı içeren çeşitli prostat hastalıklarının tedavisinde, böbrek hastalıklarında, akciğer hastalıklarının tedavisinde, şekerin dengelenmesinde ve pankreas hastalıklarının tedavisinde de umut verici olarak görülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda bitkiden elde edilen ekstraktın akciğer tümörü büyümesini baskıladığı, meme, kolon, mesane kanseri hücre hatlarında hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir (5-9). Yine silibinin HEPG2 hepatosellüler karsinoma hücre hatlarında anti genotoksik etki gösterdiği bildirmiştir (10).

Apoptozis, kaspaz (caspase, cysteine-containing aspartate specific proteases) adı verilen proteazlar tarafından kontrol edilmektedir. Bunların doğrudan

veya dolaylı yollardan apoptozisin hem biyokimyasal hem de yapısal değişikliklerinden sorumlu olduğu ortaya çıkarılmıştır (11). Memelilerde en az 12 kaspaz vardır. Bunlar; başlatıcı (-8,-9,-10) ve sonlandırıcı (efektör) (-3,-4,-5) kaspazlar olmak üzere ikiye ayrılır (12). Silibin, doza bağlı olarak T-24 ve TCC-SUP (mesane kanseri hücre hatları) hücrelerinde DNA'da kırıklar meydana getirerek kaspaz-3'ün aktivasyonuna neden olur (13). Ancak, silibinin hepatosellüler karsinoma hücre hattı üzerinde hem iki boyutlu hem de üç boyutlu (multisellüler tümör sferoid model) kültür ortamında apoptotik etkisi olduğuna dair az bilgi mevcuttur (14,15).

Çalışmamızda Hep3B [hepatit B virüsü (HBV) pozitif ve p53 geni mutasyona uğramış HSK hücre soyu] hücre soyu üzerine Silybum marianum (dedekeni) bitkisinin ekstraktı olan silibinin apoptotik etkisini hem iki boyutlu hem de üç boyutlu (in vivo uyumlu ve in vivo mikroçevre özelliklerini sağlayan en iyi in vitro model olarak kullanılan multisellüler sferoidler) kültür ortamında incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürü

Çalışmamız in vitro koşullarda yapılmış deneysel bir çalışma olup, deneyler Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında araştırma laboratuvarı ve hücre kültürü laboratuvar imkanları kullanılarak gerçekleştirildi.

Araştırmada Amerikan Hücre Kültür Koleksiyonu (ATCC) hücre bankasından sağlanan Hep3B (CRL no: HB-8064) hepatosellüler karsinoma hücre soyu kullanıldı. Hep3B hepatosellüler karsinoma hücreleri için besi ortamı, inaktive edilmiş %10 FCS (Fetal Calf Serum), 100 IU/ml penisilin/streptomisin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(Biological Industries) medyumunu kullanıldı. Hücreler bu besi ortamını içeren 25 cm² ve 75 cm²'lik flaklarda, iç ortamı %5 CO₂, %95 hava karışımı ve nem içeren ve 37°C olan inkübatör (Heal Force) içinde tutularak ve haftada 3 kez rutin pasaj yapılarak üretildi.

Deney planı

Dedekeni bitkisinin ekstraktı olan silibinin, 1; 10; 50; 100; 200 µM konsantrasyonlarda olacak şekilde steril DMSO içerisinde hazırlanmış taze çözeltileri 100'er

μ l'lik eşit hacimlerde hücrelere verildi. Her bir doz için 3'er kuyucuğa ekim yapıldı. Tüm gruplar için 24., 48. ve 72. saatler için ekildi ve 37°C'de %5 CO2 hava karışımında rutubetli ortamda inkübe edildi. Her bir sürenin bitiminde hücreler santrifüj tekniğiyle toplanarak %0,1'lik tripan mavisi boyasıyla, hücre solüsyonu 1/1 oranında hazırlandı ve sayma kamarasında sayıldı ve hücre sayıları kaydedildi. Böylece silibinin ID50 (inhibisyon dozu) saptandı. Daha sonra kontrol grubu ve silibin grubu (ID50 inhibisyon dozu belirlenen) olmak üzere iki grup oluşturuldu. Hem iki boyutlu hem de üç boyutlu kültürde Brdu işaretleme indeksi ve aktif kaspaz-3 immünohistokimyasal boyama yapıldı. Ayrıca sferoid modelde sferoidlerin yapısal özelliklerini değerlendirmek için hematoksilen eozin boyama yapıldı.

İki Boyutlu Kültürlerde Bromodeoksiüridin (BrdU) ile İmmünohistokimyasal İşaretleme

24 kuyucuklu kültür kaplarına lamelli ekim yapıldı. Silibinin doz belirleme deneyinde hesaplanan 100 μ M/ml dozu kullanıldı. 24, 48 ve 72. saatlerin sonunda hücreler 1 saat BrdU ile 37°C'de inkübe edildi. Üst medyum çekilip atıldıktan sonra PBS'te 37°C etüvde 15 dk bekletildi. PBS çekilip atıldıktan sonra %70 etanolde 4°C'de 30 dk bekletilerek hücreler tespit edildi. İmmünohistokimya için lameller PBS'te 10 dk bekletildikten sonra metanolde hazırlanmış %0,5 H2O2'de 10 dk tutulup 3 kez 2'şer dk distile su ile yıkandı. Daha sonra BrdU Staining Kit Streptavidin-Biotin System adı verilen BrdU boyama kiti (Invitrogen Co. CA) kullanılarak boyama yapıldı. Bunun için kitin içerisinde bulunan denatürasyon solüsyonunda 30 dk bekletilip PBS ile 3 kez 2 dk yıkandı. 10 dk blocking solüsyonunun ardından 1 saat primer antikorda, (Biyotinli Mouse Anti-BrdU monoclonal) nemli ortamda oda ısısında tutuldu. 3 kez PBS ile 2'şer dk yıkandıktan sonra streptavidin peroksidazda 10 dk tutuldu. PBS ile yıkamanın ardından substrat-kromojende (DAB) 5 dk karanlıkta bekletildi ve distile su ile yıkandı. Mayer Hematoksilen ile zemin boyası yapıldıktan sonra kesitler çeşme suyunda 20 dk morarmaya bırakıldı. Kapatıcı (Ultramount) ile kapatıldı. Işık mikroskopunda sayım yapılarak işaretlenme oranları belirlendi.

İki Boyutlu Kültürlerde Kaspaz-3 ile İmmünohistokimyasal Boyama

24 kuyucuklu kültür kaplarına yuvarlak lameller konularak kuyucuk başına 100.000 hücre lamel üzerine ekildi. Silibinin yine doz belirleme deneyinde hesaplanan 100 μ M/ml dozu kullanıldı. 24, 48 ve 72. saatlerin sonunda üst medyum çekilip atıldıktan sonra PBS'te 37°C etüvde 15 dk bekletildi. PBS çekilip atıldıktan sonra %70 etanolde 4°C'de 30 dk bekletilerek hücreler tespit edildi.

İmmünohistokimya için lameller PBS'te 10 dk bekletildikten sonra metanolde hazırlanmış %0,5 H2O2'de 10 dk tutularak 3 kez 5 dk distile su ile yıkandı. Daha sonra 30 dk 4 N HCl'de bekletilip PBS ile 3 kez 5 dk yıkandı. 20 dk Ultra-V-block'un ardından 1 saat primer antikorda (aktif kaspaz-3) (Invitrogen Co. CA), nemli ortamda oda ısısında tutuldu. 3 kez PBS ile 5'er dakika yıkandıktan sonra sekonder antikorda (Biotinylated Goat Anti-Mouse) 20 dk, tekrar yıkamadan sonra streptavidin peroksidazda yine 20 dk tutuldu. PBS ile yıkamanın ardından substrat-kromojende (DAB) 5 dk karanlıkta bekletildi ve distile su ile yıkandı. Mayer Hematoksilen ile zemin boyası yapıldıktan sonra kesitler çeşme suyunda 20 dk morarmaya bırakıldı. Kapatıcı (Ultramount) ile kapatıldı. Işık mikroskopunda sayım yapılarak işaretlenme oranları belirlendi.

Üç Boyutlu Sferoid Modelde Hücre Kültürü DeneYleri

Tek tabakalı kültürde büyütülen hücrelerin kemoterapiye karşı oluşturdukları yanıt ile klinik gözlemler arasında birçok farklılık olduğu, tek tabakalı kültürde çok etkili bulunan ve belirgin antitümoral etkinliği saptanan bir ilacın ya da ilaç kombinasyonlarının klinikte bu derece etkili olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle üç boyutlu hücre kültürlerinin (sferoid) in vivo katı tümörlerin özelliklerini tam olarak yansıttığı düşünülmektedir. Hep3B çok hücreli tümör sferoidleri üretimi için sıvı üst tabaka yöntemi kullanıldı (16).

Sıcak su içerisinde eritilmiş %3 agar solüsyonu (60°C) ve medyum (40°C) karışımı 1/4 oranında hazırlandı ve kuyucuklara (6'lı kültür kapları kullanıldı.) bu karışımdan 1 ml konarak tüm yüzeyinin kaplanması sağlandı. Agarın donması için kültür kapları 10 dk buzdolabında 4°C'de bekletildi. Agarın donmasını takiben üzerine 5 ml DMEM eklendi ve her bir kuyucuğa 1×10^6 hücre ekildi.

Her bir grup için 3 kuyucuğa ekim yapıldı. Hücreler, %5 CO₂, %95 nem içeren ve 37 °C olan inkübatör ortamında tutularak sferoid oluşturmaları için 4-7 gün beklendi. Süre sonunda büyüklüğü 100-400 mikrona ulaşan sferoidlere tek tabakalı kültür sonuçlarında elde edilen istatistiki olarak anlamlı bulunan en yüksek dozları yani 100µM/ml silibin ve kontrol grubu için 100µM/ml DMSO verildi ve 37 °C, %5 CO₂ ve 1 atmosfer basıçta inkübe edildi.

Üç Boyutlu Kültürde Bromodeoksiüridin (BrdU) ile İmmünohistokimyasal İşaretleme

Bitki ekstraktı verildikten 24, 48 ve 72 saatler sonrasında 1 saat BrdU ile 37 °C'de inkübe edildi. Sferoidler santrifüj tüplerine dikkatlice alındı. Üst medyumu pastör pipeti ile yavaşça çekilip atıldı. Sferoidler fikse edilerek ışık mikroskopik takibine alındı. Bloklama yapıldıktan sonra 3-4µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerden parafin uzaklaştırıldı (62°C etüvde 30 dk; Ksilol: 30 dk x 2; %100 etanol: 5dk x 2; %96 etanol 5 dk x 2; %90 etanol 5 dk x 2; %70 etanol 5 dk x 2; saf su). Metanolde hazırlanmış %0,5 H₂O₂'de 10 dk karanlıkta bekletildi. PBS ile 3 kez 2 dk yıkandı. Tripsinde 10 dk 37°C etüvde bekletildikten sonra 3 kez 2 dk PBS'te bekletildi. 30 dk denaturasyon solüsyonu ve 10 dk blocking solüsyonun ardından yıkama yapmadan 1 saat primer antikorda (Biyotinli Mouse Anti-BrdU monoclonal) nemli ortamda oda ısısında tutuldu. 3 kez PBS ile 2'şer dk yıkandıktan sonra streptavidin peroksidazda 10 dk tutuldu. PBS ile yıkamanın ardından substrat-kromojende (DAB kromojen) 5 dk karanlıkta bekletildi ve distile su ile yıkandı. Mayer Hematoksilin ile zemin boyası yapıldıktan sonra kesitler çeşme suyunda 20 dk morarmaya bırakıldı. Kapatıcı (Ultramount) ile kapatıldı. Işık mikroskopunda sayılarak BrdU-ışaretleme indeksi (BrdU-LI) değerleri saptandı.

Üç Boyutlu Kültürlerde Kaspaz-3 ile İmmünohistokimyasal İşaretleme

Kaspaz 3 aktivite tayini için silibin verildikten 24, 48 ve 72 saatler sonrasında sferoidler santrifüj tüplerine dikkatlice alındı. Üst medyumu pastör pipeti ile yavaşça çekilip atıldı. Bu aşamadan sonra BrdU-ışaretleme indeksi ile aynı takip yöntemi uygulandı. Kesitlerden parafin uzaklaştırıldı (62°C etüvde 30 dk; Ksilol: 30 dk x 2; %100 etanol: 5dk x 2; %96 etanol 5 dk x 2; %90

etanol 5 dk x 2; %70 etanol 5 dk x 2; saf su). Metanolde hazırlanmış %0.5 H₂O₂'de 10 dk karanlıkta bekletildi. PBS ile 3 kez 2 dk yıkandı. Tripsinde 10 dk 37°C etüvde bekletildikten sonra 3 kez 2 dk PBS'te bekletildi. Daha sonra Rabbit ABC Staining System kullanıldı. Bunun için 1 saat blocking solüsyonda bekletildi ve yıkama yapmadan 1 gece primer antikorda (Rabbit active Caspase 3 antibody) nemli ortamda 4°C'de tutuldu. PBS ile 3 kez yıkandıktan sonra biyotinli sekonder antikorda 30 dk, PBS ile yıkamadan sonra avidin ve biyotinli HRP içeren AB enzim solüsyonunda 30 dk, tekrar yıkamanın ardından peroksidaz substratta (substrat buffer + DAB kromojen + peroksidaz substrat içeren solüsyon) 10 dk bekletildi ve distile su ile yıkandıktan sonra Mayer hematoksilin ile zemin boyası yapıldı ve çeşme suyuna alındı. Çeşme suyunda morartılan kesitler ultramount kapatıcı ile kapatıldı. Işık mikroskopunda değerlendirildi.

Hematoksilen – Eozin (Erich) Boyama

Parafini giderilmiş kesitler alkol serilerinden geçirilerek suya alındı. Bu amaçla kesitler 62°C etüvde 30 dk bekletilip 30 dk ksilolde tutulduktan sonra %96, %90, %80, %70 alkollerde 10 dk bekletildi ve distile suya alındı. Hematoksilin solüsyonunda 3 dk boyandı. Çeşme suyunda çalkalandı. Boyanın fazlası asit alkolde (%80 alkol 1 ml HCL) çok çabuk differansiye edildi. Kesitler tekrar çeşme suyunda çalkalandı ve morarınca kadar suda bırakıldı (En az 15 dk). Kesitler kontrollü olarak 2 dk eozinde tutuldu. Distile sudan geçirildi. Hızlı bir şekilde, alkol serilerinden geçirilerek ksilole alındı ve entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 17.0 paket istatistik programı ile yapıldı. Elde edilen veriler üzerinde çok yönlü istatistik değerlendirmeler yapılmıştır. Ölçüm değerleri homojen dağılım göstermediği için non-parametrik testlerle çalışıldı. Gruplar arası farkın anlamlılığını değerlendirmede Kruskal-Wallis Varyans analiz testi kullanıldı. Sürekli değişken değerlerden oluşan iki bağımsız grup arasında farklılığın olup olmadığı ise Mann-Whitney U Testi ile belirlendi. Anlamlılık sınırı p<0.05 olarak kabul edildi.

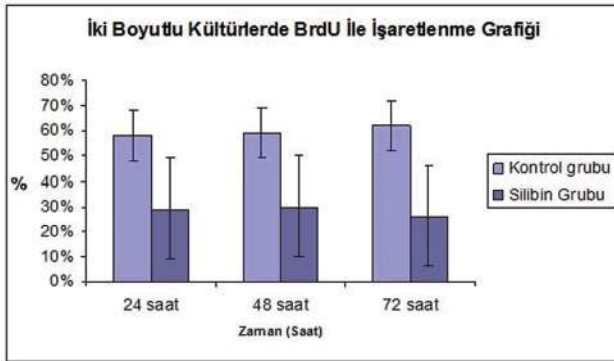
Bulgular

Doz Belirleme Deneyi Bulguları

24, 48 ve 72. saatlerin sonunda kuyucuklarda bulunan hücreler % 0,5 tripsin ile ayrı ayrı toplanıp santrifüj edildi. Süpernatant kısımları atıldıktan sonra 1 ml medyum ile süspansiyon haline getirilip sayma kamerasıyla (hemasitometri) sayıldı. Toplam hücre sayıları kaydedilerek silibin için ID50 (inhibisyon dozu %50) dozu 100 μ M olarak saptandı.

İki boyutlu Kültürlerde BrdU İşaretlenme Değerleri

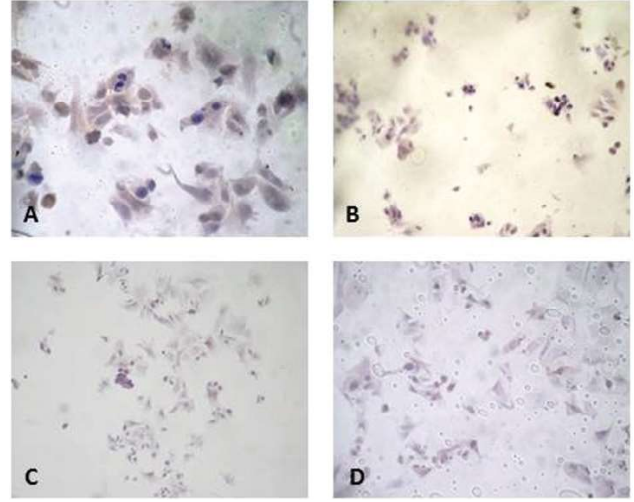
24 kuyucuklu platelere ekimini (lammelli grup) yaptığımız iki boyutlu kültürde kontrol grubu incelendiğinde çok sayıda sentez fazında hücre BrdU ile işaretlendi. 100 μ M/ml silibin uyguladığımız grupta ise kontrol grubuna kıyasla BrdU işaretleme indeksi tüm saatlerde anlamlı bir azalma göstermiştir ($p < 0.05$) (Şekil 1, 2).



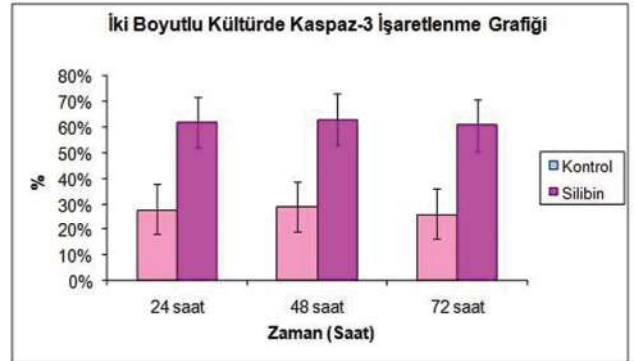
Şekil 1: İki Boyutlu Kültürlerde BrdU İle İşaretlenme Grafiği

İki boyutlu Kültürlerde Kaspaz-3 ile İşaretlenme Değerleri

24 kuyucuklu platelere ekimini (lammelli grup) yaptığımız iki boyutlu kültürde kontrol grubu incelendiğinde apoptotik hücreler çok az olduğu için kaspaz-3 ile çok az hücre işaretlendi. 100 μ M silibin uyguladığımız grupta ise tüm saatlerde kontrol grubuna kıyasla oldukça fazla miktarda ($p < 0.05$) kaspaz-3 ile işaretlenen hücre görüldü (Şekil 3,4).



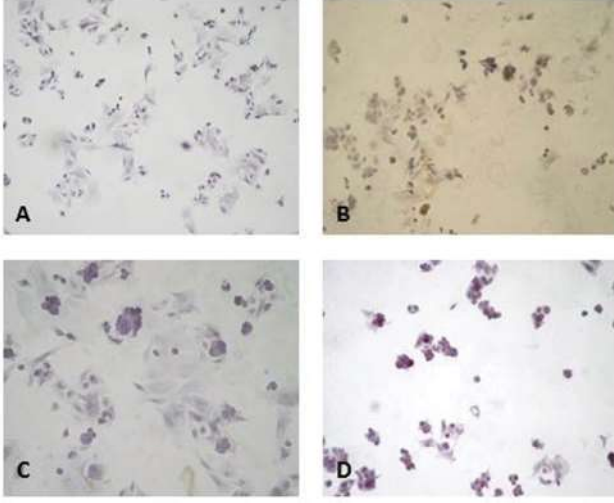
Şekil 2: Monolayer kültürde BrdU ile immünohistokimyasal boyama. Kontrol grubu. BrdU ile yoğun boyanma gözlemlendi (A). Silibin grubunda tüm saatlerde zayıf boyanma görüldü. (B-24 saat, C-48 saat, D-72 saat).



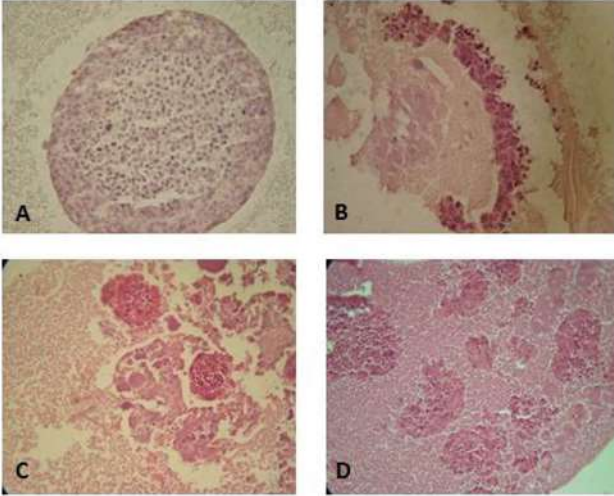
Şekil 3: İki Boyutlu Kültürde Kaspaz-3 ile İşaretlenme Grafiği

Üç Boyutlu Sferoid Kültürlerde Hematoksilen Eozin Boyası ile Sferoid Morfolojisi Değerlendirmeleri

Kontrol grubu sferoidlerinin ışık mikroskopik incelemesinde sferoid yapıları oldukça düzgün görünümde izlendi. Silibin verilen gruplarda ise düzgün görümlü sferoidlerin yanında sınırları bozulmuş, dağınık sferoid yapılarına rastlandı. Ayrıca bazı sferoid yapılarında dejenerasyon görüldü (Şekil 5).



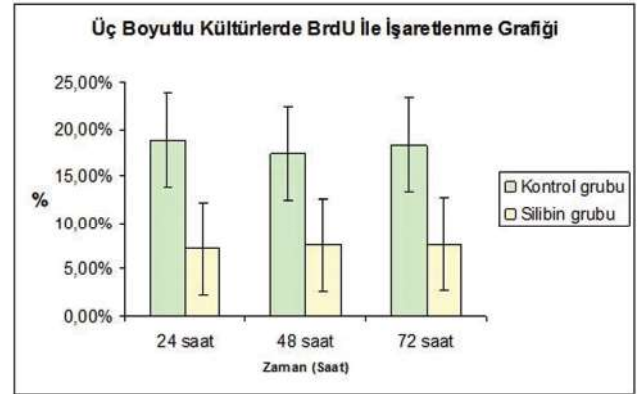
Şekil 4: Monolayer kültürde Kaspaz-3 ile immünohistokimyasal boyama. Kontrol grubu. Kaspaz-3 ile zayıf boyanma gözlemlendi (A). Silibin grubunda tüm saatlerde kontrol grubuna göre daha yoğun boyanma görüldü. (B-24 saat, C-48 saat, D-72 saat).



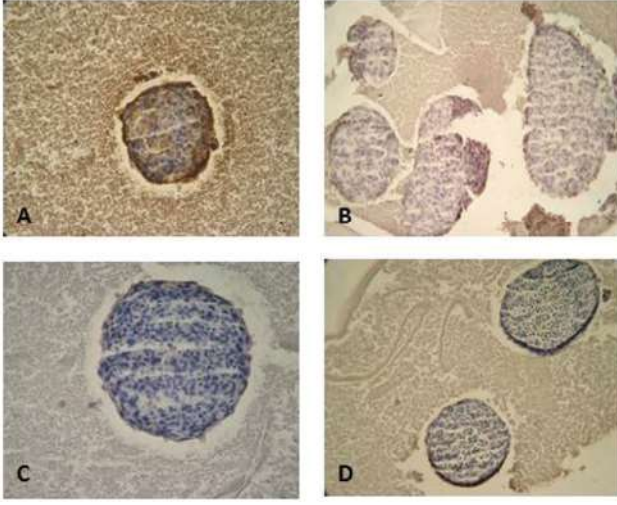
Şekil 5: Sferoid model kültürde H-E boyama. Kontrol grubu. Düzgün sferoid yapısı görüldü (A). Silibin verilen grupta sferoidlerde dejenerasyon ve dağılıma gözlemlendi (B-24 saat, C-48 saat, D-72 saat)(H-E).

Üç Boyutlu Sferoid Kültürlerde BrdU İşaretlenme Değerleri

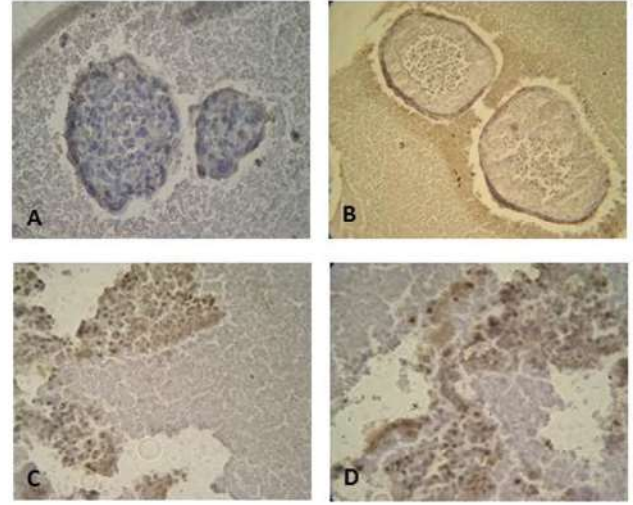
Üç boyutlu multisellüler sferoid model kültürde yapılan BrdU işaretleme indeksi değerlendirmelerine göre kontrol grubunda sferoidlerin periferinde çok sayıda, sferoid merkezinde ise az sayıda işaretlenme gözlemlendi. İki boyutlu kültür sonuçlarımıza uyumlu olarak çok sayıda hücre BrdU ile işaretlendi. Kontrol grubunda işaretlenme değerleri 24 saat için %18,7, 48 saat için %18,9 ve 72 saat için %18,4 olarak belirlendi. Silibin verilen sferoid modelde işaretlenme değerleri ise 24 saat için %7,6, 48 saat için %7,9 ve 72 saat için %8,1 olarak belirlendi. Dolayısıyla silibin grubunda yine lamelli gruplarda olduğu gibi BrdU işaretleme indeksinde tüm saatlerde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 6, 7).



Şekil 6: Üç Boyutlu Kültürlerde BrdU İle İşaretlenme Grafiği



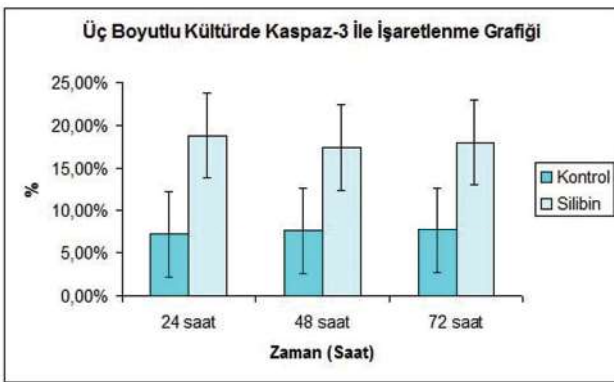
Şekil 7: Siferoid model kültürde BrdU ile immünohistokimyasal boyama. Kontrol grubu. BrdU ile yoğun boyanma gözlemlendi (A). Silibin grubunda tüm saatlerde zayıf boyanma görüldü. (B-24 saat, C-48 saat, D-72 saat).



Şekil 9: Siferoid model kültürde Kaspaz-3 ile immünohistokimyasal boyama. Kontrol grubu. Kaspaz-3 ile zayıf boyanma gözlemlendi (A). Silibin grubunda tüm saatlerde kontrol grubuna göre daha yoğun boyanma görüldü. (B-24 saat, C-48 saat, D-72 saat)

Üç Boyutlu Kültürlerde Kaspaz-3 İşaretlenme Değerleri

Üç boyutlu multisellüler sferoid model kültürde kontrol grubunda iki boyutlu kültür sonuçlarımıza uyumlu olarak az sayıda hücre Kaspaz-3 ile işaretlendi. Silibin verilen sferoid modelde ise yine lamelli gruplarda olduğu gibi Kaspaz-3 ile işaretlenen hücreler tüm saatlerde kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi ($p < 0.05$) (Şekil 8,9).



Şekil 8: Üç Boyutlu Kültürlerde BrdU ile İşaretlenme Grafiği

Tartışma

Hepatosellüler karsinoma (HSK) hepatit virüslerine bağlı inflamasyon ve siroz zemininde ortaya çıkan, zamanla hipoksik strese bağlı anjiyogenik sürecin başladığı ve ileri evrelerinde iyi vaskülarize olmuş, farklılaşmasını yitirmiş invazif karakterdeki hücrelere sahip kötü prognozlu bir hastalıktır (17, 18).

Kanser tedavisinde her ne kadar umut verici gelişmeler olsa da, bunlara hastalığın tip sayısının yüksekliği ve başarı yüzdesinin düşüklüğü eklendiğinde insanlar bu zorlu yolda belki de şanslarını bir parça daha artırdıklarını düşündükleri alternatif metotlara başvurmaya başlarlar. Bunların başında da bitkisel tedavi metotları gelir. Bitkisel tedavi metotlarının tedavi sürecinde yan etkiler açısından da rahat bir tedavi şekli olması bu durumu kuvvetlendirmektedir (19).

Silibin, Silybum marianum (Devedikeni) bitkisinden elde edilen flavonolignandır. Amerika'da üretilen yoğunlaştırılmış ekstraktları %70-80 oranında silibin içermektedir (8,20). Bitkiden elde edilen ekstraktın akciğer tümörü büyümesini baskıladığı, meme, kolon, mesane kanseri hücre hatlarında hücre siklusunu durdurduğu ve apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir (5-9). Silibinin hepatosellüler karsinoma HepG2 ve Hep3B hücrelerinde hücre büyümesini durdurduğu ve

apoptozisi tetiklediği, ayrıca yine aynı hücre soylarında hücre siklusunu durdurduğu gösterilmiştir (14). Yine silibinin kombine (sorafenib ve gefitinib) tedavilerde de hücre çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (15)

John ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada çeşitli hepatosellüler karsinoma hücre hatlarında (HepG2, HuH7, PLC/PRF/5, Hep3B hücre hatları) silibinin etki mekanizmasını araştırmışlardır. Sonuçta silibinin doza bağlı olarak antiproliferatif etki gösterdiği, apoptotik etkisinin olduğu ve kanser hücrelerinin metastaz ve invazyonunda önemli rol oynayan MMP 2 ve 9'un ekspresyonunu azatlığı görülmüştür (21).

Çalışmamızda Silybum marianum bitkisinden elde edilen silibin ekstraktının hem iki boyutlu hem de üç boyutlu kültür ortamında, hücre çoğalması üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için hücre kültürü deneylerinde Hep3B hepatosellüler karsinoma hücre soyu kullanılmıştır. Hep3B hücre soyu hepatit B virüsü pozitif ve p53 geni mutasyona uğramış hepatosellüler karsinoma hücre hattıdır (14).

İki boyutlu kültürde silibin (100 μ M/ml) uygulanan gruptaki hücrelerde 24, 48, 72 saat süreler sonunda işaretleme indeksinin kontrol grubu işaretleme indeksine oranla anlamlı derecede azaldığı görülmüştür ($p < 0.05$). Ayrıca tripan blue ile yapılan canlılık testinde de silibin verilen grupta hücre sayısında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). Elde ettiğimiz bu sonuçlar, silibinin iki boyutlu kültür ortamında Hep3B hücre soyu üzerine etkisiyle ilgili daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (14, 21).

Monolayer hücre kültürü deneylerinde apoptotik hücreleri belirlemek amacıyla immünohistokimyasal olarak aktif kaspaz-3 tayini yapılmıştır. Sonuçta kaspaz-3 ile boyanan hücre sayısında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu da bize silibinin hücrelerde (Hep3B hepatosellüler hücre soyunda) apoptozisi tetiklediğini göstermektedir. Konuyla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda silibinin apoptotik etkisi farklı yöntemler kullanılarak (immünblotting, etidyum bromid-akridin orange yöntemi) belirlenmiş olup yine bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir (21-23).

Tümör hücreleri ile yapılan in vitro deneylerde birçok laboratuvarında tek tabakalı hücre kültürleri kullanılmaktadır. Bu in vitro hücre modeliyle kanserin temel oluşum mekanizmaları ve tedavisi üzerine oldukça değerli bilgiler edinilmiştir. Ancak, tek tabakalı

kültür ortamında oksijen ve besinler kanser hücrelerine eşit oranda ulaşmakta ve hücreler bu koşullar altında iki boyutlu bir büyüme göstermektedir. Oysa vücutta kitle oluşturan solid tümörler üç boyutlu uzaysal bir konumda büyümektedir. Bu durum tümörlerin iç bölümündeki hücreler arasında oksijen ve besin dağılımının eşit olmamasına yol açmakta ve hücreler farklı düzeylerde fiziksel ve kimyasal streslerle karşılaşmaktadır. Oksijen ve besin kaynaklarının düşük olduğu bölümlerde hücre hasarı ve hatta nekroz kendiliğinden gelişebilmektedir. Ayrıca tek tabakalı hücre kültür modelinin aksine hücrelerin gelişmesinde önemli rol oynadığı düşünülen hücreler arası temaslar üç boyutlu kültür ortamında gerçekleşmektedir (16).

Tümör sferoidleri, solid tümörlerin üç boyutlu büyüme ve organizasyonunu oldukça gerçekçi bir biçimde yansıtmakta ve bunun sonucunda tümörlerde söz konusu hücreler arası ilişkileri ve mikro çevresel koşulları çok daha net ortaya koyabilmektedir (16). Bu durumdan yola çıkarak tek tabakalı hücreler üzerinde silibinin istatistiksel olarak anlamlılık taşıyan en yüksek değeri seçilmiş ve seçilen bu değer vücuttaki üç boyutlu tümör yapısını daha iyi yansıtan sferoid kültürde denenmiştir. Sferoid kültürlerde, sferoidlere uygulanan silibin (100 μ M/ml) grubunda hücrelerde işaretlenme indeksinin kontrol grubu işaretlenme indeksine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu sonuç iki boyutlu kültür sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Ancak iki boyutlu kültür ortamında BrdU ile işaretlenen hücrelerin yerleşiminde herhangi bir farklılık bulunmazken sferoid modelde boyanma sferoidlerin çevresindeki hücrelerde daha yoğun olarak görülmüştür. Bu da bize silibinin daha çok sferoidlerin dış kısmındaki hücreler üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Sferoidin orta kısmındaki hücrelerde az sayıda işaretlenmenin olması ise aynı tümör yapısında olduğu gibi bu bölgedeki hücrelerde oksijen ve besin yetersizliğinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Sferoid kültürde ikinci aşamada sferoid modelde apoptotik hücreleri gözlemek amacıyla immünohistokimyasal olarak kaspaz-3 boyaması yapılmıştır. İmmünohistokimyasal boyama sonucunda silibin verilen sferoidlerdeki çok sayıda hücre Kaspaz-3 ile boyanmıştır. Bu boyanma kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmüştür ($p < 0.05$). Böylece sferoid modelde de (üç boyutlu kültür

ortamı) silibinin apoptotik etkisinin olduğu gözlenmiştir. İki boyutlu kültür ortamında kaspaz-3 boyanma sonuçlarına bakıldığında bu boyanmanın bölgesel bir farklılık göstermediği görülmüştür. Oysa sferoid modelde aynı BrdU işaretlenme indeksinde olduğu gibi sferoidlerin dış kısmındaki hücrelerde boyanmanın daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Bu da bize silibinin apoptotik etkisinin sferoidin periferindeki hücrelerde daha baskın olabileceğini düşündürmektedir.

Sferoid kültürlerde üçüncü aşamada sferoid morfolojisini incelemek amacıyla sferoidlerin parafin kesitlerine hematoksilin-eozin boyası uygulanmıştır. Hematoksilin-eozin boyamada, silibin (100 µM/ml) uygulanan grupta genel sferoid yapısının düzgün görüldüğü ancak bütünlüğü bozulmamış, düzgün görümlü sferoidlerin yanında sınırları kaybolmuş, dağınık sferoid yapılarının da olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak Silybum marianum bitkisinden elde edilen silibin ekstraktının Hep3B hepatosellüler karsinoma hücrelerinde yapılan in vitro deneylerde verdiği sonuçlardan yola çıkarak bu bitkinin hücre popülasyonundaki artışı azaltmada etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Hep3B hücre soyu ile yapılan monolayer hücre kültürü deneyleri bu azalmayı desteklerken, üç boyutlu tümör yapısını yansıtan sferoidlerin hematoksilin-eozin boyası sonuçları da, sferoid yapısını dejenere ettiğini göstermekte ve bu durum düzgün sferoid yapılarının yanında yer yer dağınık sferoid formları ile desteklenmektedir.

Sferoid hücre kültürlerine BrdU uygulaması sonrasında gerçekleştirilen immünohistokimya neticesinde saptanan BrdU işaretlenme indeksi değerleri de hem iki hem de üç boyutlu kültür ortamında silibinin hücre artışını inhibe edici etkisini desteklemektedir. Ayrıca immünohistokimyasal olarak kaspaz-3 boyaması sonucunda da silibinin yine hem iki hem de üç boyutlu kültür ortamında hücreler üzerinde apoptotik etki gösterdiği görülmüştür.

Yaptığımız literatür taramalarında silibinin in vitro ortamda hepatosellüler karsinoma üzerinde etkisini konu alan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak BrdU işaretlenme indeksi ve aktif kaspaz-3 tayini immünohistokimyasal yöntemle yapılmamıştır. Ayrıca silibin, üç boyutlu kültür ortamında hiç denenmemiştir. Bu nedenle üç boyutlu sferoid model vücuttaki tümör yapısını daha iyi yansıttığı için elde ettiğimiz sonuçların hepatosellüler karsinoma tedavisine ışık tutacağı kanısındayız.

