

12. | 1. | 2023

cilt
volume

sayı
issue

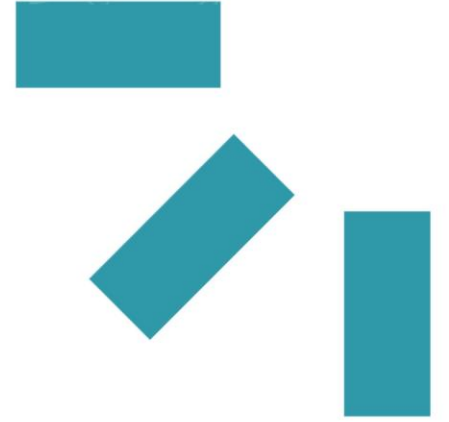
nisan
april

ISSN: 1305-4392

e-ISSN: 2147-1800

Abant Tıp Dergisi (abantmedj)

Abant Medical Journal



Abant Tıp Dergisi

Abant Medical Journal

Cilt/Volume:12 Sayı/ Issue: 1 - Nisan / April 2023
e-ISSN: 2147-1800

SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU - abantmedj@ibu.edu.tr
Dean of Medical Faculty of Bolu Abant Izzet Baysal University, Bolu - Türkiye

BİLİMSEL YAYIN VE DERGİLER KOORDİNATORLÜĞÜ / SCIENTIFIC PUBLICATIONS AND JOURNALS COORDINATOR

Assoc. Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU - mustafayigitoglu@ibu.edu.tr
Coordinator, Bolu Abant Izzet Baysal University, Bolu - Türkiye

Assist. Prof. Dr. Can DOĞAN - can.dogan@ibu.edu.tr
Coordinator Assistant, Bolu Abant Izzet Baysal University, Bolu - Türkiye

Assoc. Prof. Dr. Fatma DEMİRAY AKBULUT - demiray_f@ibu.edu.tr
Coordinator Assistant, Bolu Abant Izzet Baysal University, Bolu - Türkiye

BAŞ EDİTÖR/ EDITOR IN CHIEF

Assoc. Prof. Dr. Murat ALIŞIK - muratalisik@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Bolu - Türkiye

BAŞ EDİTÖR YARDIMCILARI/ DEPUTY EDITOR IN CHIEF

Assoc. Prof. Dr. Semih BOLU - semih.bolu@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Department of Child Health and Diseases, Bolu - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Elif YAKŞI - elifyaksi@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Physical Therapy and Rehabilitation, Bolu - Türkiye

ALAN EDİTÖRLERİ/ FIELD EDITORS

Prof. Dr. Akcan AKKAYA - akcanakkaya@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Akif Hakan KURT - hakankurt@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Department of Medical Pharmacology, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Ash ÇELEBİ TAYFUR - asli.celebitayfur@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Fatih ULAŞ - fatihulas@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Hikmet TEKÇE - hikmetteke@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. İbrahim EREN - ibrahimeren@sdu.edu.tr
Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Psychiatry, Isparta -Türkiye
Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL - ibrahimkurtul@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Mahmoud MÜSTAFİ - m.Al-mustafa@ju.edu.jo
An-najah National University, Medical Faculty, Department of Urology, Nablus, Palestine
Prof. Dr. Şehmus ERTOP - drsertop@beun.ibu.edu.tr
Zonguldak Bulent Ecevit University, Department of Internal Medicine, Zonguldak -Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Akif GÜNEŞ - akif.gunes@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Department of Otorhinolaryngology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Elif KARALI - elifkarali@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Department of Otorhinolaryngology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Erkan KILINÇ - erkankilinc@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Fatma AVCIOĞLU - fatmaavcioglu@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Güray CAN - guraycan@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Mehmet Özgür YİS - ozgurmehtemetyis@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Mehmed Uğur İŞİK - mehmedugur@windowslive.com
Kastamonu University, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Kastamonu -Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Murat YILMAZ - murat.yilmaz@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Mustafa BEHÇET - mustafabehcet@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Nadire KÜÇÜKÖZTAŞ - nadire.kucukoztas@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Sebahat GÜCÜK - sebahatgucuk@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Family Medicine, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Tacettin AYANOĞLU - tacettinayanoglu@ibu.edu.tr
Bolu Abant Izzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, Bolu - Türkiye

Assoc. Prof. Dr. Tuba TASLAMACIOĞLU DUMAN - tubaduman@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Bolu – Türkiye
Assist. Prof. Dr. Ali Can ÖNAL - acan.onal@beun.edu.tr
Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Medical Pathology, Zonguldak - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Emrullah SÖĞÜTDELEN - emrullahsogutdelen@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Bolu - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Mustafa Enes DEMİREL - mustafaenesdemirel@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Bolu - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Samet ŞAHİN - sametsahin@mu.edu.tr
Muğla Sıtkı Koçman University, Department of General Surgery, Muğla -Türkiye
Assist. Prof. Dr. Tuğba ALIŞIK – dr.tugbaakkoyun@hotmail.com
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Bolu - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Yunus YILMAZSOY- yunusyilmazsoy@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Radiology, Bolu - Türkiye
Dr. Ayşegül DANIŞ - ayseguldanis7@gmail.com
BAIBU İzzet Baysal Training and Research Hospital, Pediatric Neurology, Bolu - Türkiye

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Akif Hakan KURT
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Ali KILIÇGÜN
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Thoracic Surgery, Bolu – Türkiye
Prof. Dr. Fatma TÖRE
Biruni University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, İstanbul - Türkiye
Prof. Dr. Fuat AKPINAR
İstanbul Medeniyet University, Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, İstanbul - Türkiye
Prof. Dr. Hülya ÖZTÜRK
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR
Necmettin Erbakan University, Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara – Türkiye
Prof. Dr. Mustafa ŞİT
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Bolu – Türkiye
Prof. Dr. Muzaffer KIRIŞ
Health Sciences University Gülhane Faculty of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Ankara - Türkiye
Prof. Dr. Ömer ANLAR
Ankara Yıldırım Beyazıt University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Ankara – Türkiye
Prof. Dr. Safiye GÜREL
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Radiology, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Seyit Ali KAYIŞ
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Bolu - Türkiye
Prof. Dr. Yusuf Özgür BİÇER
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Bolu - Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Mehmet Özgür YİS
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Bolu – Türkiye
Assist. Prof. Dr. Görker SEL
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Department of Obstetrics and Gynecology, Zonguldak - Türkiye
Assist. Prof. Dr. Hamdi AFŞİN
Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine, Department of Nuclear Medicine, Bolu – Türkiye
Dr. Khadijeh TAIYARI
Cardiff University, Centre for Trials Reserach, Cardiff- Galler
Dr. Muhammad AKHLAQ
Gomal University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Dera Ismail Khan – Pakistan

İNGİLİZCE DİL EDİTÖRLERİ / ENGLISH LANGUAGE EDITORS

Assist. Prof. Dr. Ömür Gülsüm DENİZ - omur.deniz @ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bolu – Türkiye

İSTATİSTİK EDİTÖRLERİ / STATISTICAL EDITORS

Assist. Prof. Dr. Oya KALAYCIOĞLU - oyakalaycioglu@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Bolu - Türkiye

YAYIN EDİTÖRÜ, MİZANPAJ EDİTÖRÜ / BROADCAST EDITOR, LAYOUT EDITOR

Lecturer Adnan ŞEN – adnan@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Information Technology, Bolu – Türkiye

TEKNİK EDİTÖR, WEB EDİTÖRÜ / TECHNICAL EDITOR, WEB EDITOR

Lecturer Adnan ŞEN – adnan@ibu.edu.tr
Bolu Abant İzzet Baysal University, Faculty of Medicine, Information Technology, Bolu – Türkiye

HAKEM KURULU / REFEREE BOARD



Abant Tıp Dergisi [Abantmedj], en az iki hakemin görev aldığı çift taraflı kör hakemlik sistemi kullanmaktadır. Hakem isimleri gizli tutulmakta ve yayımlanmamaktadır. / **Bu konuda genel bilgi için** <https://dergipark.org.tr/tr/pub/abantmedj>
Abant Medical Journal [Abantmedj] uses double-blind review fulfilled by at least two reviewers. Referee names are kept strictly confidential. **For detailed information, please click here:** <https://dergipark.org.tr/tr/pub/abantmedj>

ADRES/ADDRESS

Abant Tıp Dergisi Editörlüğü
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 14030 BOLU - TÜRKİYE
Tel: +90 374 253 46 56 Faks: +90 374 253 45 59
e-posta: abantmedj@ibu.edu.tr
Web: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/abantmedj>

DİZİNLENME BİLGİLERİ / ABSTRACTING AND INDEXING SERVICES

Abant Tıp Dergisi, Türk Medline, Sobiad Atıf Dizini, Google Scholar, TR Dizin (2013 - 2015 yılları arası) tarafından taranmaktadır.

| | |
|---|--|
|  | <p>Abant Tıp Dergisi (Abantmedj), sağlık bilimlerindeki tüm etik yönergelere uygun olarak hazırlanmış klinik ve deneysel araştırma makaleleri, olgu bildirimleri, derleme makaleleri, teknik notlar ve editöre mektupları yayınlamaktadır. Abant Tıp Dergisi Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin resmi yayın organı olan bir dergidir. Yılda 3 sayı halinde (Nisan, Ağustos, Aralık) elektronik ortamda yayınlanır. Derginin resmi yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir. Dergimiz "Şeffaflık ve Akademik Yayıncılık En İyi Uygulamalar İlkelerine" (Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing) (doaj.org/bestpractice) uygun olarak yayınlanmaktadır. Yayınlanan yazıların bütün yayın hakları Abantmedj'e ait olup, yayıncının izni olmadan kısmen veya tamamen basılamaz, çoğaltılamaz ve elektronik ortama taşınmaz. Yazıların yayınlanıp yayınlanmamasından yayın kurulu sorumludur."</p> |
|  | <p>Abant Medical Journal (Abantmedj), publishes all forms of clinical and research articles prepared in line with all ethical principles in the health sciences, case reports, review articles, technical notes, and letters to the editor. The Abant Medicine Journal is the official publishing organ of the Bolu Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine. It is published electronically three times a year (in April, August, and December). The journal's official languages are Turkish and English. It is published in accordance with the 'Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing' (doaj.org/bestpractice). Published texts belong to abantmedj, and cannot be published partly or in full, reproduced, or transferred to an electronic environment without permission. The responsibility for whether or not texts should be published lies with the editorial board."</p> |

İçindekiler / Contents

| | |
|--|---|
| i-v | Jenerik / Generic |
| Araştırma Makalesi / Research Article | |
| 1-9 | Comparison of Effectiveness Levels of Manuel Therapy and Home Exercise Program in Women with Chronic Low Back Pain Kronik Bel Ağrılı Kadın Hastalarda Ev Egzersiz Programı ile Manuel Terapinin Etkinlik Düzeylerinin Karşılaştırılması Alev BAŞARAN, Ali CEYLAN |
| 10-18 | Üçüncü Basamak Göğüs Hastalıkları Dal Hastanesinde Servise Yatırılan Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlu Hastalarda Bakteri Profili ve Antibiyotik Direnci Değişti mi? Is Bacterial Profile and Antibiotics Resisance Changed in The Patients with Lower Respiratory Tract Infeciton Hospitalized to Tertiary Chest Diseases Hospital? Damla SERÇE UNAT, Gülru POLAT, Güneş ŞENOL, Aysu AYRANCI, Filiz GÜLDAVAL, Merve AYIK TÜRK, İhsan TOPALOĞLU, Ömer Selim UNAT, Gülistan KARADENİZ, Fatma DEMİRCİ ÜÇSULAR, Enver YALNIZ, Melih BÜYÜKŞİRİN, Mahmut Mete DEMİREL |
| 19-31 | Mesobuthus Gibbosus (Scorpiones: Buthidae) Akrep Ham Zehrinin Kanser Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması Investigation of Cytotoxic and Antiproliferative Effects of Mesobuthus gibbosus (Scorpiones: Buthidae) Crude Scorpion Venom on Cancer Cell Lines Nazife YİĞİT KAYHAN, İlkay ÇORAK ÖCAL, Onur BÜYÜKKARTAL |
| 32-42 | Kronik Hastalığı Olan Bireylerin El Yıkama Alışkanlıklarının Belirlenmesi Determination of Hand Washing Habits of Individuals with Chronic Disease Esin SEVGİ DOĞAN, Dilan DENİZ AKAN, Cansu KOŞAR ŞAHİN, Özden DEDELİ ÇAYDAM, Sezgi ÇINAR PAKYÜZ |
| 43-50 | Ki- Proliferation Index Positivity Limit (Cut-off) Value in Meningiomas Meningiomlarda Ki- Proliferasyon İndeks Pozitiflik Sınır Değeri Neşe YELDİR, Ezgi DOĞAN, Hatice ÖZER, Burçak SÖYLEMEZ, Serkan ÇELİKGÜN, H. Reyhan EĞİLMEZ |
| 51-62 | The Acute Effects Of ATP-Sensitive Potassium Channel Opener (Pinacidil) And Blocker (Glimepride) On the Ischemia or Reperfusion-Induced Arrhythmias ATP-Bağımlı Potasyum Kanal Açıcısı Pinasidil ve Blokeri Glimeprid'in İskemi ve Reperfüzyon ile Uyarılan Aritmiler Üzerine Akut Etkisi Ömer BOZDOĞAN, Esra YAVUZ, Anıl TEMİZ, Şevval ÖZDEMİR |
| 63-75 | Estimation of LDL-C Using Machine Learning Models and its Comparison with Directly Measured and Calculated LDL-C in Turkish Pediatric Population Türk Pediatrik Popülasyonunda Makine Öğrenimi Modelleri Kullanılarak LDL-K Tahmini ve Doğrudan Ölçülen ve Hesaplanan LDL-K ile Karşılaştırılması Necla KOÇHAN |

- 76-80 | **Klebsiella Variicola: Bir Bakteriyemi Olgusu ile Literatürün Değerlendirmesi**
Klebsiella Variicola: Evaluation of The Literature with A Case of Bacteremia
Şeyma KUVVETLİŞİK, Zehra KARACAER, Cemal BULUT
- 81-86 | **A Rare Case Report: Anal Malignant Melanoma and Evaluation of the Literature**
Nadir Karşılaşılan Bir Olgu: Anal Malign Melanom, ve Literatürün Gözden Geçirilmesi
Samet ŞAHİN, Önder ÖZCAN, Ilgaz KAYILIOĞLU, Özcan DERE, Cenk YAZKAN, İpar Selin DEMİRCİ, Efe ÜNÜBOL, Okay NAZLI
- 87-90 | **Üretrada Papillom Benzeri Görünümde Prostat Kanseri Düşünmeli miyiz?**
Should We Consider Prostate Cancer with A Papilloma-Like Appearance in The Urethra?
Mustafa KÜÇÜKYANGÖZ, Emrullah SOGUTDELEN, Uğur ÜYETÜRK



Comparison of Effectiveness Levels of Manuel Therapy and Home Exercise Program in Women with Chronic Low Back Pain

Kronik Bel Ağrılı Kadın Hastalarda Ev Egzersiz Programı ile Manuel Terapinin Etkinlik Düzeylerinin Karşılaştırılması

Alev BAŞARAN^{1*} , Ali CEYLAN² 

¹Mardin Eğitim Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü, Artuklu, Mardin, Türkiye

²Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 18.10.2021

Kabul Tarihi (Accepted): 26.07.2022

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Abstract

Objective: Lumbago (Low Back Pain) is one of the health problems that is very common in developing countries and causes mental and psychological problems. This study aims to find out and compare the levels of effectiveness of manual therapy and home-based exercise programs on female patients diagnosed with Chronic Low Back Pain.

Materials and Methods: Sixty female patients between the ages of 18-65 who were diagnosed with chronic low back pain as a result of clinical and radiological examinations were included in the study. The patients were divided into two groups in a randomized controlled way. While the first group was administered manual therapy and electrotherapy modalities, the second group was administered home-based exercise program and electrotherapy modalities during ten sessions by a physiotherapist. The first assessments were made at the beginning of the treatment, and the second assessments were made after the 2-week treatment was completed. Visual Analogue Scale (VAS) was used for pain level and Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) was used for sleep quality level.

Results: In both groups, a significant difference was found statistically in terms of the severity of pain and sleep quality (in manual therapy group $p<0.001$ and $p<0.001$, respectively; home exercise group $p<0.021$ and $p<0.001$, respectively). The improvement in pain level and sleep quality were found to be higher in the manual therapy group compared to the home exercise group with the patients followed up for ten sessions. Difference between VAS in home exercise group before and after treatment was 2.91 ± 1.78 cm and in manual therapy group before and after treatment was 4.68 ± 1.44 cm. Difference between PSQI in home exercise group between pre-treatment and post-treatment was 2.16 ± 2.29 cm and in manual treatment group was 4.10 ± 1.97 .

Conclusion: Manual therapy applications were found to be superior to home exercise programs in reducing the general pain level and creating a positive effect on the sleep quality of the patients. For this reason, manual therapy applications should be widespread in the physical therapy and rehabilitation process.

Keywords: Manual Therapy, Myofascial Stretching, Home-Based Exercise, Low Back Pain, Electrotherapy

&

Öz

Amaç: Bel ağrısı, gelişmekte olan ülkelerde oldukça yaygın görülen ve ruhsal ve psikolojik bir takım sıkıntılara yol açan sağlık sorunlarından biridir. Bu çalışmanın amacı kronik bel ağrısı tanısı konan kadın hastalarda manuel terapi ve ev egzersiz programının hastalar üzerindeki etkinlik düzeylerinin karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya klinik ve radyolojik muayeneler sonucunda kronik bel ağrısı tanısı almış 18-65 yaş arası 60 kadın hasta dahil edildi. Hastalar randomize kontrollü olarak iki gruba ayrıldı. Birinci gruba manuel terapi ve elektroterapi modaliteleri uygulanırken, ikinci gruba da bir fizyoterapist tarafından hazırlanmış ev egzersiz programı ve elektroterapi modaliteleri on seans uygulandı. İlk değerlendirmeler tedavinin başlangıcında, ikinci değerlendirmeler ise 2 haftalık tedavi tamamlandıktan sonra yapılmıştır. Ağrı düzeyi için Görsel Analog Skalası (VAS), uyku kalitesi düzeyi için Pittsburgh Uyku Kalitesi İndeksi (PSQI) kullanıldı.

Bulgular: Her iki grupta da ağrı şiddeti ve uyku kalitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (manuel terapi grubunda sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$; ev egzersizi grubunda sırasıyla $p=0,021$ ve $p<0,001$). On seans takip edilen hastaların ağrı düzeyi ve uyku kalitesindeki iyileşme, manuel terapi grubunda ev egzersiz grubuna göre daha yüksek bulundu. Tedavi öncesi ve sonrası VAS değerleri arasındaki fark ev egzersizi grubunda $2,91 \pm 1,78$ cm, manuel terapi grubunda $4,68 \pm 1,44$ cm idi. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası PSQI değerleri ev egzersizi grubunda $2,16 \pm 2,29$, manuel tedavi grubunda $4,10 \pm 1,97$ idi.

Sonuç: Manuel terapi uygulamaları hastalarda; genel ağrı düzeyini azaltmada ve hastaların uyku kalitesi açısından olumlu bir etki oluşturmada ev egzersiz programlarına göre daha üstün bulunmuştur. Bu nedenle fizik tedavi ve rehabilitasyon sürecinde manuel terapi uygulamaları yaygınlaştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Manuel Terapi, Myofasyal Germe, Ev Egzersizi, Bel Ağrısı, Elektroterapi

Atıf/Cite as: Başaran, A. & Ceylan, A. (2023). Comparison of Effectiveness Levels of Manuel Therapy and Home Exercise Program in Women with Chronic Low Back Pain. Abant Tıp Dergisi, 12 (1) , 1-9 . DOI: [10.47493/abantmedj.1011403](https://doi.org/10.47493/abantmedj.1011403)

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Alev Başaran, e-mail: alevbasaran.2017@gmail.com

Introduction

Low back pain is a health problem that occurs sometimes for mechanical and neurological reasons and sometimes for unknown reasons. This disease, which is very common in individuals living in changing living conditions and poses a serious problem for society, causes a significant financial and job loss (1). While standing upright, bending forward and lifting weights, disorders in static and dynamic posture, deterioration in body mechanics and bad posture may occur. Loss of active workdays, limitation of mobility caused by fear of pain, decrease in quality of life, tendency to become depressed, and disruption of sleep patterns are among the problems seen (2). There are different treatment methods for low back pain, especially surgical, conventional and medical treatment approaches.

There have been many studies comparing the effectiveness of known treatment approaches to solve the problem of low back pain, both in the clinic and in the literature. Physical therapy and rehabilitation, which are conventional treatment approaches, have an important place in the treatment of chronic low back pain (2). The aim of physical therapy agents, which are generally preferred in the treatment of low back pain, is to provide symptomatic treatment by reducing pain, inflammation, muscular symptoms and functional contracture in the joint³. Programs designed to reduce low back pain and increase functional capacity consist of exercise training, manual therapy, movement and activity modifications, and psycho-social approaches, and are preferred in patients with chronic pain. Exercise training is an irreplaceable approach in physical therapy and rehabilitation practices in the treatment of many musculoskeletal problems and chronic diseases (3). It is therefore the cornerstone of preventive rehabilitation. In addition, it is an indispensable treatment method for loss of movement due to injury, reducing pain and regaining motor function ability (4). Manual therapy is the use of the practitioner's hands and/or fingers on the individual's body for evaluation, diagnosis and treatment as a non-surgical conservative approach skill in various conditions and symptoms (5). In manual therapy, therapists use only their hands to press on muscle tissue to manipulate and mobilize joints in the area to reduce muscle spasm, muscle tension, and pain caused by joint dysfunction. Manual therapy includes manual techniques such as high velocity low amplitude trust techniques, medium velocity medium amplitude trust techniques, spinal manipulation, soft tissue stretching, rolling and pressure techniques, myofascial stretching and relaxation techniques, myofascial pain point therapy (counterstrain), positional therapy and muscle energy techniques, visceral techniques, or exercise prescriptions⁶. Manual therapy can be applied to many tissues and areas of the body, especially to the lumbosacral, cervical and thoracic regions.

The aim of the present study is to compare the effectiveness of manual therapy and home exercise program in female patients diagnosed with chronic low back pain.

Materials and Methods

The present study was conducted with female patients who came to the Physical Therapy and Rehabilitation Unit of a university hospital for regular treatment between December 2017 and February 2018. The study, which included 60 female patients with chronic low back pain, is a prospective randomized and single-blind study. The patients were unaware of the groups, however the working physiotherapist was aware of the groups and assessments. Coin flip method was used in randomization and each case was included in the method independently of each other. Ethics committee approval for the study was obtained under the number 179 on 21/12/2017 at Duzce University Non-Interventional Health Research Ethics Committee. In addition, the signed consent of the patients was obtained and the study was initiated in accordance with the Declaration of Helsinki.

Inclusion criteria: Being between the ages of 18-65, having low back pain lasting longer than 6 weeks, being diagnosed with chronic low back pain as a result of clinical and radiological examinations, being able to come to the outpatient treatment program, being able to comply with the treatment program to be applied, being a female, and not having any physical or mental disability.

Exclusion criteria: Being under the age of 18 or over the age of 65, being a male, having a secondary disease that prevents treatment, refusing to voluntarily participate in the study, and pregnant patients.

The independent variables in our study are manual therapy application and home exercise program application, and the dependent variables are general pain status and sleep quality variables. The index and scale applied are Visual Analogue Scale (VAS) and Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). In the VAS scale, it is aimed to convert the emotional state of the patient about pain into numerical data. While evaluating the VAS, the patients were asked in what range they would express their pain during activity between 0 and 10 (0 = no pain, 10 = unbearable pain) (6). The same procedure was repeated both before and after the treatment and recorded by the physiotherapist. The 24 question PSQI scale, which was developed by Buysse et al. in 1989 and provides a quantitative measurement of sleep quality, was read to the patients by the physiotherapist as a question-answer both before the treatment and after 10 sessions of treatment (7). The Turkish validity and reliability study of the scale was carried out by Ağargün et al., and the internal consistency coefficient was specified as 0.80. PSQI consists of 7 components: subjective sleep quality, sleep latency, sleep duration, habitual sleep efficiency, sleep disturbance, use of sleeping pills, and daytime dysfunction. Although PSQI consists of 24 items, it is calculated over 19 items. The index consists of open-ended questions and multiple choice questions. Each of the multiple-choice questions is given a score between 0-3 by the individuals. The total PSQI score is obtained by summing the seven component scores. The total score obtained from this index varies between 0-21, those who score above 5 are considered to have "poor sleep quality", and those who score 5 and below are considered to have "good sleep quality"(7). While manual therapy methods and electrotherapy modalities (ultrasound, tens, hot pack) were applied to the first group, the home exercise program prepared by the physiotherapist and electrotherapy modalities (ultrasound, tens, hot pack) were applied to the second group. Electrotherapy modalities were applied to each patient by physical therapy technicians in the unit once a day for 10 sessions with Ultrasound for 3 minutes, TENS for 20 minutes and Hotpack for 10 minutes. Physical therapy technicians are study blind. Each of the applied manual therapy methods was applied to the patients in the manual therapy group once a day for 10 sessions by the working physiotherapist. Myofascial stretching was performed by manually stretching the fascia of the lumbosacral muscles while the patient was lying face down. In the neurological traction technique to the quadratus lumborum muscle, the physiotherapist made deep pulls on the quadratus lumborum muscle with the hypothenar part of his hand while the patient was lying face down. In the paravertebral z-stretching technique, the paravertebral muscles were cross-stretched. Lumbar region mobilization and stretching to the piriformis muscle were also performed by the physiotherapist while the patient was lying on his back (Figure 1). The total duration of manual therapy applications was kept constant at 20 minutes, each being 4 minutes.

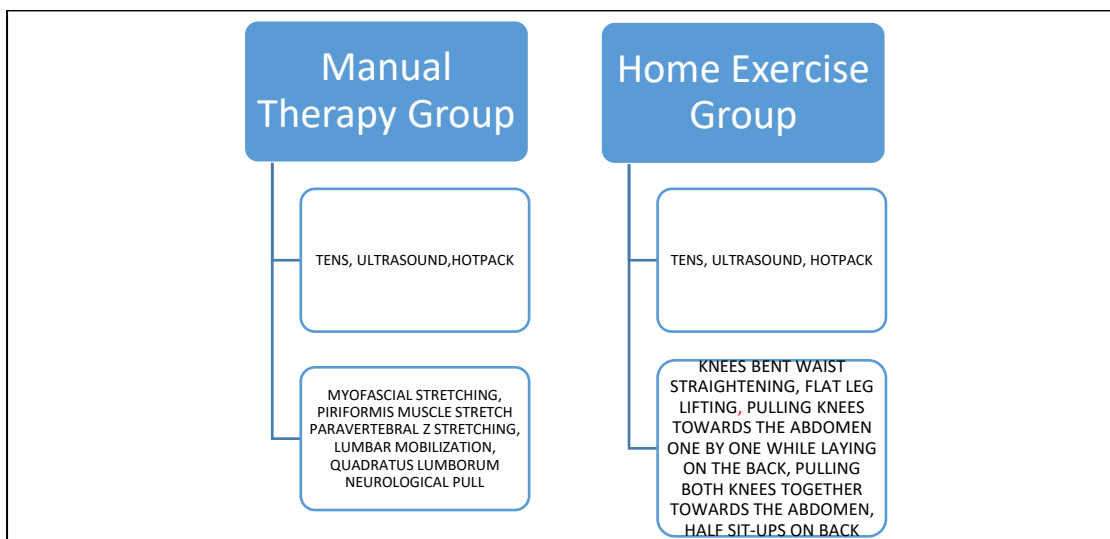


Figure 1. Treatment Administration Chart

Exercises that provide lumbar region stabilization and strengthen the lumbar region stabilizer muscles were selected and a special form was created (Figure 2). These exercises include waist straightening with knees bent while the patient is lying on his back, pulling and releasing the knees one by one towards the abdomen, pulling both knees together towards the abdomen, straight leg raises and half sit-ups with the knees bent to work the upper abdominal muscles. The patients in the home exercise group were asked to perform the determined 5 lumbar region therapeutic exercises regularly for 10 sessions with 15 repetitions 3 times a day. The exercises were performed by the working physiotherapist once for each patient in the unit for 10 sessions, and subsequent follow-up was provided. Exercise diaries of the patients were followed up. Verbal statements were taken from the patients that they did the exercises regularly at home for 10 sessions. 90% of the patients reported that they did the exercises in 3 sets per day for 10 sessions. The exercises lasted 15 minutes in each session.