Kaynaklar

1. Marrero JA. Hepatocellular Carcinoma. Current Opinion in Gastroenterology, 2005; 21:308-312.
- 2) Friedman SL, Bansal MB. Reversal of hepatic fibrosis - fact or fantasy? Hepatology. 2006; 43(2 Suppl 1):82-8.
3. McKillop IH, Moran DM, Jin X, Koniaris LG. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma. J Surg Res. 2006; 136(1):125-35.
4. Morazzoni P, Bombardelli E. Silybum marianum (Carduus marianus). Fitoterapia, 1995; 64:3-42.
5. Zi X, Grasso AW, Kung H-J, Agarwal R. A flavonoid antioxidant Silibinin inhibits activation of erbB1 signaling, and induces cyclin-dependent kinase inhibitors, G1arrest and anti-carcinogenic effects in human prostate carcinoma DU145 cells. Cancer Res. 1998; 58:1920-9.
6. Zi X, Feyes DK, Agarwal R. Anti-carcinogenic effect of a flavonoid antioxidant silymarin in human breast cancer cells MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of CDKs and associated cyclins. Clin Cancer Res. 1998; 4:1055-64.
7. Agarwal C, Singh RP, Dhanalakshmi IS, et al. Silibinin up-regulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. Oncogene 2003; 22:8271-82.
8. Singh RP, Mallikarjuna GU, Sharma G, et al. Oral silibinin inhibits lung tumor growth in athymic nude mice and forms a novel chemocombination with doxorubicin targeting nuclear factor-κB-mediated inducible chemoresistance. Clin Cancer Res. 2004; 10: 8641-7.
9. Tyagi A, Agarwal C, Harrison G, Glode LM, Agarwal R. Silibinin causes cell cycle arrest and apoptosis in human bladder transitional cell carcinoma cells by regulating CDK1-CDK-cyclin cascade, and caspase 3 and PARP cleavages. Carcinogenesis 2004; 25:1711-20.
10. Angeli JP, Barcelos GR, Serpeloni JM, Barbosa F Jr, Nersesyan A, Mantovani MS. Evaluation of the genotoxic and anti-genotoxic activities of silibinin in human hepatoma cells (HepG2). Mutagenesis. 2010 May; 25(3):223-9.
11. Avila MA, Berasain C, Sangro B, Prieto J. New therapies for hepatocellular carcinoma. Oncogene 2006; 25: 3866-3884.
12. Kim K, Moon H, Kim K. Hypoxia-induced angiogenesis in human hepatocellular carcinoma. J Mol Med. 2002; 80:703-714.
13. Okouneva T, Hill BT, Wilson L and Jordan MA. The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics. Mol Cancer Ther. 2003; 2(5), 427-436.
14. Varghese L, Agarwal C, Tyagi A, Singh RP and Agarwal R. Silibinin Efficacy against Human Hepatocellular

- Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2005; 11(23):8441-8448.
15. Gu HR, Park SC, Choi SJ, Lee JC, Kim YC, Han CJ, Kim J, Yang KY, Kim YJ, Noh GY, No SH, Jeong JH. Combined treatment with silibinin and either sorafenib or gefitinib enhances their growth-inhibiting effects inhepatocellular carcinoma cells. *Clin Mol Hepatol.* 2015 Mar;21(1):49-59
 16. Ahışhalı, B., Bilir, A. Tümör Hücrelerinin Multisellüler Tümör Sferoid Modelinde Üretilmesi İst. Tıp Fak. Mecbuası 2002; 65:1.
 17. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem.* 2000; 275(4):2247-50.
 18. Guo R, Zhong C, Shi M, Zhang C, Wei W, Zhang Y, Li J. Clinical value of apoptosis and angiogenesis factors in estimating the prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2006; 132:547-555.
 19. Baytop T. "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçimişte ve Bugün" Nobel Tıp Kitapevleri 1999; 142-44.
 20. Acartürk R, Şifalı Bitkiler, Flora ve Sağlığımız. Karşıyaka, İzmir, 1996.
 21. John J Lah, Wei Cui, Ke-Qin Hu. "Effects and mechanisms of silibinin on human hepatoma cell lines" *World Journal of Gastroenterology*, 2007; 13(40): 5299-5305.
 22. Momeny M, Khorramizadeh MR, Ghaffari SH, Yousefi M, Yekaninejad MS, Esmaili R, et al. Effects of silibinin on cell growth and invasive properties of a human hepatocellular carcinoma cell line, HepG-2, through inhibition of extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation. *European Journal of Pharmacology*, 2008; 591:13-20.
 23. Ramakrishnan G, Lo Muzio L, Elinos-Báez CM, Jagan S, Augustine TA, Kamaraj S. Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells. *Cell Prolif.* 2009; 42:229-240

2.45 GHz radio frequency radiation exposure induced changes on rat testes and protective effects of vitamins E and C

2.45 GHz radyo frekansı radyasyonunun rat testisinde oluşturduğu değişiklikler ve bu değişikliklere vitamin E ve vitamin C' nin koruyucu etkisi

* Cemil Bilkay
* Gülnur Özgüner
* Ahmet Dursun
** Selçuk Çömlekçi
*** Kemal Deniz
*** Sıraç Erten

* Department of Anatomy,
Faculty of Medicine,
Süleyman Demirel University,
Isparta, Turkey
** Department of Electronics and
Communication Engineering,
Süleyman Demirel University,
Isparta, Turkey
*** Department of Pathology,
Faculty of Medicine, Erciyes
University, Kayseri, Turkey

Correspondence Address:
Cemil Bilkay Asist. Dr.
Süleyman Demirel University, Faculty
of Medicine, Department of Anatomy,
32260 Isparta, TÜRKİYE.
Fax: 00.90.246.2371165
Tel: 00 90 246 2113306
e-mail: cemilbilky@hotmail.com

Öz

2.45 GHz radyo frekans elektromanyetik radyasyona (EMR) maruziyetin 12 haftalık sıçan testisleri üzerinde oluşturduğu değişiklikler ve bu değişikliklere vitamin E ve vitamin C'nin muhtemel koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada 28 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı: 1. grup: Kontrol grubu (3. gruba verilen miktarda oral gavaj ile su verildi), 2. grup: 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakılan grup, 3. grup: 2.45 GHz EMR'ye maruziyet + Vitamin E ve C verilen grup (oral gavajla 50 mg vitamin E+ 200 mg vitamin C mg/kg ağırlık/gün). 2. ve 3. gruptaki sıçanlar 30 gün boyunca her gün aynı saatte 60 dakika 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakıldı. 3. gruba vitamin E ve C, EMR uygulamasından 1 saat önce verildi. 30 günün sonunda sıçanlar anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi ve testisleri çıkarıldı. Rutin doku takibi yapıldı ve kesitler hematoxilen-eozin (H-E) ile boyandı. EMR'ye maruz kalan sıçanların testislerinin ağırlık ve hacimlerinde kısmen azalma tespit edildi. Histopatolojik incelemede ise seminifer tübül çapında ve Johnsen skorlama yönteminde EMR'ye maruz kalan sıçanlarda azalma tespit edildi. Ancak gruplar arası karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi. Vitamin E ve C verilen grupta bu değişikliklerin grup 2'ye oranla daha az olduğu tespit edildi. Leydig hücre skorunda ise gruplar arasında fark gözlemlenmedi. Sonuç olarak EMR uygulamaları sıçan testisinde kısmen değişiklikler oluşturmaktadır ve bu değişikliklere karşı vitamin E ve vitamin C' nin bir miktar koruyucu etkisi bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Testis, sıçan, 2.45 GHz radyo frekansı, vitamin E, vitamin C

Abstract

The aim of this study was designed to determine the effects of 2.45 GHz radio frequency electromagnetic radiation on rat testes found in 12-week-old rats and the possible protective effects of vitamin E and vitamin C. Twenty-eight male Sprague-Dawley rats were used in this study. Rats were divided into three groups: Group I: Control group, (received oral gavages of water at an equal volume to that of vitamin E+ vitamin C used in group III), Group II: exposed to 2.45 GHz EMR, Group III: exposed to 2.45 GHz EMR + Vitamins E and C treated group (50 mg vitamin E + 200 mg vitamin C mg/ kg body weight / day, oral gavages). Group II and group III were exposed to 2.45 GHz EMR, for 60 minutes every day for 30 days. Vitamin E and C, was given 1 hour before the EMR application to Group III. The rats were sacrificed by cervical dislocation under anesthesia at the end of 30 days period, and the testes were dissected. Routine tissue procedure was applied and the sections were stained with hematoxylin-eosin (H-E). The weights and volumes of the testes were slightly reduced in the EMR exposed groups. In histopathological examinations, diameter of tubulus seminiferus and Johnsen scores were slightly reduced in the EMR exposed groups. However, no statistically significant difference was observed between groups. It is determined that, the changes were lower in vitamin E and C administered groups when compared to group II. There was no statistically significant difference in Leydig cell scores. In conclusion, EMR applications causes slightly changes in rat testes and, vitamin E and C have some protective effects.

Keywords: Testis, rat, 2450 MHz radio frequency, vitamin E, vitamin C

Introduction

In recent years, the use of electronic devices is increasing with each passing day. Electronic devices which simplify our daily life, such as laptops computers, mobile phones or tablet devices, radiate electromagnetic waves due to wireless system.

Studies had already shown the effects of 2.45-GHz electromagnetic radiation on different body parts such as testis, kidney, hippocampus, brain, thyroid, immune system, spleen and liver (1-6). The testes are more sensitive to a variety of stresses, like inflammation, hyperthermia and radiation (7,8). Testes are also very susceptible to oxidative damage induced by reactive oxygen species (ROS) because they contain large amounts of peroxidation-susceptible polyunsaturated fatty acids. On the other hand, testes contain low amounts of antioxidants (9,10). A recent study reported that exposure to Wi-Fi EMR induced oxidative stress, and decreased the levels of antioxidants in the kidney and testes of rats (11).

The cell has various ways to alleviate the effects of oxidative stress, either by repairing the damage or by directly diminishing the occurrence of oxidative damage through enzymatic and non-enzymatic antioxidants (12). Vitamin E and vitamin C are well known potent antioxidants. Vitamin E is the most important lipophilic antioxidant and mainly in the cell membranes (13). Vitamin C is the most important hydrophilic free-radical scavenger in extracellular fluids and protecting biomembranes from peroxidative damage (14). Some studies have revealed that a combination of vitamins E and C decrease the lipid peroxidation caused by oxidative stress (15). In a different study, 900 MHz electromagnetic radiation has made histopathological changes in the rat endometrium, and vitamin E and C reduced these changes (12). Therefore, vitamins E and C can have interactive effects (16).

The effect of vitamins E and C on rat testis tissue after 2,45 GHz EMR exposed animals has not been reported. Therefore, we aimed to investigate the effects of 2.45 GHz EMR exposure on testes, and possible protective effects of vitamins E and C on the testes injury, induced by EMR exposure.

Material and Methods

Animals

Twenty-eight, 12-week-old male Sprague-Dawley rats were used in the study. The rats were obtained from the Experimental Research Unit of Süleyman Demirel University. The study was approved by the Süleyman Demirel University Animal Ethics Committee (26 February 2013, No: 04). The rats were maintained under standard laboratory conditions (temperature 22 °C; light/dark cycle 12/12 h; ad libitum with standard rat chow and tap water).

The rats were randomly divided into three groups, as follows;

Group I (n=8): control group; received oral gavages of water at an equal volume to that of vitamin E+ vitamin C used in group III.

Group II (n=10): EMR exposed group

Group III (n=10): EMR exposed + Vitamins E and C treated group (50 mg vitamin E + 200 mg vitamin C mg / kg body weight / day, oral gavages).

Vitamins E (Evigen; Aksu Farma, Istanbul, Turkey) and C (Redoxon; Roche, Basel, Switzerland) were administered one hour before the EMR application for Group III. The rats in group II and III were exposed to 2.45 GHz EMR 1h/day for 30 days. The beginning exposure time was 10:00 am every day. The control group, group II and, group III were kept individually in stainless steel cages in the same room under standard laboratory conditions (temperature 22 °C; light/dark cycle 12/12 h; ad libitum with standard rat chow and tap water) during the out of EMR application time. The body weights of the rats were measured at the beginning and at the end of the experiment.

EMR Exposure Design

An electromagnetic energy generator (SET ELECO, Set Elektronik, Istanbul), and its monopole antenna was used for Wi-Fi like electromagnetic exposure application. 2.45 GHz experimental exposure, a 217 Hz pulsed radio frequency (RF) source and setup was tested in the Electromagnetic Laboratory of the Department of Electronics and Communication Engineering at Süleyman Demirel University. This RF generator is able to create electric field densities from 1 to 100 V/m on the exposure setup. Using this generator, 5 V/m electric

field intensity can be obtained to get the realistic value as 0.1 W/kg of whole body specific absorption rate (SAR). Antenna power out was limited to 0.8 W (17). The electric field density was set 5 V/m in order to get a 100 mW/kg whole testes average SAR. Rats in the study group were exposed to 2.45 GHz EMR for 1 h/day, 7 days/week for 30 days. In order not to affect the control group, exposure process was conducted in an electromagnetically clean room. After the EMR exposure process the rats of group II, and III were kept under standard laboratory conditions in the same room with group I. The rats of each group were kept separate cages. The clean room is made by using stainless steel sheets for covering the walls of experiment room in the Experimental Animals Laboratory of Süleyman Demirel University. The average shielding effectiveness value of 100 dB on the frequency band is obtained. Electromagnetic measurements and instrumentations were conducted by the Department of Electronics and Communication Engineering.

During the exposure, each rat was placed in a special plastic holder (15x5 cm diameter). The quality of the transmitted signal was checked using spectrum analyzer (Promax AE-566) with its appropriate near-field probes. The power density measurements were made with an EMR survey meter (Holaday Industries, Inc., Eden Prairie, MN, USA). In order to provide the same whole body exposure to all 20 rats at the same time, the exposure setup was located in the same distance from the monopole antenna. Because the antenna is omni directional, and the rats have the full physical symmetry, the exposure setup can produce equal exposure to the rats. At 2.45 GHz, dielectric permittivity, conductivity, and specific weight of rat tissues were found from the tables of scientific literature (18). By using the methodology mentioned above, whole body average SAR was found as the value of 0.1 W/kg.

In an effort to control and monitor the produced RF energy; background noise and other possible unwanted noises were measured by using specific tools and equipments.

In this study, Finite Difference Time Domain (FDTD) method was used in order to evaluate absorbed RF energy in the biological tissues (19,20). For SAR calculation, firstly average electric field was noted. Then the distance between certain tissue and the antenna was determined. Finally, electrical parameters of tissue on

the certain frequency band were found from scientific literature. SAR values were calculated through the FDTD method with MATLAB software (19,21).

Histopathological examinations

At the end of the experimental period, the rats were sacrificed by cervical dislocation under anesthesia via intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride (90 mg/kg) and xylazine (5mg/kg). The testes were removed for histopathological examination, and were bisected and fixed in 10% formaldehyde solution. The testes tissue samples were embedded in paraffin, cross sections were cut in 5 μ m thickness and stained with hematoxylin-eosin. Histologic sections were assessed and photographed by Olympus BX51 photomicroscope. The mean diameter of the seminiferous tubules and Johnsen score was evaluated in the microscopic examination. The stage of the seminiferous tubules of germ cells in the testis of serial sections (spermatogenesis) with Johnsen testicular biopsy score and the number of Leydig cells in the interstitial space were evaluated.

Statistical analyses for Johnsen score, Leydig cells, diameter of the seminiferous tubules, and weight and volume of the testes were performed using SPSS 17.00 statistical package (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). The significance level was set at 0.05. Data were expressed as mean \pm Standard deviation. The non-parametric Mann-Whitney's U-test was used for comparisons of groups and, P and χ^2 values were presented in relevant tables.

Results

There were no statistically significant differences in the means of the body weights among the groups at the end of the experimental period (Table 1).

Table 1. Mean Body Weight of rats (means \pm SD)(g)

Groups	Beginning of the experiment	End of the experiment
I	273.62 \pm 23.06	309.75\pm26.35
II	262.60 \pm 24.85	294.20\pm22.51
III	257.40 \pm 39.13	281.30\pm38.91

It was observed that weights and volumes of the rat testes were decreased in the EMR exposed groups when compared to the control group. However, the decrease was lower in the Vitamins E and C administered group. Statistically significant difference was not observed between groups ($p > 0.05$), (Table 2).

Table 2: Comparison of morphological and histopathological parameters between the control (group I), EMR exposed (group II), EMR exposed + Vitamins E and C administered (group III) groups (means \pm SD).

Group	Weight ^a (g)	Volume ^b (ml)	Diameter of Tubulus Seminiferus	Johnsen ^d Scores	Leydig ^e Cell Scores
I	6.96 \pm 1.28	7.03 \pm 1.38	258.74 \pm 12.37	9.98 \pm 0.54	3 \pm 0.0
II	6.65 \pm 0.89	6.77 \pm 0.88	255.45 \pm 10.53	9.91 \pm 0.14	3 \pm 0.0
III	6.94 \pm 0.35	7.30 \pm 0.40	260.32 \pm 8.09	9.96 \pm 0.08	3 \pm 0.0

a,b,c,d,e $P > 0.05$ No significant differences

In histopathological examinations, the control group testes tissues were observed as normal (Figure 1).

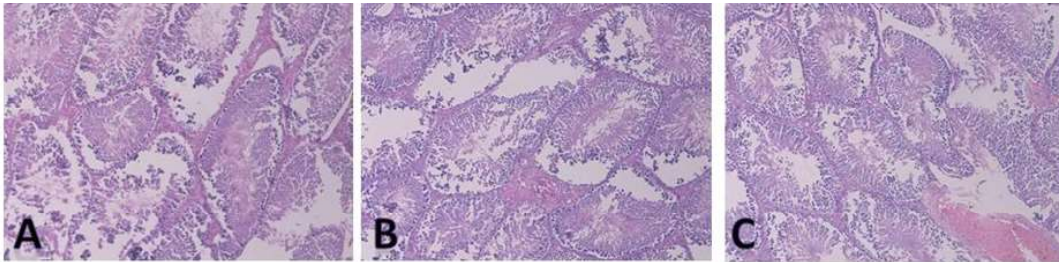


Figure 1: Histological section of the testes (X40, hematoxylin-eosin [H&E]). A; group I : control group, Normal appearance of leydig cells and seminiferous tubules of the testes tissue. B; group II : EMR exposed group, C; group III: EMR exposed + Vitamins E and C treated group.

Diameter of tubulus seminiferus and Johnsen scores were decreased in the EMR exposed groups, but the decreases were lower in the Vitamins E and C administered group. However, statistically significant difference was not observed between groups ($p > 0.05$), (Table 2) (Figure 1).

There was no difference between the groups in Leydig cell scores (Table 1).

Discussion

Wireless devices have a widespread use in today's modern world. These wireless devices use higher frequency and usually have a longer exposure time and wider area of exposure (22). Like laptop computers which contain wireless technology, generally used near reproductive organs and may have harmful effects on testes (23). Oxidative stress plays some role in the EMR exposure effects on body tissues (24,12).

In our study, we choose testes because testes are extremely susceptible to oxidative damage induced by ROS, and the testes are more sensitive to a variety of stresses, such as inflammation, hyperthermia, and radiation (7-10).

The effect of the EMR on testicular tissue at different frequencies on rats investigated in several studies. Lots of studies have indicated that, EMR effected male reproductive tissues (32) but some other studies have been conflicting (2).

Previous studies reported no significant difference between testicular weights of the rats exposed to EMR (23,26,27). On the other hand, Imai et al. and results of our studies are reported EMR reduced the weight of the rat's testes (25).

Table 3 shows the effects of EMR at different frequencies (MHz) and different exposure time period on Johnsen score of rat's testes. While Ozguner et al. (900 MHz) and

Kim et al. (2450 MHz) did not observe any significant effect (27,28). However, Saygin et al. (29) and results of our studies are reported.

Table 3: Effects of different frequencies (MHz) on rat's Johnsen score.

Reference	Frequency (MHz)	Time (daily/weekly/total)	Effects
Ozguner et al. 2005	900	30 minutes per day, 5 days a week for 4 weeks	No
Kim et al. 2007	2450	for 1 hour or 2 hours a day for 8 weeks	No
Saygin et al. 2011	2450	60 minutes/day for 28 days	Yes (significant)
Present Study	2450	60 minutes per day, 7 days a week for 30 days	Yes

Leydig cells are another histopathological parameter of testis. Lots of studies show that EMR effects Leydig cells in rats as shown in Table 4 (27-29). However, Viera Almášiová et al. and we did not observe any marked morphological changes in Leydig cells (2,30). Studies on the effects of EMR at different frequencies and different exposure time periods on rats seminiferous tubular diameters are presented in Table 5. Previous studies and our results are reported that EMR decreased the seminiferous tubular diameters of testes (27,28,31,32).

Table 4: Effects of different frequencies (MHz) on rat's Leydig cells

Reference	Frequency (MHz)	Time (daily/weekly/total)	Effects
Saygin et al. 2011	2450	60 minutes/day for 28 days	decrease
Ozguner et al. 2005	900	30 minutes per day, 5 days a week for 4 weeks	statistical difference
Kim et al. 2007	2450	for 1 hour or 2 hours a day for 8 weeks	statistical difference
Viera Almášiová et al. 2014	2450	3h daily applications for 3 weeks	No
Viera Almášiová et al. 2013	2450	3h daily applications for 3 weeks	No
Present Study	2450	60 minutes per day, 7 days a week for 4 weeks	No

Table 5: Effects of different frequencies (MHz) on rat's seminiferous tubular diameters.

Reference	Frequency (MHz)	Time (daily/weekly/total)	Effects
Dasdağ et al. 1999	900	2 hours per day, 7 days a week for 4 weeks	decrease
Saygin et al. 2011	2450	60 minutes/day for 28 days	No
Ozguner et al. 2005	900	30 minutes per day, 5 days a week for 4 weeks	decrease
Kim et al. 2007	2450	for 1 hour or 2 hours a day for 8 weeks	decrease
S. Shahin et al. 2014	2450	2 hours per day, 7 days a week for 4 weeks	decrease
Present Study	2450	60 minutes per day, 7 days a week for 30 days	decrease

Vitamin E and vitamin C are well known potent antioxidants. In an experimental study, it has been shown that 900 MHz radiofrequency has some histopathologic changes in rat endometrium, and vitamins E and C reduced these changes (12). In previous studies, vitamin E plus vitamin C administration was found to reduce the oxidative stress in rat testes (33). The results of present study reported that vitamin E plus vitamin C administration reduced the morphological and histopathological damages in rat testes.

The body weights of the rats were measured at the beginning and end of the experiment. Our results showed that there is no statistically significant difference in weight gain between the control and exposure groups. These results were consistent with previously reported studies (34-35), except Salah et al. (36) who reported a loss in body weight in rats exposed to 2.45 GHz EMR. In our knowledge, there is no current data on effects of 2.45 GHz EMR on rat's testes, and protective effects of vitamins E and C.

According to literature and our results, 2.45 GHz EMR exposure has negative effects on testes. However, these effects depends on frequencies and length of exposure time. Therefore, we believe that there is a need for further studies with different frequencies and exposure periods to prove the protective effect of vitamins E and C on oxidative stress and histopathologic damage in the testes caused by EMR.

Conclusion

In conclusion, the results demonstrated that wireless (2.45 GHz) have negative morphological and histopathological effects on testes. However, the results also indicated that Vitamin E and C treatment has a protective effect on testes tissue damaged through 2.45-GHz EMR harmful effects.

Acknowledgments

This study was supported by the Scientific research projects coordination unit of Süleyman Demirel Universty, TURKEY [grant number: OYP 05444DR13].

References

1. Kumar S, Kumar K, Behari J. The therapeutic effect of a pulsed electromagnetic field on the reproductive patterns of male Wistar rats exposed to a 2.45-GHz microwave field. *Clinics*. 2011; 66(7): 1237-1245.
2. Almášiová V, Holovská K, Cigánková V and Račeková E. Influence of electromagnetic radiation on selected organs in rats. *Animal Welfare, Ethology and Housing Systems*. 2013; 9: 401-407.
3. Yang XS, He GL, Hao YT, Xiao Y, Chen CH, Zhang GB et al. Exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields elicits an HSP-related stress response in rat hippocampus. *Brain Research Bulletin*. 2012; 371-378.
4. Sinha KR. Chronic non-thermal exposure of modulated 2450 MHz microwave radiation alters thyroid hormones and behavior of male rats. *International Journal of Radiation Biology*. 2008; 84: 505 – 513.
5. Vijayalaxmi, Reddy AB, McKenzie R, McIntosh R, Prihoda T, and Wood A. Incidence of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes exposed to modulated and unmodulated 2450 MHz radiofrequency fields. *Bioelectromagnetics*. 2013; 34: 542-548.
6. Ono T, Saito Y, Komura J, Ikehata H, Tarusawa Y, Nojima T et al. Absence of mutagenic effects of 2.45 GHz radiofrequency exposure in spleen, liver, brain, and testis of lacZ-transgenic mouse exposed in utero. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2004; 202: 93-103.
7. Lue YH, Hikim AP, Swerdloff RS, Im P, Taing KS, and Bui T. Single exposure to heat induces stage-specific germ cell apoptosis in rats: role of intratesticular testosterone on stage specificity. *Endocrinology*. 1999; 140:1709- 1717.
8. Richburg JH. The relevance of spontaneous- and chemically-induced alterations in testicular germ cell apoptosis to toxicology. *Toxicology Letters*. 2000; 112-113: 79-86.
9. Wathes DC, Abayasekara DR, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction*. 2007; 77: 190–201.
10. Nazıroğlu M. Enhanced testicular antioxidant capacity in streptozotocin induced diabetic rats: protective role of vitamins C, E and selenium. *Biological Trace Element Research*. 2003; 94: 61–71.
11. Özorak A, Nazıroğlu M, Çelik Ö, Yüksel M, Özçelik D, Özkaya MO. Wi-fi (2.45 GHz) and mobile phone (900 and 1800 MHz) induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats during pregnancy and the development of offspring. *Biological Trace Element Research*. 2013; 156: 221–229.
12. Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, and Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium:protection by vitamins E and C. *Toxicology and Industrial Health*. 2007; 23:411–420.
13. Baker HWG, Brindl J, Irvine DS, and Aitken RJ. Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes. *Fertility and Sterility*. 1996; 65: 411–419.
14. Harapanhalli RS, Yaghmai V, Giuliani D, Howell RW, and Rao DV. Antioxidant effects of vitamin C in mice following X-irradiation. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*. 1996; 94: 271–287.
15. Appenroth D, Fröb S, Kertsen L, Splinter K, and Winnefeld K. Protective effect of vitamin E and C on cisplatin nephrotoxicity in developing rats. *Archives of Toxicology*. 1997; 71: 677–683.
16. Stoyanovsky D, Goldman R, Darrow R, Organisciak D and Kagan V. Endogenous ascorbate regenerates vitamin E in the retina directly and in combination with dihydrolipoic acid. *Current Eye Research*. 1995; 14: 181–189.
17. Gumral N, Nazıroglu M, Koyu A, et al. Effects of selenium and l-carnitine on oxidative stressin blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biological Trace Element Research*. 2009; 132:153–163.
18. Gabriel S, Lau RW, Gabriel C. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine and Biology*. 1996; 41: 2251-2269.
19. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriak JM, Nelson DA, and Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics*. 2002; 23:37-48.

20. Gajsek P, Ziriak JM, Hurt WD, Walters TJ, Mason PA. Predicted SAR in sprague-dawley rat as a function of permittivity values. *Bioelectromagnetics*. 2001; 22:384-400.
21. Taflove A. Reinventing electromagnetic applications for FD-TD computation. *Computational Electromagnetics*. 1995; 24-34.
22. Viel JF, Cardis E, Moissonnier M, de Seze R, and Hours M. Radiofrequency exposure in the french general population: band, time, location and activity variability. *Environment International Journal*. 2009; 35: 1150–1154.
23. Oksay T, Naziroğlu M, Doğan S, Güzel A, Gümral N, and Koşar PA. Protective effects of melatonin against oxidative injury in rat testis induced by wireless (2.45 GHz) devices. *Andrologia*. 2014; 46: 65-72.
24. Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Current Medicinal Chemistry*. 2000; 8: 851–862.
25. Imai N, Kawabe M, Hikage T, Nojima T, Takahashi S, and Shirai T. Effects on rat testis of 1.95-GHz W-CDMA for IMT-2000 cellular phones. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2011; 57: 204–209.
26. Forga'cs Z, Somosy Z, Kubinyi G, Bakos J, Hudák A, Surján A. Effect of whole-body 1800 MHz gsm-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *Reproductive Toxicology*. 2006; 22: 111–117.
27. Ozguner M, Koyu A, Cesur G, Ural M, Ozguner F, and Gokcimen A. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Medical Journal*. 2005; 26: 3.
28. Kim JY, Kim HT, Moon KH and Shin HJ. Longterm exposure of rats to 2.45 GHz electromagnetic field: effects on reproductive function. *Korean Journal Urology*. 2007; 48: 1308–1314.
29. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, and Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicology and Industrial Health*. 2011; 27: 455–463.
30. Almášiová V, Holovská K, Cigánková V, Račeková E, Fabianová K, and Martončíková M. Structural and ultrastructural study of rat testes influenced by electromagnetic radiation. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2014; 77:747–750.
31. Dasdag S, Ketani MA, Akdag Z, Ersay AR, Sari I, Demirtas ÖC et al. Whole-body microwave exposure emitted by cellular phones and testicular function of rats. *Urological Research*. 1999; 27: 219–223.
32. Shahin S, Mishra V, Singh SP, Chaturvedi CM. 2.45-GHz microwave irradiation adversely affects reproductive function in male mouse, *mus musculus* by inducing oxidative and nitrosative stress. *Free Radical Research*. 2014; 48: 511-525.
33. Al-Damegh MA, Rat testicular impairment induced by electromagnetic radiation from a conventional cellular telephone and the protective effects of the antioxidants vitamins C and E. *Clinics*. 2012; 67(7):785-792.
34. Bas O, Odacı E, Mollaoglu H, Uçok K, Kaplan S. Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicol Ind Health* 2009; 25:377-384.
35. Banaceur S, Banasr S, Sakly M, Abdelmelek H. Whole body exposure to 2.45 Ghz WIFI signals: Effects on cognitive impairment in adult triple transgenic mouse models of Alzheimer's disease (3xTg-AD). *Behav Brain Res* 2013; 240:197-201.
36. Salah MB, Abdelmelek H, Abderraba M. Effects of olive leaf extract on metabolic disorders and oxidative stress induced by 2.45 Ghz WIFI signals. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013; 36:826-834.

Meme kanseri hücre hatları üzerine ökse otu ekstraktlarının apoptotik etkisinin araştırılması

Investigation of the apoptotic effect of mistletoe extracts on the breast carcinoma cell lines

Öz

Amaç: Çalışmada, badem üzerinden (Ökse-B), çam üzerinden (Ökse-Ç) ve köknar üzerinden (Ökse-K) toplanarak hazırlanan endemik ökse otunun üç alt türüne ait ekstraktların, MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatları üzerine apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlandı. Daha sonra bu etkilerin, Almanya'da ticari olarak üretilen ve tedavi amacıyla kullanılan aynı alt türlere ait Helixor-A, Helixor-P ve Helixor-M ekstraktlarının etkileri ile karşılaştırılması planlandı. Gereç ve Yöntem: Ökse otu ekstraktlarının sitotoksik etkileri ATP canlılık testleri ile belirlendi. Hücre ölüm şeklinin belirlenmesinde ikili boyama ve hematoksilen boyama birlikte değerlendirildi. Ökse otu ekstraktlarının hücre hatlarında neden oldukları apoptozisin gösterilmesi amacıyla western blot yöntemi kullanılarak PARP (Poly-ADP-riboz polimeraz) proteininin aktivasyonu incelendi. Bulgular: ATP canlılık metoduna göre, MDA-MB-231 hücre hattında, endemik ökse otlarından Ökse-K'nın, ticari ökse otlarında ise Helixor-P'nin daha sitotoksik olduğu bulundu. MCF-7 hücre hattında, endemik ökse otlarından Ökse-B'nin, ticari ökse otlarında ise Helixor-P'nin daha sitotoksik olduğu görüldü. Hematoksilin boyamada, MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarında, endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-K uygulananlarda ve ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor-P uygulananlarda hücre membranlarının parçalandığı gözlemlendi. İkili boyama sonuçları değerlendirildiğinde, Ökse-K uygulanan MDA-MB-231 ve MCF-7 hücrelerinde propidium iyodür ile boyanan ölü hücre sayısı Helixor-P uygulananlara oranla daha fazla olduğu görüldü. Çalışma sonucunda, MDA-MB-231 hücre hatlarında yalnız Helixor-P uygulananlarda apoptotik ölüm gözlenirken, MCF-7 hücre hatlarında Helixor-P ve 48 saat süreyle Ökse-K uygulananlarda apoptotik ölüm gözlemlendi. Sonuç ve Tartışma: Endemik ökse otunun üç farklı alt türüne ait liyofilize ekstraktların, meme kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik etkilerinin ticari ökse otu ekstraktlarına kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu karşılaştırmanın literatürde önemli bir boşluğu dolduracağına inanmaktayız.

Anahtar kelimeler: Meme kanseri, Apoptozis, Ökse otu, Helixor

Abstract

Objective: In this study, it was aimed to investigate the apoptotic effect of the whole extracts of the three sub-species of endemic mistletoe collected from over almond (Mistletoe-B), pine (Mistletoe-Ç) and fir (Mistletoe-K) on the MDA-MB-231 and MCF-7 breast cell lines. Then these effects were designed to compare with the extracts of belong to the same sub-species Helixor-A, Helixor-P and Helixor-M produced commercially in Germany and used for treatment. Materyal and Metod: Cytotoxic effects of the mistletoe extracts was determined with ATP liveliness test. Couple staining and hemotoxilen staining were used together to determine the death of the cell. PARP (Poly-ADP-riboz polymerase) protein activation was examined by western blot to show apoptosis and investigation of the death types caused by endemic and commercial mistletoes in MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines. Results: To the ATP liveliness method, endemic mistletoes Mistletoe-K and commercial mistletoes Helixor-P was more cytotoxic than others in the MDA-MB-231

* Esin Sakallı Çetin
** Nurten Özçelik
*** Serap Çelikler
Kasımoğulları
**** Engin Ulukaya

* Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji AD, Muğla
** Süleyman Demirel
Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD, Isparta
*** Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Bursa
**** Uludağ Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya
AD, Bursa

Yazışma Adresi:
Yrd. Doç. Dr. Esin Sakallı Çetin
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Muğla
Tel: 0 252 211 48 54
e-mail: esincetin@mu.edu.tr

cell lines. In the MCF-7 cell lines endemic mistletoes Mistletoe-B and commercial mistletoes Helixor-P was more cytotoxic than the other extracts. In hemotoxilen staining, it was observed that cell membranes was destroyed in MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines where applied endemic mistletoes Mistletoe-K and commercial mistletoes Helixor-P extracts. When the results of the couple staining results evaluated, dead cell count stained with propidium was more in the Mistletoe-K applied MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines than Helixor-P applied cell lines. In the study, in the MDA cell lines, apoptotic death was observed only in Helixor-P applied ones. In MCF-7 cell lines, apoptotic cell death was observed in Helixor-P and 48-hours Mistletoe-K applied ones. Conclusion: The cytotoxic examination of the lyophilised endemic extracts of three different mistletoe were found to be much faster than the same sub-species of commercial mistletoe extracts on the breast cell lines. We believe that this comparison will fill the important space in the literatures.

Keywords: Breast cancer, Apoptosis, Mistletoe, Helixor

Giriş

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipi olup, kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Son yıllarda meme kanserinin tanı ve tedavisinde birçok ilacın kullanıma girmesine rağmen tedavinin etkinliği tatmin edici şekilde artmamıştır. Bu nedenle halen riskli bir hastalık olma özelliğini koruduğundan daha etkili tedavi şekillerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Meme kanseri tedavilerinin uzun, pahalı ve bazen organ kaybına neden olması ve hastalığın çabuk yayılabilmesi kadınlar arasında en önemli sorunlardan birini oluşturmaktadır. Meme kanserinde erken tanı çok önemlidir. Evreleme açısından heterojen bir grup olan meme kanserinin hangi evrede olduğu tespit edildikten sonra uygun tedavi seçeneğine başlanmalıdır (1).

Geleneksel tedavilerde başarı sınırlı olduğundan, kanser hastalarının çoğu komplementer tıptan köken alan tedavileri denemektedir. Ökse otu (Mistletoe, *Viscum album* L.) preparatları komplementer kanser terapisinin en sık kullanılan formudur. Avrupa'da bu preparatlar sıklıkla standart kemoterapi yada radyoterapi ile birlikte adjuvan tedavi protokollerinde kullanılır. Son yıllardaki çalışmalar, ökse otu ekstraktlarının kültüre edilmiş insan tümör hücreleri ve lenfositlerinin apoptotik yolla ölümlerini indüklediğini ve immün sistemi uyardığını göstermektedir. Bu bulgular, pürifiye bileşenlerden ziyade tüm bitki ekstraktının etkili bir immüno-stimülant ve anti tümör ajan olduğunu göstermektedir (2).

Ökse otu bitkisinden hazırlanan özütler tedavi amacıyla kullanılmak üzere Almanya, Avusturya ve İsviçre'deki çeşitli firmalar tarafından tüm dünyaya pazarlanmaktadır. Bu ticari ürünler pek çok araştırmaya konu olmuş ve sahip oldukları aktiviteleri bilim çevrelerince de desteklenmiştir. Özütün hazırlanma şekli ve bitkinin üzerinde yaşadığı konakçı ağacın türüne göre bu

özütlerin kimyasal içerik açısından farklılık gösterdiği vurgulanmaktadır (3).

Bu çalışmada, ülkemizde yetişen endemik ökse otunun alt türlerine ait tüm bitki ekstraktlarının, iki farklı meme kanseri hücre hattı üzerine apoptotik etkisi araştırıldı. Aynı zamanda bu etki, Almanya'da ticari olarak üretilen ve tedavi amacıyla kullanılan aynı alt türlere ait ekstraktların etkisi ile karşılaştırıldı. Daha ileri ki çalışmalar için başlangıç niteliğinde olan bu çalışma ile ökse otunun sitotoksik etkisinin ortaya konulması hedeflendi.

Gereç ve Yöntem

Ekstraktların Hazırlanması

Ticari ökse otu ekstraktları olan Helixor® A (50mg/ml), Helixor® P (50mg/ml) ve Helixor® M (50mg/ml) Helixor Heilmittel (Germany) firmasından alındı.

Endemik ökse otları ise Isparta-Çünür mahallesinden badem (*Amygdalis orientalis*) dalları üzerinden (*Viscum album* ssp. *album*) (Ökse-B), Isparta-Keçiborlu ilçesinden Çam (*Pinus nigra*) dalları üzerinden (*Viscum album* ssp. *austriacum*) (Ökse-Ç) ve Antalya-Akseki toros dağlarından Köknar (*Abies concolor*) dalları üzerinden (*Viscum album* ssp. *abietis*) (Ökse-K) 2007 yılı Ocak ve Şubat aylarında toplandı. Bitkiler Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tür tayini yapıldıktan sonra herbaryuma kaydedildi.

Ökse otları kurutulduktan sonra toz edilmiş yaprak ve sap kısımları (30 g) 120 ml % 96'lık etanolla (Merck, Darmstadt, Germany) Soxhlet aleti kullanılarak 24 saat süreyle ekstrakte edildi. Ekstrakt 0.22µm enjektör filtre (Millipore, Millex GP Ireland) ile süzülde, sıvı ekstrakt daha sonra soğutuldu ve rotary evaporator kullanılarak 30-45°C'de yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılan ekstrakt Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nde (BİBAM) liyofilizatörde liyofilize hale getirildi ve -20°C'de saklandı (4, 5).