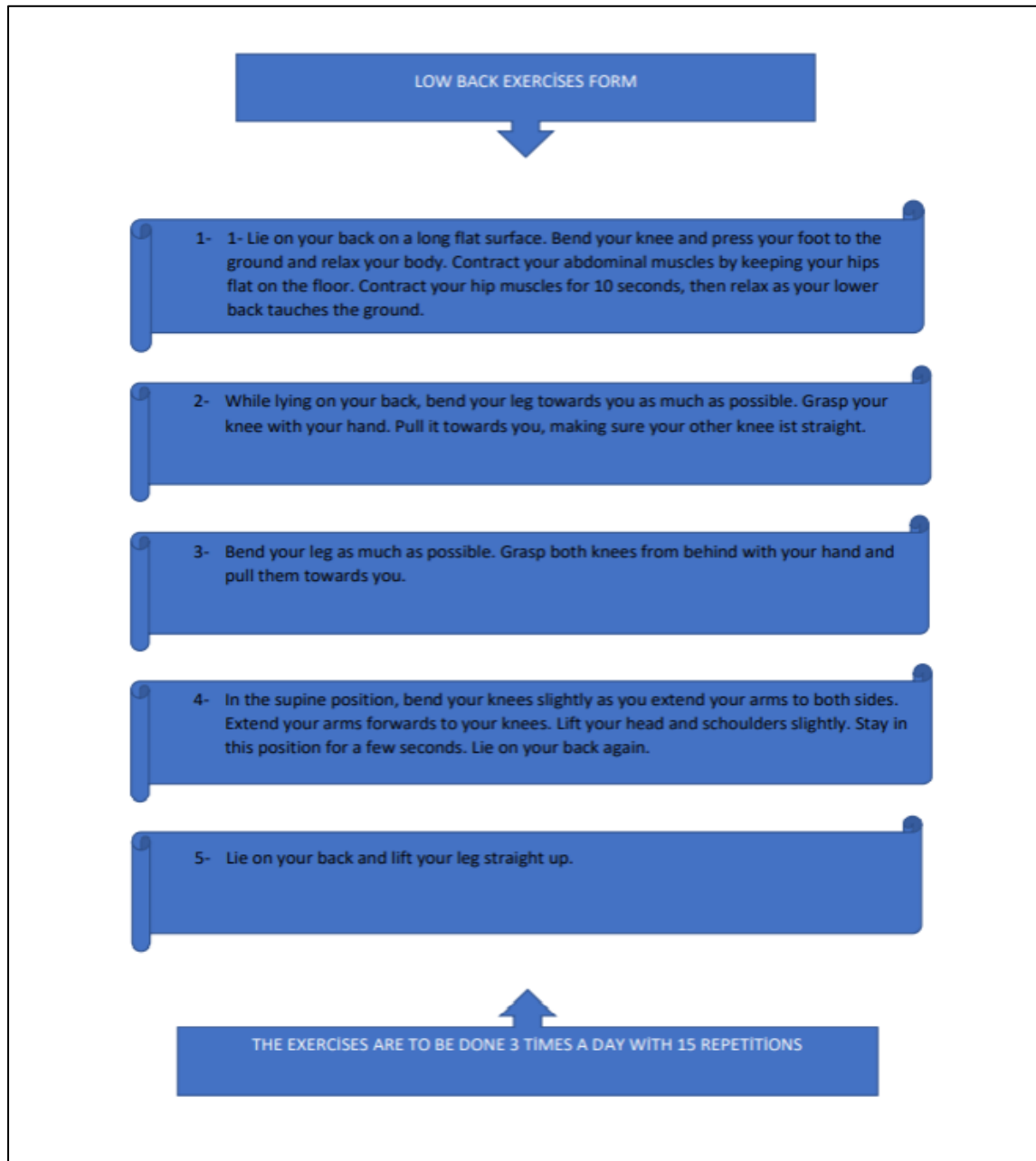


Figure 2. Therapeutic Low Back Exercises

Statistical Analysis

Data analysis was done with SPSS 21.0 for Windows. In order to summarize the data obtained in the study in terms of demographic characteristics according to the groups, considering the results of the Shapiro Wilk normality test, t-test was applied for continuous variables with normal distribution in independent groups, and Mann-Whitney U test was applied for variables that did not meet the normality assumptions.

Percentage distributions of discrete data and averages of continuous data were calculated. Student's t test was used to compare means in independent groups. In the cross tables, Chi-square analysis was used to evaluate the difference between groups determined by counting, and Student's t test was used to evaluate the difference between groups determined by measurement. P values <0.05 were considered significant.

Results

The age and body mass index (BMI) distribution of the demographic characteristics of the patients are shown in Table 1. More than half of the patients in both groups are in the age range of 35-54. When we look at the general distribution in terms of body weight, we see that there are more than 50% obese individuals in both groups.

Table 1

Demographics of Age and Body Mass Index (BMI) Distribution of Individuals by Groups

| | Home Group Exercise | Manual Group Threapy | P value |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------------------|
| Age (year) (X±Sd) | 47.73±10.67 | 40.66 ±11.61 | 0.706* |
| Age Ranges | N (%) | N (%) | |
| 18-34 | 6 (20.0) | 7 (23.3) | |
| 35-54 | 18 (60.0) | 17 (56.7) | X ² =0.105** 0.017** |
| 55-65 | 6 (20.0) | 6 (20.0) | |
| TOTAL | 30 (100) | 30 (100) | |
| Body Mass Index (kg/m2) (X±Sd) | 31.77±6.42 | 30.01±5.03 | 0.232* |
| Body Mass Index Distribution | N (%) | N (%) | |
| Normal | 4 (13.3) | 5 (17.7) | |
| Overweight | 8 (27.7) | 9 (30.0) | X ² =0.287** 0.243** |
| Obese | 18 (60.0) | 16 (53.3) | |
| TOTAL | 30 (100) | 30 (100) | |

*Independent Samples Test, **Chi-Square Test, Body Mass Index, X±Sd: Mean ± standart deviation

The comparison of the pre-treatment (PRE-T) and post-treatment (POST-T) VAS and PSQI values of the patients are given in Table 2 and Table 3 below.

The comparison of the home exercise group and the manual therapy group in terms of VAS values in the pre-treatment period does not reveal a statistically significant difference ($p>0.05$) (Table 2). After the treatment, the pain level decreased in both groups in group comparisons. Considering the comparison between the groups, pain level decrease is seen more in the manual therapy group. Post-treatment values indicate a statistically significant difference in terms of VAS home exercise group and VAS manual therapy group ($p<0.05$) (Table 2).

Table 2

Comparison of the Pre-Treatment VAS and Post-Treatment VAS Means of the Groups

| | Pre-Treatment VAS (cm) | Post-Treatment VAS (cm) | Difference | P value Pre vs post-treatment |
|--|---------------------------|----------------------------|-------------|----------------------------------|
| Home exercise group | 6.37 ± 2.10 | 3.46 ± 1.34 | 2.91 ± 1.78 | 0.021 |
| Manual therapy group | 6.79 ± 1.75 | 2.11 ± 1.06 | 4.68 ± 1.44 | <0.001 |
| P value Home ex-group vs manuel group | 0.401 | <0.001 | | |

VAS: Visual Analogue Scale

Table 3

Comparison of the PSQI values of the cases in terms of Pre-Treatment and Post-Treatment differences

| | Pre-Treatment PSQI | Post-Treatment PSQI | Difference | P value Pre vs post-treatment |
|--|-----------------------|------------------------|------------|----------------------------------|
| Home exercise group | 9.33±3.85 | 7.17±2.66 | 2.16±2.29 | <0.001 |
| Manual therapy group | 11.27±3.20 | 7.17±2.24 | 4.10 ±1.97 | <0.001 |
| P value Home ex-group vs manuel group | 0.031 | <0.001 | | |

PSQI: Pittsburgh Sleep Quality Index

When the PSQI values of the cases were examined, a statistically significant difference was found in terms of pre-treatment sleep quality indices of the home exercise group and the manual therapy group ($p<0.05$) (Table 3). In other words, it is seen that the groups did not show a homogeneous distribution according to their PSQI scores in the pre-treatment period. When we looked at the post-treatment values, no statistical difference was found. A statistically significant difference was found in the difference between the groups whose post-treatment means were close to each other ($p<0.05$). The sleep quality increased significantly more in the manual therapy group compared to the home exercise group.

Discussion

In the present study, we found that manual therapy was superior to home exercise program in terms of reducing pain level and increasing sleep quality in women with chronic low back pain. In both groups, we observed a decrease in the pain levels of the patients and an increase in their sleep quality.

There are many different studies in the literature investigating exercise applications in manual therapy and physical therapy. Investigating the effect of manual therapy and exercise in patients with chronic low back pain, Ulger et al. conducted a double-blind randomized controlled trial. They divided 113 patients into two groups as spinal stabilization and manual therapy groups. They applied spinal stabilization exercises to

the first group and soft tissue mobilizations to the second group. They used the VAS for pain assessment. They found that both treatments were effective in pain, function and quality of life sub-parameters. They reported that manual therapy was more effective than spinal stabilization technique in reducing pain and improving functional status (8). Our study also supports the work of Ulger et al. In our study, when we look at the pre and post-treatment VAS values, the curative effect of manual therapy in terms of both reducing the pain and sleep quality is supported by data. Manual therapy, with its various techniques, has an important healing effect in physical therapy patients, especially in disease states with chronic pain. One of these studies is the retrospective observational study of Cook et al. in which they investigated the long-term effectiveness of manual therapy. They evaluated the short-term efficacy of treatment in patients with chronic low back pain after two weeks of regular manual therapy. They reassessed the patients they treated after 6 months to assess the medium-term efficacy. They reported that the long-term recovery rate was higher in the group of patients who showed greater improvement after two weeks of manual therapy (9). In this study, unlike our study, the long-term curative effect of manual therapy was investigated and it was emphasized that the post-treatment effect was longer in low back pain patients. In our study, which we limited to 10 sessions, the appearance of a satisfactory picture between the first and last evaluations of the patients showed the short-term benefit of our treatment. Although we could not look at the long-term efficacy of our study, the short-term recovery status is consistent with the study of Cook et al. According to Krekoukias et al. conducted a randomized controlled trial comparing the effectiveness of spinal mobilization techniques and conventional physiotherapy in the treatment of chronic low back pain due to spinal disc degeneration. They included 75 patients with chronic low back pain for more than three months in this study and divided the patients into three groups. They applied manual therapy to the first group, placebo treatment to the second group, and conventional physiotherapy to the third group. They found that manual therapy and traditional physiotherapy had a curative effect in all cases. They reported that manual therapy was superior to traditional therapy in reducing pain severity and disability. (10). The results of our study are consistent with the above study. In our study, we think that deep drawings applied to the quadratus lumborum muscle and stretching to the lumbar region fascia provided more relaxation in the lumbar region and caused a greater reduction in pain in the manual therapy group.

Manual therapy, the importance of which has been increasing in recent years, is also preferred more and more by physiotherapists. Even though movement is diminishing from our lives, exercise maintains its importance in today's society as it is in every period. In our study, we also found reductions in pain value in the home exercise group. In this group's exercise program, choosing the movements to strengthen and relax the Lumbar stabilizer muscles and performing the exercises regularly may have caused the pain to decrease. In our study, ultrasound, hotpack and tens, which are electrotherapy agents, were applied to both groups for ten sessions before manual therapy and exercise. Since it was applied to both groups, the effectiveness of electrotherapy in the healing process could not be determined. Caglar et al. In their study with 27 female individuals, they investigated the effect of manual connective tissue massage on pain and sleep quality. They formed two groups of 13 and 14 people and applied home exercise to one group and home exercise and connective tissue massage to the other group. They found a certain difference between the groups in terms of pain severity and improvement in sleep quality. They reported that manual massage had a more effective healing effect than exercise alone (11). In our study, we investigated to what extent manual therapy and exercise improve sleep quality in patients with chronic pain. In our study, manual therapy PSQI pretreatment scores were found to be higher than home exercise group PSQI pretreatment scores. In post-treatment values, the PSQI score showed a more severe decrease in the manual therapy group. When the groups were compared with each other, the difference between them was found to be statistically significant ($p < 0.05$). The healing effect of manual therapy in patients with low back pain is also important in terms of sleep quality. In addition, the increase in sleep quality in the manual therapy group in our study was higher than the increase in sleep quality in the home exercise group. As a result, we can say that the sleep quality has increased in a way that is inversely proportional to the decrease in the pain level in the groups.

Conclusion

Physical therapy and rehabilitation applications accelerate the treatment process in cases of low back pain. Home exercise programs and manual therapy methods organized by physiotherapists are very effective in the treatment process. Proper and correct manual therapy applications were found to be more successful than home exercise programs in reducing the general pain level and creating a positive effect on the sleep quality of the patients. Manual therapy methods, whose importance is increasing day by day in physical therapy and rehabilitation applications, will be used more widely in conventional and preventive treatment programs.

The fact that the study was single-blind was due to the small number of physiotherapists who would perform the application. Power analysis of the study was not performed. No specific criteria were used for age grouping. With VAS, only the pain status of the patients at the activity level was evaluated. Other pain scales could not be used in the assessment of pain due to the high patient density in the treatment unit. The sub-parameters of the PSQI scale were not included in the study because they were not studied in detail. In the home exercise program, the two sessions that the patients had to do at home were limited to the patient's statement, although they were followed up.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval for the study was obtained under the number 179 on 21/12/2017 at Duzce University Non-Interventional Health Research Ethics Committee.

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

Acknowledgement: None.

References

1. Namnakani Fİ, Mashabi AS, et al. The effectiveness of McKenzie method compared to manual therapy for treating chronic low back pain: a systematic review, *J Kas-iskelet Nöronal Etkileşim*. 2019;19(4):492-499.
2. Atılğan E, Erbahçeci F. Kronik Bel Ağrılı Olgularda Yoganın ve Fizyoterapi Programının Yaşam Kalitesi, Denge, Ağrı Düzeyi ve Uyku Kalitesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. *Journal of Exercise Therapy and Rehabilitation* 2018; 5(3):158-166.
3. Erdoğanoğlu Y, Kerem Günel M, et al. Kronik bel ağrısı olan kadınlarda farklı egzersiz uygulamalarının etkinliğinin araştırılması. *Fizyoter Rehabil* 2012; 23(3):125-136.
4. Özocak O, Başçıl SG, et al. Egzersiz ve Nöroplastisite. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2019; 9(1):31-38.
5. Altınbilek T, Yıldız S, et al. Bel ağrılarında osteopatik manipülatif tedavi yaklaşımı. *Integr Tıp Derg* 2016;4(1):10-16.
6. Wewers ME, Lowe NK. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Res Nurs Health* 1990; 13.4: 227-236.
7. Agargun MY. Pittsburgh uyku kalitesi indeksinin geçerliliği ve güvenilirliği. *Türk Psikiyatri Dergisi* 1996; 7(2):107-115.
8. Ülger Ö, Demirel A. The effect of manual therapy and exercise in patients with chronic low back pain: Double blind randomized controlled trial, *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*. *Sırt ve Kas İskelet Rehabilitasyonu Dergisi* 2017; 30(6):1303-1309.
9. Cook C, Petersen S, et al. Does early change predict long-term (6 months) improvements in subjects who receive manual therapy for low back pain? *Physiotherapy Theory and Practice* 2017;33(9):716-724.

10. Krekoukias Georgios. Spinal mobilization vs conventional physiotherapy in the management of chronic low back pain due to spinal disk degeneration: a randomized controlled trial. J Man Manip Ther 2017;25(2):66-73.
11. Çağlar A. Yuksel İ. Konnektif doku masajının miyofasyal ağrı sendromlu bireylerde ağrı, uyku ve yaşam kalitesi üzerine etkisi: randomize kontrollü çalışma. Journal of Exercise Therapy and Rehabilitation 2019; 6(1): 19-24.



Üçüncü Basamak Göğüs Hastalıkları Dal Hastanesinde Servise Yatırılan Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlu Hastalarda Bakteri Profili ve Antibiyotik Direnci Değişti mi?

Is Bacterial Profile and Antibiotics Resistance Changed in The Patients with Lower Respiratory Tract Infection Hospitalized to Tertiary Chest Diseases Hospital?

Damla SERÇE UNAT^{1*}, Gülru POLAT², Güneş ŞENOL², Aysu AYRANCI³,
Filiz GÜLDAVAL⁴, Merve AYIK TÜRK⁵, İhsan TOPALOĞLU⁶, Ömer Selim UNAT⁷,
Gülistan KARADENİZ², Fatma DEMİRCİ ÜÇSULAR⁴, Enver YALNIZ²,
Melih BÜYÜKŞİRİN⁴, Mahmut Mete DEMİREL⁴

¹ Kemalpaşa Devlet Hastanesi, Kemalpaşa, İzmir, Türkiye

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tıp Fakültesi, İzmir, Türkiye

³ Bakırçay Üniversitesi, İzmir Çiğli Eğitim Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴ İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir, Türkiye

⁵ İzmir Bozyaka Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir, Türkiye

⁶ Kafkas Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Türkiye

⁷ Ege Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 25.03.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 23.02.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Öz

Amaç: Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) hastaneye ayaktan başvurularda ve yatan hastalarda önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Bu çalışmada hastaneye yatırılan ASYE olgularında izole edilen etkenler, antibiyotik direnç oranları, hastaların önceden hastaneye yatış ve antibiyotik kullanım durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada 2013-2018 yılları arasında hastanemize ASYE tanısı ile yatırılan ve solunum yolu örneği kültürlerinde üreme saptanan olguların demografik özellikleri, hastane yatış sayıları, antibiyotik kullanım öyküleri ile kültürde elde edilmiş etkenleri ve antibiyotik dirençleri kesitsel tanımlayıcı metotla araştırılmıştır.

Bulgular: 469 hastadan izole edilen 484 etkeni ve bu etkenlerin antibiyotik direnç profillerini inceledik. Olguların yaş ortalaması 63,9 idi. En fazla izole edilen etken *Pseudomonas aeruginosa* (n= 220; %45,5) idi. İzole edilen 17 *S. pneumonia* kökeninde bir (%6) penisilin, üç (%17) makrolid dirençli izolat saptandı. *H. influenza* 34 olguda izole edildi. Olguda %8 ampisilin ve %12 kinolon direnci rapor edildi.

Sonuç: Ampirik antibiyotik tedavisi başlanırken, artan kinolon direncinin ve olguların yarısına yakınında *P. aeruginosa* etken olduğunun göz önüne alınması, özellikle daha önce hastaneye yatış sıklığı ve antibiyotik kullanma öyküsünün sorgulanması ve lokal antibiyotik direnç paternlerinin göz önüne alınmasının gerekli olduğu sonucuna vardık.

Anahtar Kelimeler: Alt Solunum Yolu Enfeksiyonu, Antibiyotik Direnci, Bakteri Profili, Hastane Yatışı

&

Abstract

Objective: Lower respiratory tract infections (LRTIs) are a major cause of mortality and morbidity in hospital admissions and inpatients. In this study, it was aimed to investigate the isolated factors, antibiotic resistance rates, previous hospitalization, and antibiotic use of patients in hospitalized LRTI cases.

Materials and Methods: In this study, the demographic and clinical characteristics, microbiological features of the patients who were hospitalized with the diagnosis of LRTI and found to have growth in the cultures of the respiratory tract samples between 2013-2018 were investigated using a cross-sectional descriptive method.

Results: We analyzed 484 agents isolated from 469 patients and their antibiotic resistance profiles. The mean age of the cases was 63.9 years. The most isolated agent was *Pseudomonas aeruginosa* (n= 220; 45.5%). One (6%) penicillin and three (17%) macrolide resistant isolates were detected in 17 isolated strains of *S. pneumonia*. *H. influenza* was isolated in 34 cases. In the case, 8% ampicillin and 12% quinolone resistance were reported.

Conclusion: We concluded that when starting empirical antibiotic therapy, it is necessary to consider increasing quinolone resistance and *P. aeruginosa* being the causative agent in almost half of the cases, questioning the frequency of previous hospitalizations and antibiotic use, and considering local antibiotic resistance patterns.

Keywords: Lower Respiratory Tract Infection, Antibiotic Resistance, Bacteria Profile, Hospitalized

Atıf/Cite as: Polat, G. , Şenol, G. , Ayrancı, A. , Serçe Unat, D. , Güldaval, F. , Ayık Türk, M. , Topaloğlu, İ. , Unat, Ö. S. , Karadeniz, G. , Demirci Üçsular, F. , Yalnız, E. , Büyükşirin, M. & Demirel, M. M. (2023). Üçüncü Basamak Göğüs Hastalıkları Dal Hastanesinde Servise Yatırılan Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlu Hastalarda Bakteri Profili ve Antibiyotik Direnci Değişti Mi? Abant Tıp Dergisi, 12 (1) , 10-18 . DOI: 10.47493/abantmedj.1093099

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Damla Serçe Unat, e-mail: sercedamla@gmail.com

Giriş

Alt solunum yolu enfeksiyonları (ASYE) hastane başvuruları, tedavi giderleri, işgücü kayıpları ve hastalığa bağlı ölümlerde önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde sağlık bakanlığı 2017 yılı verilerine göre yılda yaklaşık 250. 000 alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı alan hasta olmuştur. Kaybedilen yaşam yılı sıralamasında ilk 10 hastalık içindedir (1).

Global olarak bakıldığında ASYE insidansı Avrupa'da 10.000 de 20-80; Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ise 10.000'de 25-105 arasında bildirilmektedir. Yaşla birlikte insidans artmaktadır . Dünyada yıllık 3 milyonun üzerinde ölümden sorumlu tutulmaktadır (2).

Belirli hasta gruplarında ASYE riskinin daha yüksek, saptanan etkenlerin genel toplum kökenli enfeksiyonlardan farklı, tedavi başarısının daha düşük ve mortalitenin daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) ve malignitesi olan, bağışıklığı baskılayan ilaç kullanan ve yakın tarihte yoğun bakım yatışı olan hastalar bu özel hasta gruplarının başında yer alırlar (3). Sahuquillo ve ark. hastanın yaşının altta yatan hastalık, sigara ve alkol alışkanlıklarının bakteriyel etioloji üzerinde etkili olacağını belirtmişlerdir (4).

Erken ve uygun ampirik tedavi, uygun destek tedavi ile birlikte mortalite, morbidite ve hastanede kalış süresi üzerindeki en önemli etkidir. Artan antibiyotik direnci tedavi başarısızlığında belirleyici rol oynamaktadır. Uygun ampirik tedaviyi düzenlemek için ulusal uzlaşma raporları ile birlikte lokal etken ve direnç paternlerinin bilinmesi yol göstericidir. Bu nedenle bu çalışmada hastanemize alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile yatırılan hastalardan izole edilen etkenler, antibiyotik direnç oranları ve hastaların önceden hastaneye yatış ve antibiyotik kullanım öyküsünün araştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışmada 2013-2018 yılları arasında hastanemize akut alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile yatırılan ve solunum yolu örneği kültürlerinde üreme saptanan olguların demografik özellikleri, hastane yatış sayıları, antibiyotik kullanım öyküleri ile kültür ile elde edilmiş etkenleri ve antibiyotik dirençleri kesitsel tanımlayıcı metotla araştırılmıştır.

Hastaların yatıştan sonra ilk alınan solunum yolu örneğinden (balgam veya bronş aspirasyonu) etken izole edilen hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Tekrarlayan yatışı olan hastalar her bir yatışı için yeniden değerlendirilmiştir.

Solunum yolu örnekleri mikrobiyoloji laboratuvar kalite standartları örnek kabul ölçütlerine göre değerlendirilerek vasıflı balgam ve bronkoskobik aspirasyon örnekleri mikrobiyolojik çalışma için kabul edilmiştir. Standart mikrobiyolojik yöntemlerle kültüre alınmış ve Gram boyalı yayma preparatları hazırlanmıştır. Değerlendirmeye elverişli bir örnek olabilmesi için, balgam mikroskobisinde küçük büyütmeli objektifle (10x) görülen yassı epitel hücre sayısının 10'dan az, polimorfonükleer lökosit (PNL) sayısının 25'in üzerinde olması (nötropenik olgular hariç) gereklidir. İdentifikasyon Phoenix (BD, ABD) otomatik sistem ve konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle yapılmıştır. Etken raporlamada Gram boyama ile birlikte yorumlanmıştır. Antibiyogram, Phoenix (BD, ABD) otomatik kültür antibiyogram sistemi ve disk difüzyon yöntemi ile yapılmış, antibiyotik duyarlılıkları için Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) ölçütleri kullanılmıştır.

Rutin mikrobiyolojik işlemlerde Chlamydia pneumonia (C. Pneumonia), Legionella pneumophila (L. Pneumophila) ve Mycoplasma pneumonia (M. Pneumonia) ve viral etkenler test edilmemektedir. Bu nedenle, C. pneumonia, L. pneumophila, M. pneumonia ve viral panel çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastaların kullandıkları antibiyotikler ve kullanım süreleri, yatış sayı ve süre bilgileri hastane bilgi yönetim sistemi (HBYS) üzerinden alınmıştır.

Bu çalışma, SBÜ Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi Etik Kurulu kararı ile izin alınarak yapılmıştır (Karar No: 21.11.2018/8993).

Bulgular

2013-2018 yılları arasında hastanede yatan ve solunum yolu örneklerinde üreme saptanan 469 hastadan 484 etken izole edilmiştir.

Hastaların demografik, klinik ve temel laboratuvar özellikleri Tablo 1'de; yıllara göre önemli özelliklerin dağılımı özetlenmiş olarak Tablo 2'de görülmektedir.

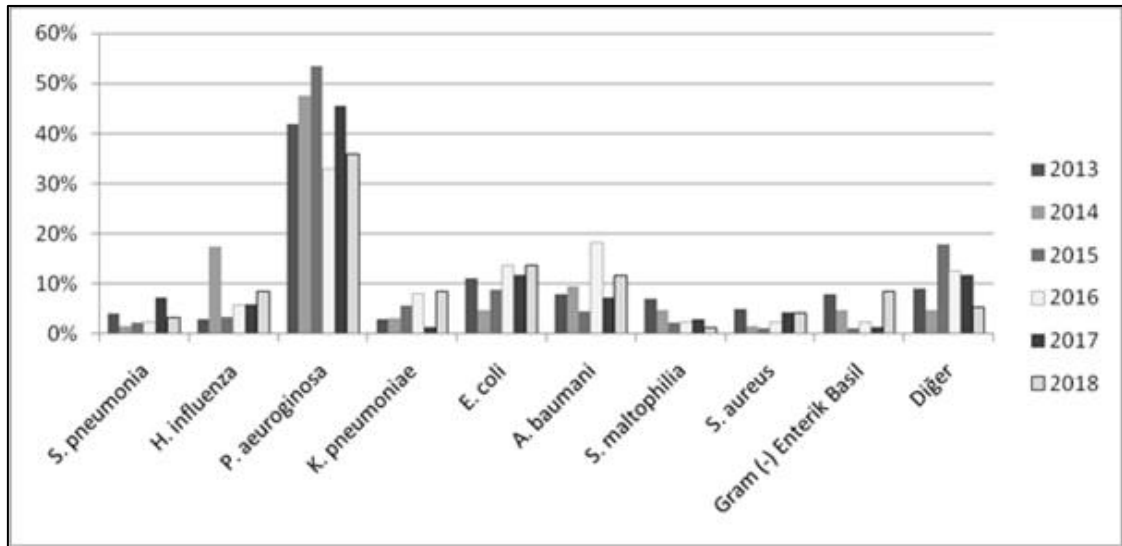
Hastaların 194'ünde en sık altta yatan hastalık olarak KOAH (%41,3) olduğu görülmüştür. Yaş ortalamasının 63,9 (18-96) olduğu ve erkek cinsiyetin belirgin olarak fazla (%77,8) olduğu görülmektedir.

En fazla izole edilen etken *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (n= 220; %45,5) iken; 57 üremede etken *Escherichia coli* (*E. coli*) (%11,7), 51 üremede etken *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) (%10,5), 34 hastada *Haemophilus influenza* (*H. influenza*) (%7,24), 27 hastada *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) (%5,75), 18 hastada *Streptococcus pneumonia* (%3,5) ve 80 hastada diğer bir patojen mikroorganizma (%17,1) saptanmıştır.