Hücre Kültürü

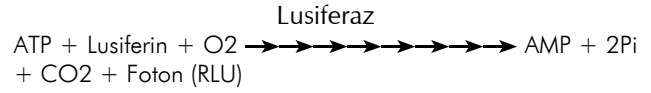
MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanser hücre soyları Amerika Hücre Kültür Koleksiyonundan satın alındı. MDA-MB-231 Hücre hattı için kullanılan besiyeri ortamı için %5 Newborn calf serum (Hyclone USA), %1 L-glutamin (292,3 mg/ml) (EuroClone Europe), %1 Penisilin-G (100 U/ml)-Streptomisin (100µg/ml) (Hyclone, USA) içeren RPMI 1640 (Hyclone, USA) solüsyonu kullanıldı. MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı için %10 Fetal bovin serum (Biochrom AG, Berlin, Almanya), %1 Penisilin-G (100 U/ml) Streptomisin (100µg/ml), (Hyclone, USA) içeren RPMI 1640 (Hyclone, USA) solüsyonu kullanıldı.

ATP Canlılık Testi

ATP testi hücre içerisindeki intraselüler ATP içeriğinin ölçülmesi esasına dayanan yüksek duyarlılığa sahip bir yöntemdir (6). İntraselüler ATP içeriğinin seviyesi yaşayan hücrelerin sayısının belirlenmesinde kullanılan bir göstergedir.

ATP testi için, 96 kuyucuklu düz plaklara (Tissue Culture Test plates, 96 wells Flat, Orange Scientific, Belçika) 133 µl besiyeri içinde 1,675 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,16 mg/ml ekstrakt konsantrasyonları hazırlandı, üzerine MDA-MB-231 ve MCF-7 hücreleri sayılarak 200µl besiyeri içerisinde 5x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde (3 tekrarlı) 96 kuyucuklu plaklara ekildi. Ekstrakt uygulamasını takiben hücreler 72 saat inkübasyona bırakıldı. Hücrelerde 1M H₂O₂, ölümün negatif kontrolü (minimum canlılık, MI) olarak kullanıldı. Pozitif kontrol (maksimum canlılık, MO) olarak sadece besiyeri ortamı içerisinde ekilen hücreler kullanıldı. 72 saatlik inkübasyonların sonunda intraselüler ATP içeriği ATP-TCA kiti (DCS Innovative Diagnostica-Systeme, Hamburg, Almanya) kullanılarak belirlendi. ATP-kitinin içinde yer alan hücre lizis tamponu kullanılarak (50µl/kuyucuk) hücre içerisindeki ATP elde edildi. Oda sıcaklığında 45 dakika inkübasyonu takiben kuyucukların içerisinde 50'şer µl alınıp luminometrik ölçüme uygun beyaz plaklara (Microfluor 2 white, flat bottom 96 well microtiter plates, Thermolab Systems, İngiltere) aktarıldı. Üzerlerine 50µl/kuyucuk lusiferin-lusiferaz enzimi içeren solüsyon ilave edildi. Sonuçta, elde edilen ATP miktarı aşağıda formüle edildiği şekilde lusiferin-lusiferaz bioluminesans reaksiyonu yardımıyla ölçme zamanı 1 saniye olacak şekilde luminometre (Bio-Tek, Winooski, USA) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar rölatif ışık ünitesi (RLU) olarak verildi. Böylece ekstrakt uygulanan

ve uygulanmayan hücrelerin RLU değerlerine göre ekstraktların sitotoksik etkileri hakkında bilgi edinildi.



Hematoksilen Boyama Yöntemi

Hematoksilen boyama için 6 kuyucuklu düz plaklara (Tissue Culture Test plates, 6 wells Flat, Orange Scientific, Belçika) 1,675 mg/ml ekstrakt konsantrasyonları hazırlandı, üzerine MDA-MB-231 ve MCF-7 hücreleri sayılarak 2 ml besiyeri içerisinde 500x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde (3 tekrarlı) 6 kuyucuklu plaklara ekildi. 72 saat sonra hematoksilen boyama prosedürü uygulandı. Altı kuyucuklu düz plaklara ekili hücrelerin üzerlerindeki süpernatantlar falkon tüpe (15 ml sterile polypropylene conical bottom Screw cap tube 92159, Biolab, Macaristan) toplandı. Hücrelerin üzerine 1 ml PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline 10x; Sigma, D1283, ABD) ilave edilip kalan hücrelerde toplanarak aynı falkon tüplere konuldu. Hücre kültür kaplarındaki hücrelerin üzerine 200 µl tripsin (Hyclone, USA) ilave edildi. 4 dakika 37°C derecede bekletildi. 2 ml besiyeri ilave edilip aynı falkon tüplere toplandı. 4 dakika santrifüj edilip süpernatantı atıldı. Pellet üzerine 1 ml PBS ilave edilip tek hücre süspansiyonu oluşturacak şekilde hazırlandı. Sitosantrifüj lam'ları (poli L lizini) etiketlendi, hücrelerin toplanacağı bölge işaretlendi, sitosantrifüj (Eppendorf, USA) içine yerleştirildi, ardından 1 ml'lik hücre süspansiyonunun tamamı eklendi. 2.200 rpm'de 4 dakika sitosantrifüj edildi. Lam'lar çıkartılıp oda ısısında bir gece kurumaya bırakıldı. Lam'lar şaleyeye dizildi, önceden buzdolabında soğutulan % 100 metanol ilave edilerek 15 dak. buzdolabında bekletildi. Daha sonra Lam'lar PBS ile 3x5 dak. yıkandı. Lam'ların üzerini tamamen kaplayacak şekilde hematoksilen damlatıldı ve 5 sn. bekletildikten sonra önce musluk suyundan sonra distile sudan geçirildi. Gliserol damlatıp lamelle kapatıldı. Lamelin çevresine kapatıcı sürülerek hava alması engellendi. Mikroskop (Olympus, Almanya) altında incelendi.

İkili Boyama (Double Staining) Yöntemi

İkili boyama için 6 kuyucuklu düz plaklara (Tissue Culture Test plates, 6 wells Flat, Orange Scientific, Belçika) 1,675 mg/ml ekstrakt konsantrasyonları hazırlandı, üzerine MDA-MB-231 ve MCF-7 hücreleri sayılarak 2 ml besiyeri içerisinde 500x10³ hücre/kuyucuk olacak

şekilde (3 tekrarlı) 6 kuyucuklu plaklara ekildi. 72 saat sonra ikili boyama prosedürü uygulandı.

Stok çözeltileri: Stok çözeltiler PBS içinde hazırlandı.

RNAse (Ribonuclease A, R-500, Sigma)	100 mg / ml
PI (Propidium Iodide, P-4170, Sigma)	100 µg / ml
Hoechst dye (33342, Applichem Biochemica)	200 µg / ml

Çalışma çözeltisi: 10 ml PBS içine;

100 µl PI stok

100 µl RNAse stok

500 µl Hoechst (33342) stoktan ilave edilerek hazırlandı.

Altı kuyucuklu düz plaklara ekili hücrelerin üzerlerindeki süpernatantlar falkon tüpe toplandı. Hücrelerin üzerine 1 ml PBS (Dulbecco's Phosphat Buffered Saline 10x; Sigma, D1283, ABD) ilave edilip kalan hücrelerde toplanarak aynı falkon tüplere konuldu. Hücre kültür kaplarındaki hücrelerin üzerine 200 µl tripsin ilave edildi. 4 dakika 37°C derecede bekletildi. 2 ml besiyeri ilave edilip aynı falkon tüplere toplandı. 4 dakika santrifüj edilip süpernatantı atıldı. Üzerlerine 100 µl double staining çalışma çözeltisi ilave edilip, karıştırıldı. Falkon tüpler alüminyum folyo ile kaplandı, karanlıkta 15-20 dakika 37 derecede inkübe edildi. Temiz bir lam üzerine bu solüsyondan 17 µl konularak lamelle kapatıldı. Lamelin çevresine kapatıcı sürülerek hava alması engellendi. Floresan mikroskop (Inverted microscope, CKX41, Olympus, Almanya) altında incelendi.

Western Blot Yöntemi

Western blot, bir protein karışımı içindeki belirli bir proteini ve büyüklüğünü saptamak için kullanılan nicel bir yöntemdir. Bu metod istenilen bir proteine karşı yönlendirilen yüksek kalitede bir antikor kullanımına bağlıdır. Bu antikor prob olarak kullanılarak ilgili protein bir karışımın içinden saptanabilir. Western blot hücrede ne kadar protein biriktiğini gösterir

Hücre Lizisi

Hücre lizisi için 25 cm²'lik kültür kabında (25 cm², Tissue culture flasks, TTP, İsviçre) konfluent olan hücreler Ökse-K ve Helixor-P'nin 1,675 mg/ml konsantrasyonları ile muamele edildi. 24 ve 48 saat sonra kültür kaplarında ekili hücrelerin üzerindeki süpernatantlar buz üzerindeki falkon tüplere toplandı. Kültür kaplarına 10 ml soğuk PBS (+40C) konuldu ve scraperla (Grainer Bio-one, Almanya) hücreler kültür kaplarından kazınarak falkon tüplere

toplandı. 1000g'de 5 dak. +40C'de santrifüj edildikten sonra süpernatantı atıldı. Hücreler daha sonra 300 µl lizis solüsyonu konularak ependorf tüplere aktarıldı ve 15 saniye sonikasyona konularak homogenizasyon sağlandı. Isı banyosunda 65 0C'de 15 dak bekletildi ve -20'ye kaldırıldı.

Örnekler sample bufferla birlikte hazırlandığı için doğrudan aşağıda belirtilen miktarlarda jele yüklendi. Aşağıda belirtilen hacimlerde yüklendi ve 1 saat süreyle elektroforez yapıldı.

Örnek no	Yüklenen (µl)	Örnek
1	5	Marker
2	20	MCF-7 Konrol
3	20	MCF-7 Ökse-K 24 saat
4	20	MCF-7 Ökse-K 48 saat
5	20	MCF-7 Helixor-P 24 saat
6	20	MCF-7 Helixor-P 48 saat
7	20	MDA-MB-231 Konrol
8	20	MDA-MB-231 Ökse-K 24 saat
9	20	MDA-MB-231 Ökse-K 48 saat
10	20	MDA-MB-231 Helixor-P 24 saat
11	20	MDA-MB-231 Helixor-P 48 saat
12	5	Marker

Transfer

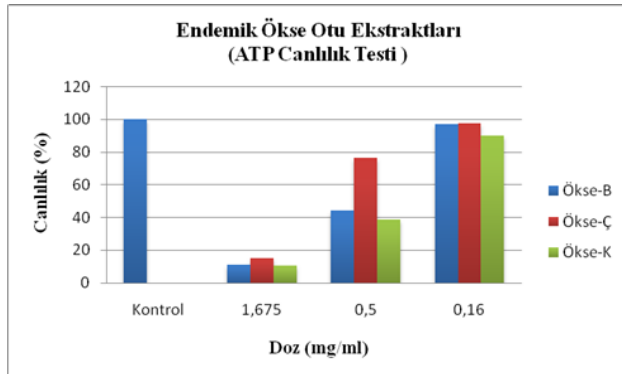
Dry blotting yapıldı. Invitrogen iBlot cihazı (USA) kullanıldı. Protokole uygun olarak düzenek kuruldu. Alttan üste: bakır anot ve nitroseluloz membran (ikisi birlikte), jel, bakır katot ve sünger cihaza yerleştirildi. Cihazın kapağı kapatıldı. P3 (Program 3)'te 8 dakika boyunca transfer gerçekleştirildi. 2x5 dk 20 ml dH₂O yıkama yapıldı. 30 dk 10 ml Blocking solution ile shakerda inkübasyon yapıldı. Tekrar 2x5 dk 20 ml dH₂O yıkama yapıldı. 1 saat 10 ml primer antikor solüsyonu [PARP (46D11) Rabbit mAb (9532)] ile shakerda inkübe edildi. 4x5 dk 20 ml yıkama solüsyonu ile elde yıkandı. 30 dk 10 ml Secondary Antibody Solution eklendi ve shakerda inkübe edildi. 4x5 dk 20 ml yıkama solüsyonu ile elde yıkandı. 3x2 dk 20 ml dH₂O yıkandı. Hazırlanan Substrat solüsyonunun tamamı membran üzerine yavaşça döküldü. Karanlıkta 5 dakika inkübe edildi. Karanlıkta üzerine film kapatılarak görüntüleme yapıldı (1 saat).

Bulgular

MDA-MB-231 Hücrelerinde ATP Canlılık Testi

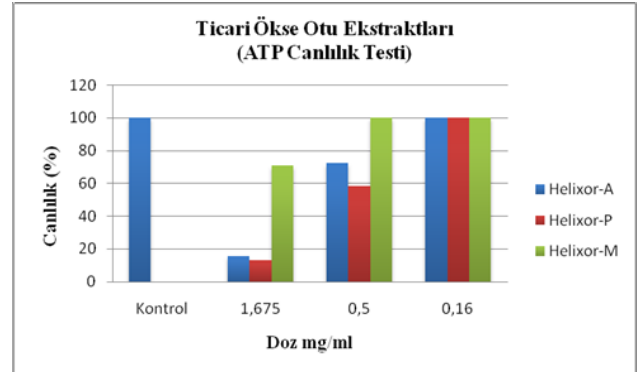
Endemik ve ticari ökse otu ekstraktlarının, MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatlarının canlılığı üzerine olan sitotoksik etkilerini belirleyebilmek için ATP canlılık testi yapıldı.

Üç doz 1,675, 0,50 ve 0,16 mg/ml uygulanan Ökse-B, Ökse-Ç ve Ökse-K endemik ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre soylarında intrasellüler ATP miktarına olan etkisi şekil 1'de gösterildi. Buna göre 1,675 mg/ml dozda üç endemik ökse otu ekstraktında sitotoksik etki gözlenirken, 0,50 mg/ml dozda Ökse-K'nın Ökse-B'ye oranla, 0,16 mg/ml dozda Ökse-K'nın diğerlerine oranla daha sitotoksik olduğu gözlemlendi.



Şekil 1: Endemik ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre hattı üzerine olan etkisinin ATP testi ile gösterilmesi.

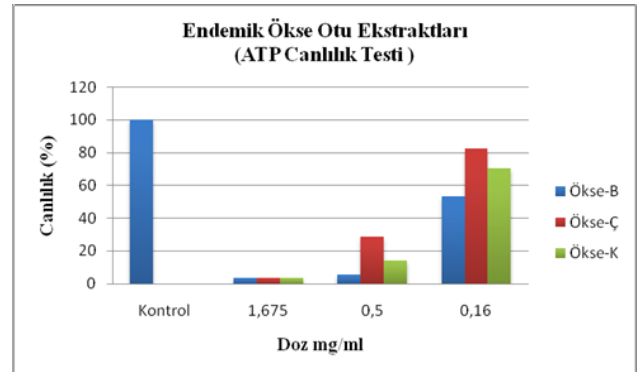
Üç doz (1,675, 0,50 ve 0,16 mg/ml) uygulanan Helixor-A, Helixor-P ve Helixor-M ticari ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre soylarında intrasellüler ATP miktarına olan etkisi şekil 2'de gösterildi. Buna göre 1,675 mg/ml dozda Helixor-A ve Helixor-P'de sitotoksik etki gözlenirken, 0,50 mg/ml dozda Helixor-P'nin Helixor-A'ya oranla, daha sitotoksik olduğu gözlemlendi.



Şekil 2: Ticari ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre hattı üzerine olan etkisinin ATP testi ile gösterilmesi.

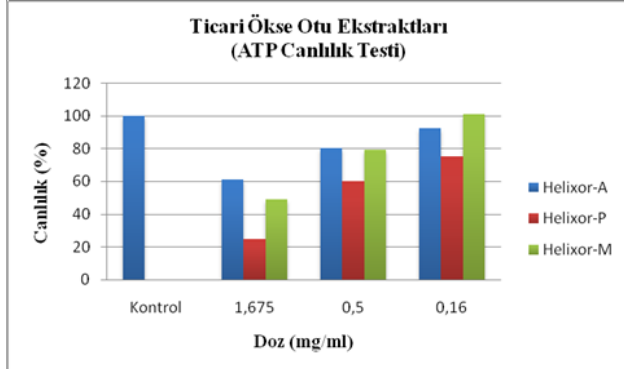
MCF-7 Hücrelerinde ATP Canlılık Testi

Üç doz (1,675, 0,50 ve 0,16 mg/ml) uygulanan Ökse-B, Ökse-Ç ve Ökse-K endemik ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hatlarında intrasellüler ATP miktarına olan etkisi şekil 3'de gösterildi. Buna göre 1,675 mg/ml dozda üç endemik ökse otu ekstraktında sitotoksik etki gözlenirken, 0,50 mg/ml ve 0,16 mg/ml dozlarda Ökse-B'nin diğerlerine oranla daha sitotoksik olduğu gözlemlendi.

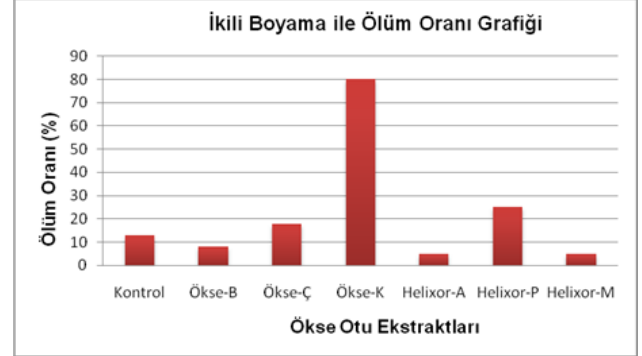


Şekil 3: Endemik ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hattı üzerine olan etkisinin ATP testi ile gösterilmesi.

Üç doz (1,675, 0,50 ve 0,16 mg/ml) uygulanan Helixor-A, Helixor-P ve Helixor-M ticari ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hatlarında intrasellüler ATP miktarına olan etkisi şekil 4'de gösterildi. Buna göre her üç dozda Helixor-P'nin diğerlerine oranla daha sitotoksik olduğu gözlemlendi.



Şekil 4: Ticari ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hattı üzerine olan etkisinin ATP testi ile gösterilmesi.

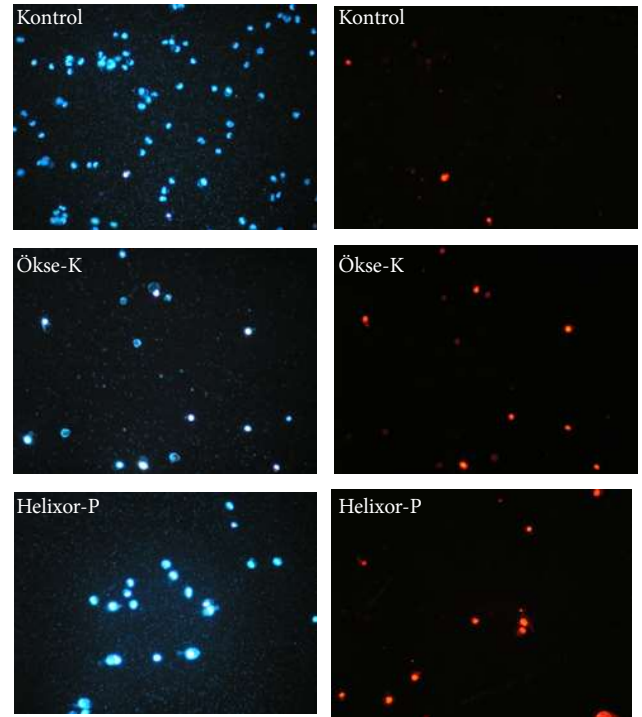


Şekil 5: Ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre hattı üzerine olan etkisinin ikili boyama ile gösterilmesi.

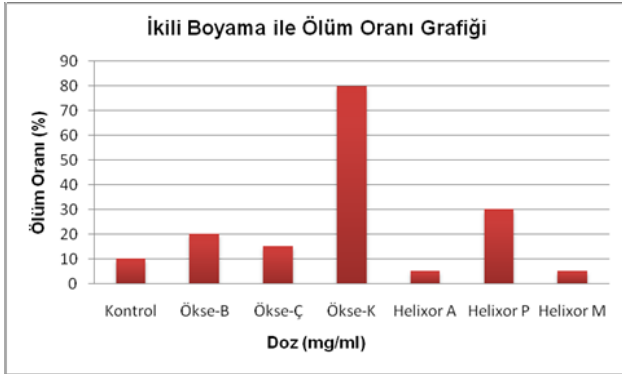
İkili Boyama (Double Staining) Sonuçları

Ökse-B, Ökse-Ç ve Ökse-K endemik ve Helixor A, Helixor P ve Helixor M ticari ökse otu ekstraktlarının 1,675 mg/ml dozunun uygulandığı MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanseri hücre hatlarında 72 saat sonunda canlı ve ölü hücre ayırımı yapabilmek için, canlı veya ölü tüm hücreleri boyayabilen Hoechst boyası ile sadece ölü hücreleri boyayabilen propidium iyodür beraber kullanıldı. Nukleusları Hoechst boyasıyla mavi renk boyanmış canlı ve ölü hücreler ile nukleusları propidium iyodür boyasıyla kırmızı renk boyanmış ölü hücreler floresan mikroskopunda sayılarak % ölüm oranları hesaplandı, grafik şekil 5 ve şekil 7'de gösterildi. Sonuçlar incelendiğinde MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında, ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor A ve Helixor M'nin uygulanan dozlarında, endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-B ve Ökse-Ç'ye oranla ölüm yüzdeleri daha düşük gözlemlendi. Ökse-K uygulanan hücrelerde ise Helixor-P uygulanan hücelere oranla ölüm yüzdesi fazla bulundu (Şekil 5). Boyanan hücrelerin fotoğraflanması 10x objektif ile floresan mikroskopu altında yapıldı (Şekil 6).

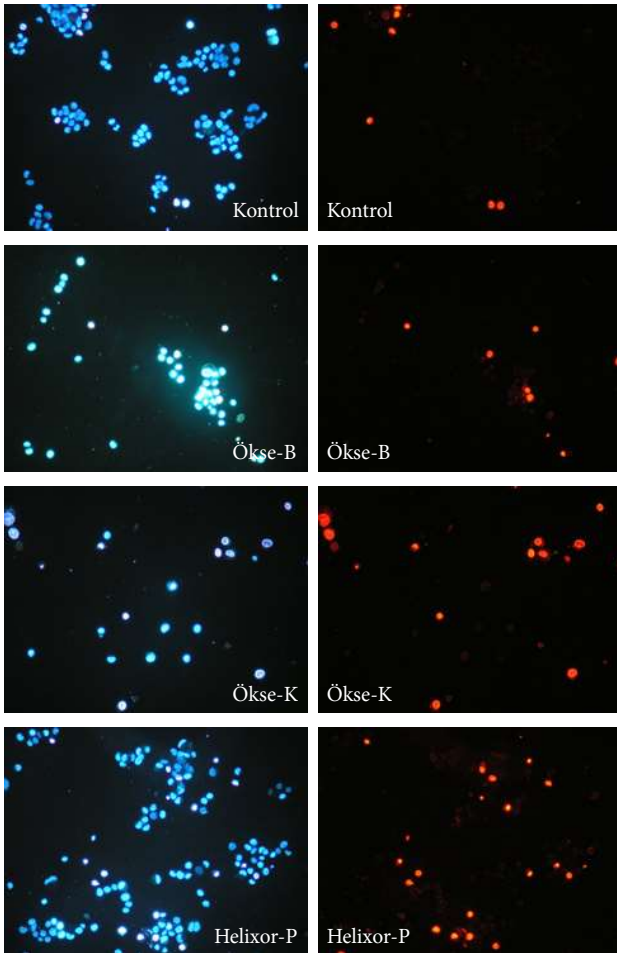
MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında ise, ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor A ve Helixor M'nin uygulanan dozlarında endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-B ve Ökse-Ç'ye oranla ölüm yüzdeleri daha düşük gözlemlendi. Ökse-K (%80) uygulanan hücelerde ise Helixor-P (%30) uygulanan hücelere oranla ölüm yüzdesi çok daha fazla bulundu (Şekil 7). Boyanan hücrelerin fotoğraflanması 10x objektif ile floresan mikroskopu altında yapıldı (Şekil 8).



Şekil 6: Hoechst ile boyanan canlı ve ölü MDA-MB-231 hücreleri sol panelde, Propidium iyodür ile boyanan ölü MDA-MB-231 hücreleri sağ panelde (x 10). Ökse-K ve Helixor-P 1,675 mg/ml.



Şekil 7: Ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hattı üzerine olan etkisinin ikili boyama ile gösterilmesi.



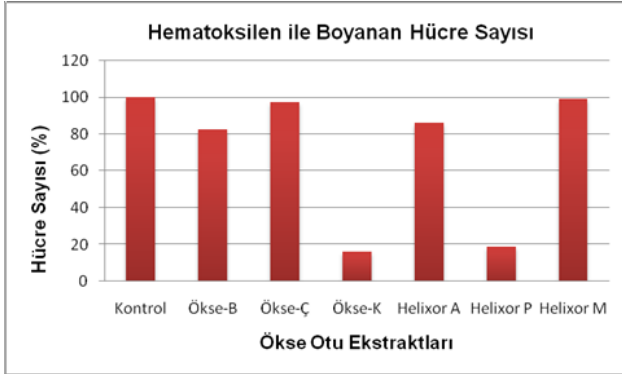
Şekil 8: Hoechst ile boyanan canlı ve ölü MCF-7 hücreleri sol panelde, Propidium iyodür ile boyanan ölü MCF-7 hücreleri sağ panelde (x10). Ökse-M, Ökse-K ve Helixor-P 1,675 mg/ml.

Hematoksilen Boyama ile Hücre Ölümünün Tespiti

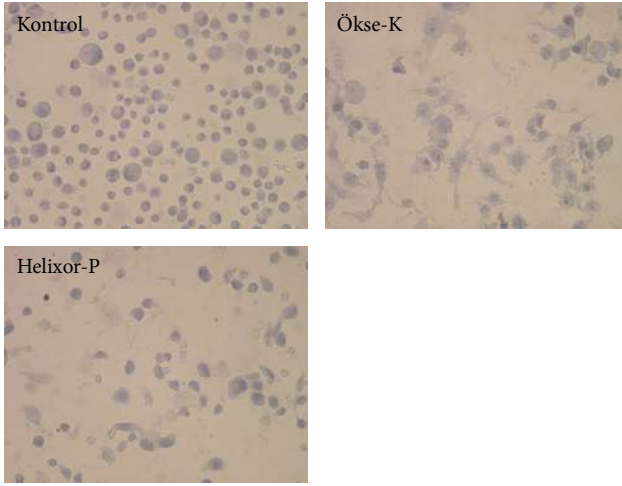
Ökse-B, Ökse-Ç ve Ökse-K endemik ve Helixor A, Helixor P ve Helixor M ticari ökse otu ekstraktlarının 1,675 mg/ml dozu uygulanan MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin 72 saat sonunda morfolojilerini incelemek amacıyla hematoksilen boyama yapıldı. Nükleusları düzgün ve mavi renk boyanmış hücreler ışık mikroskopunda sayılarak % oranları hesaplandı, grafikler şekil 9 ve şekil 11'de gösterildi.

Elde edilen sonuçlara göre, MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinde, endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-Ç ve ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor M'nin uygulanan dozlarında kontrol hücrelerine oranla hücre sayısında bir değişiklik gözlenmezken, Ökse-B ve Helixor-A'da hücre sayısının azaldığı, bu azalmanın özellikle Ökse-K ve Helixor-P'de çok fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 9). Ayrıca Ökse-B, Ökse-Ç, Helixor A ve Helixor M ekstraktlarının uygulandığı hücrelerde kontrol hücrelerine kıyasla hücre morfolojilerinde değişim gözlenmedi. Ökse-K uygulanan hücrelerde hücre zarları parçalanmış ve nükleusları kontrole oranla daha koyu mavi boyanmıştı. Helixor-P uygulanan hücrelerde ise hücre zarlarının tamamıyla parçalandığı gözlemlendi (Şekil 10).

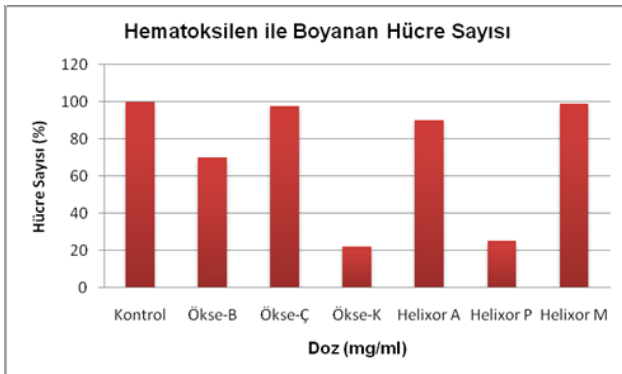
MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde ise, endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-Ç ve ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor M'nin uygulanan dozlarında kontrol hücrelerine oranla hücre sayısında bir değişiklik gözlenmezken Ökse-B'de Helixor-A'ya oranla hücre sayısının azaldığı, bu azalmanın özellikle Ökse-K ve Helixor-P'de çok fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 11). Ayrıca Ökse-B, Ökse-Ç, Helixor A ve Helixor M ekstraktlarının uygulandığı hücrelerde kontrol hücrelerine kıyasla hücre morfolojilerinde değişim gözlenmedi. Ökse-K uygulanan hücrelerde yoğunluğun çok azaldığı, bazı hücrelerin çok fazla parçalandığı hatta nükleuslarının olmadığı, olan nükleuslarında küçük olduğu gözlemlendi. Helixor-P uygulanan hücrelerde ise yoğunluğun azaldığı ve nükleusların kontrole benzediği gözlemlendi (Şekil 12).



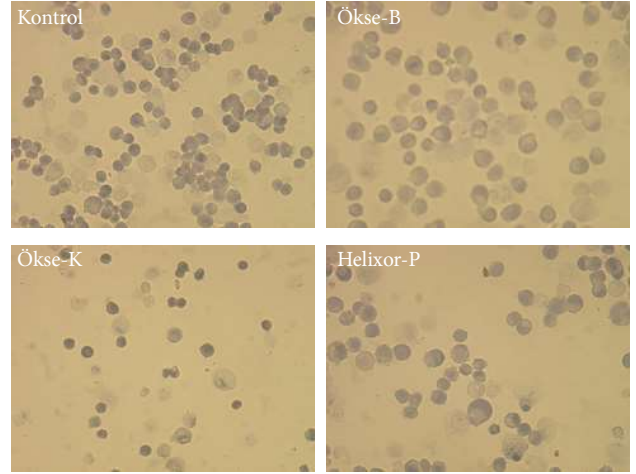
Şekil 9: Ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MDA-MB-231 hücre hattı üzerine olan etkisinin hematoksilin boyama ile gösterilmesi.



Şekil 10. Hematoksilin ile boyanan MDA-MB-231 hücreleri (10x). Ökse-K ve Helixor-P 1,675 mg/ml.



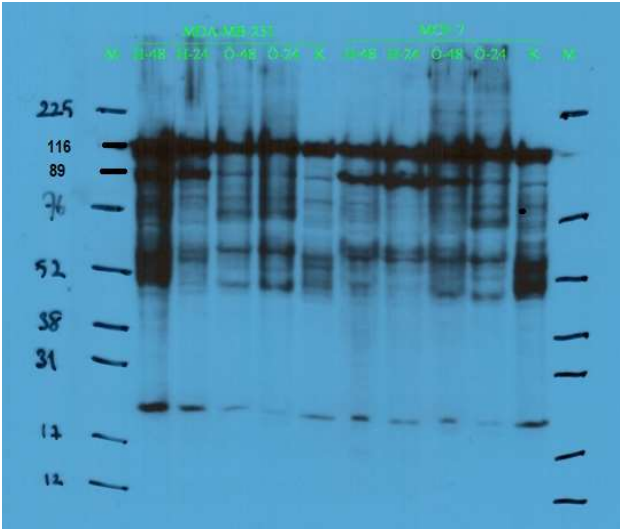
Şekil 11: Ökse otu ekstraktlarının 72. saatte MCF-7 hücre hattı üzerine olan etkisinin hematoksilin boyama ile gösterilmesi.



Şekil 12: Hematoksilin ile boyanan MCF-7 hücreleri (X20). Ökse-B, Ökse-K ve Helixor-P 1,675 mg/ml.

Ökse Otu Ekstraktlarının MDA-MB-231 ve MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerine Apoptotik Etkilerinin Western Blot Metodu ile Tespiti

Ökse-K endemik ve Helixor-P ticari ökse otu ekstraktlarının 24 ve 48 saat süreyle 1,675 mg/ml dozu uygulanan MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında apoptotik etkiyi incelemek amacıyla western blot metodu yapıldı. MDA-MB-231 hücre hatlarında yalnız Helixor-P uygulananlarda 116 kDa molekül ağırlığındaki PARP'ın kırılarak 89 kDa ağırlığında band oluşturduğu gözlemlendi. MCF-7 hücre hatlarında ise Helixor-P uygulananlarda ve 48 saat süreyle Ökse-K uygulananlarda PARP'ın kırılarak aktive olduğu tespit edildi (Şekil 13).



Şekil 13. Ökse-K ve Helixor-P ökse otu ekstraktlarının 24 ve 48 saat süreyle uygulanan MDA-MB-231 ve MCF-7 İnsan Meme Kanseri hücre hatları üzerine apoptotik etkilerinin western blot metodu ile gösterilmesi. M: Marker, K: Kontrol, Ö-24: Ökse-K 24 saat uygulama, Ö-48: Ökse-K 48 saat uygulama, H-24: Helixor-P 24 saat uygulama, H-48: Helixor-P 48 saat uygulama

Tartışma

Her yıl 1.2 milyon kişiyi etkileyen meme kanseri, kadınlarda en sık rastlanan kanser tipidir. Meme kanserinin sık görülmesi, sıklığının giderek artması, erken evrelerde teşhis ve tedavi edilebilir olması, meme kanserinin önemini daha da arttırmaktadır (7). Ancak kanser vakalarının sayısının artışı ve kullanılan ilaçlara karşı direnç, yeni teşhis ve tedavi yöntemlerine duyulan ihtiyacı artırmaktadır. Geleneksel tedavilerde başarı sınırlı olduğundan, kanser hastalarının çoğu komplementer tıptan köken alan tedavileri denemektedir. Viscum album preparatları komplementer kanser terapisinin en sık kullanılan formudur. Bu preparatlar sıklıkla standart kemoterapi yada radyoterapi ile birlikte adjuvan tedavi protokollerinde kullanılır. Post-operatif tedaviyle birlikte kombine tedavi hastanın yaşam kalitesini artırır ve meme kanserli hastalarda nüksetme aralığını artırır (2).

Apoptozisi indüklemesi ve bu yolla hücrenin apoptotik ölümüne neden olması bakımından ökse otunun kanser tedavisinde önemi büyüktür. Pürifiye edilmiş lektin II'nin insan akciğer kanser hücresi A549'da doxorubicin, sisplatin ve taxol gibi standart kanser ilaçları ile kombine edilerek sitotoksik etkisi araştırılmış, çalışma sonucunda,

ökse otunun sitotoksitenin artırılması yönünde kullanılabileceği belirtilerek ökse otu terapisi için yeni klinik bir bakış açısı önerilmiştir (8).

Bu çalışmada, endemik ökse otunun alt türlerine ait tüm bitki ekstraktları olan Ökse-B, Ökse-Ç ve Ökse-K ekstraktlarının, MDA-MB-231 östrojen reseptörü negatif ve MCF-7 östrojen reseptörü pozitif olan iki farklı meme kanseri hücre hattı üzerine apoptotik etkisi araştırıldı. Bu etki, Almanya'da ticari olarak üretilen ve tedavi amacıyla kullanılan aynı alt türlere ait Helixor-A, Helixor-P ve Helixor-M ekstraktları'nın etkileri ile karşılaştırıldı.

Ökse otu ekstraktlarının kanser hücreleri üzerine olan sitotoksitelerini değerlendirmek için 72 saatlik inkübasyon sonunda ATP canlılık testi yapıldı. Hücre içerisindeki intraselüler ATP içeriğinin ölçülmesi esasına dayanan, yüksek duyarlılığa sahip bir yöntem olan ATP-TCA metodunda, canlı hücrelerdeki ATP'nin lusiferin ile reaksiyonunu takiben ortaya çıkan luminesan ışımının ölçümüne dayanmaktadır. Oluşan ATP canlı hücre sayısı ile direkt orantılı bir değerdir (6).

ATP canlılık metoduna göre, MDA-MB-231 hücre hattında endemik ökse otlarından Ökse-K'nın 1,675 ve 0,50 mg/ml dozlarında, ticari ökse otlarında ise Helixor-P'nin aynı dozlarda daha sitotoksik olduğu bulundu. MCF-7 hücre hattında ise endemik ökse otlarından Ökse-B'nin, ticari ökse otlarında ise Helixor-P'nin daha sitotoksik olduğu görüldü.

MDA-MB-231 hücre hattı için ikili boyama ve hematoksilen boyama sonuçları ATP canlılık testi ile benzer sonuçları verirken, MCF-7 hücre hattında farklılık gözlenmektedir. Her üç boyama sonucu da endemik ökse otlarından Ökse-K'nın sitotoksik etkisinin, Ökse-B'den daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum hücrelerin, ATP canlılık testinin yapıldığı 96 kuyucuklu platelerdeki 0,37 cm²'lik büyüme alanındaki davranışı ile boyamalar için kullanılan daha geniş yüzey alanına sahip 6 kuyucuklu platelerdeki 9,46 cm²'lik büyüme alanındaki davranışı arasında fark olduğunu göstermektedir. Bu farklılık ticari ökse otu ekstraktlarının, MDA-MB-231 hücreleri üzerine etkisini incelemek için yapılan hematoksilen boyamada her üç Helixor'un etkisi 24. saatte başlarken ATP testi için ekim yapılan 96 kuyucuklu platelerde Helixorların sitotoksik etkisi 72. saatte görülmüştür.

Hücre ölüm şeklinin belirlenmesinde ikili boyama ve hematoksilen boyama birlikte değerlendirildi. Hematoksilen boyamada MDA-MB-231 hücre

hatlarında endemik ökse otu ekstraktlarından Ökse-K uygulananlarda ve ticari ökse otu ekstraktlarından Helixor-P uygulananlarda hücre membranlarının parçalandığı gözlemlendi. İkili boyama sonuçları değerlendirildiğinde, 1,675 mg/ml Ökse-K uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde propidium iyodür ile boyanan ölü hücre sayısı Helixor-P uygulananlara oranla daha fazla olduğu görülmektedir. İkili boyamada propidium iyodürün, membran bütünlüğü bozulan hücrelerin dolayısıyla nekrozla ölen hücrelerin nükleuslarını boyadığı bilinmektedir. Hücre kültürü ortamında apoptoza giden hücrelerin başlangıçta hücre membranları bütünlüğünü korumasına rağmen ileri dönemlerde in vivo ortamdaki gibi etrafındaki makrofajlar tarafından fagosite edilemeyeceklerinden sekonder nekroz gelişir. Böylece membran bütünlükleri bozulduğu için hücreler non-vital boyalarla (propidium iyodürle) boyanma özelliği kazanmaya başlar (9). Bu nedenle ikili boyamada Ökse-K ve Helixor-P uygulamasından 72 saat sonra propidium iyodür ile boyanan ölü MDA-MB-231 hücrelerinin ölümünün nekrozdan mı yoksa sekonder nekrozdan mı olduğu bilinmemektedir. Bu durumun uygulama süresinin uzun olmasından kaynaklandığına karar verilmiştir. Benzer durum MCF-7 hücre hattıyla yapılan çalışmalar içinde geçerlidir. Mevcut uygulama süresinde hücrelerin çoğu membran bütünlüğünü kaybettiği için karşılaştırma hücre yoğunluğuna bakılarak yapılmıştır. Hematoksilin boyamada MCF-7 hücre hatlarında, MDA-MB-231 hücre hatlarında olduğu gibi endemik ökse otlarından Ökse-K'nın ticari ökse otlarından da Helixor-P'nin diğer ekstraktlara oranla daha fazla hücre ölümüne neden olduğu bulunmuştur. İkili boyama sonuçları değerlendirildiğinde, 1,675 mg/ml Ökse-K uygulanan MCF-7 hücrelerinde propidium iyodür ile boyanan ölü hücre sayısı Helixor-P uygulananlara oranla daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak ölümlerin nekrozdan mı yoksa sekonder nekrozdan mı kaynaklandığı bilinmemektedir.