Yatış öncesi antibiyotik kullanımı açısından incelendiğinde son bir ay içinde herhangi bir antibiyotik kullanan 43 hastanın 19'unda *P. aeruginosa* (%44,1), 7'sinde *A. baumannii* (%16,2), 5 (%11,6) hastada *E. coli*, ikişer hastada *K. pneumoniae* ve *H. influenzae* (%4,6), birer hastada *S. pneumonia* ve *Moraxella catarrhalis* (%2,3) üremiştir. Bu hastalar içinde yatıştan önce son bir hafta içinde antibiyotik kullanan veya halihazırda kullanmakta olan 19 hastanın 11'inde *P. aeruginosa* (%57,5), 3'ünde *A. baumannii* (%15,8), ikişer hastada *E. coli* (%10,5) ve *K. pneumoniae* (%10,5) ve bir hastada *S. pneumonia* (%5,7) izole edilmiştir.

Hastalarımızın 451 (%96) tanesine yatışta ampirik antibiyotik başlanmış ve 247 tanesinin (%55) başlanan antibiyotik ortalama 7,9 gün sonra değiştirilmiştir.

İzole edilen mikroorganizmaların yıllara göre dağılımı Şekil 1'de görülmektedir. En fazla izole edilen etkenin *P. aeruginosa* (n= 220; %44) olduğu saptanmıştır. KOAH hastaları hasta sayısının %41 ini oluşturduğu halde üreyen *P. aeruginosa* kökenlerinin %51'i (n= 106) bu hastalardan izole edilmiştir.



Şekil 1. İzole edilen mikroorganizmaların yıllara göre dağılımı

Yatan hastaların 9'u (%2) başka hastanelerden, 13 (%2,7) tanesi de yoğun bakım ünitesinden transfer alınmıştır. Başka hastaneden alınan hastaların 3'ünde *P. aeruginosa* (%33), birinde *A. baumannii* (%11), bir diğerinde *E. coli* (%11) ve ikisinde (%22) tanımlanamayan Gram negatif basil üremiştir. Yoğun bakımdan

alınan 13 hastanın beşinde *P. aeruginosa* (%38), altısında *A. baumannii* (%46), birinde *Staphylococcus aureus* (%8) izole edilmiştir.

İzole edilen 17 *S. pneumonia* kökeninde bir (%6) penisilin, üç (%17) makrolid dirençli izolat saptanmıştır. *H. influenza* 34 olguda izole edilmiştir. Üç olguda (%8) ampisilin ve dört (%12) kinolon direnci rapor edilmiştir. Sekiz *Moraxella catarrhalis* izolatının birinde ampisilin (%12,5) ve diğer birinde (%12,5) kinolon direnci saptanmıştır.

Tablo 1

Hastaların (N= 469) Demografik, Klinik ve Temel Laboratuvar Özellikleri

| | Ortalama | Ortanca (min-maks) |
|--|----------|--------------------|
| Yaş (yıl) | 63,9 | 66 (18-96) |
| VKİ kg/m ² | 22,9 | 22 (13,1-42) |
| Sigara P/Y | 50,8 | 45 (5-200) |
| FEV1 lt | 1,21 | 1,02 (0,31-4,32) |
| FEV1 % | 43,9 | 38 (20-14) |
| FVCLt | 1,84 | 1,62 (0,42-5) |
| FVC% | 52,05 | 48 (18-114) |
| Son bir yılda KOAH atak sayısı | 4,01 | 3 (1-34) |
| Son bir yılda yatış sayısı | 2,28 | 1 (1-15) |
| Yatış süresi (gün) | 14,46 | 12 (0-120) |
| WBC x10 ³ /µL | 12,4 | 11 (2,1-41) |
| HGB gr/dL | 11,9 | 12 (6,1-20) |
| PLT x10 ³ /µL | 328 | 297 (59-955) |
| CRP mg/dL | 10,3 | 7,4 (0,03-43,9) |
| Sedimantasyon (mm/sa) | 57,1 | 54,5 (3-140) |
| PO ₂ mmHg | 68,7 | 65,3 (46-186) |
| PCO ₂ mmHg | 46,4 | 42,85 (19,6-103) |
| SAT % | 89,6 | 93 (44-100) |
| Yatış öncesi antibiyotik kullanan hasta sayısı | 43 | |

*VKİ: Vücut Kitle İndeksi, P/Y: paket/yıl, FEV1: 1. Saniyedeki Zorlu Ekspiratuar Volüm, FVC: Zorlu Vital Kapasite, KOAH: Kronik obstruktif akciğer hastalığı WBC: Beyaz Küre HGB: Hemoglobin, PLT: Platelet, CRP: C reaktif protein, pO₂: parsiyel oksijen basıncı, pCO₂: parsiyel karbondioksit basıncı, SAT: satürasyon

Tablo 2

Hastaların Önemli Epidemiyolojik Özelliklerinin Yıllara Göre Dağılımı

| YILLAR/ HASTA SAYISI | 2018/90 | 2017/68 | 2016/77 | 2015/78 | 2014/56 | 2013/100 |
|---|---------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| YAŞ (MIN-MAX) | 66,3 (20-89) | 65,4 (32-84) | 66,34 (23-96) | 61,4 (23-85) | 57,9 (22-92) | 65,5 (21-93) |
| CİNSİYET (E/K) | 69/21 | 54/14 | 59/18 | 66/12 | 38/18 | 79/21 |
| EK HASTALIK | 69 | 62 | 68 | 54 | 40 | 42 |
| KOAH | 27 | 27 | 35 | 43 | 27 | 35 |
| MALİGNİTE | 27 | 20 | 17 | 16 | 6 | 22 |
| SON BİR YILDA YATIŞ >2 KEZ OLAN HASTA | 41 | 19 | 44 | 38 | 31 | 55 |
| HASTANEDE YATIŞ SÜRESİ (GÜN) | 14,5 (3-58) | 16,6 (4-120) | 14,6 (3-52) | 16,02 (3-42) | 10,6 (2-31) | 12,5 (2-46) |
| LÖKOSİT>10.000 OLAN HASTA SAYISI | 56 | 16 | 32 | 59 | 24 | 57 |
| CRP >5 OLAN HASTA SAYISI | 66 | 40 | 31 | 37 | 24 | 64 |
| SON BİR AYDA AB KULLANAN HASTA (BAŞVURU SIRASINDA KULLANILMAKTA) | 8 (4) | NA | 2(2) | 15 (5) | NA | 18 (8) |
| AB BAŞLANAN HASTA SAYISI | 87 | 63 | 76 | 77 | 54 | 94 |
| YATIŞTA BAŞLANAN AB DEĞİŞTİRİLEN HASTA SAYISI | 36 | 36 | 37 | 45 | 23 | 42 |
| ANTİBİYOTİK DEĞİŞİM GÜNÜ (min- max) | 6,3 (3-12) | 8,8 (3-26) | 8,2 (2-27) | 7,7 (3-15) | 7,5 (1-20) | 8,9 (3-19) |
| TOPLAM N=469 | 63.9 (18-96) | | | | | |
| 365/104 | | | | | | |
| 335 | | | | | | |
| 194 | | | | | | |
| 108 | | | | | | |
| 228 | | | | | | |
| 14,1 (2-120) | | | | | | |
| 43 (19) | | | | | | |
| 451 | | | | | | |
| 219 | | | | | | |
| 7,9 (1-27) | | | | | | |

Antibiyotik direnç oranları Tablo 3'te izlenmektedir. Yıllar arasında direnç oranlarında belirgin bir değişim saptanmamıştır.

Tablo 3

İzole edilen Gram (-) etkenlerin sayı ve antibiyotik direnç oranları

| | n | Seftriakson | Seftazidim | Moksifloksasin | Pip-Tazo | Karbapenem |
|-----------------------------|-----|-------------|------------|----------------|----------|------------|
| | | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) |
| <i>E. coli</i> | 54 | 39 (72) | 1 (2) | 37 (68) | 15 (28) | 4 (7) |
| <i>K. pnömoni</i> | 27 | 5 (21) | 3 (11) | 8 (30) | 3 (11) | 2 (7) |
| <i>Enterobacter</i> spp. | 12 | 2 (17) | 0 | 2 (17) | 1 (8) | 0 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 210 | -* | 30 (14) | 55 (26) | 0 | 30 (14) |
| <i>A. baumannii</i> | 51 | -* | -* | -* | -* | 45 (88) |
| Diğer | 42 | 0 | 1 (2) | 6 (14) | 1 (2) | 0 |

Pip-Tazo: Piperasilin-Tazobaktam

* "- işareti" o bakteri üremesinde o antibiyotiğin direncinin çalışılmadığını gösterir.

Tartışma

Hastaneye akciğer enfeksiyonu tanısı ile yatan hastalarda zaman geçirmeden antibiyotik başlanması esastır. Bu noktada seçilen antibiyotik prognoz açısından kritiktir. Doğru antibiyotik seçimi için ulusal ve uluslararası rehberler ve bölgesel epidemiyolojik veriler kullanılmalıdır.

En sık karşılaşılan toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonu etkenleri H. influenza, M. catarrhalis ve S. pneumonia bilinmesine karşılık son yıllarda yayınlarda etkenlerin sıklığında değişiklikler izlenmekle birlikte en sık etken S. pneumonia olmaya devam etmektedir (2, 5, 6). H. influenza ve M. catarrhalis kökenleri tahmin edildiği kadar sıklıkta saptanmamıştır. S. pneumonia, yayınlarda toplum kökenli pnömonilerde en fazla izole edilen etken olarak görülmektedir (2,4). Ancak bazı yayınlarda görülme sıklığında azalma olduğu belirtilmektedir (8, 9). Uygun olmayan ve yaygın antibiyotik kullanımı bu grup bakterilerin izolasyon sıklığını azaltmakla birlikte antibiyotiklere direnci arttırmaktadır. Seftriakson direncinde son yıllarda artış izlenmektedir (9). Pnömonokollardaki oransal azalma pnömokok aşılmasının sonucu da olabileceği belirtilmektedir (10).

Gram negatif basiller de yatan hasta gruplarında etken olarak izole edilmektedirler K. pneumoniae, P. aeruginosa, E. coli ve A. baumannii en sık saptanan etkenlerdir. Yoğun bakım hastaları kadar sık olmasa da yataklı servis hastalarından da önemli oranlarda izole edilmektedirler (11, 12, 13).

P. aeruginosa çalışmamızda önemli bir izolasyon oranı göstermiştir. KOAH, yaşlı ve maligniteli hastalarda P. aeruginosa başta gelen etken olmaktadır (10,15). Bizim çalışmamızda eşlik eden KOAH önemli sayıdadır ve yatan hastalarımızdaki son bir yıl içerisindeki atak ortalama 4 civarındadır. Bu da mikrobiyolojik incelemelerde KOAH atak ve kolonizasyon varlığının incelenmesinin P. aeruginosa açısından önemli olduğu görüşünü desteklemektedir (14) Son yıllarda yoğun bakım hastalarında Gram negatif bakterilerin Gram pozitif bakterilerden daha sık izole edildiği görülmektedir (13).

Dikkat çeken diğer bir sonuç, karbapenem dirençli olanlar dahil tüm P. aeruginosa kökenleri piperasilin - tazobaktama duyarlı bulunmuştur. Eski tarihli kaynaklarda karbapenmelere düşük direnç oranları mevcut iken son yıllarda bu oran yükselmektedir. (9, 13) He ve ark. çalışmasında bizim sonuçlarımızla paralel olarak karbapenem direnci piperasilin-tazobaktam direncinden daha fazladır (9).

Altta yatan kronik hastalık varlığında ve son bir ay içinde antibiyotik kullanımında, P. aeruginosa veya antibiyotik dirençli yüksek bir etken üreme olasılığında rehberlere uygun ampirik antibiyotik başlanmalıdır. Ayrıca mutlaka yatış sırasında solunum yolu sekresyonlarından kültür istenmesi gerekmektedir.

Acil servise pnömoni ile başvuran hastalarda saptanan etkenler arasında dirençli patojen oranı artmaktadır. Dessie T. ve ark. tarafından yapılan çalışmada kültür pozitifliğinin yaşlılarda, sigara içenlerde ve alkol kullananlarda daha çok olduğu gösterilmiştir. (7).

Antibiyotik dirençli etkenler için antibiyotik kullanım oranı ve son 3 ay içinde hastanede yatış oranları toplum kökenli pnömoni ve hastane kökenli pnömonilerde benzerdir. Risk faktör sayısı arttıkça dirençli patojenlerle enfeksiyon riskinin arttığı görülmektedir (7).

Genel bilgilerle uyumlu davranmakla birlikte hastanın ek hastalık, hastaneye yatış öyküsü, önceden kullanılan antibiyotik bilgisi başarılı bir tedavinin şekillendirilmesinde yardımcı olacaktır. Malignite ve yaşlı hastalarda daha dirençli patojenlerin etken olabileceği düşünülmektedir (10). Çalışmamızda altta yatan KOAH varlığında Gram negatif etkenlerin daha fazla izole edildikleri görülmüştür.

Son yıllarda alt solunum yolu enfeksiyonu tedavisinde üzerinde yoğunlaşılacak bir konu da hastanede yatış süresi ve tedavi süresidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tedavinin en az beş gün olmasını ve stabilite kriterlerine uyan hastalarda en erken zamanda kesilmesini desteklemektedir (14). Çalışmamızda hastaların hastanemizde yatış süresi 2013 yılında 10 gün civarında iken bu sürenin 2018 yılında 14 güne yükseldiğini göstermiştir. Bu sonuçlar hastanemizin bir dal hastanesi olması ve yatan hastalarımızın komorbiditeleri nedeniyle stabilizasyonunun zor olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Rehberlere göre son 90 gün içinde hastaneye yatış ve antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençli patojenle enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Altta yatan hastalıklar da bu riski arttırmaktadır (3, 7).

Kinolon direnci, hemofilus kökenlerinde ampisilin direncinden fazla olması ile dikkat çekmektedir. Yurt içi kaynaklara göre %1-5 arası bir direnç söz konusu iken son yıllarda yurtdışı yayınlarda bu geniş etkili ilaç grubunun kontrolsüz kullanımı nedeniyle (16) %11'e kadar direnç oranlarının arttığı rapor edilmektedir (17). Çalışmamızda %12 gibi ülkemiz için yüksek bir oran saptanmıştır. Ayaktan ve yatan hastalardaki solunum yolu enfeksiyonlarında kinolonların sık ampirik kullanımının bu etkiye yol açtığı düşünülmüştür.

Ülkemizde Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) 2016 verilerine göre invaziv S.pneumoniae izolatlarında penisilin direnci menenjit dışı enfeksiyonlar için %13,8 olarak saptanmıştır. Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetim Ağı (EARSS-Net) 2016 Raporuna göre, invaziv S.pneumoniae izolatlarında makrolid direnci %0-60 arasında değişmektedir. Ancak yukarıdaki oranlar genelde kan ve beyin-omurilik sıvısından alınan örneklerden bulunmuştur. Türkiye'de solunum yollarından izole edilen Makrolid dirençli S. pneumoniae oranı %7-29 arasında değişmektedir. Çalışmamızda pnömokoklarda penisilin direnci oldukça düşük (%6) görülmüştür. Literatürdeki çalışmaların daha yüksek olmasının nedeni toplum kökenli enfeksiyonlara genelde ampirik antibiyotik başlanması ve ülkemizde daha az

kültür alınmasıdır. Ayrıca kültür alınan hastaların dirençli kliniik tabloya sahip hastalar olduğu da göz ardı edilmemelidir (18,19,20).

Karbapenem direnci *Pseudomonas* kökenlerinde literatüre göre daha az, *Acinetobacter* kökenlerinde daha yüksek bulunmuştur (9, 11). Ülkemizdeki yayınları inceleyen bir metanalizde *Pseudomonas* türlerinde imipenem ve meropenem direnci 2010-2013 yılları arasında sırasıyla %25,0 ve %26,3 olarak bulunmuştur. Bu veriler bizim elde ettiğimiz direnç oranına yakındır. Ancak piperasilin tazobaktam direnci aynı yıllarda %28,9 olarak bulunmuştur. (21). UAMDSS 2016 raporunda *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenem direnci %46 iken, EARSS-Net 2016 Raporuna göre, invaziv *P.aeruginosa* izolatlarında piperasilin tazobaktam direnci %0 ile %48,8 arasında gözlenmekte olup, AB ortalaması %16,3 olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde ise UAMDSS 2016 verilerine göre invaziv *P.aeruginosa* izolatlarında piperasilin tazobaktam direnci %30.1 olarak saptanmıştır (18,19). Çalışmamızda piperasilin tazobaktam ve karbapenem dirençleri sırasıyla *E. coli*'de %28, %8; *K. Pneumonia*'da %11, %8; *P. Aeruginosa*'da ise 0 ve %14 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda enterik Gram negatif basillerde bile düşük oranlarda da olsa piperasilin tazobactam direnci gözlenirken *Pseudomonas* kökenlerimiz piperacilin tazobactama duyarlı bulunmuşlardır.

Sonuçlar

Akut akciğer enfeksiyonlarında ampirik antibiyotik tedavisi başlanmadan, artan kinolon direncinin ve olguların yarısına yakınında *P. aeruginosa*'nın etken olduğunun göz önüne alınması, özellikle daha önce hastaneye yatış sıklığı ve antibiyotik kullanma öyküsünün sorgulanması ve lokal antibiyotik direnç paternlerinin göz önüne alınmasının gerekli olduğu sonucuna vardık.

Etik Kurul Onamı: SBÜ Dr.Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi Etik Kurulu kararı ile izin alınarak yapılmıştır (Karar No: 21.11.2018/8993).

Bilgilendirilmiş Onam: Retrospektif bir çalışma olduğu için onam alınmamıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynakça

1. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2018; Ankara, 2019.
2. Ferreira-Coimbra J, Sarda C, Rello J. Burden of Community-Acquired Pneumonia and Unmet Clinical Needs. *Adv Ther* (2020) 37:1302–1318.
3. Saymer A, Azap A, Yalçı A, Şakar Çoşkun A, vd. Erişkinlerde Toplumda Gelişen Pnömoniler Tanı ve Tedavi Uzlaş Raporu 2021
4. Sahuquillo-Arce JM, Menendez R, Mendez R, Amaro-Elori I, vd. Age-related risk factors for bacterial aetiology in community-acquired pneumonia. *Respirology* [Internet]. 2016;21(8):1472–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/resp.12851>
5. Liapikou A, Cilloniz C, Palomeque A, Torres T. Emerging antibiotics for community-acquired pneumonia. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2019;24(4):221-231. doi:10.1080/14728214.2019.1685494
6. Metlay JP, Waterer GW, Long AC, Anzueto A, vd. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 200, Iss 7, pp e45–e67, Oct 1, 2019
7. Dessie T, Jemal M, Maru M, Tiruneh M. Multiresistant Bacterial Pathogens Causing Bacterial Pneumonia and Analyses of Potential Risk Factors from Northeast Ethiopia. *Int J Microbiol*. 2021;2021. doi:10.1155/2021/6680343
8. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, vd. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. *N Engl J Med* 2015; 373:415

9. He R, Luo B, Hu C, Li Y, Niu R. Differences in distribution and drug sensitivity of pathogens in lower respiratory tract infections between general wards and RICU. *J Thorac Dis.* 2014 Oct;6(10):1403-10. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.09.22
10. Henig O, ve Kaye KS. Bacterial Pneumonia in Older Adults. *Infect Dis Clin North Am.* 2017 Dec;31(4):689-713. doi: 10.1016/j.idc.2017.07.015.
11. Hu F, Guo Y, Yang Y, Zheng Y, vd. Resistance reported from China antimicrobial surveillance network (CHINET) in 2018. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(12):2275-2281. Doi:10.1007/s10096-019-03673-1
12. Uzoamaka M, Ngozi O, Johnbull OS, Martin O. (2017) Current trends on Bacterial etiology of Lower Respiratory Tract Infection and their Antimicrobial Susceptibility in Enugu, *The American Journal of the Medical Sciences*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjms.2017.06.025>
13. Duen Duan N, Du J, Huang C and Li H. (2020) Microbial Distribution and Antibiotic Susceptibility of Lower Respiratory Tract Infections Patients From Pediatric Ward, Adult. Respiratory Ward, and Respiratory Intensive Care Unit. *Front. Microbiol.* 11:1480. doi: 10.3389/fmicb.2020.01480
14. Eshwara VK, Mukhopadhyay C, Rello J. Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update. *Indian J Med Res.* 2020;151(4):287-302. doi:10.4103/IJMR.IJMR_1678_19
15. Matkovic Z. ve Miravitless M. Chronic bronchial infection in COPD. Is there an infective phenotype? *Respiratory Medicine*, Volume 107, Issue 1, 10 - 22
16. Bush NG, Diez-Santos I, Abbott LR, Maxwell A. Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules.* 2020;25(23). doi:10.3390/MOLECULES25235662
17. Kırca G. Haemophilus influenzae'larda tiplendirme yöntemleri ve önemi. Tıbbi Mikrobiyoloji Programı yüksek lisans tezi. Ankara 2021
18. UAMSS Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi, 2016 Yıllık Raporu, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Ankara, <http://uamdss.thsk.gov.tr>
19. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial & resistance Surveillance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2017.
20. Sirekbasan L, Gönüllü N, Sirekbasan S, Kuşkucu M, Midilli K. Phenotypes and genotypes of macrolide-resistant Streptococcus pneumoniae. *Balkan Med J.* 2015;32(1):84-88. doi:10.5152/BALKANMEDJ.2015.15169
21. Aykan ŞB ve Çiftçi ŞB. Meta-Analiz: Türkiye'de Pseudomonas aeruginosa İzolatlarının Son 11 Yıldaki Antibiyotik Direnç Değişimi. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(3): 352-365



Mesobuthus Gibbosus (Scorpiones: Buthidae) Akrep Ham Zehrinin Kansere Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması

Investigation of Cytotoxic and Antiproliferative Effects of Mesobuthus gibbosus (Scorpiones: Buthidae) Crude Scorpion Venom on Cancer Cell Lines

Nazife YİĞİT KAYHAN^{1*}, İlkaç ÇORAK ÖCAL², Onur BÜYÜKKARTAL³

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırıkkale, Türkiye

² Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye

³ Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 28.03.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 13.09.2022

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Öz

Amaç: Akrep zehirleri, çeşitli kimyasal maddelerin oluşturduğu oldukça kompleks heterojen karışımlardır. Bu çalışmada, Mesobuthus gibbosus (Brullé, 1832) (Scorpiones: Buthidae) akrebinin ham zehrinin kanser hücreleri üzerine sitotoksik ve antiproliferatif etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: M. gibbosus'dan sağılan ham zehrin sitotoksik etkileri MCF-7 meme kanseri ve A549 akciğer karsinomu ve normal fare fibroblast (L929) hücreleri üzerindeki sitotoksik ve antiproliferatif etkileri çalışılmış ve elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Sitotoksiteyi belirlemek için MTT testi, apoptoz ve nekroz indeksini belirlemek için ikili boyama metodu ve xCELLigence gerçek zamanlı analiz sistemi ile hücre proliferasyonunun analizi in vitro koşullarda yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada, akrep ham zehrinin MCF-7 ve A549 kanserli hücrelerin üzerine sitotoksik etki sonuçları ayrı ayrı L929 fibroblast hücre sonuçları ile Mann Whitney U testi kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Bunun sonucunda L929 hücrelerinin % canlılık değeri A-549'un değerine çok yakın iken MCF-7 hücrelerinin % canlılık değeri L929'un değerine göre daha yüksek olmasına rağmen araştırmadaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu hücrelerin proliferasyon grafikleri incelendiğinde ise en yüksek dozdaki zehrin MCF-7 ve L929 hücrelerinin proliferasyonunun bir miktar azalttığı ancak A549 hücrelerinin proliferasyonunu etkilemediği gözlemlenmiştir.

Sonuç: M. gibbosus akrep ham zehrinin MCF-7 ve A549 kanserli hücreleri üzerine apoptotik ve antiproliferatif etkileri bir miktar gözlemlenmiştir. Ancak bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Anahtar Kelimeler: Akrep Zehri, Mesobuthus gibbosus, Kansere, Hücre Proliferasyonu, Sitotoksite

&

Abstract

Objective: Scorpion venoms are a highly complex mixture of various chemicals with surprising biological effects. In this study, the cytotoxic and anti-proliferative effects of Mesobuthus gibbosus (Brullé, 1832) (Scorpiones: Buthidae) scorpion crude venom on cancer cell lines were investigated.

Materials and Methods: The cytotoxic and anti-proliferative effects of crude venom milked from M. gibbosus on MCF-7 breast cancer and A549 lung carcinoma, and normal mouse fibroblast (L929) cells were studied and the obtained data were evaluated. The MTT test to determine cytotoxicity, the double staining method to determine the apoptosis and necrosis index, and the analysis of cell proliferation with the xCELLigence real-time analysis system were performed in vitro.

Results: In the study, the results of cytotoxic effects of scorpion crude venom on between MCF-7 and A549 cancer cells and L929 fibroblast cell were analyzed statistically by using Mann Whitely U test separately. As a result, although the % viability value of L929 cells was very close to the value of A-549, the % viability value of MCF-7 cells was higher than the value of L929, but the difference in the study was not statistically significant. When the proliferation graphs of these cells were examined, it was observed that the highest dose of venom slightly reduced the proliferation of MCF-7 and L929 cells, but did not affect the proliferation of A549 cells.

Conclusion: The apoptotic and antiproliferative effects of M. gibbosus scorpion crude venom on MCF-7 and A549 cancer cells were observed to some extent. However, these results are not statistically significant.

Keywords: Scorpion Venom, Mesobuthus gibbosus, Cancer, Cell Proliferation, Cytotoxic

Atıf/Cite as: Yiğit Kayhan, N., Çorak Öcal, İ. & Büyükkartal, O. (2023). Mesobuthus gibbosus (Scorpiones: Buthidae) Akrep Ham Zehrinin Kansere Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması. Abant Tıp Dergisi, 12 (1) , 19-31 . DOI: 10.47493/abantmedj.1094466

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2023 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Prof. Dr. Nazife Yiğit Kayhan, e-mail: naz_yigit2@hotmail.com

Giriş

Tüm dünya genelinde bakıldığında 21. yüzyılın en temel sağlık problemleri arasında kanser üst sıralarda yer almaktadır (1). Şu anda dünya çapında ölüm sebepleri arasında kardiyovasküler hastalıklar ilk sıradadır. Dünya Sağlık Örgütüne bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunun yayınladığı veriler incelendiğinde önümüzdeki on yıl içinde kanserin ölüm sebeplerinde birinci sıraya yerleşeceği ön görülmektedir (2,3).

Kanser, bireyin kendi vücut hücrelerinin kontrolsüz ve zamansız olarak aşırı çoğalmalarına, bu anormal hücrelerin bağışıklık sisteminin gözetiminden kaçmalarına, bunların sonucu olarak da başlangıcından daha uzakta bulunan dokuları dahi istila ederek yayılmalarına yol açan çok kademeli ve karmaşık değişiklikler bütünüdür. Oluşan bu değişiklikler hücre çoğalmasını ve ömrünü, komşu hücrelerle ilişkileri ve immün sistemden kaçma kapasitesini kontrol eden genetik programlardaki modifikasyonların birikmesiyle ortaya çıkar (4).

Kanser, tüm dünyada önemini korurken kanser ile mücadele etmek ve kanser hastalarını da tedavi etmek için yeni ve etkili tedavi yöntemlerinin arayışı devam etmektedir. Günümüzde kanser hastalarını tedavisinde klasik kemoterapi ilaçları kullanılmaktadır. Bu kemoterapötiklerin çoğunun hedefi kanserli hücrelerde DNA sentezini dolayısıyla replikasyonunu engelleyerek hücrelerin çoğalmasını durmaya yöneliktir. Tedavi protokollerinde kemoterapötiklerle birlikte radyoterapi ve cerrahi yöntemler de kullanılabilir. Mevcut tüm bu yöntemler tek tek ya da kombinasyonlar şeklinde dahi uygulansa bile kanserli hücreler üzerinde spesifik etkili gösterdiğini söylemek çok zordur. Çünkü klasik tedavi yöntemleri kanserli hücrelerinin yanında sağlıklı hücreleri de etkileyebilmektedir. Bunun yanında kemoterapötiklerin çok ciddi yan etkileri de bulunmaktadır. Tüm bu olumsuzlukları giderebilmek için araştırmacılar kanser tedavisinde yeni ve çok daha spesifik etkili alternatif yöntemler ve kemoterapötikler arayışı içindedir (4). Son yıllarda bu amaçla araştırmalar, kimyasal olmayan yani canlılardan elde edilen biyolojik ajanlara yönelmiştir. Bunun içinde en çok araştırılan kaynaklar çok farklı biyotoksinleri içeren hayvan zehirleri olmuştur. Yılan, akrep ve örümcek zehirlerinden, elde edilecek biyotoksinlerin kanser teşhis ve tedavisinde kullanılmasına yönelik araştırmalar yapılmaktadır.