Endemik ve ticari ökse otu ekstraktlarının MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarında neden oldukları ölüm türlerinin araştırılması ve apoptosizin gösterilmesi amacıyla western blot yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde çalışma planlanırken apoptosizi doğrulamak için aktif kaspaz-3 tayininin yapılması planlanmıştır fakat MCF-7 hücre hatlarında kaspaz-3 geninin mutasyona uğraması nedeniyle (10) her iki hücre hattında da aktif olan

ve ökse otu ekstraktının apoptotik mekanizmasında kırılarak aktive olduğu bilinen PARP (Poly-ADP-riboz polimeraz) proteininin aktivasyonu incelendi. Çalışma sonucunda, MDA-MB-231 hücre hatlarında yalnız Helixor-P uygulananlarda apoptotik ölüm gözlenirken, MCF-7 hücre hatlarında Helixor-P ve 48 saat süreyle Ökse-K uygulananlarda apoptotik ölüm gözlemlendi.

Kim et al. (2003) tarafından ökse otu lektin-II'nin U937 miyeloid lösemi hücre hatlarında apoptotik etkisinin araştırıldığı çalışmada, apoptosiz mekanizmasında yer alan kaspaz-3, kaspaz-9, JNK (c-Jun-N-terminal kinaz), PKC- δ (Protein kinaz C- δ) ve PARP'ın aktivasyonuna bakılmış ve 116 kDa ağırlığındaki PARP'ın kırılarak 85 kDa band oluşturduğu gözlenmiştir (11). Kim et al. (2001) tarafından yapılan bir başka çalışmada interferon- γ ile muamele edilen U937 miyeloid lösemi hücre hatlarında, Fas (CD95/APO-1) ve FasL ekspresyonu ile PARP ve JNK aktivasyonu western blotla araştırılmıştır. Araştırma sonunda interferon- γ ile muamele edilen hücrelerde Fas ve FasL ekspresyonunun artmadığı, normal U937 hücrelerinde olduğu gibi PARP ve JNK aktivasyonunun olduğu gözlenmiştir (12).

Meşe üzerinde yetişen ökse otundan hazırlanan ve standardize edilmiş miktarda lektinleri içeren fermente ekstrakt VA Qu FrF'in insan venöz endotel hücre hatlarına (HUVEC) apoptotik etkisi Duong Van Huyen et al. (2002) tarafından araştırılmış ve sonuçları doğrulamak için western blotla PARP'ın aktivasyonuna bakılmış ve 116 kDa ağırlığındaki PARP'ın kırılarak 85 kDa band oluşturduğu gözlenmiştir (13).

Lyu et al. (2001) kore ökse otu lektininin (Viscum album var. coloratum agglutinin, VCA) HL-60 akut premyeloid lösemi hücre hattı üzerine apoptotik etkisinin araştırıldığı çalışmada western blotla kaspaz-3 ve PARP aktivasyonu gösterilmiştir (14).

Bugüne kadar ökse otunun apoptosizi indüklemesi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmaların büyük çoğunluğunun ülkemizde yetişen türden farklı bir tür olan Kore ökse otu (Korean mistletoe, Viscum album var. coloratum) ve lektinleri ile yapılmış olduğu görülmektedir. Ülkemizde yetişen endemik ökse otu türü olan Avrupa ökse otu (European mistletoe, Viscum album L.) ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı çok sınırlıdır, kullanılan alt türler bizim ülkemizde yetişenlerden farklıdır ve çalışmaların tamamı ticari olarak hazırlanmış ökse otu preparatları kullanılarak yapılmıştır. Bu bağlamda endemik Avrupa ökse otunun üç farklı alt

türüne ait liyofilize ekstraktların meme kanseri hücre hatları üzerine apoptotik etkilerinin ticari ökse otu ekstraktlarıyla kıyaslanarak incelenmesinin literatürde önemli bir boşluğu dolduracağına inanmaktayız.

Kaynaklar

1. Spears M, Bartlett JM. Human Epidermal Growth Factor Receptor Dimerization Analysis in Breast Cancer Diagnosis: Potential for Improving Testing Accuracy and Treatment Selection. *Molecular Diagnosis Therapy*, 2009; 13(6):359-365.
2. Eggenschwiler J, Balthazar L, Stritt B, Pruntsch D, Ramos M, Urech K, Rist L, Simões-Wüst A P. and Viviani A. Mistletoe lectin is not the only cytotoxic component in fermented preparations of *Viscum album* from white fir (*Abies pectinata*). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2007, 7:14
3. Sakallı Çetin E., Özçelik N. Kanser tedavisinde kullanılan ökse otu (*Viscum album*) ekstraktının apoptozis mekanizması. *J Med Sci* 2007, 27:533-539.
4. Khan NH, Nur-E Kamal MSA, Rahman M . Antibacterial activity of *Euphorbia thymifolia* Linn. *Indian J Med Res*, 1988; 87: 395–397.
5. Celikler S, Yildiz G, Vatan O and Bilaloglu R. In vitro Antigenotoxicity of *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyceae) extract against induction of chromosome aberration, sister chromatid exchange and micronuclei by mutagenic agent MMC. *Biomedical and Environmental Sciences* 2008; 21, 492-498.
6. Andreotti PE, Cree IA, Kurbacher CM, Hartmann DM, Linder D, Harel G et al. Chemosensitivity testing of human tumors using a microplate adenosine triphosphate luminescence assay: clinical correlation for cisplatin resistance of ovarian carcinoma. *Cancer Research* 1995; 55: 5276-5282,
7. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55:74-108.
8. Siegle I, Fritz P, McClellan M, Gutzeit S, Murdter TE. Combined cytotoxic action of *Viscum album* agglutinin-1 and anticancer agents against human A549 lung cancer cells. *Anticancer Res* 2001;21(4A):2687-91.
9. Ulukaya E, Sarimahmut M, Cevatemre B, Ari F, Yerlikaya A, Dimas K. Additive enhancement of apoptosis by TRAIL and fenretinide in metastatic breast cancer cells in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2014 May;68(4):477-82.
10. Janicke R U. MCF-7 breast carcinoma cells do not express caspase-3. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 117:219–221
11. Kim MS, Lee J, Lee KM, Yang SH, Choi S, Chung SY et al. Involvement of hydrogen peroxide in mistletoe lectin- II-induced apoptosis of myeloleukemic U937 cells. *Life Sci* 2003;73:1231-43.
12. Kim MS, Lee J, So HS, Lee KM, Jung BH, Chung SY et al. Gamma-interferon (IFN-gamma) augments apoptotic response to mistletoe lectin-II via upregulation of Fas/Fas L expression and caspase activation in human myeloid U937 cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2001;23: 55-66.
13. Duong Van Huyen JP, Bayry J, Delignat S, Gaston AT, Michel O, Bruneval P, Kazatchkine MD, Nicoletti A, Kaveri SV. Induction of apoptosis of endothelial cells by *Viscum album*: a role for anti-tumoral properties of mistletoe lectins. *Mol Med*. 2002 Oct;8(10):600-6.
14. Lyu SY, Park WB, Choi KH, Kim WH. Involvement of caspase-3 in apoptosis induced by *Viscum album* var. *coloratum* agglutinin in HL-60 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001 Mar;65(3):534-41

Isparta il merkezinde görev yapan toplum lideri bazı meslek gruplarının sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi

Evaluation of healthy lifestyle behaviours of community leader some professional groups in Isparta city center

* Habibe Özçelik
** Yonca Sönmez

* Akdeniz Üniversitesi
Hemşirelik Fakültesi,
Halk Sağlığı Hemşireliği AD,
Antalya
** Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Halk Sağlığı AD, Isparta

Öz

Giriş: Bu çalışma, Isparta il merkezinde görev yapan aile hekimleri, sınıf öğretmenleri ve imamların; sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Kesitsel tipteki araştırmanın evrenini Isparta il merkezinde görev yapan sınıf öğretmenleri, aile hekimi ve imamlar oluşturmuştur. Aile hekimleri ve imamlar için örnek seçilmeyerek tamamına ulaşmak hedeflenmiş, sınıf öğretmenleri için ise örnek büyüklüğü hesaplanarak 218 kişiye ulaşmak hedeflenmiştir. Araştırmanın sonunda 209 sınıf öğretmeni, 52 aile hekimi ve 95 imama ulaşılmıştır (sırasıyla ulaşma oranları; %95,4, %86,6 ve %93,1). Bağımlı değişken Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışlarıdır. Araştırmanın verileri Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği-II (SYBDÖ-II) ve kişisel bilgi formu kullanılarak toplanmıştır. Değişkenleri içeren form gözlem altında katılımcılar tarafından doldurulmuştur. **Bulgular:** Araştırma grubunun yaş ortalaması $42,9 \pm 6,6$, %75,3'ü erkek, %89,3'ü üniversite mezunu, %96,6'sı ise evlidir. SYBDÖ-II puan ortalaması $136,3 \pm 22,0$ iken, aile hekimlerinin SYBDÖ-II puan ortalaması $126,0 \pm 22,3$, sınıf öğretmenlerinin SYBDÖ-II puan ortalaması $138,8 \pm 21,1$ ve imamların SYBDÖ-II puan ortalaması $136,4 \pm 22,2$ olarak tespit edilmiştir. Aile hekimlerinin SYBDÖ-II puan ortalaması diğer mesleklere göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($F=7\ 388$, $p=0,001$). Çoklu regresyon analizinde, SYBDÖ toplam puanı ile kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişiler arası destek ve stres yönetimi alt ölçek puanlarının meslekler açısından anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır. SYBDÖ toplam puanı ve egzersiz dışındaki tüm alt faktör puanları açısından aile hekimi olmanın negatif yönde etkisi vardır. Sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktör puanları için mesleğe ek olarak cinsiyetin de anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Erkek olmak, sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktör puanları için negatif yönde etkili olup erkeklerde sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktör puanları kadınlara göre anlamlı olarak daha düşüktür. **Sonuç:** Sağlıklı yaşam biçimi davranışları toplam puanı aile hekimlerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşük olmasına rağmen, her üç meslek için de orta düzeyde olduğu ve toplum liderleri için yetersiz olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sağlıklı yaşam biçimi davranışları, aile hekimi, öğretmen, imam

Abstract

Objective: In this study, the healthy lifestyle behaviours of family physicians, classroom teachers and imams who work at Isparta city center have been evaluated. **Materials and Methods:** The universe of the cross-sectional study has consisted of classroom teachers (506), family physicians (60) and imams (102) working at Isparta city center. For family physicians and imams, the example has not been chosen and it has been aimed to achieve to all of them. For classroom teachers it has been aimed to achieve to 218 people by calculating the sample size. At the end of the study, 209 classroom teachers, 52 family physicians and 95 imams have been reached (respectively reaching rates 95.4%, 86.6% and 93.1%). Dependent variables are healthy lifestyle behaviours. Survey data has been collected by using Healthy Lifestyle Behaviors Scale-II (SYBDÖ-II) and personal information form. Form containing the variables has been filled by the participants under observation.

* 18 Haziran 2015 tarihinde, İzmir'de, I. Ulusal Halk Sağlığı Hemşireliği Kongresi'nde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

Results: The average of age of the study group is 42.9 ± 6.6 , 75.3% is male and 89.3% is graduate student while 96.6% is married. While SYBDÖ-II point average is 136.3 ± 22.0 , SYBDÖ-II average score of family physicians is 126.0 ± 22.3 , SYBDÖ-II average score of classroom teachers is 138.8 ± 21.1 and SYBDÖ-II average score of imams is 136.4 ± 22.2 . SYBDÖ-II average score of family physicians is significantly lower compared to other occupations ($F=7.388$, $p=0.001$). In multiple regression analysis, for self-actualization with SYBDÖ total score, health responsibility, nutrition, interpersonal support and stress management subscale scores significant differences have been determined in terms of occupations. In terms of both SYBDÖ total score and all subscales scores except exercise, being a family physician has a negative effect. For health responsibility and nutrition subscale scores it has been determined that both occupation and sex have significant effect. Being a male has a negative effect for health responsibility and nutrition subscale scores, for males health responsibility and nutrition subscale scores are significantly lower than women. Conclusion: Although healthy lifestyle behaviors total score of family physicians is significantly lower than other groups, it is considered to be moderate for all three professions and inadequate for community leaders.

Keywords: Healthy lifestyle behaviours, family physician, teacher, imam.

Giriş

Günümüz sağlık anlayışı toplumun sağlığını korumayı, sürdürmeyi ve geliştirmeyi benimsemektedir (1). Sağlığın geliştirilmesi kişilerin optimal sağlık durumunun sağlanması yönünde hareket edebilmeleri için, yaşam tarzlarını değiştirmelerine yardım eden bir sanat ve bilim dalıdır (2). Sağlığa yönelik herhangi bir davranış ve yaşam durumu için eğitim, ekonomik, örgütsel ve çevresel desteklerin bileşimi olarak tanımlanmaktadır. Bu kavram ile sağlıklı yaşamak için eğitim ve çevre şartlarına göre düzenlenmiş destek eylemlerinden söz edilmektedir (3). Ayrıca sağlık düzeyini en üst seviyeye çıkarmak için bilgi, beceri, tutum ve olumlu davranışın kazanılması ve sürdürülmesi gereklidir. Bu durum ancak sağlıklı yaşam biçimi davranışları (SYBD) ile alışkanlık haline gelebilir (4).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre gelişmiş ülkelerde ölümlerin %70-80'inin ve gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin %40-50'sinin sağlıksız yaşam biçiminden kaynaklanmaktadır (1). Bu nedenle, öğretmen, hekim, din adamı gibi toplum liderleri, sağlığı geliştirmenin önemini kavramalı, toplumdaki bireylerin olumlu sağlık davranışı geliştirmesi için motivasyon artırıcı davranışları sergilemelidir (1, 5). Lise öğrencilerinde obezite sıklığı ve SYBD'nin obeziteyle ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışmada eğitimciler, sağlık çalışanları ve aile büyüklerinin, sağlıklı toplumlar için sağlıklı yaşam biçimini benimseyerek hayatlarını sürdürmeleri ve bu konuda topluma farkındalık sağlamaları gerektiği vurgulanmaktadır (6). Edirne merkez ilçe ilköğretim okullarında çalışan öğretmenlerin, sağlık davranışlarının orta düzeyde olduğu tespit edilmiş ve öğretmenlere meslek hayatı boyunca sağlığı geliştirici eğitimler yapılmalı, doğru

sağlık davranışları arttırılmalı ve topluma iyi bir rol modeli olmaları desteklenmeli önerilerinde bulunulmuştur (7). Sınıf öğretmenlerinin sağlıklı yaşam biçimlerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise sağlık davranışlarının orta düzeyde olduğu tespit edilmiş ve öğretmenlerin öğrencilere rol modeli oldukları vurgulanmıştır (8). Öğretim elemanlarının sağlıklı ilgili davranışlarının incelendiği başka bir çalışmada benzer olarak SYBD orta düzeyde olup, öğretim elemanlarının yetersiz kaldıkları konularda eğitim programları uygulanması tavsiye edilmektedir (4). Sağlık çalışanlarında SYBD'nin değerlendirildiği bir çalışmada, SYBD düşük düzeyde bulunmuş ve topluma liderlik yapacak olan sağlık personelinin konuyla ilgili olumsuz ya da eksik davranışlarını düzelterek iyi bir rol modeli olmaları önerilmiştir (5). Hemşirelerin SYBD'leri ise orta düzeyde tespit edilmiş ve konuyla ilgili olumsuz ya da eksik davranışlarını düzelterek iyi bir rol modeli olmaları gerektiği vurgulanmıştır (9). Asistanlarda yapılan bir çalışmada yine SYBD düşük düzeyde bulunmuş, en düşük puan fiziksel aktivite alt faktörü için saptanmış ve fizik aktivitenin öneminin algılanması için aktivite programlarının düzenlenmesi, egzersiz yapmaya uygun alt yapının hazırlanması ve bu hizmetlerden yararlanmaları için bireylerin teşvik edilmesi, hastanelerde hekimlerin fiziksel aktivite yapmalarına uygun salonlar oluşturulması önerilmiştir (10).

Türkiye'de sağlık çalışanları ve öğretmenlerde yapılan çalışmalarda sağlık davranışlarının beklenen düzeyde olmadığı saptanmış ve yeni çalışmalar yapılarak bu eksikliğin nedenlerinin araştırılması gerektiği vurgulanmıştır. Aynı zamanda literatürde imamların sağlık davranışlarını değerlendiren çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada Isparta

il merkezinde görev yapan, topluma liderlik etmesi beklenen aile hekimleri, sınıf öğretmenleri ve imamların sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının ve bunları etkileyen etmenlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Kesitsel tipteki araştırmanın evrenini Isparta il merkezinde görev yapan aile hekimleri, sınıf öğretmenleri ve imamlar oluşturmaktaydı. Aile hekimi sayısı 60, sınıf öğretmeni sayısı 506, imam sayısı ise 102'dir. Aile hekimi ve imamlar için örnekleme yapılmaksızın, araştırmaya katılmayı kabul eden her birey araştırma kapsamına alınırken, insan gücü ve zaman açısından sınırlılıkların olmasından dolayı sınıf öğretmeni evreninin tamamına ulaşmak hedeflenmemiş örnek seçimine gidilmiştir. Olayın ortalamasının değerlendirileceği ve evren sayısının bilindiği durumlar için $N=506$, $t=1,96$, evren standart sapması=18, $d=3$ kabul edilerek örnek büyüklüğü 109 olarak hesaplanmıştır. Desen etkisi 2 alınarak 218 sınıf öğretmene ulaşılması hedeflenmiştir. Her okul bir küme kabul edilerek basit rasgele örnekleme yöntemiyle 14 okul belirlenmiş ve bu okullarda çalışan 218 öğretmen araştırma kapsamına alınmıştır. Araştırmanın yapılacağı kurumlardan (Isparta Valiliği İl Sağlık Müdürlüğü, İl Millî Eğitim Müdürlüğü ve İl Müftülüğü) gerekli izinler alınmıştır. Araştırmanın bağımlı değişkeni sağlıklı yaşam biçimi davranışları olup Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği (SYBDÖ-II) ile değerlendirilmiştir. Sağlığı geliştirme yaşam stili ölçüm aracı, Pender'in sağlığı geliştirme modeline dayandırılarak bireylerin sağlığı geliştirme davranışlarını ölçmek için Walker ve arkadaşları tarafından 1987 yılında geliştirilmiştir. Ölçeğin ilk versiyonu 48 madde ve altı faktörden oluşmaktadır. 1996 yılında tekrar çalışılarak revize edilmiş ve SYBDÖ-II olarak adlandırılmıştır. SYBDÖ-II, 52 madde ve altı faktörden oluşmaktadır. Alt faktörler; manevi gelişim, kişilerarası ilişkiler, beslenme, fiziksel aktivite, sağlık sorumluluğu ve stres yönetimidir. Ölçeğin tüm maddeleri olumludur, ters maddesi yoktur. İşaretleme 4'lü likert tipi ölçek üzerine yapılır ve hiçbir zaman (1), bazen (2), sık sık (3), düzenli olarak (4) şeklinde derecelendirilerek puanlanır. Ölçeğin tamamı için en düşük puan 52, en yüksek puan 208'dir. SYBDÖ-II'nin, Türkçeye uyarlanmasına yönelik geçerlik ve güvenilirlik çalışması son olarak Bahar ve arkadaşları tarafından 2008'de yapılmıştır ve geçerlik ve güvenilirliği yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu nedenle ölçeğin

Türk toplumunun sağlıklı yaşam biçimi davranışlarını değerlendirmede kullanılması önerilmektedir (11).

Veri toplamada, önceden oluşturulup denemesi yapılmış, araştırma grubunun sosyo-demografik durumlarını ve mesleki bilgilerini içeren kişisel bilgi formu ve SYBDÖ-II kullanıldı. Veri toplama formu bilgilendirme sonrası araştırmaya katılmayı kabul eden bireylere, 1 Aralık 2010-30 Nisan 2011 tarihleri arasında gözlem altında uygulandı.

Araştırma verileri bilgisayar ortamında değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak sayı, yüzde, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler, analitik değerlendirmelerde ki-kare, bağımsız gruplarda t testi, Mann Whitney U testi, Tek Yönlü Varyans Analizi, Kruskal Wallis ve Çoklu Regresyon Analizi kullanıldı. Post hoc test olarak Tek Yönlü Varyans Analizinde Tukey testi dikkate alındı ve anlamlılık için sınır değer olarak $p<0,05$ kabul edildi. Kruskal Wallis Analizinde ise Post hoc test olarak Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi kullanıldı ve anlamlılık için sınır değer olarak $p<0,001$ alındı.

Bulgular

218 sınıf öğretmeninden, 209'una, 102 imamdan 95'ine, 60 aile hekiminden ise 52'sine olmak üzere (ulaşma oranları sırasıyla %95,4, %93,1, %86,6) toplam 356 kişiye ulaşılmıştır.

Araştırma grubunun %24,7'sini kadınlar oluşturmaktadır, %96,6'sı evlidir ve %95,5'inin çocuğu vardır. Aile hekimi, sınıf öğretmeni ve imamların çoğu üniversite mezunudur (sırasıyla %88,8 %95,7 %75,8). Grubun yaş ortalaması $42,9\pm 6,7$ 'dir (aile hekimlerinde $42,4\pm 4,0$, sınıf öğretmenlerinde $44,2\pm 6,3$, imamlarda $40,3\pm 7,7$). Aylık gelir ortalaması en yüksekte en düşüğe doğru aile hekimi, sınıf öğretmeni ve imamlar için sırasıyla $4607,8\pm 1123,9$, $1908,1\pm 525,5$ ve $1643,8\pm 206,4$ TL'dir. Ortalama meslekte çalışma süreleri ise $20,1\pm 7,6$ yıldır (aile hekimlerinde $17,7\pm 3,5$, sınıf öğretmenlerinde $22,1\pm 6,6$, imamlarda $16,8\pm 9,5$).

Toplum liderlerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları puan ortalaması $136,3\pm 22,0$ olup mesleklere göre anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$). Aile hekimlerinin puanı, sınıf öğretmeni ve imamlara göre anlamlı olarak daha düşüktür (Tukey testi, sırasıyla p değeri $<0,001$, $0,014$). Kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişilerarası destek ve stres yönetimi alt faktörleri açısından mesleklere göre anlamlı farklılık saptanmıştır. Sınıf

öğretmenlerinin sağlık sorumluluğu alt ölçek puanının ortalaması imam ve aile hekimlerine göre anlamlı olarak daha yüksektir (Tukey testi, sırasıyla p değeri 0,008, <0,001). Kendini gerçekleştirme ve kişilerarası destek alt faktörleri için gruplar arası farklılık aile hekimlerinin, imamlar ve öğretmenlere göre daha düşük puana sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Tukey testi, sırasıyla p değeri, kendini gerçekleştirme için 0,005, <0,001, kişiler arası destek için <0,001, <0,001). Beslenme ve stres yönetimi puanları, aile hekimlerinde öğretmenlere göre anlamlı olarak daha düşüktür (Tukey testi, sırasıyla p değerleri <0,001, p=0,020). Egzersiz alt faktöründe ise meslekler göre anlamlı farklılık yoktur (Tablo 1).

Tablo 1. Araştırma grubunun meslekler göre SYBDÖ'den aldıkları toplam puan ve alt faktör puanları ile bu puanların karşılaştırılması

SYBDÖ	Tüm grup (n=356)	Aile Hekimi (n=52)	Sınıf Öğretmeni (n=209)	İmam (n=95)	F	p*
	Ortalama ± S S					
Toplam	136,3±22,0	126,0±22,3	138,8±21,1	136,4±22,2	7 388	0,001
Kendini gerçekleştirme	28,4±4,1	26,3±4,1	28,9±4,1	28,6±3,9	8 241	<0,001
Sağlık sorumluluğu	21,7±5,0	19,3±4,7	22,7±4,9	20,9±5,0	11 447	<0,001
Egzersiz	16,4±4,8	16,3±5,0	16,2±4,6	16,9±5,1	0,672	0,511
Beslenme	22,9±4,6	20,9±4,7	23,6±4,4	22,3±4,6	8 259	<0,001
Kişilerarası destek	26,8±4,3	24,2±3,8	27,1±4,4	27,7±4,0	11 491	<0,001
Stres yönetimi	20,1±4,1	18,7±4,1	20,4±4,0	20,3±4,3	3 752	0,024

* Tek Yönlü Varyans analizi

SYBDÖ'nün her bir maddesine ait puan ortalamaları incelendiğinde, en yüksek puan (3,8±0,5) 'İlahi bir gücün varlığına inanırım' maddesine, en düşük puan ise (1,6±0,1) 'sıvı ve katı yağı, kolesterolü düşük bir diyeti tercih ederim' maddesine aittir. Sağlık sorumluluğu alt faktöründen alınan puanlar birbirine yakın olmasına rağmen, en yüksek puanı 'Doktora ya da bir sağlık görevlisine, vücudumdaki olağandışı belirti ve bulguları anlatırım' önermesi almıştır. Egzersiz alt faktöründen 'günlük işler sırasında egzersiz yaparım', beslenme alt faktöründen 'Her gün 2-4 öğün meyve yerim', kişilerarası destek alt faktöründen 'İnsanları başarıları için takdir ederim', stres yönetimi alt faktöründen ise 'Yeterince

uyurum' maddesi en yüksek puana sahiptir.

Cinsiyete göre sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktörü puanları açısından anlamlı farklılık vardır. Kadınların sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktörlerinden aldıkları puanlar erkeklere göre daha yüksektir. Araştırma grubunun SYBDÖ puanları eğitim, yaş ve medeni durum değişkenlerine göre anlamlı farklılık göstermemektedir (Tablo 2). Araştırmaya katılanların çocuğu olma durumuna göre SYBDÖ toplam puan ve alt ölçek puanlarında anlamlı farklılık yoktur (tümü için p>0,05).

Eşi lise ve üzeri eğitilmiş olanların beslenme alt ölçeğinden aldıkları puanlar, eşi ilköğretim ve altı eğitimlilere göre daha yüksektir (p=0,034). Bireylerin meslekte çalışma yılına göre ölçekten aldıkları toplam puan anlamlı olarak değişmektedir (p=0,019). Meslekte 21 yıl ve üzeri çalışanların aldıkları toplam puan, 11-20 yıl çalışanlara göre daha yüksektir (Tukey testi, p=0,014). Kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişilerarası destek ve stres yönetimi alt faktörlerinden alınan puanlar meslekte çalışma yılına göre farklılık

göstermektedir. Kendini gerçekleştirme, beslenme ve stres yönetimi alt faktörlerinden 21 ve üzeri yıl çalışanların aldıkları puanlar 11-20 yıl çalışanlara göre daha yüksektir (Tukey testi, sırasıyla p değerleri 0,047, 0,047 ve 0,030). Sağlık sorumluluğu alt faktöründeki anlamlı farklılık ise 21 ve üzeri yıl çalışanların aldıkları puanın 11-20 yıl çalışanlara göre daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır (Tukey testi, p=0,022). Meslekte 11-20 yıl çalışanların kişilerarası destek alt faktöründen aldıkları puan 0-10 ve 21 ve üzeri yıl çalışanlara göre daha düşüktür (Tukey testi, sırasıyla p değerleri 0,009, 0,022) (Tablo 2).

Isparta il merkezinde görev yapan toplum lideri bazı meslek gruplarının sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi

Tablo 2. Tüm grubun SYBDÖ'den aldıkları toplam puan ve alt faktör puanlarının sosyodemografik özelliklere göre karşılaştırılması (n=356)

SYBDÖ		Toplam puan	Kendini gerçekleştirme	Sağlık sorumluluğu	Egzersiz	Beslenme	Kişilerarası destek	Stres yönetimi
Ortalama ± S S								
Cinsiyet	Kadın (n=88)	138,1±19,8	28,7±3,9	23,1±4,7	16,0±4,4	23,9±4,3	26,7±4,1	19,7±3,7
	Erkek (n=268)	135,7±22,7	28,4±4,3	21,2±5,1	16,6±4,9	22,5±4,6	26,9±4,4	20,2±4,2
	p*	0,356	0,563	0,002	0,340	0,011	0,663	0,299
Medeni durum	Evli (n=344)	136,1±22,1	28,4±4,2	21,7±5,1	16,3±4,7	22,8±4,6	26,9±4,4	20±4,1
	Diğer (n=12)	141,8±17,9	29,9±2,6	21,9±3,6	18,7±5,4	23,4±4,6	26,4±3,5	21,5±4,4
	p†	0,409	0,199	0,763	0,132	0,896	0,604	0,373
Yaş	20-29 (n=17)	135,6±21,2	29,1±3,6	22,2±5,5	14,8±5,8	21,8±3,9	27,9±3,9	19,8±4,2
	30-39 (n=61)	139,4±24,2	29,2±4,5	21,9±5,3	17,0±5,3	23,0±4,9	27,8±4,1	27,5±4,6
	40-49 (n=223)	136,1±21,4	28,3±4,1	21,7±5,1	16,4±4,5	23,0±4,5	26,6±4,3	20,5±4,6
	50 ve üzeri (n=55)	133,6±22,1	27,7±4,2	21,1±4,7	16,0±4,8	22,0±4,5	26,2±4,8	20,0±4,0
	p‡	0,470	0,283	0,740	0,351	0,321	0,109	0,841
Eğitim durumu	Lise (n=18)	139,8±20,3	29,7±3,9	21,0±4,6	18,1±5,3	22,3±4,7	28,0±3,1	20,8±4,2
	Üniversite (n=318)	136,6±22,1	28,4±4,2	21,9±5,1	16,3±4,8	23,0±4,6	26,8±4,4	20,2±4,1
	Yüksek lisans/ Doktora (n=20)	128,1±20,7	27,8±4,6	19,4±4,5	16,0±4,6	20,9±3,7	25,7±4,0	18,4±3,8
	p‡	0,205	0,372	0,105	0,372	0,128	0,238	0,152
Eşinin eğitim durumu	İlköğretim (n=104)	135,7±20,6	28,6±4,0	20,9±4,7	16,5±4,8	22,4±4,0	27,1±4,1	20,4±4,0
	Lise ve üzeri (n=252)	136,3±22,7	28,3±4,3	22,0±5,2	16,2±4,7	23,0±4,8	26,8±4,5	20,0±4,1
	p*	0,300	0,627	0,228	0,902	0,034	0,263	0,738
Meslekte çalışma süresi	0-10 yıl (n=46)	136,9±22,8	29,0±4,0	21,7±5,7	15,9±5,6	22,1±4,7	28,1±4,9	20,1±4,0
	11-20 yıl (n=121)	131,8±23,4	27,7±4,6	20,7±4,9	16,0±4,8	22,2±4,6	25,8±4,4	19,4±4,5
	21 yıl ve üzeri (n=189)	139,0±20,5	28,8±3,9	20,3±5,0	16,7±4,6	23,4±4,4	27,2±4,3	20,6±3,8
	p §	0,019	0,036	0,029	0,385	0,030	0,004	0,039

* Bağımsız Gruplarda t Testi † Mann Whitney U Testi ‡ Kruskal Wallis Varyans Analizi § Tek Yönlü Varyans Analizi

Araştırmaya katılanların, sağlık davranışlarında sigara içme ve alkol kullanma durumuna göre anlamlı farklılık yoktur. Kronik hastalığı olanların egzersiz alt faktöründen aldıkları puan daha düşükken, kişilerarası destek alt faktöründen aldıkları puan daha yüksektir (sırasıyla p=0,014, p=0,035). İlaç kullanmayanların SYBDÖ toplam puanı, ilaç kullananlara göre daha yüksek

olmasına rağmen önemli farklılık yoktur. Alt faktörler arasında sadece egzersize ait puanlar ilaç kullananlarda daha düşüktür. BKİ'ye göre gruplandırıldığında ise zayıf, normal kilolu ve hafif kilolu olanların SYBDÖ'den aldıkları toplam puan obez ve morbit obez olanlara göre daha yüksektir fakat istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Araştırma Grubunun SYBDÖ'den aldıkları toplam puan ve alt faktör puanlarının diğer sağlık açısından riskli durumlara göre karşılaştırılması (n=356)

Sağlık açısından riskli durumlar	SYBDÖ Toplam puan	Kendini gerçekleştirme	Sağlık sorumluluğu	Egzersiz	Beslenme	Kişilerarası destek	Stres yönetimi	Ortalama ± S S	
Sigara içme durumu	Halen içenler (n=95)	136,7±21,7	23,8±4,0	21,6±5,0	16,1±5,0	22,4±4,4	27,6±4,4	20,1±3,9	
	Diğer (n=261)	136,2±22,2	28,3±4,2	21,7±5,1	16,5±4,7	23,0±4,6	26,6±4,3	20,1±4,2	
	p*	0,692	0,794	0,642	0,157	0,785	0,504	0,897	
Alkol kullanma durumu	Kullanan (n=41)	131,6±23,8	26,9±4,4	20,6±5,1	16,1±4,9	21,7±5,1	26,4±4,7	19,9±4,4	
	Kullanmayan (n=315)	136,9±21,7	28,6±4,1	21,8±5,1	16,4±4,8	23,0±4,5	26,9±4,3	20,1±4,1	
	p*	0,521	0,697	0,958	0,437	0,310	0,637	0,277	
Kronik hastalık varlığı	Var (n=87)	133,8±22,2	27,5±4,4	21,8±5,0	15,8±4,1	22,6±4,6	26,3±4,9	19,9±3,9	
	Yok (n=269)	137,1±21,9	28,7±4,0	21,7±5,1	16,6±5,0	22,9±4,6	27,0±4,1	20,2±4,2	
	p*	0,836	0,299	0,829	0,014	0,704	0,035	0,276	
İlaç kullanma durumu	Evet (n=73)	134,0±21,6	27,4±4,7	21,9±4,8	15,9±3,9	22,9±4,6	26,1±4,7	19,8±3,8	
	Hayır (n=283)	136,9±22,1	28,7±4,1	21,6±5,1	16,5±5,0	22,8±4,6	27,0±4,3	20,2±4,2	
	p*	0,663	0,308	0,685	0,007	0,581	0,213	0,150	
BKİ'ye göre gruplandırma	Zayıf, normal ve hafif kilolu (n=281)	137,2±22,4	28,6±4,2	21,8±5,1	16,7±4,9	22,9±4,6	27,1±4,3	20,2±4,2	
	Obez ve morbit obez (n=75)	132,9±20,4	28,0±4,1	21,2±4,9	15,3±4,1	22,7±4,4	25,8±4,3	19,9±3,7	
	p*	0,279	0,583	0,700	0,052	0,936	0,653	0,096	

*Bağımsız gruplarda t testi

Çoklu regresyon analizinde, belirleyicilik katsayısı düşük olmakla birlikte, SYBDÖ toplam puanı ile kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişiler arası destek ve stres yönetimi alt ölçek puanları için meslekler açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. Egzersiz dışındaki tüm alt faktör puanları açısından aile hekimi olmanın negatif yönde etkisi vardır. Sözü edilen tüm alt ölçeklerden alınan puanlar aile hekimlerinde sınıf öğretmenleri ve imamlara göre anlamlı olarak daha

düşüktür. Sağlık sorumluluğu ve beslenme alt ölçek puanları için mesleğe ek olarak cinsiyetin de anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır. Erkek olmak, sağlık sorumluluğu ve beslenme alt ölçek puanları için negatif yönde etkili olup erkeklerde sağlık sorumluluğu ve beslenme alt ölçek puanları kadınlara göre anlamlı olarak daha düşüktür (Tablo 4).

Tablo 4. Sağlıklı yaşam biçimi davranışları toplam puanı ve alt ölçek puanları ile ilişkili bulunan değişkenler ve çoklu regresyon analizi sonuçları

Ölçekler	Tek değişkenli analizlerde ilişkili bulunan ve çoklu regresyon analizine alınan değişkenler	Çoklu regresyon analizi		
		R ²	Sabit	Beta
SYBDÖ*- Toplam puan	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Meslekte çalışma süresi (yıl)	0,034	140,074	-0,188‡
				-0,010
SYBDÖ*- Kendini Gerçekleştirme	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Meslekte çalışma süresi (yıl)	0,039	29,831	-0,207‡
				-0,066
SYBDÖ*- Sağlık Sorumluluğu	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Cinsiyet (Kadın=0, Erkek=1) Meslekte çalışma süresi (yıl)	0,077	23,661	-0,225‡
				-0,131‡
				0,004
SYBDÖ*- Egzersiz	Kronik hastalık (yok=0, var=1) İlaç kullanma (yok=0, var=1)	0,005	16.565	-0,070
				-0,001
SYBDÖ*- Beslenme	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Cinsiyet (Kadın=0, Erkek=1) Meslekte çalışma süresi (yıl) Eşinin eğitim durumu (lise ve üstü=0, ilköğretim=1)	0,061	23.725	-0,167‡
				-0,131‡
				0,062
				-0,011
SYBDÖ*- Kişilerarası Destek	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Meslekte çalışma süresi (yıl) Kronik hastalık (yok=0, var=1)	0,042	28,696	-0,196‡
				-0,090
				-0,065
SYBDÖ*- Stres Yönetimi	Meslek (sınıf öğretmeni=0, imam=1, aile hekimi=2) Meslekte çalışma süresi (yıl)	0,017	20,051	-0,113‡
				0,039

* Sağlıklı Yaşam Biçimi Davranışları Ölçeği, † p<0.05, ‡ p≤0.001

Tartışma

Isparta il merkezinde görev yapan aile hekimleri (126,0±22,3), sınıf öğretmenleri (138,8±21,1) ve imamların (136,4±22,2) SYBDÖ'den aldıkları toplam puan ortalaması 136,3±22,0 olarak saptanmış olup orta düzeyde olduğu söylenebilir. Özellikle topluma sağlık eğitimi verme görevi bulunan aile hekimlerinin, bu bilgileri kendi yaşamlarına aktararak SYBD geliştirmelerinin

sınıf öğretmenleri ve imamlara göre daha düşük olması dikkat çekicidir. Literatür incelendiğinde farklı gruplarda yapılan çalışmalarda SYBDÖ puan ortalamasının; sınıf öğretmenlerinde 126,9±17,7 (8), ilköğretim öğretmenlerinde 134,5±17,9 (7), sağlık çalışanlarında 121,8±18,0 (5), tıp fakültesi asistanlarında 116,3±17,8 (10), hemşirelerde 121,2±18,3 (9), öğretim elemanlarında 139,5±18,0 (4), tıp fakültesi

öğrencilerinde $134,4 \pm 9,7$ (12), sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinde $116,9 \pm 18,9$ (13), kalp hastalarında $127,4 \pm 20,5$ (14), 15-49 yaş arası kadınlarda $112,7 \pm 20,8$ (15) olarak bulunduğu görülmüştür. Diğer çalışmalarla kıyaslandığında bizim çalışmamızda elde edilen puanın literatüre benzer olmakla birlikte toplum liderleri için yeterli olmadığı düşünülmüştür.