Fosil kayıtlarına göre akreplerin dünya üzerindeki varlığı 430 milyon yıl öncesine dayanmaktadır. Akreplerin geçmişten günümüze kadar vücutları çok az değişikliğe uğramıştır. Bu nedenle akrepler yaşayan fosiller olarak tanımlanmaktadır. Bunu da akrepler sıra dışı özelliklere sahip olmalarına borçludurlar. Dış iskeletlerinin kütikülasında yüksek oranda metal bulunması, iyonize radyasyona karşı dirençli olmaları, çeşitli biyoaktif maddelere sahip zehirlerinin olması akreplerin evrimsel başarısını göstermektedir (5). Günümüze kadar dünya yüzeyinde 2.659 akrep türü tespit edilmiştir (6). Akreplerin zehir bezleri telson olarak adlandırılan metosomanın son segmentinde iğnenin hemen önünde yerleşmiştir. Akrep zehirleri, yüksek seviyeden biyoaktif özelliklere sahip toksinlerin kompleks bir karışımıdır. Akrepler bu toksinler avlanma ve savunma için kullandıkları için doğrudan avlarının kas ve sinir hücrelerini etkileyecek niteliktedir. Bu nedenle akrep zehir toksinleri kas ve sinir hücre membranlarındaki iyon kanallarını hedef almakta ve bu kanallarla uyum sağlayan küçük polipeptidler ve proteinler içermektedir (7).

Akrep zehir peptitleri kanser hücrelerine spesifik olarak bağlanabilme özelliğine sahip toksinleri de içerebilmektedir. Aslında akrep zehir bileşeninde bulunan çeşitli toksinler farmakolojik yönleri en çok araştırılan ve insanlar üzerinde önemli etkilere sahip zehirlerdir (5,7,8). Akrep zehirlerinin içerdiği toksinler; α -toksinler ve β -toksinler olarak kategorize edilebilir. Spesifik olarak, α -toksinler, voltaj kapılı Na^+ kanallarının inaktivasyonunun geciktirilmesinden sorumlu iken, β -toksinler daha fazla negatif potansiyele sahip bu kanalların açılmasından sorumludur (8). Akrep zehir toksinleri organizmalar (hücreler ve dokular) üzerine zehirlilik etkilerine göre de tanımlanırlar. Akrep zehirleri her ne kadar insanda zehirlenmeye sebep olsalar da aynı zamanda bu toksinler kontrollü kullanılarak yeni ve spesifik etkili ilaçların keşfedilmesi ve geliştirilmesi için önemli bir potansiyel kaynak olarak görülmektedir (9,10).

Bu nedenle başta kanserle mücadelede olmak üzere bazı hastalıkların tedavisi için akrep toksinlerin kullanımı yeni ve oldukça umut verici yaklaşımlardan biridir. Akrep zehirlerinde bulunan anti-kanser peptitler (AKP'ler) temel olarak 50'nin altında amino asite sahip küçük peptitlerdir. Bu peptitler, çoğunlukla alfa-sarmal ikincil yapıya sahip hidrofobik polipeptidlerdir. AKP'ler, kanser hücrelerine karşı seçici yapısal ve morfolojik özellik gösterebilirler (9).

Yapılan çalışmalar, akrep zehir bileşimindeki peptidlerin sitolitik, sitotoksik aktivitelerinin bulunduğu, ayrıca zehir bileşimde bulunan bazı peptidlerin de vücudun bağışıklık sistemini güçlendirmek suretiyle etki gösterdiğini göstermiştir (10). Bu verilerden yola çıkarak bu çalışmada ülkemizde yaygın bir akrep türü olan Mesobuthus gibbosus (Brulle, 1832)'dan elde edilen ham zehri MCF-7 meme kanseri ve A549 akciğer karsinomu olmak üzere insan kanser hücreleri ve normal fare fibroblast (L929) hücreleri üzerine değişik konsantrasyonlarda uygulayarak sitotoksik etkileri ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. M. gibbosus zehrinin sitotoksik, apoptotik ve antiproliferatif etkileri gösterilmeye çalışılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Arazi Çalışması, Akreplerin Toplanması ve Tür Teşhisi

Bu çalışmada kullanılan M. gibbosus türü akrepler 2016 yılında Yozgat'ın Merkez İlçesine bağlı Sarınoğren köyünde yapılan çeşitli arazi çalışmaları sonucunda, tepelik kesimde taşların altından toplanmıştır. Toplamda 14 akrep toplanarak canlı olarak laboratuvara getirilmiştir. Akrepler, doğal ortamlarına uygun olarak laboratuvarda hazırlanan ortamlarda ayrı ayrı kavanozlara yerleştirilmiş ve zehir eldesi için bakımları yapılmıştır.

Genital ve morfolojik karakterler kullanılarak akreplerin tür teşhisi Prof.Dr. Tarık Danışman (K.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) tarafından yapılmıştır. Çalışmada kullanılan akrepler, laboratuvarda kültürü yapılan canlı yem (un kurdu) ile beslenmiş ve haftada bir bakımları yapılmıştır. Zehir sağım işlemi yapılmadan bir hafta önce akrepler zehir miktarları azalması diye beslenmemiştir. Akreplerin telsonuna zehir sağım işleminde elektrik akımı uygulandığı için telsonun bakımı oksijenli su ile yapılmıştır. Bu şekilde bakımı yapılan akrepler yaşatılmış ve 15 gün sonra tekrar zehir sağımı için kullanılmıştır. Bu işlemler zehir miktarı deneyler için yeterli olana kadar devam etmiştir.

Elektriksel Uyarı Yöntemiyle Akrep Ham Zehrinin Sağılması ve Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, M. gibbosus akrep zehri elektriksel uyarı (15-20 V) yöntemi (11) kullanılarak hazırladığımız özel düzenek (Şekil 1) ile canlı akreplerden elde edilmiştir. Elde edilen akrep zehri -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Hücre uygulamalarında kullanılmak üzere toplanan zehir steril suda çözülerek +4 °C'de 15 bin devirde 15 dakika santrifüj edildi. Bu işlem sonrasında zehir toksinlerini içeren süpernatant kısmı başka bir tüpe aktarıldı. Zehir toksinlerinin çoğunluğu protein ve polipeptit olduğu için elde edilen örnek içerisinde bulunan protein konsantrasyonu standart bir yöntem olan Bradford Coomassie Blue yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır (12). Bunun için konsantrasyonu bilinen standart referans protein olarak Bovine Serum Albümin'in (BSA) çözeltileri kullanılmıştır. Sırasıyla her bir tüpe 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 mg/ml BSA çözeltileri ve zehir örneğinden 2,4 ml; 0,6 ml Bradford ayırıcı konularak ve 280 nm'de Spactamax Plus marka spektrofotometre cihazıyla absorbansları belirlendi. Referans BSA çözeltilerinin absorbans sonuçlarıyla bir kalibrasyon eğrisi çizildi. Bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak absorbans ölçtüğümüz zehir örneğinin toplam protein konsantrasyonu 0,338 mg/ml olarak hesaplandı. Deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere her bir test için azalan şekilde dilüsyon oranlarına sahip zehir örneği (0,0112 mg/ml, 0,0056 mg/ml, 0,0028 mg/ml, 0,0014 mg/ml, 0,0007 mg/ml, 0,0003 mg/ml) kullanıldı.



Şekil 1. *M. gibbosus* akrelerinden zehir sağımı için hazırladığımız düzenek. Elektrotların iletkenliğini artırmak için petri kabı içindeki tuzlu su ile ıslatılmış, akreleri hareketsiz tutmak için petri kabının kenarında çentik açılarak kuyruk dışarıda bırakılmış, pens ile kuyruk tutularak elektrik akımı verilmiş ve çıkan zehir pipet ile toplanmıştır.

Hücre Kültürü

Çalışmada, Kırıkkale Üniversitesi bünyesinde bulunan Bilimsel ve Teknolojik Uygulamalar ve Araştırmalar Merkezi (KÜBTUAM) Hücre Kültür Koleksiyonuna ait A549 insan akciğer kanser hücre serisi (ATCC® CCL-185), MCF-7 insan meme kanseri (ATCC® HTB-22) ve normal fibroblast L929 hücre hattı kullanıldı. Hücrelerin üretildiği besiyeri DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) içeren şişelere, L-glutamin, %10 FCS ve %1 antibiyotik (penisilin-streptomisin) ilave edilerek hazırlandı ve hücrelerin yerleştirildiği şişeler 37°C'de %5 CO₂ ile ortamında CO₂ inkübatöründe 48 saat süreyle inkübe edildi. Hücreleri toplamak için, hücre kültür mediyumu boşaltıldı ve hücreler tripsin-EDTA (şişe başına 0,5 ml) ile muamele edildi ve hücreler şişe yüzeyinden kaldırıldı. Hücreler daha sonra 15 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarıldı ve 3 dakika 1.000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernetant boşaltıldı ve hücreler deneysel çalışmalarımızda kullanıldı. Hücre kültüründe kullanılan kimyasallar (DMEM, FBS, Trypsin/EDTA solüsyonu, Penicillin/Streptomycin) Biochrom (Merck, Germany)'den ve bunların dışındaki hücre kültürü malzemeleri Greiner (Austria)'den temin edilmiştir.

Sitotoksikite Testi (MTT)

Zehrin hücreler üzerine sitotoksik etkisini belirlemek için standart 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) testi ISO 10993-5 standartlarına uygun bir şekilde gerçekleştirildi (13). Bunun için L929 fibroblast, A549 ve MCF-7 kanser hücreleri besiyeri içeren doksan altı kuyucuğa sahip mikropalakaların her bir kuyucuğa beş bin hücre konuldu. Daha sonra hücreleri içeren mikropalaka yirmi dört saat inkübasyona bırakıldı. Daha önce konsantrasyonları 0,0112 mg/ml, 0,0056 mg/ml, 0,0028 mg/ml, 0,0014 mg/ml, 0,0007 mg/ml, 0,0003 mg/ml olarak ayarlanmış zehir örnekleri hücreler üzerine uygulanarak tekrar inkübe edildi. Çalışmada tüm testler her konsantrasyon için iki tekrarlı olarak yapıldı. Ayrıca çalışmada negatif kontrol grubu olarak sadece besiyeri ortamı kullanılarak denem yapıldı. İnkübasyonu tamamlanan hücrelerin her birinin kuyucuğundaki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra 50 µl MTT çözeltisi konuldu. İnkübatörde 37 °C'de iki saat inkübasyondan sonra tüm kuyucuklara 100 µl izopropanol

konularak çalkalandı. Bu şekilde hazırlanan mikropkala ELISA plaka okuyusu (ELISA Microplate Redader, BioTek, USA) kullanılarak 570 nm'de absorbans ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri kontrol grupları baz alınarak % hücre canlılıklarını hesaplamada kullanıldı. Tüm ölçümler üç tekrarlı olarak yapıldı ve veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

İstatistik Analiz

Çalışmadaki normal ve kanserli hücrelerin test sonuçlarının % canlılık değerlerinin dağılımlarının normallğine Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldığında sırasıyla L929 ile A-549, MCF-7 için sırasıyla $p=0,019$, $p=0,09$ ve $p=0,011$ olduğu görülmüştür. Bu veriye göre üç hücrenin % canlılık anlamlılık değerleri $p<0,05$ in altında olduğu için gruplar normal dağılım göstermemektedir. Bu nedenle Mann Whitney U testi L929, A-549 ve MCF-7 hücrelerinin % canlılık değerlerinin farklarını ortaya koymak için kullanılmıştır.

Apoptozun ve Nekroz Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmada, hücrelerin apoptoz ve nekroz indeksleri ikili boyama metodu kullanılarak belirlendi. Bu metotta Ribonükleaz A (Sigma R-500), Hoechst (33342) ve Propidium iodide boyama kullanıldı ve çekirdeği boyama özelliklerine göre apoptoz ve nekroz gösterilmeye çalışıldı. Ribonükleaz A RNA'yı parçalar, Hoechst (33342) boyama ise apoptotik hücreleri belirler. Propidium iodide ise DNA'yı ve RNA'yı kırmızıya boyayarak ikincil olarak nekrozu belirler. Bu yöntemlerden yararlanarak MCF-7, A549 ve L929 fibroblast hücreleri mikropklalara her bir kuyucuğa beş bin hücre olacak şekilde konuldu. Uygun besiyerinde hücreleri içeren mikropkala inkübatörde yirmi dört saat süreyle inkübe edildi. Sonra sırasıyla her bir kuyucuğa konsantrasyonu 0,0112 mg/ml, 0,0056 mg/ml, 0,0028 mg/ml, 0,0014 mg/ml, 0,0007 mg/ml, 0,0003 mg/ml olan zehir örnekleri uygulandı. Bu şekilde tekrar inkübatöre tabi tutuldu ve kuyucuklardaki besi ortamı atıldı ve her bir kuyucuğa 50 μ l double staining çalışma solüsyonundan ilave edildi. Mikropkala hiç ışık almayacak şekilde kapatılıp ve tekrar on beş dakika inkübe edildi. Daha sonra mikropkladaki hücreler floresan mikroskopun (Leica, Germany) DAPI filtresi kullanılarak incelendi. Bu şekilde mikroskopta apoptoz özellikleri gösteren hücreler belirlendi. Nekroza uğramış hücreleri belirlemek için FITC kullanıldı ve hücrelerin değerlendirilmesi yapıldı.