Her üç meslek grubunda da en yüksek puan kendini gerçekleştirme ($28,4 \pm 4,1$), en düşük puan ise egzersiz ($16,4 \pm 4,8$) alt faktörüne aittir. Kendini gerçekleştirme alt faktörünü sırasıyla kişilerarası destek, beslenme, sağlık sorumluluğu, stres yönetimi ve egzersiz alt faktörleri izlemektedir. En düşük puanın egzersizden alınması, bu konuda toplumun büyük kısmının yetersiz kaldığını ve insanların yaşam şekillerinde ciddi düzenlemeler yapılması gerektiğini düşündürmektedir. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi asistanlarında SYBD'nin incelendiği bir çalışmada da en yüksekte en düşüğe doğru alt faktör puan ortalamaları benzer şekilde sıralanmaktadır (10). Sınıf öğretmenlerinin (8), sağlık yüksekokulu öğrencilerinin (1), birinci basamak sağlık kurumları çalışanlarının (16), öğretim elemanlarının (4) ve üniversite öğrencilerinin (17) sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının incelendiği çalışmalarda da en yüksek puanın kendini gerçekleştirme, en düşük puanın ise egzersiz alt faktörüne ait olduğu görülmüştür. Literatüre benzer olarak öğretmenler, sağlık çalışanları ve imamların egzersiz konusunda yetersiz olması, bu konuda toplumsal olarak eksikliğimizi bir kez daha göz önüne koymaktadır.

Çoklu regresyon analizinde, belirleyicilik katsayısı düşük olmakla birlikte, SYBDÖ toplam puanı ile kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişiler arası destek ve stres yönetimi alt ölçek puanları için aile hekimi olmanın negatif yönde etkisi olduğu saptanmıştır. Sözü edilen tüm ölçeklerden alınan puanlar aile hekimleri için anlamlı olarak daha düşüktür. Tüm bu alt faktörlerde sağlık çalışanı olan aile hekimlerinin daha düşük puan alması dikkat çekicidir ve kendi sağlıklarına yeteri kadar önem vermediklerini göstermektedir. Egzersiz alt faktöründen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamasının nedeninin, her üç meslek grubunda da en düşük puanın egzersiz alt faktörüne ait olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ancak, egzersiz yapma oranlarında farklılığın tespit edildiği gruplar da mevcuttur. Sağlık Bilimleri Fakültesi öğrencilerinin sağlık davranışlarının değerlendirildiği

bir çalışmada, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon bölümü öğrencilerinin egzersiz alt faktöründen aldıkları puan, Hemşirelik öğrencilerinin aldıkları puandan daha yüksek bulunmuştur (13).

Sağlık sorumluluğu ve beslenme alt ölçek puanları için erkek olmanın negatif yönde etkisi olduğu saptanmıştır. Yalçinkaya ve arkadaşlarının (5), sağlık çalışanları üzerinde yaptığı çalışmada kadınların erkeklere göre sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktörlerinden daha yüksek puan aldıkları görülmektedir. Lise öğrencilerini konu alan bir çalışmada 12. sınıf kız öğrencilerinin kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu ve kişilerarası destek faktörlerinden aldıkları puan ortalamaları erkeklere göre daha yüksektir (18). Üniversite öğrencilerinin SYBD'nin incelendiği bir çalışmada kız öğrencilerin SYBDÖ puan ortalaması ve beslenme davranışı puanları erkek öğrencilere göre yüksek iken (19), hemşirelik yüksekokulu öğrencilerinin sağlık davranışlarının değerlendirildiği diğer bir çalışmada kız öğrencilerde kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu ve kişilerarası destek puanları erkek öğrencilere göre yüksek, egzersiz puanı ise daha düşük bulunmuştur (20). Meslek Yüksekokulu öğrencilerinde ise erkeklerin egzersiz puanının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (21). Bu sonuçlar, kızlarla erkekler arasında çalışmadan çalışmaya değişiklik gösteren alanlarda farklı sonuçlar bulunduğunu ortaya koymaktadır.

Bireylerin meslekte çalışma yılına göre ölçekten aldıkları toplam puan değerlendirildiğinde, 21 yıl ve üzeri çalışanların aldıkları puan, 11-20 yıl çalışanlara göre anlamlı olarak daha yüksektir. Kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişilerarası destek ve stres yönetimi alt faktörlerinden alınan puanlar meslekte çalışma yılına göre farklılık göstermektedir. Buna karşın yapılan çoklu regresyon analizinde de meslekte çalışma süresinin, alt faktör puanları üzerine etkisinin kaybolduğu saptanmıştır. Karakoç ve Güler'in çalışmasında, sınıf öğretmenlerinin hizmet yılı arttıkça, kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, egzersiz, beslenme, stres yönetimi alt faktör puanları ve genel ölçek toplam puan ortalaması anlamlı olarak yükselmektedir (8). Bir diğer çalışmada öğretmenlerin sağlık sorumluluğu ve beslenme puanları görev süresi ile anlamlı düzeyde artış göstermektedir (7). Sağlık çalışanlarının SYBD'nin değerlendirildiği çalışmada ise 20 yıl ve üzeri görev yapanlar; egzersiz ve beslenme alt faktörlerinden daha yüksek puan almışlardır (5). Tüm bunların tersine;

hemşirelerin sağlık davranışlarının incelendiği bir araştırmada, hizmet süresi 1-5 yıl olanların, 6 yıl ve üzeri çalışanlara göre, sağlık sorumluluğu, ruhsal gelişim, stres yönetimi faktörleri ve SYBDÖ toplam puan ortalamaları daha yüksek bulunmuştur (9). Literatürde, genel olarak meslekte çalışma süresi arttıkça sağlık davranışları olumlu yönde değişmekle birlikte, SYBD ve hizmet süresi arasındaki ilişki bakımından farklı sonuçlar da saptandığı görülmektedir.

Kronik hastalığı olmayanların olanlara göre egzersiz ve kişilerarası destek puanı, ilaç kullanmayanların kullananlara göre egzersiz puanı ve eşinin eğitim durumu lise ve üzeri olanların ilköğretim mezunlarına göre beslenme puanı daha yüksek iken; yapılan çoklu regresyon analizi sonucunda anlamlılığı ortadan kalkmıştır. Bu konuda çeşitli sonuçların elde edildiği çalışmalar mevcuttur. Bilgili ve Ayaz'ın çalışmasında (22) kronik hastalığı olan ve sürekli ilaç kullanan kadınların kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, egzersiz ve beslenme alt faktörlerinden aldıkları puanların daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Öğretim elemanlarının (4) ve sağlık yüksekokulu öğrencilerinin (23) SYBD'lerini inceleyen iki çalışmada ise SYBD ile kronik hastalık arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Toplum liderlerinde yaptığımız çalışmada SYBD ile medeni durum, yaş, eğitim, çocuk sahibi olma, alkol ve sigara kullanma durumu, BKİ arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Çalışmamızda araştırma grubunun büyük çoğunluğunun evli ve çocuk sahibi olması, eğitim düzeyleri açısından da homojen bir grup oluşturmaları nedeniyle farklılık saptanmamış olabilir. Kaya ve arkadaşlarının çalışmasında (4), öğretim elemanlarının sağlıklı yaşam biçimi davranışları ile cinsiyet, yaş, akademik unvan, 12 yaşına kadar yaşamlarını geçirdikleri yer, aile tipi, çocuğu olma durumu, çocuk sayısı, sigara ve alkol kullanma, BKİ, kronik hastalık ve kendi sağlığını algılama durumu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Benzer olarak Elazığ Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinde yapılan çalışmada SYBDÖ toplam puanı; cinsiyet, yaş, öğrenim görülen bölüm, medeni durum, birlikte yaşanan kişi sayısı, anne-baba eğitim düzeyi, anne-babanın hayatta olup olmaması, gelir getirici bir işte çalışma, alkol kullanma, kronik hastalığa sahip olma ve BKİ ile anlamlı olarak değişmemektedir (23). Tıp fakültesi öğrencilerinde yapılan çalışmada da cinsiyet, kronik hastalık varlığı, babanın ve annenin öğrenimi, hane reisinin işi, en uzun yaşanan yer SYBD toplam puanı

ve alt ölçek puanlarını anlamlı olarak etkilememektedir (12).

Öte yandan sosyodemografik faktörlerin SYBD'yi etkilediği çalışmalar da mevcuttur. Kaya ve arkadaşlarının çalışmasında (4), çocuğu olan öğretim elemanlarının beslenme puanı olmayanlara göre daha yüksektir ve en fazla işaretlenen "kahvaltımı yaparım" seçeneğidir. Yazarlar tarafından bu durum çocuk sahibi olmanın getirdiği sorumluluk duygusu ile ilişkilendirilmiştir. Başka bir çalışmada ise; çocuk sahibi olmayan hemşirelerin ruhsal gelişim ve stres yönetimi puan ortalamaları çocuk sahibi olan hemşirelerden daha yüksek bulunmuştur (9). Türkol ve Güneş'in (10) çalışmasında da evli olan tıp fakültesi asistanlarının sağlık sorumluluğu puan ortalamaları daha yüksek olarak saptanmıştır. Sosyoekonomik eşitsizliklerin SYBD ve yaşam kalitesi ile ilişkisini araştıran bir çalışmada, medeni duruma göre SYBDÖ toplam puanı ve egzersiz ve stres yönetimi alt faktör puanları arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Söz konusu çalışmada; evliliğin sağlıklı yaşam biçimi davranışları üzerine olumlu bir etki göstermesi, evli olmanın bireye kazandırdığı düzen, sorumluluk ve sosyal

Öğretmenlerde yapılan bir çalışmada kendini gerçekleştirme alt faktör puan ortalaması sigarayı hiç kullanmamışlarda, egzersiz alt faktör puan ortalaması ise sigarayı bırakmışlarda anlamlı olarak daha yüksektir (8). Sağlık çalışanlarının değerlendirildiği bir araştırmada ise sigara içmeyenlerin sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının daha iyi olduğu gözlenmiştir (5). Üniversite öğrencilerinde (19) ve öğretim elemanlarında yapılan çalışmalarda (4) ise alt faktör puanları ile sigara kullanma durumu arasında farklılık bulunmamıştır.

Kefeli ve Altay'ın (25) çalışmasında lise öğrencilerinin alkol kullanma durumları ile SYBD arasındaki fark anlamlı iken, öğretim elemanlarını (4) ve hastanede çalışan hemşireleri (26) konu alan araştırmalarda anlamlı fark saptanmamıştır. Sınıf öğretmenlerinin kendini gerçekleştirme ve egzersiz alt faktörleri ile alkol kullanmaları arasında ilişki tespit edilmiştir (8).

Bu araştırmanın sonucunda,

-Aile hekimleri sınıf öğretmenleri ve imamın sağlık davranışlarının orta düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

-SYBDÖ toplam puanı ile kendini gerçekleştirme, sağlık sorumluluğu, beslenme, kişiler arası destek ve stres yönetimi alt faktör puanları için aile hekimi olmanın negatif yönde etkisi olduğu saptanmıştır. Sözü edilen

tüm alt faktörlerden alınan puanlar aile hekimleri için sınıf öğretmenleri ve imamlara göre anlamlı olarak daha düşüktür.

-Sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktör puanları için mesleğe ek olarak cinsiyetin de anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır. Erkeklerde sağlık sorumluluğu ve beslenme alt faktör puanları kadınlara göre anlamlı olarak daha düşüktür.

Bu sonuçlar doğrultusunda, aile hekimlerinin sağlık davranışlarının sınıf öğretmenleri ve imamlara göre daha düşük düzeyde olmasının nedeninin araştırıldığı daha kapsamlı araştırmalar yapılması, aile hekimleri, sınıf öğretmenleri ve imamların mesleki eğitim müfredatlarına sağlığı korunması ve geliştirilmesi derslerinin eklenmesi ve eksik veya yanlış olan sağlık davranışları tespit edilerek gereksinimler doğrultusunda hizmet içi eğitimlerin verilmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

- Oyur Çelik G, Malak AT, Bektaş M, Yılmaz D, Sami Yümer A, Öztürk Z ve ark. Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinin sağlığı geliştirme davranışlarını etkileyen etmenlerin incelenmesi. *Anatol J Clin Investig* 2009;3(3):164-9.
- Yardımcı N, Gögen S, Mollahaliloğlu S. Sağlığın Geliştirilmesi: Türkiye ve dünyada mevcut durum. *İst Tıp Fak Derg* 2009;72 (1):29-35.
- Bahar Özvarış Ş. Sağlık Eğitimi ve Sağlığı Geliştirme. İçinde: Güler Ç, Akın L. Halk Sağlığı Temel Bilgiler. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, 2006;1131-53.
- Kaya F, Ünüvar R, Bıçak A, Yorgancı E, Çınar B, Öz F ve ark. Öğretim Elemanlarının Sağlığı Geliştirme Davranışları ve Etkileyen Etmenlerin İncelenmesi. *TAF Prev Med Bull*. 2008;7(1):59-64.
- Yalçınkaya M, Gök Özer F, Yavuz Karamanoğlu A. Sağlık çalışanlarında sağlıklı yaşam biçiminin değerlendirilmesi. *TAF Prev Med Bull*. 2007;6(6):409-20.
- Limnili, G. (2010). Balçova bölgesi 15-17 yaş arası lise öğrencilerinde obezite sıklığı ve sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının obeziteyle ilişkisi. (Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi). İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı.
- Tokuç B, Berberoğlu U. Edirne merkez ilçe ilköğretim okullarında çalışan öğretmenlerde sağlığı geliştirici davranışlar. *TAF Prev Med Bull*. 2007;6(6):421-6.
- Karakoç, A. (2006). Sınıf öğretmenlerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve bu davranışları etkileyen bazı faktörlerin belirlenmesi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hemşirelik Programı.
- Cürçani M, Tan M, Özdelikara A. Hemşirelerin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve etkileyen faktörlerin belirlenmesi. *TAF Prev Med Bull* 2010; 9(5):487-92.
- Türkol E, Güneş G. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde ihtisas yapan asistanların sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2012;19(3):159-66.
- Bahar Z, Beşer A, Gördes N, Ersin F, Kissal A. Sağlıklı yaşam biçimi davranışları ölçeği II'nin geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi* 2008; 12(1):1-13.
- Şimşek H, Öztoprak D, İkizoğlu E, Safalı F, Yavuz Ö, Onur Ö ve ark. Tıp fakültesi öğrencilerinde sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve ilişkili etmenler. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2012; 26(3):151-7.
- Ertop NG, Yılmaz A, Erdem Y. Üniversite öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimleri. *KÜ Tıp Fak Derg* 2012;14(2):1-7.
- Küçükberber N, Özduş K, Yorulmaz H. Kalp hastalarında sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve yaşam kalitesine etki eden faktörlerin değerlendirilmesi. *Anadolu Kardiyol Derg* 2011; 11: 619-26.
- Altıparmak S, Koca Kutlu A. 15-49 yaş grubu kadınlarda sağlığı geliştirme davranışları ve etkileyen etmenler. *TAF Prev Med Bull* 2009; 8(5):421-6.
- Akgül, N. (2008). Birinci basamak sağlık kurumlarında çalışan sağlık personelinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve öz-etkililik- yeterlilik düzeylerinin belirlenmesi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yıldırım, N. (2005). Üniversite öğrencilerinin bazı sosyo-demografik özelliklerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışlarına etkisi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Berçin, T. (2010). Lise öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve bu davranışları etkileyen faktörlerin belirlenmesi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Karadeniz G, Yanikkerem Uçum E, Dedeli Ö, Karaağaç Ö. Üniversite öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *TAF Prev Med Bull*. 2008;7(6):497-502.
- Kocaakaman M, Aksoy G, Eker HH. İstanbul ilindeki hemşirelik yüksekokulu öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *SDÜ Tıp Fak Derg* 2010;17(2):19-24.
- Ünal D, Şenol V, Öztürk A, Ekorkmaz Ü. Meslek yüksekokullarının sağlık ve sosyal programlarında öğrenim gören öğrencilerin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve öz-bakım gücü düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007;14(2):101-9.
- Bilgili N, Ayaz S. Kadınların sağlığı geliştirme davranışlarını etkileyen faktörler. *TAF Prev Med Bull*. 2009; 8(6): 497-502.
- Cihangiroğlu, Z. (2010). Elazığ Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve etkileyen

- faktörler. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
24. Koçoğlu D, Akın B. Sosyoekonomik eşitsizliklerin sağlıklı yaşam biçimi davranışları ve yaşam kalitesi ile ilişkisi. DEUHFED 2009; 2 (4): 145-54
 25. Kefeli, B. (2010). Samsun il merkezindeki lise öğrencilerinin sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi. (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
 26. Özkan S, Yılmaz E. Hastanede çalışan hemşirelerin sağlıklı yaşam biçimi davranışları. Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi 2008;3(7):89-105.

KOAH alevlenme tanısıyla yatırılan hastaların ekonomik yükü ve maliyete etki eden faktörler

The economic burden of patients hospitalized with COPD exacerbation and the factors affecting costs.

Öz

Amaç: Alevlenme nedeni ile hastaneye yatırılan kronik obstrüktif akciğer hastalarının (KOAH) tedavi maliyetlerinin araştırılması amaçlandı. Gereç ve Yöntemler: KOAH tanılı 100 hastanın verileri retrospektif olarak değerlendirildi. Hastane otomasyon sisteminden verilerine ulaşılan hastaların komorbidite bilgileri hasta dosyalarından ve epikriz sisteminden elde edildi. Hastane faturalandırma sisteminden, kullanılan antibiyotiğin maliyeti ve toplam tutarı yazıldı. Bulgular: Yaş ortalaması 73,7 yıl olan hastaların 69'u erkek, 31'i kadın idi. Ortalama hastanede kalış süreleri $7,8 \pm 6,1$ idi. Hastalara kullanılan antibiyotiklerin ortalama fiyatı 208.3₺ kullanılan tüm ilaçların fiyatı 623.3₺ ve toplam maliyet 1202.2₺ olarak belirlendi. Antibiyotik kullanımı, toplam maliyeti anlamlı olarak artırdığı ($p=0.002$), yatış süresi ile maliyet arasında pozitif korelasyon olduğu ($r: +0.889$) ve yaşın maliyete etkisinin olmadığı saptandı ($r: -0.006$). Komorbidite varlığının yatış süresini ve toplam maliyeti anlamlı şekilde artırdığı belirlendi ($p<0.05$). Sonuç : KOAH hastalarında hastalık ilerledikçe; maliyet, hastalığa ait belirtiler ve komorbiditeler artmaktadır. Bu nedenle hastalığın erken tanısı, uygun tedavi ile alevlenmelerin engellenmesi ve komorbiditelerin gelişiminin önlenmesi hasta ve maliyet açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: KOAH, alevlenme, hastane yatış maliyeti, hastanede yatış süresi

Abstract

Objective: We aimed to evaluate the economic burden of patients hospitalized with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) exacerbations and the factors affecting cost. Materials and Methods: Data of one hundred COPD patients were assessed retrospectively. Data of the patients were gathered from hospital automation system and comorbidity information's were obtained from patient files and discharge reports. The cost of medications including antibiotics was obtained from hospital billing system. Results: Mean age of patients was 73,7 and 69 of patients were male and 31 were female. The average length of hospital stay was $7,8 \pm 6,1$ days. The average cost of antibiotic treatment was 208.3₺, average cost of total treatment was 623.3₺ and total cost of hospitalization was 1202.2₺. Total cost was significantly increased by antibiotic usage ($p=0.002$). There was a positive correlation between length of the hospital stay and cost ($r: +0.889$) and age was found to have no effect on the cost. Presence of comorbidities significantly increased length of hospital stay and total cost ($p<0.05$). Conclusion: In COPD patients as the disease progress, the costs, symptoms and comorbidities also increase. Because of this, early diagnosis of the disease, prevention of exacerbations and treatment of comorbidities are important for disease management and reduction of costs.

Keywords: COPD, exacerbation, hospitalization cost, length of hospital stay

* Sami Deniz
** Jülide Çeldir Emre
*** Ayşegül Baysak
**** Ozer Özdemir

* Didim Devlet Hastanesi,
Göğüs Hastalıkları Kliniği,
Aydın
** Turgutlu Devlet Hastanesi,
Göğüs Hastalıkları Kliniği,
Manisa
*** İzmir Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Göğüs Hastalıkları
AD, İzmir
****Egepol Hastanesi, Göğüs
Hastalıkları Kliniği, İzmir

Yazışma Adresi:
Uz. Dr. Jülide Çeldir Emre
Turgutlu Devlet Hastanesi, Göğüs
Hastalıkları Kliniği, Manisa
e-mail: jceland@yahoo.com

Giriş

Önlenilebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olan Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı (KOAHA), dünya çapında mortalite ve morbiditenin önde gelen bir nedenidir ve önemli derecede, giderek artan ekonomik ve sosyal yüke neden olmaktadır. Alevlenmeler, KOAHA'nın total ekonomik yükünün en büyük kısmını oluşturmaktadır ve hastalığın şiddeti ile maliyet arasında çarpıcı bir ilişki vardır (1).

Avrupa Birliği'nde; solunum yolu hastalıkları için yapılan harcamalar, sağlık bütçesinin %6'sını oluşturmaktadır ve bunun %56'sından da, KOAHA'nın sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Direk (tanı ve tedavi harcamaları) ve dolaylı harcamalar (sakatlığın neden olduğu sonuçlar) birlikte hesaplandığı zaman, sadece Amerika Birleşik Devletleri'nin KOAHA için 2010 yılında harcadığı para, 50 milyar dolar olarak hesaplanmıştır (2). Amerika Birleşik Devletleri'nde doğrudan KOAHA maliyeti 29.5 milyar dolar, dolaylı maliyetin ise 20.4 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (3). KOAHA alevlenmeleri, doğrudan maliyetin yaklaşık %60'ına neden olmaktadır. KOAHA'nın neden olduğu küresel ekonomik maliyet günümüzde 2.1 trilyon dolar düzeyindedir ve bu maliyet 2030 yılına kadar 4.8 trilyon dolara ulaşması beklenmektedir (4).

KOAHA'ta komorbiditeler siktir ve prognoza önemli etkileri vardır. Bunların arasında; hipertansiyon (HT), koroner arter hastalığı (KAH), konjestif kalp yetmezliği (KKY), diabetes mellitus (DM) ve akciğer kanseri sık olarak görülmektedir (1).

Bu çalışmada göğüs hastalıkları kliniği'ne KOAHA alevlenme tanısı ile yatırılan hastalarda maliyet ve maliyete etki eden faktörler ile ekonomik yüke yol açan komorbiditelerin öneminin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Ocak 2013 ve Ocak 2014 tarihleri arasında İlçe Devlet Hastanesi Göğüs Hastalıkları Servisi'ne yatırılan 103 KOAHA tanılı hasta, retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışma başlatılmadan İzmir Üniversitesi'nden etik kurul onayı alındı. (7/Mayıs/2015;20015/15) Aynı zamanda ilimiz Kamu hastaneler birliği ve hastane yönetimlerinden çalışma onayı alındı. Hasta onamları mevcuttu. Akciğer kanseri ve KOAHA tanılı olan 3 hasta, akciğer kanserinin komplikasyonları nedeniyle yatışı yapıldığından, bu 3 hasta çalışma dışında bırakıldı. Kırk yaşın üzerinde, GOLD kriterlerine göre FEV1/FVC < % 70 olan KOAHA

tanılı hastalar çalışmaya dahil edildi. KOAHA alevlenme tanısında ve antibiyotik tedavisi başlama kriteri olarak Anthonisen kriterleri (balgam miktarı, pürülansı ve/veya nefes darlığında artış) kullanıldı.(2) Hastaların verilerine bilgisayar sisteminden ulaşıldı, komorbidite bilgileri hastaların dosyalarından ve epikriz sisteminden elde edildi. Hastane faturalandırma sisteminden, kullanılan antibiyotiğin maliyeti ve toplam tutarı yazıldı. Hastaların, hastanede yatış süresi kaydedildi. Ek olarak tüm ücretler güncel kur kullanılarak euro (€) ve Amerikan Doları (\$) olarak da sunuldu (5). Kur değerleri Türkiye Cumhuriyeti Merkez Bankası 02/01/2014 www.tcmb.gov.tr adresinden alınarak hesaplandı.

İstatistiksel Yöntemler: Araştırmada elde edilen veriler, Statistical Package For Social Sciences (SPSS 15, Chicago, IL,USA) programında oluşturulan veri tabanına girildi ve istatistiksel analizler aynı program ile yapıldı. Sınıfsal değişkenler frekansları ve yüzdeleri ile sunuldu ve değişkenler çapraz tablolar halinde karşılaştırıldı. Bağımsız gruplar ki-kare test yöntemleri ile karşılaştırıldı. Sürekli değişkenlere ait; ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri sunuldu. Ve bu değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu araştırıldı. Gerek grafiksel araştırma gerekse normallik testleri ve örnek çapı göz önünde bulundurularak, değişkenlerin tümünde normal dağılıma uygunluk koşullarının sağlanmadığı kararı verildi. Bu değişkenlere ait karşılaştırmalarda, non-parametrik yöntemler tercih edildi. Bağımsız grupların karşılaştırmaları Mann Whitney test yöntemi ile yapıldı. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkiye non parametrik korelasyon yöntemiyle bakıldı. Tüm istatistiksel karşılaştırma testlerinde 1. tip hata payı α :0.05 olarak belirlendi ve çift yönlü olarak test edildi, "p" değerinin 0.05'ten küçük olması durumunda gruplar arası fark, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Göğüs hastalıkları Servisi'ne KOAHA alevlenme tanısı ile yatırılan yüz hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların 69'u erkek, 31'i kadın hastadan oluşmaktaydı ve yaş ortalaması 73.7 yıl idi. Demografik veriler Tablo-1'de verilmiştir (Tablo 1)

Hastaların tedavisinde kullanılan anibiyotiklerin ortalama fiyatı 208.3₺ (\$95.99, €70.13) kullanılan tüm ilaçların fiyatı 623.3₺ (\$95.99, €70.13) ve toplam maliyeti (hastane yatış masrafları) 1202.2₺ (\$554, €404.78) olarak belirlendi (Tablo 2).

Tablo-1: Hastaların demografik verileri ve komorbiditeleri

Değişkenler	Tanımlayıcı istatistik	
Yaş (yıl)	73.7±7.8	
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	69/31	
FEV1 (%)	34±12	
Komorbiditeler	Yok (n)	42
	Hipertansiyon (n)	25
	Kalp Yetmezliği (n)	14
	Diyabetes Mellitus (n)	18
	Koroner Arter Hastalığı (n)	13
	Akciğer kanseri (n)	5
Yatış Süresi (gün)	7.8±6.1	

Tablo-2: Kullanılan ilaçların maliyeti ve toplam maliyet

Değişkenler	Birim	Ortalama
Antibiyotik maliyeti	Türk Lirası	208.3±167.2
	Euro	70.1±56.2
	Dolar	95.9±76.9
İlaç toplam maliyeti	Türk Lirası	623.3±770.3
	Euro	209.86±259.2
	Dolar	287.23±354.8
Toplam maliyet (Hastane Yatış Masrafları)	Türk Lirası	1202.2±1114.5
	Euro	404.78±375.1
	Dolar	554.00±513.3

Hastaların 66'sının tedavisinde antibiyotik kullanılmış, 34'ünde kullanılmamıştır. Antibiyotik kullanımı, toplam maliyeti anlamlı olarak artırdığı ($p=0.002$), yatış süresi ile maliyet arasında pozitif korelasyon olduğu ($r: +0.889$) ve yaşın maliyete etkisinin olmadığı saptandı ($r: -0.006$). Hastaların; konjestif kalp yetmezliği, diabetes mellitus, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı komorbiditelerinin maliyete ilişkisine bakıldı. Komorbiditesi olanlar ile olmayanlar arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu (sırasıyla $p=0.676$, $p=0.424$). Komorbidite varlığı toplam maliyeti anlamlı derecede artırırken ($p=0.0001$), komorbiditesi olanlarda hastanedeki yatış süresinin daha uzun süreli olduğu saptandı ($p=0.0001$).

Tartışma

KOAH, önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olması yanı sıra maliyeti yüksek bir hastalıktır ve maliyet, hastalık ilerledikçe, alevlenme gelişimine ve hastaneye yatış ihtiyacına bağlı olarak artmaktadır (13). Bu kadar yüksek ilaç maliyeti olan hastalık için temel hedeflerden biri alevlenmeleri önlemektir. Alevlenmeler, hem mortaliteyi hem de hastaneye yeniden yatış riskini artırmaktadır (14). KOAH'ta havayolu darlığı arttıkça, alevlenme riski artmaktadır (1). Çalışmamızda hastaneye yatırılarak tedavi edilen hastaların büyük çoğunluğu evre 4 hastalardan oluşmaktaydı.

KOAH'da sistemik inflamasyon başta olmak üzere, vasküler değişimler (endotel disfonksiyonu, koagülopati) ve ortak etiyolojik nedenlerden dolayı komorbiditeler sıklıkla görülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar (KAH, HT, KKY) direk olarak yaşam süresini etkilediğinden dolayı, KOAH'ta en önemli ve en sık görülen komorbiditelerdir (6). Çalışmamızda komorbiditeler arasında, kardiyovasküler hastalıklar en sık olarak görülmekte, bunu DM ve akciğer kanseri izlemektedir. Ball ve ark'nın (7) yaptığı çalışmada; kardiyopulmoner hastalığın, KOAH alevlenme tanısıyla hastaneye yatış için bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (şans oranı: 8.89). KOAH alevlenme tanısıyla hastaneye yatırılan hastalarda yapılan bir çalışmada, 18 mg/dl kan glukoz artışının, ölüm riskini %15 artırdığı saptanmıştır (8). Benzer şekilde diğer bir çalışmada, DM'nin, KOAH alevlenme tanısıyla yatırılan hastalarda ölüm riskini artırdığı (OR:1.93) ve hastanede kalış süresini uzattığı gösterilmiştir (9). Burt ve ark'nın yaptığı çalışmada da, KOAH'lı hastalarda yatış süresini, kan glukozunda her bir mmol/l (18mg/dl) için %10 artırdığını, ortalama kan glukoz seviyesinin, hastanede yatış süresiyle direk olarak ilişkili olduğunu göstermişlerdir (10). Bizim çalışmamızda da, ek hastalığı olan KOAH'lı hastaların, yatış süreleri anlamlı olarak daha uzundu ve maliyeti daha yüksekti. Sadece; KKY ve DM'si olan hastalarla, komorbiditesi olmayanlar tek tek karşılaştırıldığında; her ikisinde de sadece antibiyotik maliyeti açısından fark yoktu (sırasıyla; 0.063, 0.12), total ilaç maliyeti ve toplam maliyet anlamlı düzeyde yüksek idi. Kullanılan antibiyotik açısından değerlendirildiğinde; kalp yetmezliği ve DM'si olan hastalarda kullanılan en sık antibiyotik, maliyet açısından en düşük olan seftriakson idi 17.8₺ (\$8.2, €5.99) (moksifloksasin: 38.3₺ (\$17.64, €12.89)). Kalp yetmezliği olanlarla komorbiditesi olmayanlar karşılaştırıldığında,

p değeri anlamlı sınıra yakın olsa da bunu etkileyen faktörün kullanılan antibiyotikğin etken maddesi olduğu düşünülmüştür.

KOAH'lı hastalarda komorbiditeler, özellikle havayolu darlığı arttıkça, mortaliteyi ve hastaneye yatış riskini artırmaktadır (11). Yapılan bir çalışmada; KOAH'lı hastalarda komorbiditenin, direk maliyeti artırdığı, ancak hastanede kalış süresi üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (p=0.09) (12). Çalışmamızda ise; komorbiditeler hem total maliyeti hem de hastanede kalış süresini anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir.

KOAH alevlenme nedeniyle hastaneye yatırılan 15857 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada, hasta başına yıllık toplam maliyetinin €6725 (19973₺, \$9204) olduğu belirlenmiştir (15). Amerika'da sağlık sigorta şirketi üzerinden yürütülen bir çalışmada; KOAH tanılı hastaların olmayanlara göre, maliyetin 2.4 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (16). İspanya'da geniş populasyonda yürütülmüş prospektif bir çalışmada; KOAH'ın doğrudan maliyetinin \$1876 (4070₺, €1370) olduğu, evre 3 ile evre 1 KOAH'lı hastalar maliyet açısından kıyaslandığında, evre 3 lehine yaklaşık 2 kat olduğu gösterilmiştir (sırasıyla; 2911, 1484 \$; 6316, 3220₺; 2126, 1084 €) (17). Prospektif 413 hastayla yapılmış bir çalışmada; yıllık kişi başına, evre 1, 2, 3 olan hastaların maliyetleri evreyle paralel olarak arttığı saptanmıştır (sırasıyla; 1681, 5037, 10812\$; 3647, 10930, 23462₺; 1228, 3680, 7899 €) (18).

Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında; Çeldir Emre ve ark'nın (12) yaptığı çalışmada total yükün 1103₺ (\$508, €371), Özkaya ve ark'nın (19) yaptığı çalışmada 718\$ (1558₺, €524), Hacıevliyagil ve ark'nın (20) yaptığı çalışmada 1336₺ (\$615, €449), Örnek ve ark'nın (21) yaptığı çalışmada 1876₺ (\$864, €631), Varol ve ark'nın (22) yaptığı çalışmada ise 1833₺ (\$844, €617) olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda; 1202.2₺ (\$554, €404.78) olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak; KOAH önemli derecede, giderek artan ekonomik ve sosyal yüke neden olmaktadır. KOAH'lı hastalarda hastalık ilerledikçe; maliyet, hastalığa ait belirtiler ve komorbiditeler artmaktadır. Bundan dolayı; KOAH'ın uygun bir şekilde tanı ve tedavisi ile hastalığın ilerlemesini önlemek ve komorbiditeleri uygun bir şekilde tedavi etmek, hem hasta açısından hem de maliyet açısından önemlidir.

Kaynaklar

1. GOLD Committee. Global strategy for the diagnosis management and prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; NewYork: 2014
2. European Respiratory Society. European Lung White Book: Huddersfield, European Respiratory Society Journals, Ltd;2003
3. National Heart, Lung, and Blood Institute. Morbidity and mortality chartbook on cardiovascular, lung and blood disease. Bethesda, Maryland: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health. Accessed at: <http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/cht-book.htm>;2009
4. Bloom D, Cafiero ET, Abrahams-Gessel S, Bloom LR, Fathima S, Feigl AB et al. The global economic burden of non-communicable diseases: a report by the World Economic Forum and the Harvard School of Public Health, September 2011. Geneva, Switzerland: World Economic Forum 2011.
5. Türkiye Cumhuriyet Merkez Bankası 02/01/2014 tarihli kurları (www.tcmb.gov.tr).
6. Cavallès A, Brinchault-Rabin G, Dixmier A, Goupil F, Gut-Gobert C, Marchand S et al. Comorbidities of COPD. Eur Respir Rev. 2013;22(130):454-75
7. Ball P, Harris JM, Lowson D, Tillotson G, Wilson R. Acute infective exacerbation of chronic bronchitis. QJM 1995;88:61-8
8. Baker EH, Janaway CH, Philips BJ, Brennan AL, Baines DL, Wood DM et al. Hyperglycemia is associated with poor outcomes in patients admitted to hospital with acute exacerbations of COPD. Thorax 2006;61:284-89.
9. Parappil A, Depczynski B, Collett P, Marks GB: Effect of comorbid diabetes on length of stay and risk of death in patients with acute exacerbations of COPD. Respirology 2010;15:918-22
10. Burt MG, Roberts GW, Aguilar-Loza NR, Quinn SJ, Frith PA, Stranks SN. Relationship between glycaemia and length of hospital stay during an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. Intern Med J. 2013 ;43(6):721-4
11. Mannino DM, Thorn D, Swensen A, Holguin F. Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension, and cardiovascular disease in chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 2008;32:962-69
12. Emre JÇ, Özdemir Ö, Baysak A; Aksoy Ü, Özdemir P; Öz AT et al. Clinical Factors Affecting the Costs of Hospitalized Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations. Eurasian J Pulmonol 2014;16:180-3
13. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, Locantore N, Müllerova H, Tal-Singer E et al. Susceptibility to exacerbation in

- chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2010;363:1128-38
14. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, Locantore N, Müllerova H, Tal-Singer R et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2010;363:1128-38.
 15. Blasi F, Cesana G, Conti S, Chiodini V, Aliberti S, Fornari C et al. The clinical and economic impact of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a cohort of hospitalized patients. *PLoS One*. 2014;9(6):e101228.
 16. Grasso ME, Weller WE, Shaffer TJ, Diette GB, Anderson GF. Capitation, managed care, and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:133-8
 17. Miravittles M, Murio C, Guerrero T, Gisbert R. Costs of chronic bronchitis and COPD: A 1-year follow-up study. *Chest* 2003;123:784-91
 18. Hilleman DE, Dewan N, Malesker M, Friedman M. Pharmacoeconomic evaluation of COPD. *Chest* 2000;118:1278-85
 19. Ozkaya S, Findik S, Atici AG. The costs of hospitalization in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2011;3:15-8.
 20. Hacıevliyagil SS, Mutlu LC, Gülbaş G, Yetkin Ö, Günen H. Comparison of the costs of the patients hospitalized to the pulmonary disease department. *Turkish Thoracic Journal*. 2006;7:11-6.
 21. Ornek T, Tor M, Altın R, Atalay F, Geredeli E, Soylu O et al. Clinical factors affecting the direct cost of patients hospitalized with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Med Sci*. 2012;9(4):285-90.
 22. Varol Y, Varol U, Başer Z, Usta L, Balcı G, Dereli Ş et al. The Cost of COPD Exacerbations Managed in Hospital. *Turk Toraks Derg* 2013;14:19-23.

Akut miyokard infarktöslü hasta ve Leriche sendromu

Patient with acute myocardial infarction and Leriche syndrome

- * Filiz Alkaya Solmaz
- * Pınar Karabacak
- ** Mustafa Etli
- * Lütfi Yavuz
- *** Hüseyin Okutan

- * Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve
Reanimasyon AD, Isparta
- ** Van Bölge Eğitim Araştırma
Hastanesi, Van
- *** Medical Park Hastanesi,
Antalya

Öz

Periferik arter hastalığı genellikle koroner arter hastalığıyla birlikte ve bu durumda başvuran hastalarda miyokard infarktüsü ve ölüm riski 2- 4 kat daha yüksektir. Burada, sigara içen erkek ve kardiyovasküler hastalık öyküsü olmayan Leriche sendromu olgusu sunulmuştur. Özellikle periferik arter hastalığı olan hastaların koroner by-pass operasyonlarında, LİMA grefti kullanılması sorunlara yol açabilir. Akut ekstremitte iske mi vakaları LİMA greft kullanımı ile bildirilmiştir. LİMA Leriche sendromlu hastalarda önemli bir kollateral kaynağıdır. Bu nedenle; biz postoperatif alt ekstremitte dolaşımını riske atmamak için, koroner bypass ameliyatı planlanan Leriche sendromlu hastada LİMA yerine safen ven greft kullanılması nın mortaite ve morbiditeyi azalttığını düşünöyoruz.

Anahtar kelimeler: Akut miyokard enfeksiyonu, Leriche sendromu

Abstract

Peripheral arterial disease usually occurs together with coronary disease and patients presenting this condition have a 2-fold to 4-fold higher risk of experiencing myocardial infarction and death. We present an unusual case of a Leriche syndrome in a male smoker and without previous history of cardiovascular disease. In coronary by-pass operations, using LIMA graft may lead problems especially in patients with peripheral arterial disease. Cases of acute limb ischemia have been reported with use of LIMA grafts, concluded that LIMA is an important collateral source in patients with Leriche syndrome. Therefore; we suggest use of saphenous vein grafts in patients with Leriche syndrome planned to undergone coronary by-pass surgery instead of LIMA that does not risk post-operative lower extremity circulation, moreover reduce morbidity- mortality.

Keywords: Acute myocardial infarction; Leriche syndrome

Yazışma Adresi:
Yrd. Doç. Dr. Filiz Alkaya Solmaz
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve
Reanimasyon AD 32290 Isparta
Tel: 05327179357, 02462112115
Fax: + 9002462371758
e-mail: filizalkaya@hotmail.com

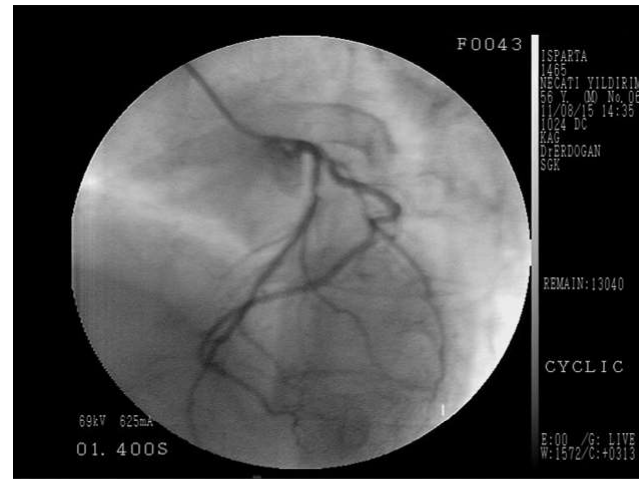
Giriş

Leriche sendromu; bilateral ana iliak arterlerin bifurkasyonu hizasında darlık ya da infrarenal aorta darlığı olarak tanımlanan ve ciddi morbiditeye yol açabilen bir sendromdur (1). Sıklıkla koroner arter hastalığı da bu sendroma eşlik ederek mortalite ve morbiditenin artmasına neden olabilir. Leriche sendromlu hastalarda sol internal mammarian arter (LİMA), kollateral dallar aracılığıyla alt ekstremiteler için alternatif kan perfüzyonu sağlayan damarlardan biridir. Periferik arter hastalığı olup koroner by-pass için LİMA grefti kullanılan hastalarda post-op dönemde alt ekstremitelerde iskemi meydana gelmektedir (2). Bu olgu daha önceden bilinen aterosklerotik kalp hastalığı ve aktif şikayeti olmayan bireyde MI ön tanısı ile yapılan anjiosunda aort distalinin tıkalı olması tesadüf eseri tespit edilmiş olup eğer buna dikkat edilmemiş olsaydı bypass cerrahisi için LİMA kullanılacaktı ve hastanın ameliyat sonrası ciddi komplikasyonlarının olabileceğini hatırlatmak için sunulmuştur.

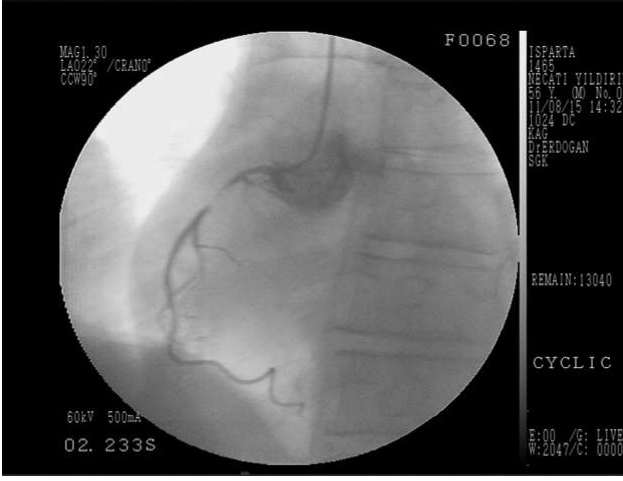
Olgu

Olgu 56 yaşında erkek hasta, daha önce bilinen bir kalp hastalığı yoktu. Hasta sıkıştırıcı tarzda göğüs ağrısı şikayeti ile kardiyoloji kliniğine başvurdu. Hastanın başka ek hastalığı mevcut değildi. Hasta Non ST miyokardiyal enfarktüs ön tanısıyla kardiyoloji yoğun bakıma yatırıldı. Hastanın laboratuvar bulgularında Hb:7.7g/dL, Htc:22.2%, WBC:12.4 $10^3/\mu\text{L}$, Plt:639 $10^3/\mu\text{L}$, Kreatinin:1.5 mg/dL, Bun:55 mg/dL, Na:133 mmol/L, K:3.6 mmol/L, Ca:9.7 mg/dL, AST:24 U/L, ALT:8 U/L, EKG: Sinüs ritminde V4-6 ve D1 AVL derivasyonlarında ST depresyonu mevcut idi. Yapılan ekokardiyografisinde left ventrikül diastol diameter (LVd):45 mm, left ventrikül sistol diameter (LVs):30 mm, interventriküler septum (IVS):12 mm, posterior wall (PW):11 mm, left atrium (LA):38 mm, aort diameter (Ao):29 mm, ejeksiyon fraksiyonu (EF) vizüel: %60, sol ventrikül diastol disfonksiyonu tespit edildi. Hastanın ilk yatışında anemi tespit edilmesi üzerine iki ünite eritrosit süspansiyonu verildi. Hastanın yatışından dört gün sonra yapılan anjiyografisinde ana koroner normal, left anterior desenden (LAD): Proksimal % 80, gelişmiş D1 başında % 90 uzun segment, circumflex (CX): Plaklı gelişmiş optus marginal (OM) total tıkalı antegrad doluyor, right coronary arteria (RCA): Proksimal %

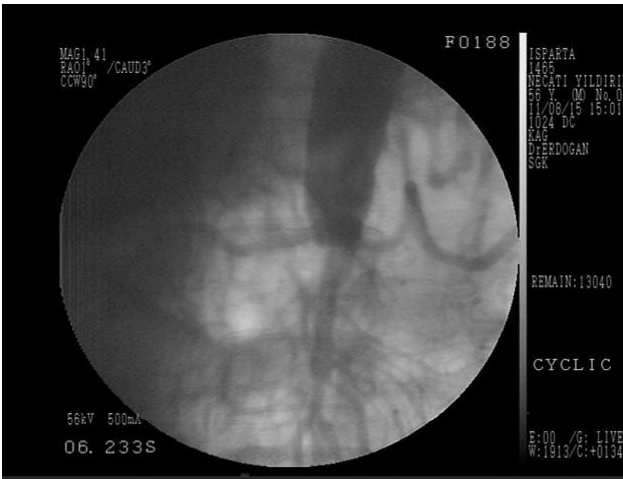
99 lezyon izlendi. Aynı seansta yapılan aortografide abdominal aort distalinin tam tıkalı olduğu için renal arter izlenemedi. Kollateraller ile dolun göstermekte ve sağ iliak arter görüntülenemedi (Resim 1-2-3). Koroner anjiyografi sonucunda koroner bypass kararı alınan hasta koroner bypass yapılmak üzere kalp damar cerrahisine yatırıldı. Hastanın yapılan muayenesinde kalp ve akciğer bulgularında anormallik saptanmadı. Periferik nabızlar ise her iki femoral arterden itibaren palpe edilemedi. Doppler ultrasonografide femoral arterden distale doğru nabızların bifazik olarak alındı, sağ ayak bileği 0.7 ml/dk, sol ayak bileği 0.75 ml/dk olarak ölçüldü. Optimal koşullar sağlandıktan sonra hasta koroner arter bypass greft cerrahisi uygulanmak üzere ameliyathaneye alındı. Rutin EKG, periferik oksijen saturasyonu, invaziv radial arter monitorizasyonu yapıldıktan sonra hastaya 140 mg propofol, 50 mcg remifentanil, 8 mg vecuronyumla anestezi induksiyonu yapıldı. Endotrakeal entübasyon yapıldıktan sonra remifentanil, vecuronyum infüzyonu ve sevofluran % 2 konsantrasyonda açıldı ve anestezi idamesi sağlandı. Safen ven kullanılarak sağ koroner arter, circumflex optus marginal (Cx OM) dalı ve left anterior desenden (LAD) olmak üzere üçlü koroner bypass yapıldı. Ameliyat süresi üç saat, cross klempe süresi 30 dakika idi. Hasta 6 mcg/kg dopamin infüzyonu ile yoğun bakıma çıkarıldı. Hasta iki gün yoğun bakım, beş gün serviste takip edildikten sonra, takiplerinde bir problem olmadan taburcu edildi.



Resim1: Left anterior descending (LAD) lezyonu



Resim 2: Right coronary arter (RCA) lezyonu



Resim 3: İliak arterler

Tartışma

Leriche sendromu bilateral ana iliak arterlerde bifurkasyon hizası darlığı ya da infrarenal aorta darlığı olarak tanımlanan periferik bir arter hastalığıdır (1). Tipik semptomları arasında kladikasyo, bacadakı ağrı ve soluklukla birlikte femoral nabızların kaybolması, erkeklerde erektil disfonksiyon sayılabilir (3). Leriche sendromlu hastalarda ana kollateral akım kaynakları LİMA, superior ve inferior epigasrik arterlerdir. LİMA'nın kollateral dallar ile alt ekstremitelere perfüzyonuna katkısı %50'ye çıkabilmektedir (2). Aortadaki darlığın

proksimale doğru uzanmasıyla LİMA'nın kollateral perfüzyona katkısı doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu da LİMA'nın Leriche sendromlu hastalarda ciddi bir kollateral kaynak olduğunu göstermektedir. Kollateral akım sağlayan LİMA'lar genellikle hipertrofik olup çapları 3 mm'nin üstündedir (4). Koroner bypass ameliyatlarında LİMA'nın greft olarak kullanılması aynı zamanda periferik arter hastalığı olan hastalarda sıkıntı yaratabilmektedir (5). LİMA kullanılması sonrası akut ekstremitelere iskemisi gelişen olgular bildirilmiştir (6).

Periferik damar hastalıkları ile koroner arter hastalığı sıklığı genellikle artmaktadır. Bu nedenle koroner bypass kararı verilen hastalarda periferik arter hastalığı (Leriche sendromu) tetkik edilmelidir. Sol internal mammarian arter Leriche sendromlu hastalarda alt ekstremitelere kan perfüzyonunu sağlayan alternatif kollateral yollardan birini oluşturur. Şayet sendrom düşünülüyorsa kollateraller açısından hasta değerlendirilmeli ve önemli bir kollateral olan LİMA bu hastalarda greft olarak tercih edilmemelidir (1,3). LİMA grefti kullanılması sonrası ekstremitelere kayıplarına kadar giden ciddi sonuçlarla karşılaşılabilir (2). Bizde hastamızda bu nedenlerden dolayı greft olarak safen veni kullandık. Sonuç olarak LİMA, Leriche sendromlu hastalarda önemli bir kollateral perfüzyon kaynağı olup; periferik arter hastalığından şüphe edilen yada periferik arter hastalığı riski olan hastalarda mutlaka alt ekstremitelere anjiosu yapıp, yapılacak cerrahi girişimde kullanılacak anastomoz arterleri değerlendirilmeli, Leriche sendromlu hastalarda anastomoz için safen ven kullanılmalıdır.

Kaynaklar

1. Kim J, Won JY, Park SI, Lee DY. Internal thoracic artery collateral to the external iliac artery in chronic aortoiliac occlusive disease. *Korean J Radiol* 2003;4: 179-83.
2. Yurdakul M, Tola M, Ozdemir E, Bayazit M, Cumhuri T. Internal thoracic artery-inferior epigastric artery as a collateral pathway in aortoiliac occlusive disease. *J Vasc Surg* 2006;43: 707-13.
3. Brewster DC. Direct reconstruction for aortoiliac occlusive disease. In: Rutherford RB, Cronenwett JL, Gloviczki P, Johnston KW, Kempczinski RF, Kpurski WC, eds. *Rutherford Vascular Surgery*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders 2000;p: 943-67.
4. Hayashida N, Kai E, Enomoto N, Aoyagi S. Internal thoracic artery as a collateral source to the ischemic lower extremity. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18: 613-6.
5. Ferrer MC, Calvo I, Sánchez-Rubio J, Galache G, Diarte JA, Lukic A, et al. The importance of investigating the

- internal thoracic artery before coronary artery surgery in Leriche's syndrome. *Rev Esp Cardiol* 2007;60: 1198- 201.
6. Parashara DK, Kotler MN, Ledley GS, Yazdanfar S. Internal mammary artery collateral to the external iliac artery: an angiographic consideration prior to coronary bypass surgery. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1994;32: 343- 5.

A case of huge keloid at the cheek

Yanakta dev keloid olgusu

* Salim Yüce
* Kerem Polat
* Emine Elif Altuntaş
* Suphi Müderris
** Ebuzer Bekar

* Cumhuriyet Üniversitesi Tıp
Fakültesi Kulak Burun Boğaz
AD, Sivas.
** Sivas Devlet Hastanesi,
Patoloji Bölümü, Sivas

Öz

Keloid ve hipertrofik skar dokuları, sıklıkla ciltte yara iyileşmesini takiben gelişen ve nedeninin çoğu kez bilinmediği aşırı kollajen doku formasyonudur. Bu dokular, sıklıkla piercing, travma, yanık gibi olayları takiben normal doku-yara sınırında oluşur, spontan gerileme göstermez ve eksizyon sonrası tekrarlama oranı yüksektir. Tedaviye yönelik hem cerrahi hem de cerrahi olmayan teknikler uygulanabilir. Tedavi etkinliğini ortaya koymak için en az bir yıl takip gerekir. Yanakta kitle nedeniyle opere edilen hasta takibe alındı. Lokalizasyonu ve görünümü ile ilginç bulunan olgu tedavi açısından literatür eşliğinde sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Keloid, yanak, kollajen, hipertrofik skar dokusu

Abstract

Keloids and hypertrophic scar tissues result from excessive collagen deposition. The cause of deposition is not known yet, and it usually develops after healing of a skin injury. These tissues are frequently formed at the border of normal tissue and wound after traumas like piercing, burning, etc. They usually do not regress spontaneously and tend to recur after excision. Treatment methods of keloids include both surgical and nonsurgical methods. At least one year follow-up period is necessary to fully evaluate the effectiveness of therapy. The patient underwent surgery on his cheek mass was followed. This case is presented for its interesting appearance and location with a literature review.

Keywords: Keloid, cheek, collagen, hypertrophic scar tissue

Yazışma Adresi:
Yrd. Doc. Dr. Salim Yüce
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Sivas, Turkey.
Tel: +90 346 258 00 00-0385
Fax: +90 346 258 13 00
e-mail: salimyucekbb@hotmail.com

Introduction

Keloid is an excessive fibrous tissue proliferation following wound healing and its reason usually can not be identified. Keloid is a recurrent lesion and generally doesn't regress spontaneously. Therefore to prevent the development is more important than cure. In treatment; covering dressing, compression, intralesional corticosteroid, cryotherapy, excision, radiotherapy, laser therapy, and interferon treatment can be used (1,2). Hypertrophic scar and keloid are variations of typical wound healing. A typical wound heals in 6-8 weeks according to the balance between anabolic and catabolic processes. At that level the strength of wound tissue is about 30-40% of normal tissue. During maturation of the scar, the tension strength of the scar results from the crosslinking of collagen fibers. At that point the scar is usually hyperemic. In time it becomes a white, flat and mature scar. During the healing period it can be an imbalance between anabolic and catabolic processes. If more collagens are synthesized, scar tissue begins to develop in every directions, passes over the skin level, and becomes hyperemic again. This tissue is called as keloid or hypertrophic scar (1,2,3). We reported a case operated due to a giant keloid on her cheek and followed during one year.

Case Report

During a health screening in Mauritania a 38-year-old female patient was detected with a mass on her right cheek about 7 years. The patient was living in a socio-economically poor area and she had a wound in her cheek 8 years ago and it began to grow in time. In clinical examination we detected a painless, mobile, 7x6 cm sized mass with medium hardness at right angulus mandibula level and it was covered with a normal black skin (Figure 1). The mass had a smooth surface and a wide stalk. The mass was excised surgically and antibyotherapy and dressing was applied in postoperative period (Figure 2). In one year postoperative observation it was not seen any recurrence.

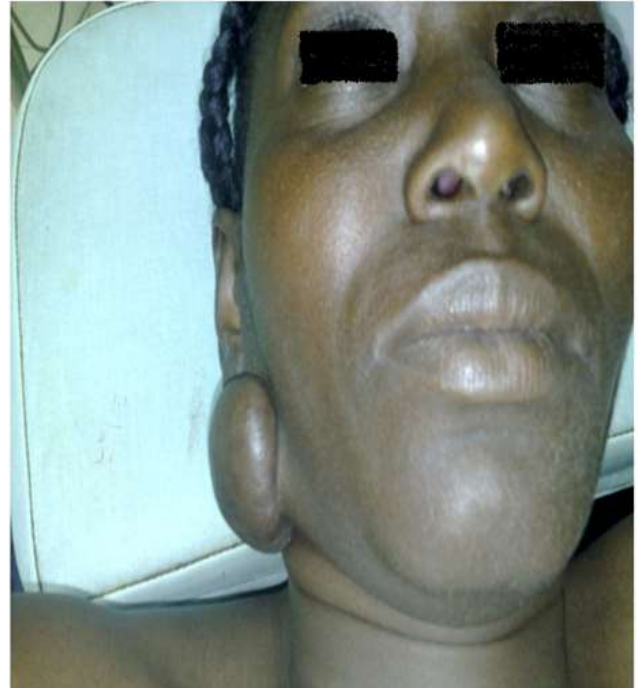


Figure 1. The mass sized 7x6 cm with medium hardness at right angulus mandibula level and covered with a normal black skin



Figure 2. The picture of the mass excised surgically

Discussion

Distinctively from normal skin, it contains high vascularity, high mesenchymal cell density and dense epidermal layer of cells. It is difficult to distinguish hypertrophic scar and keloid from each other in the early phase of formation. Mature lesions are easier to differentiate clinically. It is important in terms of histological differentiation that the keloid has large, dead and aggregated collagenous tissue but the hypertrophic scar doesn't (4). Histologically keloids and hypertrophic scars are separated from normal scar tissue as considering high vascularization, high mesenchymal cell density, inflammatory cell infiltration and thickened epidermal cell layer. There are activated fibroblast types in both types, but those seen in keloid lesions are more inactive. Vascular structures are similar in keloids and hypertrophic scars. They contain a lot of occluded small vessels. Differential histological finding is the large, eosinophilic hyaline-like collagen fibers that are specific only to keloids and not found in the hypertrophic scars. This is also known with the name of keloidal collagen. However, it is not always possible to see this definitive histological finding. Keloidal collagen can only be detected in 55% of the keloids (5). Keloid tissue can be a discomfort reason cosmetically. Generally, there is no mortality, but placement of some keloids can cause contractures in the joints and may increase morbidity leading movement disorders. Keloids and hypertrophic scars can be painful or pruritic (1,4). Physical (earrings and piercing applications) and also pathological (acne... etc) traumas are defined as the primary reasons at keloid formation (1,2,3). Incidence is more in whites than in blacks. It is rarely seen in albinos. It is more common in younger age group and in women than in men due to the wide using of earrings. However it is approximately equal in other age groups (2,4). Preliminary of keloids are common in 10-30 ages. Keloid formation is reduced in advanced ages. But the increase of the procedure such as coronary by-pass etc. can cause the formation of presternal keloids in older ages. Keloids in ear, neck and abdomen are accompanied with pedicles. Whereas, the keloids in the chest and extremities are disposed to grow superficially. The lesions do not contain skin appendages like hair follicles (4). In Caucasians, keloids are seen in face (especially in chin and ear lobe), upper extremities, presternal area, lower extremities and abdomen with a descending order. In black race,

keloids are seen in earlobe, face, neck, lower extremity, chest and abdomen with a descending order (4). There is not an effective treatment method which can be used alone for keloids. Location, hugeness, depth, lesion size, duration are important to determine the treatment type. Both surgical and non-surgical methods can be used separately or in combination (6,7).

It is essential to prevent the development of keloids before the treatment. Fundamentally, it is very important to behold the surgical techniques, suture all surgical wounds with minimal tension, pay attention for the incision not to exceed the joint intervals, follow the skin folds in chest incisions as much as possible. Covering bandages, compression, intralesional steroids and interferon application, radiotherapy and laser treatment can be regarded among the medical treatment methods of keloid and hypertrophic scars (1,2).

Covering bandages (dressing); It is used by covering the scar with a silicone gel dressing. Antikeloidal effect depends on the spreading and hydration combination (1,4).

Compression; The decreasing adhesivity of collagen fibers has been shown with an electron microscopy in compression applied tissues. In a study, it was reported that the button compression (sandwich shaped button application to the earlobe after excision) has been shown to be prevent the recurrence for 8 months to 4 years (1,4).

Corticotherapy; It precludes the collagen synthesis, glycosaminoglycan synthesis, inflammatory mediator production and excessive scar formation as reducing fibroblast proliferation. Triamcinolone acetonide (TAC) as a common steroid is applied 10-40 mg/ml intralesionally for 4-6 weeks. Effective response proportion to the treatment varies between 50-100% and recurrence changes between 9-50%. Recurrence is less than 50% with intralesional TAC application postoperatively after excision (4,8,9).

Radiotherapy; Using in keloid treatment is controversial. Despite the studies that has signified the efficacy and capacity to reduce the recurrence, safety is still speculative. In a retrospective study, recurrence was reported as 53% after the superficial X-ray application in 24 cases who had surgery before. Postoperative recurrence in patients who underwent interstitial radiation with Iridium 192 was found as 21%. The minimum dose should be 12 Gy after the excisional

surgery (4,8). Intralesional interferon implementation; Interferon (IF) gamma is a lymphokine that suppresses the collagen synthesis in vitro and in vivo. IF alpha, beta and gamma were shown to reduce the production of collagen I, III and IV. IF gamma can safely be used 0.05 mg every week up to 10 weeks intralesionally. Common side effect is the headache (7). Surgical treatments can be used alone or combined with the adjuvant therapies. Cryosurgery; Liquid nitrogen application leads to the formation of intracellular crystals, cell damage and anoxia of tissues by disrupting the micro-vascularity. Treatment requires 20-30 days reiteration. Nitrogen application should be kept short because of the possibility of depigmentation.

Excision; recurrence rate is reported lower when used combined with other non-surgical methods (2). Low recurrence after excision depends on the factors such as asepsis, nontraumatic technique, low tension of wounds, correct determining limits of wounds and good hemostasis (1,4). Different techniques have been reported for excision. One of these is the core excision of keloids. The authors, core excision may be a new method that does not require adjuvant therapy (3). Another technique is the keloid filled flap. In this technique, the skin above the keloid mass is dissected and separated and the mass is completely removed. The flap is closed with 6-0 nylon suture. The patients were chased without giving adjuvant treatments. It is evaluated as a technique that will be developed due to the low recurrence rates (2).

Laser therapy; It facilitates a nontraumatic surgery without blood with cauterization and give a chance to the ablation of the keloid tissue with a carbondioxide laser. While the recurrence were 39-92% after the laser application alone, after the combination with steroid therapy; relapse was found as 25-74% and recurrence has been found 45-93% with the Argon laser utilization (1-4). At least, one year follow up is necessary to assess the full effectiveness of the keloid that has a very low rate of spontaneous regression and has a very high rate of recurrence after treatment period. The support with protection from infection and steroid therapies are as necessary as the excision for the patient who was operated for the formation of keloid at cheek.

In histological examination; epidermis became flattened and rete ridges were lost. Under epithelia, collagen tissue was thickened, formed nodular structure and

eosinophilic stained whorled bundles. In between fibrotic collagen fibers were found (Figure 3-a). In Masson trichrome staining collagen and fibrous tissue were blue-green in color (Figure 3-b).

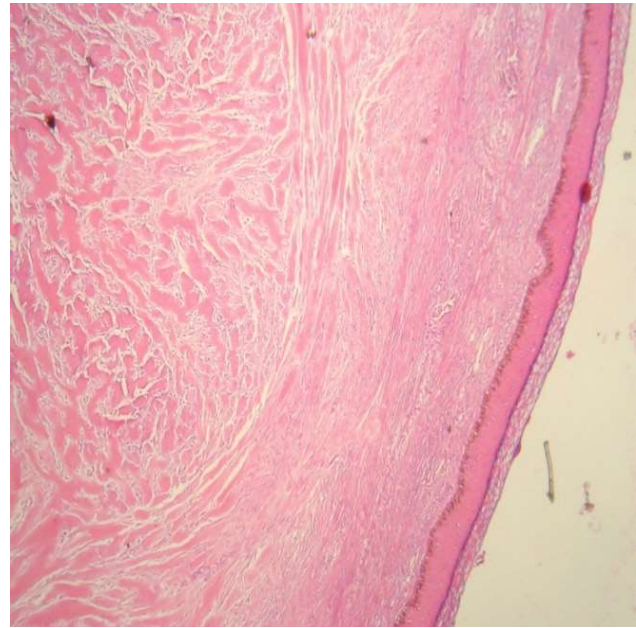


Figure 3-a. Histologically fibrotic collagen fibers were seen.

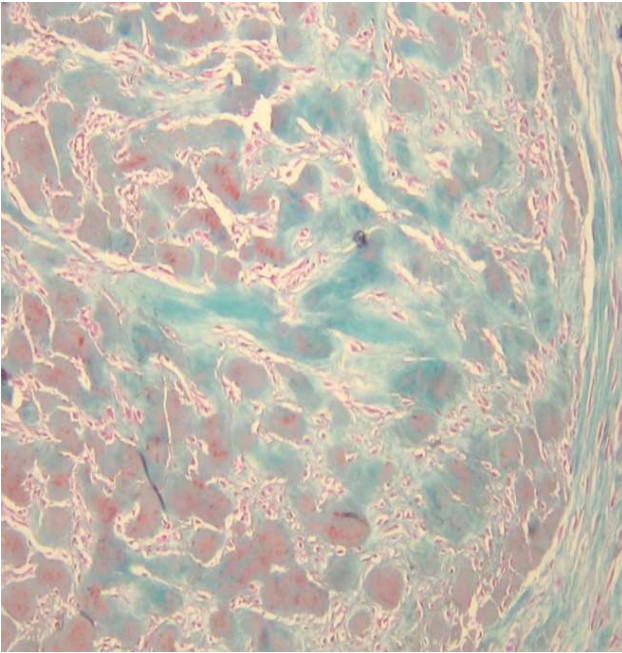


Figure 3-b. Masson trichrome staining collagen and fibrous tissue were blue-green in color

In approach it is important; to avoid surgical procedures that may result in keloid formation, to inform patients about piercings and earrings that may cause keloid formation, to treat keloid with minimal traumatic procedures and to inform the patient about high recurrence risk of keloid.

References

1. Burrows NP, Covell CR. Disorders of connective tissue: Keloids and hypertrophic scars. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, eds. *Rook's Textbook of Dermatology*, seventh ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2004: 54-57.
2. Stern JC, Lucente FE. Carbon dioxide laser excision of earlobe keloids. A retrospective study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989;115:1107-11.
3. Lee Y, Minn K, Baek R, Hong J. A new surgical treatment of keloid: keloid core excision. *Ann Plastic Reconstr Surg.* 2001;46:135-40.
4. Larrabee WF, East CA, Jaffe HS, Stephenson C, Peterson KE. Intralesional interferon gamma treatment for keloids and hypertrophic scars. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1990;116:1159-62.
5. Kim D, Kim E, Eo S, Kim K, Lee S, Bek H. A surgical approach for earlobe keloid; keloid filled flap. *Plastic Reconstr Surg.* 2004;113:166-74.
6. Lindsey WH, Davis PT. Facial keloids. A 15 year experience. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;123:397-400.
7. Atiyeh B, Costagliola M, Hayek N. Keloid or hypertrophic scar the controversy: Review of the literature. *Annals of Plastic surgery* 2005;54(6):676-80.
8. Shea R, Prieto VG. Fibrous lesions of dermis and soft tissue: Hypertrophic scars and keloids. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, sixth ed. New York: McGraw-Hill Co.; 2003:998-1001.
9. Stucker FJ, Shaw GY. An approach to management of keloids. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992;118:63-67.

Konka bulloza kaynaklı fungus topu (miçetoma) Fungal Ball (mycetoma) arise from concha bullosa: A rare Case.

Öz

Konka bulloza pnömotize orta konka olup burun ve paranasal sinüslerin en sık rastlanan varyasyonlarından biridir. Konka drenajının veya havalanmasının bozulduğu durumlarda çeşitli kronik enfeksiyonları ortaya çıkmaktadır. Nazal kavitenin fungus topu oldukça nadir görülmektedir. Literatür araştırmasında bugüne kadar yayınlanmış 5 olgu bulundu. Bu yazıda konka bulloza içinde fungus topu olan bir olgu sunulmuş ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Konka bulloza, fungus topu, miçetoma

Abstract

Concha bullosa is pneumatization of the middle turbinate and is one of the most common variations in the nasal cavity and paranasal sinuses. Various chronic infections emerge when concha drainage or ventilation is failure. The fungus ball in nasal cavity is seen very rare. There are reported only five cases previously. In this article, a case of fungus ball in concha bullosa was presented and discussed within the literature.

Keywords: Concha bullosa, fungus ball, mycetoma.

* Murat Şahan
** Hamdi Sözen
* Serhan Derin
*** Mehmet Deveer
**** Özgür İlhan Çelik

* Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi, Kulak Burun
Boğaz AD, Muğla.

** Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi, Enfeksiyon
Hastalıkları AD, Muğla.

*** Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi, Radyoloji AD,
Muğla.

**** Muğla Sıtkı Koçman
Üniversitesi, Patoloji AD,
Muğla.

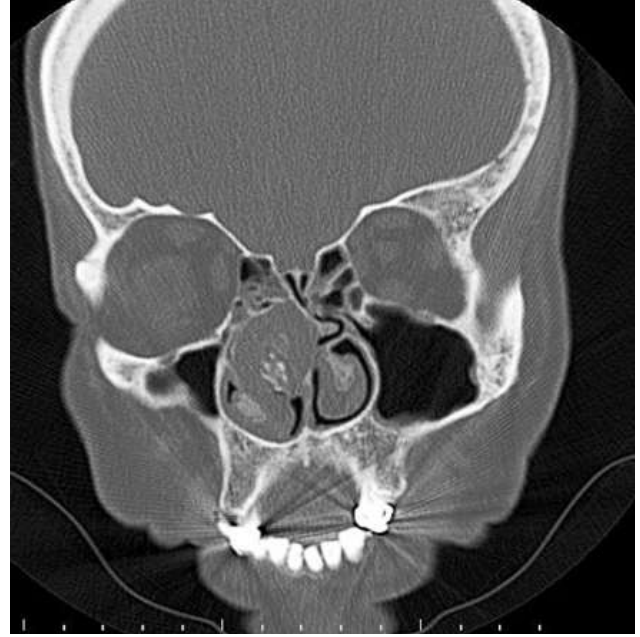
Yazışma Adresi:
Yrd. Doc. Dr. Hamdi Sözen
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi,
Enfeksiyon Hastalıkları AD, Muğla.
e-mail: ahmetalisozen@hotmail.com

Giriş

Fungal sinüzitler mikolojik, radyolojik ve kliniğinin desteklediği histopatolojik özelliklerine göre invaziv ve non invaziv olarak ikiye ayrılmaktadırlar. İnvaziv olanlar akut fulminan, kronik granülamatöz ve kronik invaziv olarak sınıflandırılırken non-invaziv olanlar da alerjik fungal sinüzit ve fungus topu (mycetoma, aspergilloma) olarak sınıflandırılmaktadır(1,2). Fungus topu ekstramukozal olarak mantar proliferasyonu ile oluşmakta, genellikle paranasal sinüsü tamamen kaplayan ünilateral lezyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır. En sık maksiller sinüste görülmekte, onu takiben sfenoid, etmoid ve frontal sinüslerde de oluşabilmektedir (3,4). Fungus topu çok nadiren nazal pasaj veya konka bulloza içinde de gelişebilmektedir. Literatür taraması yapıldığında, 4 adet konka bulloza kaynaklı, 1 adet nazal pasajda rinoliti taklit eden, toplam 5 adet yayınlanmış fungal enfeksiyon olgu sunumu bulduk (3,5,6,7). Biz bu yazıda bir olguda konka bulloza kaynaklı fungal enfeksiyonun kliniğini, histopatolojik bulgularını ve tedavisini sunduk ve literatür eşliğinde tartıştık.

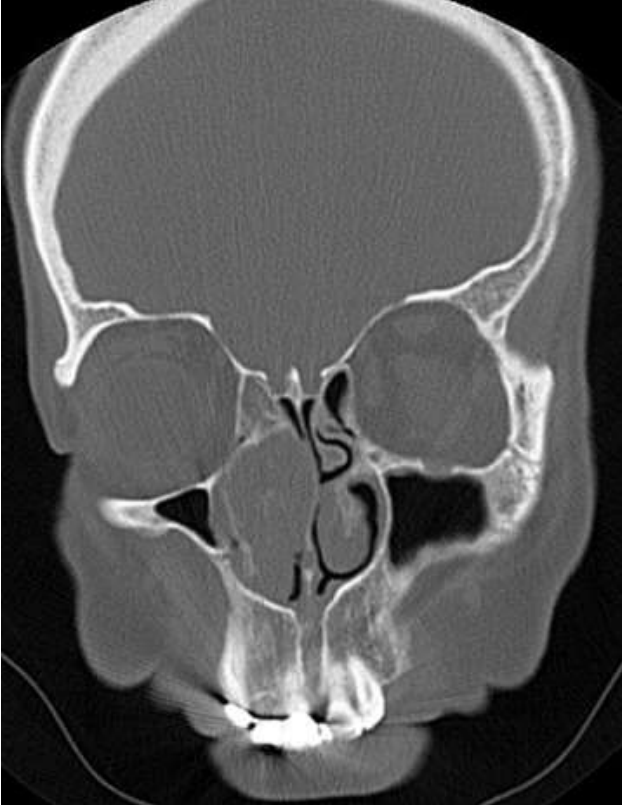
Olgu

Elliyedi yaşında kadın hasta burun tıkanıklığı, arasıra koyu renkli burun akıntısı, koku alma bozukluğu (hiposmi, kakosmi) şikayetleri ile polikliğimize müracat etti. Şikayetleri son bir yıldır mevcuttu; özellikle burun tıkanıklığı ve koku alma bozukluğunda son iki aydır belirgin artış ifade etmekteydi. Öyküsünde burun travması, nazal cerrahi, alerjik rinit veya astım, kronik sinüzit, immun yetmezlik sebebi olabilecek diabet, lenfoproliferatif hastalık veya Wegener's granülamatozisi bulunmamaktaydı. Son bir yıl içinde bu şikayetten dolayı 4 kez antibiyoterapi kullanmış, tedavi sırasında akıntı azalmış; ancak burun tıkanıklığı düzelmemiş. Rinoskopik muayenesinde sağ orta konkanın nazal pasajı kapatacak ve alt konkayı baskılayacak kadar hipertrofik olduğu izlendi. Koranal planda çekilen paranasal sinüs bilgisayarlı tomografisinde (PSBT) nazal pasajı oblitere eden, içeriğinde santralinde nodüler ve lineer hiperdens alanları olan, tam olarak havalanması kaybolmuş genişlemiş sağ konka bulloza ve konkanın genişlemesine bağlı olarak sağ maksiller sinüs ostiumunda kapalılık, mukozasında kalınlaşma izlendi (Resim1). Anterior etmoidal sinüslerde havalanma bozukluğu ve septumda sola deviasyon mevcuttu

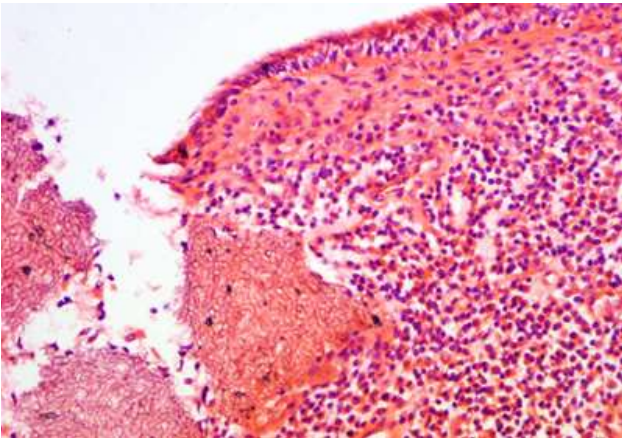


Resim 1: Koranal PSBT nazal pasajı oblitere eden, santralinde nodüler ve lineer hiperdens alanları olan, aerasyonu kaybolmuş sağ konka bulloza, maksiller sinüs ostiumunda kapanma.

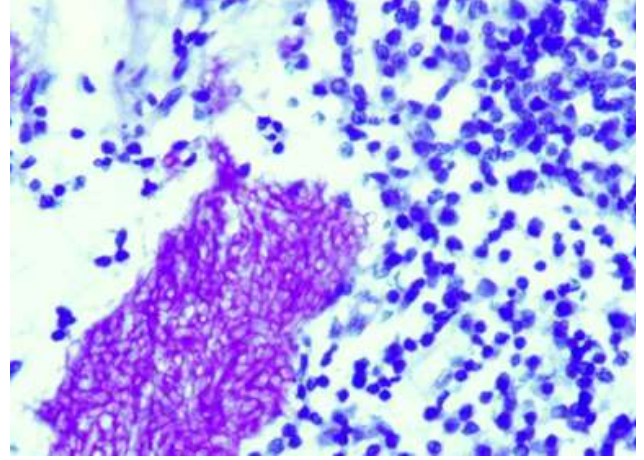
(Resim2). Olguya genel anestezi altında, sağ orta konkanın lateral lamellası ve içini döşeyen mukozaya ile birlikte eksizyonu, anterior etmoidektomi, maksiller sinüs ostium plastisi ve septoplasti uygulandı. Konkanın içinin sarı ve kahverengi sertleşmiş materyel ile dolu olduğu izlendi. Eksize edilen materyel fungal kültüre ve histopatolojik incelemeye gönderildi. Fungal kültürde üreme sağlanamadı; hematoksilin-eozin ile boyamada respuratuvar tip psödostrafiye kolumnar epitelle döşeli sinüs mukozasında fungal kolonizasyon (Resim 3-H&E x 100), periyodik-asit şifitte ise epiteliyal inflamasyon içinde düzensiz geniş, boş görünümlü, parçalanmamış fungal hifler (Resim 4-PAS x 400) saptandı. Olgunun bir yıllık takibinde endoskopik muayenede her iki nazal pasaj açık olarak değerlendirildi ve herhangi bir enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı.



Resim 2: Koranal PSBT sağ orta konkanın ekspansiyonuna bağlı anterior etmoidal sinüslerde havalanma bozukluğu ve septumda sola deviasyon.



Resim 3: (H&E x 100) Respiratuar tip psödostrafiye kolumnar epitelle döşeli sinüs mukozasında fungal kolonizasyon.



Resim 4: (PAS x 400) Epitelial inflamasyon içinde düzensiz geniş, boş görünümlü, parçalanmamış fungal hücreler.

Tartışma

Konka bulloza orta konkanın gelişimsel anatomik bir varyasyonu olup populasyonda %25-28 oranında görülmektedir (8,9); genellikle burun tıkanıklığına ve yüz ağrısına; orta meatusu kapatırsa kronik sinüzite neden olabilmektedir (11). Etmoid hücre havalanmasının orta konkaya migrasyonu konkanın pnömotizasyonuna neden olmaktadır. Eğer pnömotize orta konkanın drenajı bozulursa mukosel, pyosel veya fungus topu gibi enfeksiyonlarına da rastlanabilmektedir (5,6,7,8).

Fungus topu çoğunlukla aspergillus türleri tarafından oluşturulmakta (2,10), immun sistemi sağlam olan orta yaş üstü olgularda görülmektedir (7,12). Sinüs ostiumunun tıkanması mantarlar için uygun üreme ortamı hazırlasa da, fungus topunun lokalizasyonu ile alakalı patogeneze hala açık değildir (3,9,10). Çünkü, çalışmalar osteomeatal kompleks tıkanıklığı ile fungus topu arasında bir ilişki gösterememişlerdir. Ancak ilginç olarak aspergillozisin diğer formlarından farklı olarak fungus topu kadınlarda daha yaygındır (10,13). Maksiller sinüs içindeki fungus topu için geçirilmiş diş teavisi (kanal tedavisi veya diş dolguları) predispozisyon yaratmaktadır (3,10). Olgumuzun kadın olması dışında fungus topuna neden olabilecek sistemik ve lokal herhangi bir neden bulunmamıştır.

Fugus topu genellikle yavaş ve asemptomatik gelişir. Burun tıkanıklığı, nazal ve postnazal akıntı, baş ve yüz ağrısı, koku alma bozuklukları (hiposmi, kakosmi)

gibi kronik sinüzitten farklı olmayan şikayetlere neden olmaktadır (3-7,10-13). Bu sebeplerden dolayı tanılarında gecikmeler olabilmektedir. En sık izlenen semptomlar, bakteriyel süperenfeksiyonları takiben ortaya çıkan, antibiyoterapi ile baskılanan ve tekrarlayan, postnasal akıntı (gece öksürüğü eşlik edebilir), baş ve yüz ağrısı ve kakosmidir (3,10,12). Olgumuzun bu sayılan özellikleri taşınması dikkat çekicidir.

Fungal sinüs hastalıkları genellikle intranasal kitle lezyonları oluşturduklarından diğer patolojik antitelerden ayrıntı edilmesi ve radyolojik olarak doğru tanımlanması oldukça önemlidir. Sinonazal fungus topu uygun endoskopik cerrahi ile tamamen tedavi edilebildiğinden hızlı ve doğru tanımlama, gereksiz ve geçikmiş tedaviye engel olmaktadır (3,5,6,10,13). Kontrastsız PSBT değerlendirmelerinde; tek taraflı sinüs içinde, intralezyonel kalsifiye alanlar içeren hiperattenuye kitle ile çevresindeki mukozal kalınlaşmaya bağlı gelişen hipoattenuye yapı fungus topunun radyolojik özelliklerindedir (3,12,13). Sinüsün kemik duvar yapısı sağlam ve olguların yarısında skleroz görülebilmektedir (13). İntralezyonel kalsifikasyon genellikle olguların %70'de bulunmakta, nodüler veya lineer yapıda olup %85 oranında da lezyonun santralinde yerleşmişlerdir (13). Lezyon, magnetik rezonans görüntüleme de ise T1'de orta, T2'de belirgin hipointenstir, kalsifikasyonlar T2'de belirgin olarak görülebilir (12,13). Olgumuzun endoskopik ve PSBT bulguları konka bulloza kaynaklı fungus topu (çok nadir görülsse bile) olabileceğini düşündürmektedir.

Fungus topunun kesin tanısı ameliyattaki makroskopik bulgular ve histopatolojik görüntü ile olmaktadır. Çünkü alınan kültürlerin ancak üçte birinde üreme oluşabilmektedir, oysa olguların %90'nından fazlasına histopatolojik olarak tanı konabilmektedir (7,10). PAS veya Grocott metodu ile fungusun morfolojisi ve invazyonu kolaylıkla tanınabilmektedir (3,7,10). Olgumuzun histopatolojik görüntüleri noninvaziv fungus topu olarak değerlendirilmiştir.

Fungus topunun tedavisi, lokalizasyonuna göre endoskopik endonazal cerrahi ile (orta meza antrastomisi, etmoidektomi, sfenoidetomi, konka bulloza rezeksiyonu) lezyonun tamamen çıkarılması ve sinüsün havalanmasının sağlanması ile olmaktadır (3-7,10-13). Bu cerrahi teknikler oldukça güvenli, başarılı ve düşük komplikasyon oranlarına sahip tedavi yöntemleridir. Noninvaziv fungal sinüzitler peri ve postoperatif

antifungal tedavi gerektirmemektedir (10). Olgumuz da endoskopik cerrahi ile tedavi edilmiş, antifungal tedavi eklenmemiş ve bir yıllık takibinde herhangi bir nükse rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; konka bulloza kaynaklı fungal enfeksiyonlar çok nadir görülmekte, intranasal diğer potolojilerle karışabilmektedir. Klinisyen tedaviye cevap vermeyen uzun süreli kronik rinosinüzitlerde ve PSBT'de tek taraflı radyodens alanlar içeren nasal kitlelerde fungal enfeksiyon da olabileceğini unutmamalıdır.

Kaynaklar

1. DeShazo RD, Chapin K, Swain RE. Fungal sinusitis. *N Eng J Med* 1997; 337: 254-9.
2. RupaV, ThomasM. Different types of fungal sinusitis occurring concurrently: implications for therapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270(2): 603-8.
3. Kim KS, Kim HJ. A case of the nasal cavity fungus ball. *Mycoses*. 2011; 54(4):e244-7.
4. Ferreiro JA, Carlson BA, Cody DT 3rd. Paranasal sinus fungus balls. *Head Neck* 1997; 19(6): 481-6.
5. Ciger E, Demiray U, Onal K, Songu M. An unusual location for a fungus ball: the concha bullosa. *J Laryngol Otol* 2012; 126(8): 844-6.
6. Bektaş D, Ural A, Caylan R, Bahadır O, Kul N, Caylan R. Two cases with unusual mycetoma localizations in upper respiratory system. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2011; 21(6): 338-40.
7. Ozkiris M, Kapusuz Z, Seçkin S, Saydam L. Fungus ball in concha bullosa: a rare case with anosmia. *Case Rep Otolaryngol* 2013; 920406. doi: 10.1155/2013/920406. Epub 2013 Jul 8.
8. G. Kayalioglu, O. Oyar, and F. Govsa. Nasal cavity and paranasal sinus bony variations: a computed tomographic study. *Rhinology* 2000; 38(3): 108-13.
9. Tsai TL, Lan MY, Ho CY. There is no structural relationship between nasal septal deviation, concha bullosa, and paranasal sinus fungus balls. *ScientificWorldJournal* 2012; 181246. doi: 10.1100/2012/181246. Epub 2012 Dec 26.
10. Thompson GR 3rd, Patterson TF. Fungal disease of the nose and paranasal sinuses. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(2): 321-6.
11. Cain RB, Lal D. Update on the management of chronic rhinosinusitis. *Infect Drug Resist* 2013; 6: 1-14.
12. Mossa-Basha M, Ilica AT, Maluf F, Karakoç Ö, Izbudak I, Aygün N. The many faces of fungal disease of the paranasal sinuses: CT and MRI findings. *Diagn Interv Radiol* 2013; 19(3): 195-200.
13. Seo YJ, Kim J, Kim K, Lee JG, Kim CH, Yoon JH. Radiologic characteristics of sinonasal fungus ball: an analysis of 119 cases. *Acta Radiol* 2011; 52(7): 790-5.

Migren patogenezinde oksidatif strese duyarlı TRP kanallarının rolleri

Role of oxidative stress sensitive TRP channels in pathogenesis of migraine

Öz

Günümüzde ülkemiz nüfusunun yaklaşık %17'sini etkileyen ve halk arasında yaygınlığı gittikçe artan bir hastalık olan migren tek taraflı baş ağrısı ile karakterizedir. Vücudumuzda fizyolojik şartlarda üretilen oksidan ajanlar ile antioksidan moleküller arasındaki dengenin oksidan ajanlar lehine kayması oksidatif stres durumu olarak ifade edilmektedir ve son yıllarda gerek çevre şartları ve gerekse elektromanyetik alanların artması ile bireylerde oksidatif düzeyleri önemli ölçülerde artmaktadır. Sayısı hızla artan çalışmalarla oksidatif stresin migren patofizyolojisinde de temel rol oynayabileceği iddialı bir şekilde bildirilmiştir. İyon kanalları, hücre membranına gömülü ve hücre canlılığı için gerekli temel moleküllerin alış verişinde görev alan protein yapılı unsurlardır. Oksidatif ajanlar TRP iyon kanallarını uyarabilmekte ve aktivasyon sonucu migren tetikleyicisi nöropeptidlerin salınımıyla ataklar gelişebilmektedir. Bu nedenle bu derlemede oksidatif stresle aktive olabilen TRP iyon kanallarının migren patogenezinde etkinliği vurgulanmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Migren, oksidatif stres, TRP kanalları, kalsiyum iyonu (Ca²⁺)

Abstract

Migraine a disease, which effects about 17 per cent our country population and spread increasingly among public, characterized with hemicranial head pain. Oxidative stress status, between antioxidant molecules and oxidant agents balance shift to oxidant agents which both produced physiological conditions in our body. Recent years, rapidly growing ambitious studies have been reported that oxidative stress play a basic role also pathophysiology of migraine. Ion channels, built by proteins are embedded in cell membrane and responsible for exchange essential molecules that require for cell viability. Oxidative agents can stimulate TRP ion channels and migraine attacks can occur by releasing migraine trigger neuropeptides result of channel activation. So in this review emphasized that effectiveness of oxidative stress sensitive TRP channels on pathogenesis of migraine.

Keywords: Migraine, oxidative stress, TRP channels, calcium ion (Ca²⁺)

Ahmi Öz
Abdülhadi Cihangir Uğuz

Süleyman Demirel Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Biyofizik AD,
Isparta.

Yazışma Adresi:
Arş. Gör. Ahmi Öz
Adres: Süleyman Demirel Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Isparta.
Telefon: 0246 211 36 55
Fax: 0246 237 11 65
E-mail: ahmioz@sdu.edu.tr

Giriş

Migren, ataklar halinde seyreden, genelde hemikraniyal ağrıyla karakterize edilen nörolojik bir hastalıktır (1). Türkiye'de bir yıllık migren prevalansı %16,4 olarak bulunmuştur (2). Migren hastalarında; açlık, gürültü, uyku düzensizliği, yorgunluk, motorlu araçlarla seyahat, kokular, hava durumu, stresör faktörler, fiziksel efor, ışık, güneş, soğuk, gözlerde yorulma, kalabalık, ağlama, sigara içme, yüksek kan basıncı ve menstruasyon atakları tetikleyici etkenler arasında sayılmaktadır (3, 4). Hakkında yapılan çok araştırma olmasına rağmen patogenezinin net olarak ortaya koyulmasındaki güçlükler, hastalığın bir tek mekanizmadan değil, bilakis atakları birden fazla başlatıcı sebebin olabileceğini akla getirmektedir.

Oksidatif stres; hidroksil radikali (OH⁻), süperoksit radikali (O₂⁻) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) hücrelerde ve organik moleküller üzerinde yaptığı tahribat olarak ifade edilmiştir (5, 6). Başlı başına mikro düzeyde hücresel ve makro düzeyde organizmalara zararlı olan bu olgu son yıllarda sıklıkla birçok hastalıkla ilişkilendirilir hale gelmiştir.

Hemen hemen her fizyolojik olayda görev alan kalsiyum iyonu (Ca²⁺) geçici olarak meydana gelen Ca²⁺ sinyalleri vasıtasıyla hücresel fonksiyonlarını yerine getirir. Ca²⁺ sinyali de iyon kanalları vasıtasıyla hücre içerisine giriş-çıkış yapan Ca²⁺ iyonları ya da hücre içi depolardan Ca²⁺ salınması sayesinde gerçekleştirilir (7).

Transient Receptor Potential (TRP) kanalları ise, ilk olarak Drosophila cinsi meyve sineklerinin fotoreseptör hücrelerinde varlığı tespit edilen, ağırlıklı olarak Ca²⁺ geçirgen transmembran iyon kanallarıdır (8). Hücre dışı konsantrasyonu, içine oranla yaklaşık 20.000 kat daha fazla oranda Ca²⁺ ihtiva ettiği göz önüne alınırsa, sitozoldeki Ca²⁺ konsantrasyonunun değişimine bağlı olarak açılıp kapanan (store-operated) bu kanallardan iyon geçişinin hücrenin hayatsal fonksiyonlarını yerine getirmede büyük önem arz eder. TRP iyon kanal üst ailesi insanlarda, kendi içerisinde spesifik bağlanma bölgelerine göre toplamda 28 alt tip ihtiva eden, altı alt aileye ayrılır. Bunlar; Ankyrin (TRPA), Vanilloid (TRPV), Canonic (TRPC), Melastatin (TRPM), Polycystin (TRPP), Mucolipin (TRPML)'dir. Her bir alt ailenin spesifik tanımlayıcı bölgelerine göre belirlenmiş alt birimlere ayrılır. TRPA alt ailesinin bir, TRPV alt ailesinin altı, TRPC alt ailesinin yedi, TRPM alt ailesinin sekiz, TRPP alt ailesinin üç ve TRPML alt ailesinin şimdiye kadar keşfedilen üç alt birimi mevcuttur (9). Son yıllarda

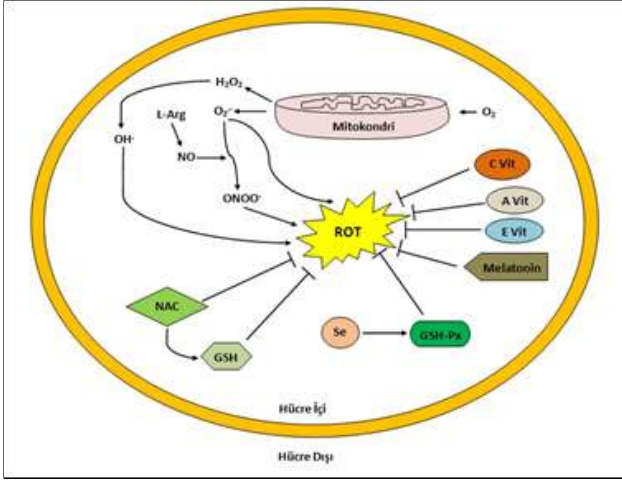
yapılan çalışmalarla TRP iyon kanallarının; apoptozis (10), kanser (11), diyabet (12) gibi hastalıkların yanı sıra; Alzheimer hastalığı (13) gibi nörolojik rahatsızlıklarla bağlantısı olabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde ağrı ve migrenle ilişkisini araştıran çalışmalara da literatürde rastlanmaktadır (14-15).

TRP kanallarından bazı alt tiplerin oksidatif ve nitrosatif strese duyarlı olduğu (Tablo) da göz önünde bulundurulursa, migren gibi patogenezi netliğe kavuşturulamamış hastalıkların anlaşılmasına yeni bir bakış açısı olabileceğinden, bu derlemede migrende oksidatif strese duyarlı TRP kanallarının rolleri tartışılması amaçlanmıştır.

Oksidatif Stres ve Migren

Oksidatif stres, son yıllarda birçok hastalıkla beraber kullanılmaya başlanan bir terim haline gelmiştir. Geçtiğimiz on yıla ait migren ve oksidatif stres ilişkisinin araştırıldığı çok sayıda yayına rastlanır. Yapılan çalışmalar, migrenli hastaların ataklarından önce ve takip eden günlerde oksidatif stres parametrelerinin artış gösterdiğini bildirmektedir (16-18).

Oksidatif strese karşı koyabilen ajanlar, antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. ROT'un yaptığı tahribata karşı; detoksifiye edici etkileriyle katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimler, E, C vitaminleri ve melatonin iyi bilinen başlıca antioksidanlardır. Bunların dışında bitkilerde bulunan; flavonoidler, karotenoidler ile zayıf bir antioksidan olan A vitamini ve bazı eser elementler de antioksidanlar arasında sayılır (Şekil 1) (19-21).



Şekil 1. Hücre içerisinde çeşitli antioksidan maddelerin reaktif oksijen türleri üzerine etkileri. Solunumla alınan moleküler oksijen mitokondri vasıtasıyla H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ e dönüştürülür. H_2O_2 en potent radikal olan OH⁻ iyonuna kolay dönüşebilir. L-Arjinin aminoasitinden türetilen nitrik oksit (NO) ile $O_2^{\cdot-}$ reaksiyona girerek ONOO⁻ bileşiği oluşur. Bütün bu ROS'a karşı dengeyi, başlıca enzimatik antioksidanlardan GSH-Px, CAT, SOD üstlenirken, melatonin, vitaminler, NAC gibi aminoasit türevleri, GSH gibi peptidler ve antioksidan enzim yapısına katılan Se gibi elementler sağlamaya çalışır.

Migren rahatsızlığı yaşayan hastalardan alınan kan numuneleri; serum Oxidative Stress Index (OSI), Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS) analiz sonuçları kontrol grubuna kıyaslandığında, oksidatif/antioksidatif dengenin oksidatif yönde kaydığını gösteren birden çok çalışma sonucuna rastlanır (22-24). Bir çalışmada aurasız migrenli hastalarda (n=75, 55 bayan, 20 erkek) serum TOS seviyeleri sağlıklı kontrollerine göre daha yüksek bulunurken, TAS seviyeleri daha düşük bulunmuştur. Dolayısıyla hasta grubunda oksidatif stres indeksi sağlıklı gruba göre daha yüksek çıktığı sonucuna varılmıştır (22). Oksidatif stres indikatörlerinden malondialdehid (MDA) seviyelerinin araştırıldığı başka bir çalışmada (n=56, 46 bayan, 10 erkek) aurasız gruba göre auralı olan grupta MDA seviyelerinin daha fazla olduğu bulunmuştur (16). Oksidatif ve nitrosatif stres parametrelerinin beraber araştırıldığı bir çalışmada da (n=36, 22 aurasız, 14 auralı); atak sırasında platelet MDA, nitrat ve nitrit seviyelerinin kontrole göre arttığı, atak olmadığı dönemlerde ise gruplar arası farkın bulunmadığı belirtilmiştir (17). Benzer bir çalışmada (n=59, 22 auralı, 37 aurasız) plazma

asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve NO seviyelerine bakılmış, atak esnasında bu iki parametrenin de kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma ile oksidatif stresle ilişkisi olduğu bilinen ADMA'nın ve nitrosatif stres faktörlerinin migrende etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (25).

Antioksidan enzim aktivitelerinin migren hastası çocuklarda araştırıldığı bir çalışmada da (n=47) ağrısız dönemde alınan kan numunelerinde eritrosit içi GSH-Px, CAT, SOD aktiviteleri analiz edilmiş. Sağlıklı kontrollerine kıyaslandığında, SOD enzim aktivitesinde anlamlı düzeyde fark bulunmazken, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin daha az olduğu bildirilmiştir (26). Bu çalışmalarda; migrenli hastaların gerek atak esnasında gerek atak harici periyotta oksidatif stres parametrelerinin yükseldiği ve migren patofizyolojisinde bu faktörün rol oynayabileceği, tedavide de hedef seçilebileceği vurgulanmıştır.

Karışık antioksidan tedavisinin uygulandığı bir çalışmada; \square -blokörler, antidepressanlar, antikonvulsanlar ve hidrokşi triptamin (5-HT) reseptör agonistleri ile sonuç alınamamış toplamda 12 auralı ve aurasız migrenli hastadan, araştırmaya başlamadan önce Migraine Disability Assessment (MIDAS) anketi yapılmış ve değerler araştırmadan sonra tekrar yapılan aynı anketle karşılaştırılmış. Hastalar 3 ay boyunca günlük her biri 120 mg olan 10 kapsül; içeriği çam kabuğu ekstraktı, 60 mg C vitamini ve 30 IU E vitamini karışımı olan antioksidan formülünü kullanmış. Süre sonunda, okulda, iş yerinde, sosyal ve ferdi yaşantısında migrenin etkilerini değerlendiren MIDAS anketini yeniden doldurmuşlar, böylece 3 aylık tedavi periyodunu değerlendiren veriler elde edilmiş. Katılımcıların ortalama ağırlı geçirdiği gün, 44,4'ten 26'ya, MIDAS anketine göre ağrı şiddetine verdikleri puan ise tedavi öncesi dönemde 10 üzerinden 7,5 iken, antioksidan karışımı tedavisinden sonra 5,5'e düştüğü belirtilmiştir (27). Katılımcı hasta sayısının az olması çalışmanın güvenilirliğini etkilese de diğer yayınların işaret ettikleri tedavi yönteminin küçük de olsa bir adımı olmasından dolayı önemlidir. Bu literatürde, migren şiddeti ve ağrı sürelerinin antioksidan tedavisi ile azaltılabileceğini gösteren, bilinen ilk yayındır.

Oksidatif Stres ve TRP Kanalları

TRP kanallarının keşfinden bu yana, hücre fonksiyonlarına ilişkin görevleri ve bazı hastalıklarla bağlantılarının anlaşılmasından dolayı birçok araştırmacının çalışma

alanı haline gelmiştir. Oksidatif strese olan bağlarının keşfedilmesi de araştırmaların seyrinde önemli yer tutmuştur (28). Aktivasyonları hücre içinden veya dışından tetiklenebilen TRP kanalları, redoks durum değişmelerine duyarlıdır. Kanal yapısındaki sistein kalıntılarının; oksidasyon, elektrofilik reaksiyon ve sülfidrilin S-nitrozilasyonu ile modifikasyonu redoks durum değişikliğine karşı cevabı sağlar. Böylece kanal aktive/inaktive olur (29). Oksidatif strese duyarlı TRP kanalları Tablo'da gösterilmiştir. Alt tipleri dizi bakımından birbirine benzemesiyle beraber, hepsinin değil de kritik öneme sahip olan nöronal dokularda daha fazla ekspresyona sahip olanlarının bu özelliği daha fazla dikkat çekmektedir (30, 31).

Tablo. Oksidatif strese duyarlı TRP katyon kanal alt tiplerini, kanalları aktive eden oksidatif stres parametreleri.

TRP Kanal alt ailesi	Kanal alt tipi	Oksidatif stres parametresi	Duyarlılık	Referans
A	TRPA1	H ₂ O ₂ NO ₂ Peroksinitrit (ONOO-) Hipoklorit (OCl)	Aktivasyon	Sawada ve ark. (2008), Andersson ve ark. (2008), Bessac ve ark. (2008), Takahashi ve ark. (2008), Miyamoto ve ark. (2009)
M	TRPM2	H ₂ O ₂	Aktivasyon	Hara ve ark. (2002), Wehage ve ark. (2002), Kolisek ve ark. (2005), Kühn ve ark. (2005), Nazıroğlu ve Lückhoff (2008)
V	TRPV1	NO	Aktivasyon	Yoshida ve ark. (2006), Miyamoto ve ark. (2009)

TRPA1

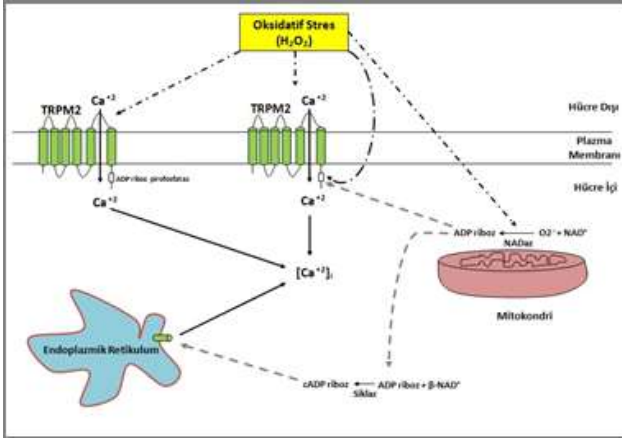
TRPA1 iyon kanalı önemini belirten çalışmalardan birisi Sawada ve ark. (2008), Dorsal Root Ganglion (DRG) ve Trpa1 geni transfekte Human Embryonic Kidney 293 (HEK 293) hücrelerinde yapılmış ve bu hücrelerin H₂O₂ ile uyarımı sonucu hücre içine Ca⁺² girişi olduğunu, bunun da sistein kalıntılarının modifikasyonu yoluyla düzenlendiğini öne sürmüşlerdir (32). Ayrıca NO donörü olan S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine (SNAP) uygulaması ile NO varlığında da transfekte HEK 293 hücrelerinde aktivasyon olabileceğini göstermişlerdir. Benzer olarak Andersson ve ark. (2008), Trpa1 geni

transfekte edilmiş Chinese Hamster Ovary (CHO) hücre serilerinde H₂O₂ uygulamasıyla aktivasyon sağlandığını fakat transfekte edilmemiş CHO hücrelerinde böyle bir durumun söz konusu olmadığını Patch-Clamp çalışmalarıyla izah etmişler. Ayrıca DRG hücrelerinde H₂O₂ ile başlatılan hücre içi Ca⁺² girişini, Ca⁺² sinyali analizleriyle göstermişlerdir. Trpa1^{-/-} farelerde DRG hücrelerinde, yabancı tipte kıyaslandığında, H₂O₂ uygulamasına kanalın tepkisiz olduğu bildirilmiştir (33). Bessac ve ark. (2008), yaptıkları çalışmayla, Trpa1 geni eksprese eden farelerin DRG hücrelerinde OCl⁻ ve H₂O₂ ile aktivasyon olduğunu, ancak bu genden yoksun olan (Trpa1^{-/-} double knock-out) farelerde böyle bir etki gözlenmediğini bildirmişlerdir (34). Takahashi ve ark. (2008) ve Miyamoto ve ark. (2009) da benzer şekilde TRPA1 kanalının H₂O₂ ve SNAP ile aktivasyonuna vurgu yapmışlardır (35, 36).

TRPM2

TRP kanal ailesi üyelerinden oksidatif strese ilişkisi en çok araştırılmış ve en iyi anlaşılmiş olanı TRPM2 katyon kanal alt tipidir. TRPM2'nin oksidatif strese aktivasyonu ve hücre içine Ca⁺² girişi olduğu elektrofizyoloji (Patch-Clamp) çalışmalarıyla gösterilmiştir (37-39). Hücre içine Ca⁺² girişi hücre içi faaliyetlerin yerine getirilmesi için büyük önem arz ederken, girişi sağlayan kanal fonksiyonlarında gelişen düzensizlikler de çeşitli anomalilere sebep olabilmektedir. TRPM2'nin aktivasyonu, hem H₂O₂'nin hücredeki ikincil mesajıcılardan ADP riboz üretimini teşvik etmesi ile hem de kanalın N-terminal kısmındaki ADP riboz pirofosfataz enzimini doğrudan uyarması sonucu gerçekleştiği bildirilmektedir (Şekil 2).

ADP riboz, TRPM2'nin ADP riboz pirofosfataz enzimi ihtiva eden C-terminal ucuna bağlanarak aktivasyonunu sağlar ve hücre içine Ca⁺² girişi olur (38-40). H₂O₂'yi yıkımlayan enzim olan CAT sayesinde TRP kanallarından hücre içine Ca⁺² girişinin düzenlenebileceği bildirilmiştir (42). Oksidatif strese TRPM2 aktivasyonu, dolaylı yoldan olduğu gibi Nazıroğlu ve Lückhoff (2008)'un bildirdiği gibi doğrudan da olabilmektedir. Oksidatif stresin, kanalın altıncı segmentinin C-terminal bölgesinde yerleşik ADP riboz pirofosfataz enzimini doğrudan aktive ederek kanalı açılmaya teşvik ettiği



Şekil 2. Hücre içersine Ca^{2+} girişi mitokondriyi depolarize eder ve reaktif oksijen ürünlerinin daha fazla üretilmesine sebep olur. ADP riboz üretimi teşvik edilir ve TRPM2'nin N-terminal ucuna bağlanan ADP riboz, kanalın bu bölgesinde yer alan ADP riboz pirofosfataz enzimi ile katalizlenerek kanal aktivasyonu sağlar. Hücreye Ca^{2+} girişi olur. Böylece hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu $[Ca^{2+}]_i$ artmış olur. Ayrıca kanal, H_2O_2 'nin doğrudan ADP riboz pirofosfataz enzimini uyarması ile de aktive olur.

gösterilmiştir (41). TRPM2'nin H_2O_2 ile aktivasyonu sonucu sitozole Ca^{2+} girişinin düzenlenmesinde bazı antioksidanların görev üstlendiği bulunmuştur. Selenyum (Se), melatonin, N-asetil sistein (NAC), E vitamini gibi maddeler antioksidan özellikleri sayesinde H_2O_2 aracılı TRPM2 aktivasyonu ile hücreye Ca^{2+} girişini düzenlediği ve hücreyi oksidan hasardan koruduğu bildirilmiştir (43-46).

TRPV1

TRPV1'in primer aktivatörleri olarak capsaicin (CAP), proton (H^+) ve yüksek sıcaklık ($>43^\circ C$) düzeyleri iyi bilinirken, Yoshida ve ark. (2006) çalışmasıyla SNAP ile de aktive olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca TRPV1'e uygulanan NO ile H^+ ve sıcaklığa olan duyarlılığının da artırılabilirliğinden söz edilmiştir (47). Miyamoto ve ark. (2009) çalışmasında da SNAP ile aktive edilen TRPV1 kanallarından hücre içine Ca^{2+} girişi Fura-2-AM boyası kullanılarak yapılan hücre içi Ca^{2+} sinyali analizlerinde gösterilmiştir (36).

Migren ve TRP Kanalları

TRP kanallarından bazıları ağrı ile ilişkilendirilmesine rağmen migren ve TRP kanalları üzerine yapılmış

yayınlar oldukça yenidir. Ağrı ile bağlantısı olduğu önceki çalışmalarla gösterilmiş olan TRPA1 ve TRPV1 kanallarının migren patogenezinde de yer alabileceği tartışılmaktadır. Evans ve ark. (2012) antimigren ilaçlardan sumatriptanın muhtemel etki mekanizmasının TRPV1 aracılı calcitonin gene related peptide (CGRP) salınımını engellemesiyle işlediğini ve tedavide TRPV1 kanalının hedef alınması gerektiğini önermişlerdir (48, 49). Benemei ve ark. (2013) benzer şekilde migrenin en önemli tetikleyicisi olan CGRP'nin salınımı olduğunu, TRPA1'in aktivasyonu ile CGRP salınımının arttığını ve buna bağlı olarak atak geliştiğini belirtmişlerdir. Tedavide TRPA1 antagonistlerinin önemli olduğuna vurgu yapmışlardır (50).

Sonuç

Serebrospinal sıvı (SSS) toplam antioksidan kapasite (TAK) analizleri yapılan bir çalışmada serum TAK düzeylerinde plazmaya göre farklılık olmadığı saptanmıştır. Ayrıca serum antioksidan düzeylerinin doğrudan SSS'yi etkilediği de belirtilmiştir (51).

Serumun SSS'yi etkilediği bilindiğine göre migrenli hastalarda oksidan düzeylerinin yüksekliği migren tetiklenmesinde bunun bir rolünün olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir. Oksidan seviyelerinin yüksekliği, etkisini aktivasyonu buna bağlı olduğu bilinen iyon kanallarıyla gösterdiği düşünülmektedir. Sonuç olarak; migrende iyon kanallarının etkisi ile CGRP gibi tetikleyici kabul edilen maddelerin salınımında kanalların rolü olduğu gibi oksidatif stresle aktive olabilen kanalların da migreni başlatıcı faktörlere aracılık ettiği düşünülmeli gerekir. Beyin dokusunda eksprese edilen TRPM2'nin, literatürde migrenle ilişkisinden söz edilen TRPA1 ve TRPV1 gibi kanallarla birlikte ele alınması ve üzerine araştırmalar yapılması bu hipotezi aydınlatıcı olacaktır. Biz bu derlememizde, migren patofizyolojisinde şimdiye kadar göz ardı edilmiş TRPM2 katyon kanallarının da muhtemel etkinliği olabileceğine vurgu yapmak ve gelecekteki çalışmalarda TRPM2 katyon kanallarına ağırlık verilmesinin çığır açıcı sonuçlar doğurabileceğini belirtmek istedik.

Kaynaklar

- Lippi G, Mattiuzzi C, Meschi T, Cervellin G, Borghi L. Homocysteine and migraine. A narrative review. *Clin Chim Acta* 2014 Jun 10;433C:5-11.
- Ertas M, Baykan B, Orhan EK, Zarifoglu M, Karli N, Saip S et al. One-year prevalence and the impact of migraine and tension-type headache in Turkey: a nationwide home-based study in adults. *J Headache Pain*. 2012 Mar;13(2):147-57.
- Kutlu A, Yaluğ İ, Mulayim S, Temel Obuz Ö, Selekler M. Trigger Factors of Migraine. *Archives of Neuropsychiatry* 2010; 47: 58-63.
- Yaman M, Demirkıran MK, Oruç S. Migrende Baş Ağrısını Tetikleyici ve Kötüleştiren Faktörler. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 3:9-13.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* 91:179-94, 2003.
- Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 (2007) 44–84.
- Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 Jul;4(7):517-29.
- Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 4;426(6966): 517 – 524.
- Clapham DE, Runnels LW, Strübing C. The TRP ion channel family. *Nat Rev Neurosci* 2001 Jun;2(6):387-96.
- Sun L, Yau HY, Wong WY, Li RA, Huang Y, Yao X. Role of TRPM2 in H₂O₂-induced cell apoptosis in endothelial cells. *PLoS One* 2012; 7(8): e43186.
- Prevarskaya N, Zhang L, Barritt G. TRP channels in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 1772 (2007) 937–946.
- Nazıroğlu M, Dikici DM, Dursun Ş. Role of Oxidative Stress and Ca²⁺ Signaling on Molecular Pathways of Neuropathic Pain in Diabetes: Focus on TRP Channels, *Neurochem Res* (2012) 37:2065–2075.
- Yamamoto S, Wajima T, Hara Y, Nishida M, Mori M. Transient receptor potential channels in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1772 (2007) 958–967.
- Adcock JJ. TRPV1 receptors in sensitisation of cough and pain reflexes. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 22 (2009) 65–70.
- Benemei S, De Cesaris F, Fusi C, Rossi E, Lupi C, Geppetti P. TRPA1 and other TRP channels in migraine. *J Headache Pain* 2013 Aug 13;14:71.
- Tuncel D, Tolun FI, Gokce M, Imrek S, Ekerbiçer H. Oxidative stress in migraine with and without aura. *Biol Trace Elem Res* 2008 Winter;126(1-3):92-7.
- Yılmaz G, Sürer H, İnan LE, Coşkun Ö, Yücel D. Increased nitrosative and oxidative stress in platelets of migraine patients. *Tohoku J. Exp. Med* 2007;211, 23-30.
- Uzar E, Evliyaoglu O, Toprak G, Acar A, Yucel Y, Calisir T et al. Increased asymmetric dimethylarginine and nitric oxide levels in patients with migraine. *J Headache Pain* 2011 Apr;12(2):239-43.
- Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN. Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinical Biochemistry* Vol. 32, No. 8, 595–603, 1999.
- Aydemir T, Öztürk R, Bozkaya LA, Tarhan L. Effects of Antioxidant Vitamins A, C, E and Trace Elements Cu, Se on CuZnSOD, GSH-Px, CAT and LPO Levels in Chicken Erythrocytes, *Cell Biochem. Funct* 2000; 18, 109-115.
- Reiter RJ, Tan D, Manchester LC, Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2001, Volume 34, Issue 2, pp 237-256.
- Alp R, Selek Ş, Alp Şİ, Taşkın A, Koçyiğit A. Oxidative and antioxidative balance in patients of migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010;14:877-882.
- Yılmaz N, Aydın O, Yegin A, Tiltak A, Eren E, Aykal G. Impaired oxidative balance and association of blood glucose, insulin and HOMA-IR index in migraine. *Biochemia Medica* 2011;21(2):145–51.
- Yılmaz N, Aydın O, Yegin A, Tiltak A, Eren E. Increased levels of total oxidant status and decreased activity of arylesterase in migraineurs, *Clinical Biochemistry* 44 (2011) 832–837.
- Uzar E, Evliyaoglu O, Toprak G, Acar A, Yucel Y, Calisir T et al. Increased asymmetric dimethylarginine and nitric oxide levels in patients with migraine, *J Headache Pain* (2011) 12:239–243.
- Erol I, Alehan F, Aldemir D, Oğus E. Increased vulnerability to oxidative stress in pediatric migraine patients, *Pediatr Neurol* 2010;43:21-24.
- Chayasirisobhon S. Use of a pine bark extract and antioxidant vitamin combination product as therapy for migraine in patients refractory to pharmacologic medication, *Headache* 2006;46:788–793.
- Balzer M, Lintschinger B, Groschner K. Evidence for a role of Trp proteins in the oxidative stress-induced membrane conductances of porcine aortic endothelial cells. *Cardiovasc Res* 1999 May;42(2):543-9.
- Takahashi N, Mori Y. TRP Channels as Sensors and Signal Integrators of Redox Status Changes. *Front Pharmacol* 2011 Oct 13;2:58.
- Fonfria E, Murdock PR, Cusdin FS, Benham CD, Kelsell RE, McNulty S. Tissue distribution profiles of the human TRPM cation channel family. *J Recept Signal Transduct Res* 2006;26(3):159-78.
- Huang D, Li S, Dhaka A, Story GM, Cao YQ. Expression of the transient receptor potential channels TRPV1, TRPA1

- and TRPM8 in mouse trigeminal primary afferent neurons innervating the dura. *Mol Pain* 2012 Sep 12;8:66.
32. Sawada Y, Hosokawa H, Matsumura K, Kobayashi S. Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by hydrogen peroxide. *Eur J Neurosci* 2008 Mar;27(5):1131-42.
 33. Andersson DA, Gentry C, Moss S, Bevan S. Transient receptor potential A1 is a sensory receptor for multiple products of oxidative stress. *J Neurosci* 2008 Mar 5;28(10):2485-94.
 34. Bessac BF, Sivula M, von Hehn CA, Escalera J, Cohn L, Jordt SE. TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons. *J Clin Invest* 2008 May;118(5):1899-910.
 35. Takahashi N, Mizuno Y, Kozai D, Yamamoto S, Kiyonaka S, Shibata T et al. Molecular characterization of TRPA1 channel activation by cysteine-reactive inflammatory mediators. *Channels* 2008; 2:287 - 298.
 36. Miyamoto T, Dubin AE, Petrus MJ, Patapoutian A. TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One* 2009 Oct 29;4(10): e7596.
 37. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T et al. LTRPC2 Ca²⁺-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002 Jan;9(1):163-73.
 38. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jüngling E, Zitt C, Lückhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose, *J Biol Chem* 2002 Jun 28;277(26):23150-6.
 39. Kolisek M, Beck A, Fleig A, Penner R. Cyclic ADP-ribose and hydrogen peroxide synergize with ADP-ribose in the activation of TRPM2 channels. *Mol Cell* 2005 Apr 1;18(1):61-9.
 40. Kühn FJ, Heiner I, Lückhoff A. TRPM2: a calcium influx pathway regulated by oxidative stress and the novel second messenger ADP-ribose, *Pflugers Arch* 2005 Oct;451(1):212-9.
 41. Nazıroğlu M, Lückhoff A. A calcium influx pathway regulated separately by oxidative stress and ADP-Ribose in TRPM2 channels: single channel events. *Neurochem Res* 2008 Jul;33(7):1256-62.
 42. Nazıroğlu M. Molecular role of catalase on oxidative stress-induced Ca(2+) signaling and TRP cation channel activation in nervous system, *J Recept Signal Transduct Res* 2012 Jun;32(3):134-41.
 43. Nazıroğlu M, Özgül C, Küçükayaz M, Çiğ B, Hebeisen S, Bal R. Selenium modulates oxidative stress-induced TRPM2 cation channel currents in transfected Chinese hamster ovary cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2013 Feb;112(2):96-102.
 44. Celik O, Nazıroğlu M. Melatonin modulates apoptosis and TRPM2 channels in transfected cells activated by oxidative stress. *Physiol Behav* 2012 Oct 10;107(3):458-65.
 45. Özgül C, Nazıroğlu M. TRPM2 channel protective properties of N-acetylcysteine on cytosolic glutathione depletion dependent oxidative stress and Ca²⁺ influx in rat dorsal root ganglion. *Physiol Behav* 2012 May 15;106(2):122-8.
 46. Nazıroğlu M, Özgül C. Vitamin E modulates oxidative stress and protein kinase C activator (PMA)-induced TRPM2 channel gate in dorsal root ganglion of rats. *J Bioenerg Biomembr* 2013 Dec;45(6):541-9.
 47. Yoshida T, Inoue R, Morii T, Takahashi N, Yamamoto S, Hara Y, et al. Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nat Chem Biol* 2006 Nov;2(11):596-607.
 48. Evans MS, Cheng X, Jeffry JA, Disney KE, Premkumar LS. Sumatriptan inhibits TRPV1 channels in trigeminal neurons. *Headache* 2012 May;52(5):773-84.
 49. Dux M, Sántha P, Jancsó G. The role of chemosensitive afferent nerves and TRP ion channels in the pathomechanism of headaches. *Pflugers Arch* 2012 Sep;464(3):239-48.
 50. Benemei S, Fusi C, Trevisan G, Geppetti P. The TRPA1 channel in migraine mechanism and treatment. *Br J Pharmacol* 2014 May;171(10):2552-67.
 51. Mandrioli J, Del Rio D, Zini A, Nichelli P, Merelli E, Beltrami D et al. Total antioxidant capacity of cerebrospinal fluid is decreased in patients with motor neuron disease. *Neurosci Lett* 2006 Jul 3;401(3):203-8.

Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte neden olduğu hasarda oksidatif stresin rolü

The role of oxidative stress in methotrexate-induced damage in liver and kidney of rats

Öz

Metotreksat (MTX), bazı kanser hastalarının vazgeçilmez ilacıdır. Fakat MTX'in oluşturduğu yan etkiler, doz kısıtlamasına veya tedavinin sonlandırılmasına götürebilir bu da hastanın sağ kalımını azaltır. Bu sebeple MTX'in en önemli yan etkilerinden olan hepatotoksisite ve nefrotoksisitenin oluşum mekanizmasının bilinmesi ve buna karşı önlemlerin alınması oldukça önemlidir. Yapılan birçok çalışma ile MTX'in sebep olduğu hepatotoksisite ve nefrotoksisitede genellikle reaktif oksijen türleri (ROT)'nin meydana getirdiği oksidatif hasar sorumlu tutulmuştur. Bu nedenle de oluşacak bu yan etkilerden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği ön plana çıkmıştır.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Metotreksat, Oksidatif Stres, Reaktif Oksijen Türleri

Abstract

Methotrexate (MTX) is one of the indispensable chemotherapeutic agents for cancer patients. But, MTX induce some adverse effects such as nephrotoxicity and hepatotoxicity. Thus cause dose limitations and terminate the cancer therapy. This will cause decrease in the survival of cancer patients. Hence, we aimed to summarize the MTX's action mechanism on hepatotoxicity and nephrotoxicity, which of those are most known adverse effects of MTX. However, taking precautions in MTX treatment is crucial in chemotherapy. According to the literatures, reactive oxygen species (ROS) triggered oxidative stress is responsible in MTX-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. Hence, the MTX treatment must be accompanied with antioxidants to protect the patients from those adverse effects.

Keywords: Antioxidant, Methotrexate, Oxidative stress, Reactive Oxygen Species

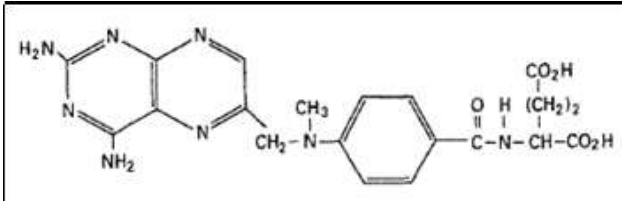
İlkay Armağan

Süleyman Demirel
Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD,
Isparta.

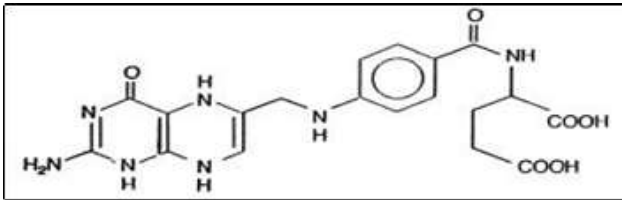
Yazışma Adresi:
Uzm. Dr. İlkay Armağan
Süleyman Demirel Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji
AD, TR-32260, Isparta, Türkiye.
Tel.: 0 246 2113388
Fax: 0 246 2371165
e-mail: ilkayarmagan@sdu.edu.tr

Giriş

Metotreksat (MTX), Dihidrofolat (DHF)'in 4-amino-N10-metil analogudur (1). MTX'in yapısında birden fazla metil grubu vardır ve DHF'taki OH grubu yerine NH₂ bulunur.



Şekil 1. Metotreksat'ın moleküler yapısı (2)



Şekil 2. Dihidrofolatın moleküler yapısı (3)

MTX oral ya da intravenöz (iv) yollarla kullanılır. Düşük dozlarda oral yolla gastrointestinal sistemden tama yakın absorbe olurken, yüksek dozlarda gastrointestinal sistem absorpsiyonu azalacağından iv yol tercih edilir. MTX'in oral ve iv uygulanması santral sinir sistemi hariç iyi doku dağılımı sağlar. MTX'in plevral ya da peritoneal kavite gibi vücut boşluklarına dağılımı yavaştır. Bu nedenle, plevral efüzyon ya da asit gibi nedenlerle meydana gelecek genişlemeler, ilacın yavaş salınımına ve plazma konsantrasyonunda ki artışa neden olur ve toksisite bulguları gelişebilir. MTX, plazma proteinlerine %50 gibi düşük oranda ve zayıf bir şekilde bağlanır. Sülfonamidler ve salisilatlar, bu ilaçla birlikte verilirse bağlanma oranını azaltırlar ve MTX'in toksisitesini arttırabilirler. MTX metabolizması, insanlarda genellikle minimal düzeydedir ve karaciğerde bir enzimatik sistem aracılığıyla major metaboliti olan 7- hidroksimetotreksata dönüşür (4). MTX ve metabolitleri primer olarak böbrekler yoluyla glomerüler ve aktif transport kombinasyonu ile olur. Az bir miktar feçes ve safra ile atılım vardır. Bu yüzden böbrek fonksiyonları bozuk hastalarda ilacın birikmesi daha hızlıdır. İV uygulama sonrası ilk 24 saatte ilacın tama yakını elimine olurken, oral uygulama sonrası ilk

24 saatte ilacın az bir kısmı elimine olmuştur ve takip eden 5 gün içerisinde eliminasyon tamamlanır.

MTX, bir antineoplastik ilaç grubu olan antimetabolitler grubundandır. Folik asit antimetaboliti olarak etki gösterir. MTX, Dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe eder (1) ve Dihidrofolat (DHF)'in Tetrahidrofolat (THF)'a dönüşümünü engeller, böylece folat antagonisti gibi davranır. MTX, antagonisti olan folat gibi normal veya tümöral hücrelerde folilpoliglutamil sentetaz ile 1-4 glutamat gruplarının eklenmesiyle değişikliğe uğrayarak poliglutamit türevlerini (MTX-PGs) meydana getirir (2, 3). MTX-PGs'leri hücre içinde tutulur ve DHFR enzimine bağlanarak DHF ile yer değiştirir (2, 3). Ayrıca MTX- PGs'leri 5,10 metilen Tetrahidrofolat (THF) redüktaz, glisinamid ribozil 5 fosfat formiltransferaz ve aminoimidazol karboksamid ribozil 5 fosfat formiltransferaz enzimlerini doğrudan inhibe eder. Bu enzimlerdeki inhibisyon pürin ve pirimidin metabolizmasında inhibisyonla sonuçlanır (2). THF'a dönüşmeden kalan DHF ise dihidrofolatpoliglutamitler şeklinde hücrede birikir; kanser hücresi içinde timidilat sentetaz ve transformilaz enzimlerinin inhibisyonundan poliglutamit metabolitleri sorumludur (1). Metabolik yollardaki bu değişiklikler MTX'in hem tedavi edici hem de toksik etkilerinden sorumludur (5). THF sentezinin inhibisyonu, pirimidin timidilat ve pürin nükleotidlerinin biosentezinin durmasına yol açar. Bu yapıtaşlarının üretilmemesi hücre çoğalması için gerekli olan Deoksiribonükleik asit (DNA) ve Ribonükleik asit (RNA)'in sentezini ve enerji için gerekli olan Adenozin Trifosfat (ATP) yapımını inhibe eder (1). MTX, pürin ve pirimidin inhibitörü olduğundan hastalarda immünsüpresif ve antineoplastik olarak kullanılmaktadır (6). MTX, yüksek dozlarda antiproliferatif olarak kanser tedavisinde kullanılırken (2, 7), düşük dozda antiinflamatuvar ve immünsüpresif etkilerinden dolayı refrakter romatoid artrit, Juvenil Romatoid artrit ve dirençli psöriazis hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır (8, 9). Antikanser ilaçlarla yapılan son zamanlardaki toksisite çalışmalarında oksidatif stres üzerinde durulmaktadır. MTX, bu geniş kullanım endikasyonlarına karşın, özellikle nefrotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkilerle karşımıza çıkar ve gelişen bu yan etkilerden genellikle reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana getirdiği oksidatif hasar sorumlu tutulmuştur (10-15). MTX kullanımı hücre içi Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADP(H)) seviyelerinin azalmasına sebep olabilir

(16). ROT'a karşı önemli bir koruyucu ajan olarak bilinen redükte glutatyonun (GSH) seviyesini koruyan glutatyon redüktaz enzimi tarafından da NADPH kullanılır (17). Böylece MTX kullanımı ile hücreler ROT' un oluşturduğu strese karşı koymakta zorlanır. Bu nedenle MTX toksisitesinden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği öne çıkmaktadır.

Hepatotoksisite, MTX tedavisi esnasında oluşan majör komplikasyonlarından (18). MTX'in oluşturduğu karaciğer hasarının mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, intrasellüler MTX-PGs birikimi ve folat azalmasının sorumlu olabileceği düşünülmektedir (19). MTX, NAD⁺ bağımlı mitokondrial enzimler olan piruvat dehidrojenaz, 2-oksooglutarat dehidrojenaz, izositrat dehidrojenaz, malat dehidrojenazı, sitosolik nikotinamid adenozin difosfat bağımlı dehidrojenazı ve malik enzimi inhibe eder (17). Bütün bu sayılan enzimler proliferen hücrelerde, NADPH'nın ana kaynağını oluştururlar. Bundan dolayı MTX kullanımı hücre içi NADPH seviyelerinin azalmasına sebep olabilir (16). ROT'a karşı önemli bir koruyucu ajan olarak bilinen GSH seviyesini koruyan glutatyon redüktaz enzimi tarafından da NADPH kullanılır (17). Böylece, MTX kullanımına bağlı olarak düşen NADP seviyeleri, hepatositleri reaktif oksijen radikallerine (süperoksid anyonları, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve hipoklorid radikalleri gibi) karşı duyarlılaştıran glutatyon seviyelerinin düşmesine ve bu da hepatosit hasarına sebep olur (20). MTX, hücre içinde poliglutamit formunda tutulur. MTX kullanımı ile hücre içindeki poliglutamit formunun miktarı artar ve folik asit seviyeleri düşer (21). Bu da hepatosit nekrozuna sebep olur. Bu bilgiler dahilinde bazı araştırmacılar ise, hepatotoksisitenin sebebi olarak; NADPH azalmasının oksidatif strese karşı hepatositlerde hassasiyet geliştirmesi ya da MTX'in hepatositlerde uzun vadede birikimi sonucu oluşan MTX-poliglutamit formlarının oluşması (10, 21) olarak vurgulamıştır.

MTX'in önemli yan etkilerinden birisi de renal toksisitedir (22). MTX'in %90'dan fazlası böbrekler yoluyla atılır (23). MTX'in yüksek doz kullanımı sırasında akut renal yetmezlik gelişebilir; serum kreatinin (Cr) düzeyinde artış, üremi ve hematüri gelişebilir. Bu yüzden nefrotoksisite, MTX'in önemli yan etkilerindedir (24). Romatoid artritli hastalarda düşük doz MTX tedavisi sırasında da glomerüler ve tübüler fonksiyonlarda değişiklik bildirilmiştir (25, 26). MTX aracılı renal toksisitenin mekanizmaları arasında reaktif oksijen ürünlerinin

gelişmesi (14, 24) sayılmaktadır.

Yapılan bir çalışmada intraperitoneal (ip) MTX uygulanan sıçanların kanında, karaciğer ve böbrek dokularında; myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinde artış, glutatyon seviyelerinde azalma ve Malondialdehid (MDA) seviyelerinde belirgin artış olduğunu bulmuşlardır (10). Başka bir çalışmada, MTX alan sıçanların böbrek dokularında Nitrik Oksit (NO) seviyelerinde artışı bildirmişlerdir (13). Bu nedenle MTX toksisitesinden korunmak için antioksidan ajanlarla birlikte kullanılması gerekliliği öne çıkmaktadır. Buna yönelik olarak da, dokuları MTX harabiyetinden korumak için antioksidan ajanlar denenmiş ve önemli ölçüde başarılı olunmuştur (10, 27, 28). Örneğin; ratlarda MTX kullanımıyla, karaciğer (Kc) dokularında MDA ve MPO düzeyleri artarken tiamin pirofosfat tedavisi ile düzeyler azalmıştır (29). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, ratlarda MTX kullanımı ile Kc dokusunda düzeyi artan MDA ve MPO, Montelukast eklenmesi ile normal düzeylere çekilmiştir (30). Ratlarda MTX kullanımı ile serumda Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) düzeyinde artma, Kc dokusunda MDA ve MPO düzeylerinde artma görülürken, Resveratrol verilerek Kc dokusunda biyokimyasal düzelmeye sağlanmış (31). Kurkimin ve üzüm çekirdeği ekstresi gibi ajanlarla da, Kc dokusunda MTX'e bağlı gelişen oksidatif hasarın biyokimyasal olarak düzeltilebildiği gösterilmiştir (32, 33). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, MTX ile oluşturulan Kc hasarında kullanılan β -karoten, biyokimyasal iyileşme sağlamıştır (34). Ratlarda MTX kullanımı ile böbrek dokusunda MDA düzeylerinde artma, Süperoksid Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) düzeylerinde azalma, serum kan üre nitrojeni (BUN), Cr ve TNF- α düzeylerinde saptanmış ve bulgular bir antioksidan olan Pentoksifilin ile düzeltilmiştir (24). Ratlarda MTX kullanımı ile böbrek dokusunda SOD, Katalaz (CAT), GSH-Px aktivitesindeki azalma, MDA düzeyindeki artma antioksidan Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) ile düzelmiş (27). Ratlarda MTX aracılı oksidatif renal hasar modelinde renal dokuda MDA ve MPO düzeyleri ile birlikte SOD ve CAT enzim aktivitelerinde de artış gözlenmiş ve N-Asetilsistein (NAC) ile değerler düşürülmüştür (35). MTX-aracılı oluşturulan mitokondriyal oksidatif strese birlikte azalan GSH-Px aktivitesinin, α -lipoik asit ile arttığı görülmüş (36). Sonuçta; Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte oluşturduğu doku hasarında oksidatif stresin büyük rolünün bulunduğu ortaya konmuştur. Metotreksat

yanında antioksidan verilmesinin olumlu sonuçlar doğurduğu kanıtlanmıştır. Bundan sonraki aşama, Metotreksat'ın endike olduğu klinik durumlarda karaciğer ve böbrekte oluşacak olan oksidatif hasarın azaltılması için tedavi protokolüne antioksidanların da eklenmesidir.

Kaynaklar

1. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12 ed. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009. 328-618
2. van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, De Abreu RA, van de Putte LB. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 1998 Apr;27(5):277-92.
3. Rubino FM. Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites. *Journal of chromatography B, Biomedical sciences and applications*. 2001 Nov 25;764(1-2):217-54.
4. Chladek J, Martinkova J, Sispera L. An in vitro study on methotrexate hydroxylation in rat and human liver. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 1997;46(5):371-9.
5. Madhyastha S, Somayaji SN, Rao MS, Nalini K, Bairy KL. Hippocampal brain amines in methotrexate-induced learning and memory deficit. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2002 Nov;80(11):1076-84.
6. Quemeneur L, Gerland LM, Flacher M, Ffrench M, Revillard JP, Genestier L. Differential control of cell cycle, proliferation, and survival of primary T lymphocytes by purine and pyrimidine nucleotides. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2003 May 15;170(10):4986-95.
7. Kishi T, Tanaka Y, Ueda K. Evidence for hypomethylation in two children with acute lymphoblastic leukemia and leukoencephalopathy. *Cancer*. 2000 Aug 15;89(4):925-31.
8. Norris RE, Adamson PC. Clinical potency of methotrexate, aminopterin, talotrexin and pemetrexed in childhood leukemias. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2010 May;65(6):1125-30.
9. Hedman J, Seideman P, Albertioni F, Stenius-Aarniala B. Controlled trial of methotrexate in patients with severe chronic asthma. *European journal of clinical pharmacology*. 1996;49(5):347-9.
10. Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yegen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *Journal of pineal research*. 2003 May;34(4):282-7.
11. Abraham P, Kolli VK, Rabi S. Melatonin attenuates methotrexate-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cell Biochem Funct*. 2010 Jul;28(5):426-33.
12. Kolli VK, Abraham P, Isaac B, Selvakumar D. Neutrophil infiltration and oxidative stress may play a critical role in methotrexate-induced renal damage. *Chemotherapy*. 2009 55(2):83-90.
13. Uz E, Oktem F, Yilmaz HR, Uzar E, Ozguner F. The activities of purine-catabolizing enzymes and the level of nitric oxide in rat kidneys subjected to methotrexate: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Molecular and cellular biochemistry*. 2005 Sep;277(1-2):165-70.
14. Babiak RM, Campello AP, Carnieri EG, Oliveira MB. Methotrexate: pentose cycle and oxidative stress. *Cell biochemistry and function*. 1998 Dec;16(4):283-93.
15. Devrim E, Cetin R, Kilicoglu B, Erguder BI, Avci A, Durak I. Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues. *Renal failure*. 2005;27(6):771-3.
16. Caetano NN, Campello AP, Carnieri EG, Kluppel ML, Oliveira MB. Effect of methotrexate (MTX) on NAD(P)+ dehydrogenases of HeLa cells: malic enzyme, 2-oxoglutarate and isocitrate dehydrogenases. *Cell biochemistry and function*. 1997 Dec;15(4):259-64.
17. Regina Maria V. Babiak APC, Eva G. S. Carnieri And Ma. Benigna M. Oliveira. Methotrexate: Pentose Cycle And Oxidative Stres. *Cell Biochem Funct*. 1998;16:283-93.
18. West SG. Methotrexate hepatotoxicity. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 1997;23:883-915.
19. Kevat S, Ahern M, Hall P. Hepatotoxicity of methotrexate in rheumatic diseases. *Medical toxicology and adverse drug experience*. 1988 May-Jun;3(3):197-208.
20. Uraz S, Tahan V, Aygun C, Eren F, Unluguzel G, Yuksel M, et al. Role of ursodeoxycholic acid in prevention of methotrexate-induced liver toxicity. *Digestive diseases and sciences*. 2008 Apr;53(4):1071-7.
21. Kamen BA, Nysten PA, Camitta BM, Bertino JR. Methotrexate accumulation and folate depletion in cells as a possible mechanism of chronic toxicity to the drug. *British journal of haematology*. 1981 Nov;49(3):355-60.
22. Hempel L, Misselwitz J, Fleck C, Kentouche K, Leder C, Appenroth D, et al. Influence of high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) on glomerular and tubular kidney function. *Medical and pediatric oncology*. 2003 Jun;40(6):348-54.
23. Izzedine H, Launay-Vacher V, Karie S, Caramella C, de Person F, Deray G. Is low-dose methotrexate nephrotoxic? Case report and review of the literature. *Clinical nephrology*. 2005 Oct;64(4):315-9.
24. Asvadi I, Hajipour B, Asvadi A, Asl NA, Roshangar L, Khodadadi A. Protective effect of pentoxifylline in renal toxicity after methotrexate administration. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2011 Sep;15(9):1003-9.
25. Ahmad S, Shen FH, Bleyer WA. Methotrexate-induced renal failure and ineffectiveness of peritoneal dialysis. *Archives of internal medicine*. 1978 Jul;138(7):1146-7.
26. Seideman P, Muller-Suur R. Renal effects of aspirin and

- low dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 1993 Aug;52(8):613-5.
27. Oktem F, Yilmaz HR, Ozguner F, Olgar S, Ayata A, Uzare E, et al. Methotrexate-induced renal oxidative stress in rats: the role of a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Toxicology and industrial health*. 2006 Jul;22(6):241-7.
 28. Bilska A, Wlodek L. Lipoic acid - the drug of the future? *Pharmacological reports : PR*. 2005 Sep-Oct;57(5):570-7.
 29. Demiryilmaz I, Sener E, Cetin N, Altuner D, Suleyman B, Albayrak F, et al. Biochemically and histopathologically comparative review of thiamine's and thiamine pyrophosphate's oxidative stress effects generated with methotrexate in rat liver. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2012 Dec;18(12):475-81.
 30. Kose E, Sapmaz HI, Sarihan E, Vardi N, Turkoz Y, Ekinci N. Beneficial effects of montelukast against methotrexate-induced liver toxicity: a biochemical and histological study. *TheScientificWorldJournal*. 2012;2012.
 31. Tunalı-Akbay T, Sehirli O, Ercan F, Sener G. Resveratrol protects against methotrexate-induced hepatic injury in rats. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques*. 2010;13(2):303-10.
 32. Hemeida RA, Mohafez OM. Curcumin attenuates methotrexate-induced hepatic oxidative damage in rats. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*. 2008 Jun;20(2):141-8.
 33. Cetin A, Kaynar L, Kocyigit I, Hacioglu SK, Saraymen R, Ozturk A, et al. Role of grape seed extract on methotrexate induced oxidative stress in rat liver. *The American journal of Chinese medicine*. 2008;36(5):861-72.
 34. Vardi N, Parlakpınar H, Cetin A, Erdogan A, Cetin Ozturk I. Protective effect of beta-carotene on methotrexate-induced oxidative liver damage. *Toxicologic pathology*. 2010 Jun;38(4):592-7.
 35. Cetinkaya A, Kurutas EB, Bulbuloglu E, Kantarceken B. The effects of N-acetylcysteine on methotrexate-induced oxidative renal damage in rats. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2007 Jan;22(1):284-5.
 36. Tabassum H, Parvez S, Pasha ST, Banerjee BD, Raisuddin S. Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2010 Jul;48(7):1973-9.

2450 mhz radio frequency	2015; 22 (4): 97-103
Adipokin	2015; 22 (1): 14-18
Aile hekimi	2015; 22 (4): 115-125
Akciğer	2015; 22 (1): 1-7
Akut apandisit	2015; 22 (3): 74-76
Akut kolonik psödoobstrüksiyon	2015; 22 (3): 77-81
Akut miyokard enfeksiyonu	2015; 22 (4): 131-134
Alevlenme	2015; 22 (4): 126-130
Amyand fitiği	2015; 22 (3): 74-76
Antioksidan	2015; 22 (4): 151-155
Apoptozis	2015; 22 (4): 87-96
Apoptozis	2015; 22 (4): 104-114
Blue cell	2015; 22 (3): 68-73
Böbrek	2015; 22 (1): 14-18
Böbrek hasarı	2015; 22 (1): 14-18
Bupivakain	2015; 22 (3): 60-67
Cd133	2015; 22 (2): 32-38
Cheek	2015; 22 (4): 135-139
Collagen	2015; 22 (4): 135-139
Colon cancer	2015; 22 (2): 32-38
Conus medullaris	2015; 22 (2): 45-48
Deneysel model	2015; 22 (3): 82-86
Eosinophil	2015; 22 (1): 27-31
Epidemiyoloji	2015; 22 (1): 8-13
Epidural anestezi	2015; 22 (3): 60-67
Früktöz	2015; 22 (1): 1-7
Fungus topu	2015; 22 (4): 140-143
Gastrointestinal	2015; 22 (1): 27-31
Giant cell tumor	2015; 22 (1): 23-26
Hareket korkusu	2015; 22 (2): 39-44
Hastane yatış maliyeti	2015; 22 (4): 126-130
Hastanede yatış süresi	2015; 22 (4): 126-130
Head	2015; 22 (1): 23-26
Healty infant	2015; 22 (1): 19-22
Helixor	2015; 22 (4): 104-114
Hep3B hücre soyu	2015; 22 (4): 87-96
Herpes zoster	2015; 22 (1): 19-22
Histopathology	2015; 22 (1): 23-26
Hypertrophic scar tissue	2015; 22 (4): 135-139
İmam	2015; 22 (4): 115-125
İmmunohistochemistry	2015; 22 (2): 32-38
İnflammation	2015; 22 (1): 27-31
İnguinal fitik	2015; 22 (3): 74-76
Kadavra	2015; 22 (2): 49-52
Kalsiyum iyonu (Ca+2)	2015; 22 (4): 144-150
Keloid	2015; 22 (4): 135-139
Kistik dilatasyon	2015; 22 (2): 45-48
Koah	2015; 22 (4): 126-130
Konka bulloza	2015; 22 (4): 140-143
Kutanöz malign melanom	2015; 22 (1): 8-13

Leptin	2015; 22 (1): 14-18
Leriche sendromu	2015; 22 (4): 131-134
Levobupivakain	2015; 22 (3): 60-67
Lip	2015; 22 (1): 23-26
Manyetik rezonans görüntüleme	2015; 22 (2): 45-48
Meme kanseri	2015; 22 (4): 104-114
Metotreksat	2015; 22 (4): 151-155
Mısır şurubu	2015; 22 (1): 1-7
Miçetoma	2015; 22 (4): 140-143
Migren	2015; 22 (4): 144-150
Musculus sternocleidomastoideus	2015; 22 (2): 49-52
Neck	2015; 22 (1): 23-26
Obezite	2015; 22 (3): 53-59
Obezite	2015; 22 (1): 14-18
Ogilvie sendromu	2015; 22 (3): 77-81
Oksidatif stres	2015; 22 (4): 144-150
Oksidatif stres	2015; 22 (4): 151-155
Öğretmen	2015; 22 (4): 115-125
Ökse otu	2015; 22 (4): 104-114
Ön çapraz bağ rekonstrüksiyonu	2015; 22 (2): 39-44
Parkinson hastalığı	2015; 22 (3): 77-81
Pathogenesis	2015; 22 (1): 27-31
Prognosis	2015; 22 (2): 32-38
Rat	2015; 22 (4): 97-103
Rat	2015; 22 (3): 82-86
Reaktif oksijen türleri	2015; 22 (4): 151-155
Retrospektif değerlendirme	2015; 22 (1): 8-13
Round	2015; 22 (3): 68-73
Sağlıklı yaşam biçimi davranışları	2015; 22 (4): 115-125
Servikal bölge	2015; 22 (2): 49-52
Siçan	2015; 22 (1): 1-7
Silibin	2015; 22 (4): 87-96
Soft tissue	2015; 22 (1): 23-26
Spora geri dönüş	2015; 22 (2): 39-44
Stres yanıt	2015; 22 (3): 60-67
Tanita	2015; 22 (3): 53-59
Tenascin-c	2015; 22 (3): 68-73
Testis	2015; 22 (4): 97-103
Therapy	2015; 22 (1): 27-31
Tıkanma ikteri	2015; 22 (3): 82-86
TRP kanalları	2015; 22 (4): 144-150
Tumor	2015; 22 (3): 68-73
Varicella-zoster virus	2015; 22 (1): 19-22
Varyasyon	2015; 22 (2): 45-48
Ventriculus terminalis	2015; 22 (2): 45-48
Vitamin C	2015; 22 (4): 97-103
Vitamin E	2015; 22 (4): 97-103
Vücut analizi	2015; 22 (3): 53-59

Yazar indeksi

Ak Cennet	2015; 22 (1): 14-18
Akbulut Semih	2015; 22 (3): 53-59
Akkaya Ahmet	2015; 22 (1): 1-7
Alkaya Solmaz Filiz	2015; 22 (4): 131-134
Altuntaş Emine Elif	2015; 22 (4): 135-139
Argüz Gülsüm	2015; 22 (1): 1-7
Armağan İlkay	2015; 22 (4): 151-155
Armağan İlkay	2015; 22 (1): 14-18
Arslan Duran	2015; 22 (1): 27-31
Ayşar Gökhan	2015; 22 (3): 77-81
Badak Bartu	2015; 22 (3): 82-86
Başkurt Ferdi	2015; 22 (2): 39-44
Başpınar Şirin	2015; 22 (2): 32-38
Bayram Dilek	2015; 22 (4): 87-96
Bayram Dilek	2015; 22 (1): 14-18
Baysak Ayşegül	2015; 22 (4): 126-130
Bekar Ebuzer	2015; 22 (4): 135-139
Benzin Mehmet Fatih	2015; 22 (3): 77-81
Bilkay Cemil	2015; 22 (4): 97-103
Bilkay Cemil	2015; 22 (2): 49-52
Bozkurt Kemal K.	2015; 22 (2): 32-38
Candan İbrahim Aydın	2015; 22 (4): 87-96
Çeldir Emre Jülide	2015; 22 (4): 126-130
Çelebi Hilal Semra	2015; 22 (1): 19-22
Çelik Özgür İlhan	2015; 22 (4): 140-143
Çelik Girayhan	2015; 22 (3): 77-81
Çelikler Kasımoğulları Serap	2015; 22 (4): 104-114
Çetin Recep	2015; 22 (3): 77-81
Çetin Cem	2015; 22 (2): 39-44
Çömlekçi Selçuk	2015; 22 (4): 97-103
Demirkapı Emine Betül	2015; 22 (2): 39-44
Deniz Kemal	2015; 22 (4): 97-103
Deniz Sami	2015; 22 (4): 126-130
Derin Serhan	2015; 22 (4): 140-143
Deveer Mehmet	2015; 22 (4): 140-143
Devrim Tuba	2015; 22 (2): 32-38
Devrim Tuba	2015; 22 (1): 8-13
Devrim Tuba	2015; 22 (1): 23-26
Dursun Ahmet	2015; 22 (4): 97-103
Ercan Sabriye	2015; 22 (2): 39-44
Eroğlu Füsün	2015; 22 (3): 60-67
Erten Sıraç	2015; 22 (4): 97-103
Etili Mustafa	2015; 22 (4): 131-134
Fazlıoğulları Zeliha	2015; 22 (2): 45-48
Gökçe Ceylan Berit	2015; 22 (3): 60-67
Gökçimen Alpaslan	2015; 22 (4): 87-96
Kaplan Şeyhmus	2015; 22 (1): 1-7
Kapucuoğlu Nilgün	2015; 22 (2): 32-38
Kara Asude	2015; 22 (1): 19-22
Karabacak Pınar	2015; 22 (4): 131-134
Karabulut Ahmet Kağan	2015; 22 (2): 45-48
Karahan Nermin	2015; 22 (2): 32-38

Karahan Nermin	2015; 22 (1): 8-13
Karaköse Oktay	2015; 22 (3): 77-81
Kavruk Oğuzhan	2015; 22 (1): 1-7
Kaya Fatma	2015; 22 (3): 68-73
Kılınç Fatma	2015; 22 (3): 53-59
Kıvrak Ali Sami	2015; 22 (2): 45-48
Koca Yavuz Savaş	2015; 22 (3): 74-76
Koçer Murat	2015; 22 (2): 32-38
Koksal Yavuz	2015; 22 (3): 68-73
Kose Dogan	2015; 22 (3): 68-73
Koyuncu Esra	2015; 22 (2): 49-52
Müderriş Suphi	2015; 22 (4): 135-139
Okutan Hüseyin	2015; 22 (4): 131-134
Osmanlıoğlu Hacı Ömer	2015; 22 (3): 60-67
Öncü Meral	2015; 22 (4): 87-96
Öz Ahmi	2015; 22 (4): 144-150
Özbek Seda	2015; 22 (2): 45-48
Özçelik Nurten	2015; 22 (4): 104-114
Özçelik Habibe	2015; 22 (4): 115-125
Özdemir Özer	2015; 22 (4): 126-130
Özgöçmen Meltem	2015; 22 (4): 87-96
Özgüner Gülnur	2015; 22 (4): 97-103
Özgüner Gülnur	2015; 22 (2): 49-52
Özmen Özlem	2015; 22 (1): 1-7
Öztürk Önder	2015; 22 (3): 53-59
Öztürk Önder	2015; 22 (1): 1-7
Polat Kerem	2015; 22 (4): 135-139
Pülüt Hüseyin	2015; 22 (3): 77-81
Sakallı Çetin Esin	2015; 22 (4): 104-114
Saygın Mustafa	2015; 22 (3): 53-59
Saygın Rahime Rana	2015; 22 (3): 53-59
Sevinç Eylem	2015; 22 (1): 27-31
Sönmez Yonca	2015; 22 (4): 115-125
Sözen Hamdi	2015; 22 (4): 140-143
Sulak Osman	2015; 22 (2): 49-52
Şahan Murat	2015; 22 (4): 140-143
Topal Mehmet	2015; 22 (3): 60-67
Türk Özgür	2015; 22 (3): 82-86
Uğur Mustafa	2015; 22 (3): 74-76
Uğuz Abdülhadi Cihangir	2015; 22 (4): 144-150
Uğuz A. Cihangir	2015; 22 (1): 14-18
Ulukaya Engin	2015; 22 (4): 104-114
Unlu Ali	2015; 22 (3): 68-73
Uysal İsmihan İlknur	2015; 22 (2): 45-48
Ünver Doğan Nadire	2015; 22 (2): 45-48
Yavuz Lütfi	2015; 22 (4): 131-134
Yıldırım Mustafa Kemal	2015; 22 (3): 60-67
Yüce Salim	2015; 22 (4): 135-139

MEDICAL JOURNAL
of
SÜLEYMAN DEMİREL UNIVERSITY

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ

- Silybum marianum bitkisinin in vitro ortamda karaciğer kanseri hücre hatları üzerine etkisi**
Dilek Bayram, Alpaslan Gökçimen, Meral Öncü, İbrahim Aydın Candan, Meltem Özgöçmen.....87
- 2.45 GHz radio frequency radiation exposure induced changes on rat testes and protective effects of vitamins E and C**
Cemil Bilkay, Gülnur Özgüner, Ahmet Dursun, Selçuk Çömlekçi, Kemal Deniz, Sıraç Erten.....97
- Meme kanseri hücre hatları üzerine ökse otu ekstraktlarının apoptotik etkisinin araştırılması**
Esin Sakallı Çetin, Nurten Özçelik, Serap Çelikler Kasımoğulları, Engin Ulukaya..... 104
- Isparta il merkezinde görev yapan toplum lideri bazı meslek gruplarının sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının değerlendirilmesi**
Habibe Özçelik, Yonca Sönmez..... 115
- KOAH alevlenme tanısıyla yatırılan hastaların ekonomik yükü ve maliyete etki eden faktörler**
Sami Deniz, Jülide Çeldir Emre, Ayşegül Baysak, Özer Özdemir..... 126
- Akut miyokard infarktüslü hasta ve Leriche sendromu**
Filiz Alkaya Solmaz, Pınar Karabacak, Mustafa Etli, Lütfi Yavuz, Hüseyin Okutan..... 131
- A case of huge keloid at the cheek**
Salim Yüce, Kerem Polat, Emine Elif Altuntaş, Suphi Müderris, Ebuzer Bekar..... 135
- Konka bulloza kaynaklı fungus topu (miçetoma)**
Murat Şahan, Hamdi Sözen, Serhan Derin, Mehmet Deveer, Özgür İlhan Çelik..... 140
- Migren patogenezinde oksidatif strese duyarlı TRP kanallarının rolleri**
Ahmi Öz, Abdülhadi Cihangir Uğuz..... 144
- Metotreksat'ın karaciğer ve böbrekte neden olduğu hasarda oksidatif stresin rolü**
İlkay Armağan.....