Gerçek Zamanlı Hücre Analizi

Hücre proliferasyonunu belirlemek için xCELLingence gerçek zamanlı hücre analiz sistemi kullanıldı. Bu cihaz elektronik mikropklalar kullanarak empedans ölçümü yapan mikroelektronik biyosensör sistemidir. Bu sayede hücre proliferasyonunun ve morfolojisinin değişimini işaretçi kullanmadan saptamakta ve fizyolojik temas gerektirmeksizin gerçek zamanlı otomatik ölçümler yapabilmektedir. Yüksek hassaslık ve doğrulukta görüntüleme yapabilmek için tercih edilen bir sistemdir (14). Bu çalışmada xCELLingence gerçek zamanlı analiz sistemi, akrep zehri uygulanan hücrelerin proliferasyonunu belirlemede kullanıldı. Denesi yapılacak olan üç hücreden her kuyucuğa beş bin hücre olacak şekilde altın kaplı e-mikropklalara ekim yapıldı. E-mikropkala inkübatörde 20 saat süreyle inkübe edilirken gerçek zamanlı hücre analiz sistemine (RTCA-SP Instrument (Roche, Germany)) bağlı olarak takip edildi. Süre sonunda her kuyucuğa hücreler üzerine sırasıyla 0,0112 mg/ml, 0,0056 mg/ml, 0,0028 mg/ml, 0,0014 mg/ml, 0,0007 mg/ml, 0,0003 mg/ml konsantrasyona sahip zehir örnekleri ilave edildi. Sistem her beş dakika ara ile kuyucuklardaki empedans ölçtü ve ölçümler doksan altı saat süre ile kaydedildi. Süre bitiminde ölçüm değerleri kullanılarak zaman bağı olarak hücrelerin proliferasyonunu gösteren eğriler çizildi.

Bulgular

MTT Testi Sonuçları

Farklı konsantrasyonlardaki zehir örneği iki kanser ve de normal fibroblast hücre hattına uygulandıktan sonra her bir hücrenin % canlılık oranları ELISA plaka okuyucusundan elde edilen absorbans değerlerine göre hesaplanmış ve tüm sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Elde edilen veriler ile Mann Whitney U testi

kullanılarak L929, A-549 ve MCF-7 hücrelerinin zehirden etkilenmelerinin farklarını ortaya koymak için kullanılmıştır. Mann Whitney U testinde iki bağımsız örneklem olan L929 ve A-549 için yapılan analiz sonucunda, L929 ($x=68,15$, $ss=40,54$) ve A-549 ($x=68,44$, $ss=27,86$) hücre grupları arasında canlılık yüzdesi olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($Z=-0,384$, $p>0,05$). Hatta bu iki hücrenin % canlılık ortalamalarına bakıldığında bu iki hücrenin % canlılığı birbirine çok yakın olduğu görülmüştür. Aynı şekilde L929 ($x=68,15$, $ss=40,54$) ve MCF-7 ($x=77,43$, $ss=27,85$) hücre gruplarının % canlılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($Z=-0,128$, $p>0,05$). Fakat bu iki hücrenin % canlılık ortalamalarına bakıldığında MCF-7'nin % canlılık ortalamasının L929 hücresinin % canlılık değerinden daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 2). Bu sonuçlara göre, L929 hücrelerinin % canlılık değeri A-549'un değerine çok yakın iken MCF-7 hücrelerinin % canlılık değeri L929'un değerine göre daha yüksek olmasına rağmen araştırmadaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Apoptotik Nekrotik İndeks Sonuçları

Bu çalışmada, apoptotik ve nekrotik indeksin hesaplanması double staining yöntemi kullanılmıştır. İki boyama sayesinde mikropalaklardaki hücrelerden apoptotik hücreler mikroskopun DAPI filtresinde parlak mavi renkte, nekrotik hücreler ise, FITC filtresinde kırmızı renkte görüntülendi. Farklı konsantrasyonlarda MCF-7 meme kanser hücrelerine uygulanan zehrin örneklerine ait apoptotik nekrotik indeks sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında; en fazla dilüsyon oranına sahip konsantrasyon olan 0,0003 mg/ml zehir uygulanan hücrelerde apoptotik indeks $4,0 \pm 1,4$, nekrotik indeks ise $2,0 \pm 0,7$ olarak hesaplandı. Uygulanan zehir konsantrasyonu arttıkça apoptotik ve nekrotik indekste arttığı açıkça görülmektedir (Tablo 3). MCF-7 hücrelerinin tipik apoptotik ve nekrotik görüntüleri Şekil 2'de gösterildi.

Tablo 1.

Hücrelerin % canlılık değerleri. % hücre canlılık değerleri ortalama absorbans değerlerini gösterir. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

| Konsantrasyon (<i>M. gibbosus</i> zehri) | MCF-7 Hücrelerinin % Canlılık | A549 Hücrelerinin % Canlılık | L929 Hücrelerinin % Canlılık |
|--|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 0,0112 mg/ml | 20,0 \pm 1 | 33,0 \pm 0,7 | 9,0 \pm 0,5 |
| 0,0056 mg/ml | 49,4 \pm 0,7 | 25,5 \pm 1,5 | 19,5 \pm 0,2 |
| 0,0028 mg/ml | 87,9 \pm 0,8 | 78,2 \pm 0,5 | 53,3 \pm 1,5 |
| 0,0014 mg/ml | 91,3 \pm 1 | 79,4 \pm 1 | 96,8 \pm 0,7 |
| 0,0007 mg/ml | 94,5 \pm 1,4 | 80,0 \pm 0,5 | 97,4 \pm 0,8 |
| 0,0003 mg/ml | 98,9 \pm 2 | 83,0 \pm 0,6 | 101,1 \pm 2 |
| Kontrol | 100 \pm 0,1 | 100 \pm 0,1 | 100 \pm 0,1 |

Tablo 2

Kontrol olarak kullanılan zehir uygulanmış L929 (kansersiz olmayan hücre) zehir uygulanmış MCF-7 ve A-549 (kansersiz hücreler) % canlılık değerleri parametrik olmayan Mann Whitney U testi kullanılarak karşılaştırılması

| L929 ile A-549 karşılaştırılması | | | | | | |
|----------------------------------|---|-----------------|-----------------|--------|-------|------|
| Gruplar | N | Sıra Ortalaması | Sıralar Toplamı | U | Z | p |
| L929 (Normal) | 7 | 7,93 | 55,50 | 21,500 | -,384 | ,701 |
| A-549 Kansersiz | 7 | 7,07 | 49,50 | | | |

| L929 ile MCF-7 karşılaştırılması | | | | | | |
|----------------------------------|---|-----------------|-----------------|--------|-------|------|
| Gruplar | N | Sıra Ortalaması | Sıralar Toplamı | U | Z | p |
| L929 (Normal) | 7 | 7,64 | 53,50 | 23,500 | -,128 | ,898 |
| MCF-7 Kansersiz | 7 | 7,36 | 51,50 | | | |

Tablo 3

Farklı konsantrasyonlarda zehir uygulanmış MCF-7 hücrelerine ait apoptotik nekrotik indeks değerleri. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

| Konsantrasyon (<i>M. gibbosus</i> zehri) | %apoptoz | %nekroz |
|---|--------------|--------------|
| 0,0112 mg/ml | 12 \pm 1 | 35 \pm 1 |
| 0,0056 mg/ml | 12 \pm 0,5 | 23 \pm 0,5 |
| 0,0028 mg/ml | 8 \pm 0,7 | 11 \pm 0,5 |
| 0,0014 mg/ml | 7 \pm 1,5 | 8 \pm 0,6 |
| 0,0007 mg/ml | 5 \pm 1 | 4 \pm 0,5 |
| 0,0003 mg/ml | 4 \pm 1,4 | 2 \pm 0,7 |
| Kontrol | 2 \pm 0,5 | 0 \pm 0 |

Tablo 4

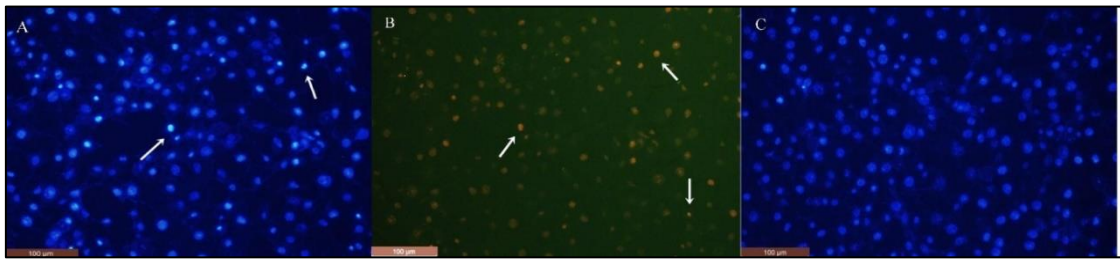
Farklı konsantrasyonlarda zehir uygulanmış L929 Fibroblast hücrelerine ait apoptotik nekrotik indeks oranları. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

| <i>M. gibbosus</i> ham zehri Konsantrasyon | %Apoptoz | %Nekroz |
|--|--------------|--------------|
| 0,0112 mg/ml | 23 \pm 0,5 | 45 \pm 1 |
| 0,0056 mg/ml | 18 \pm 0,7 | 37 \pm 0,5 |
| 0,0028 mg/ml | 15 \pm 1 | 24 \pm 0,5 |
| 0,0014 mg/ml | 11 \pm 2 | 15 \pm 1 |
| 0,0007 mg/ml | 9 \pm 1 | 13 \pm 0,5 |
| 0,0003 mg/ml | 6 \pm 0,7 | 5 \pm 1 |
| Kontrol | 1 \pm 0,5 | 0 \pm 0 |

Tablo 5

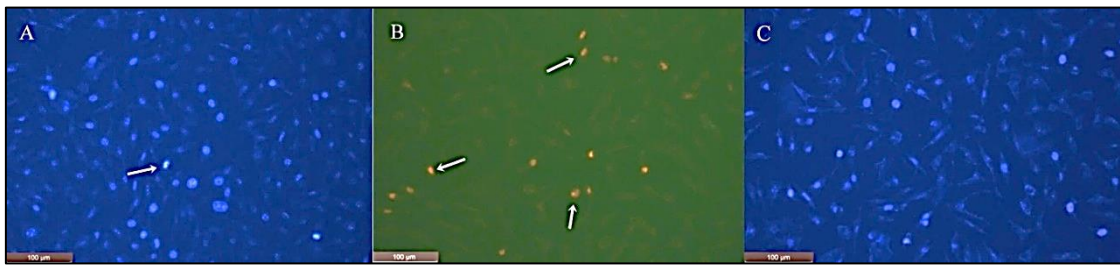
Farklı konsantrasyonlarda zehir uygulanmış A549 hücrelerine ait apoptotik nekrotik indeks değerleri. Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

| <i>M. gibbosus</i> ham zehri Konsantrasyon | %apoptoz | %nekroz |
|--|--------------|--------------|
| 0,0112 mg/ml | 15 \pm 0,4 | 25 \pm 1 |
| 0,0056 mg/ml | 12 \pm 1 | 23 \pm 0,5 |
| 0,0028 mg/ml | 8 \pm 0,6 | 17 \pm 0,5 |
| 0,0014 mg/ml | 7 \pm 2 | 14 \pm 0,6 |
| 0,0007 mg/ml | 6 \pm 1 | 13 \pm 1 |
| 0,0003 mg/ml | 5 \pm 0,8 | 10 \pm 1 |
| Kontrol | 3 \pm 0,7 | 0 \pm 0 |



Şekil 2. İkili boyama ile MCF-7 hücrelerinde apoptoz ve nekrozun gösterilmesi. a) 0,0112 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri uygulanan MCF-7 hücreleri. Hoechst 33342 DAPI filtresinde görüntülendi. Apoptotik hücreler okla gösterildi. b) 0,0112 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri MCF-7 hücreleri. Propodium iodide FITC filtresinde görüntülendi. Nekrotik hücreler okla gösterildi. c) Kontrol grubu hücreleri.

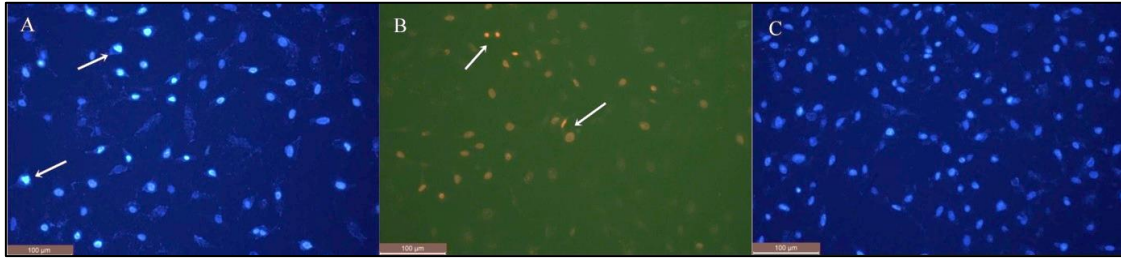
Kanserli olmayan hücre hattı L929 fibroblast hücrelerine *M. gibbosus* zehri uygulandığında yüksek konsantrasyonlarda (0,0112 mg/ml ve 0,0056 mg/ml) apoptotik indeksin yüksek olduğu görülmüştür. MCF-7 kanser hücre hattı ile karşılaştırıldığında normal hücrelere de aynı şekilde toksik olduğu görüldü. L929 fibroblast hücrelerine ait apoptotik nekrotik indeks oranları Tablo 4'te verildi. Apoptoz nekroz görüntüleri Şekil 3'te gösterildi.



Şekil 3. İkili boyama ile L929 fibroblast hücrelerinde apoptoz ve nekrozun gösterilmesi. a) 0,0003 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri uygulanan L929 hücreleri. Hoechst 33342 DAPI filtresinde görüntülendi. Apoptotik hücreler okla gösterildi. b) 0,0014 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri L929 hücreleri. Propodium iodide FITC filtresinde görüntülendi. Nekrotik hücreler okla gösterildi. c) Kontrol grubu hücreleri.

Diğer bir kanserli hücre hattı olan A549 kanser hücrelerine uygulanan zehir örneklerine ait apoptotik nekrotik indeks sonuçlarına bakıldığında; A549 hücrelerinde en yüksek konsantrasyonda (0,0112 mg/ml) apoptotik indeks %15 \pm 0,4'tür. A549 hücrelerine ait apoptotik nekrotik indeks oranları Tablo 5'te verildi.

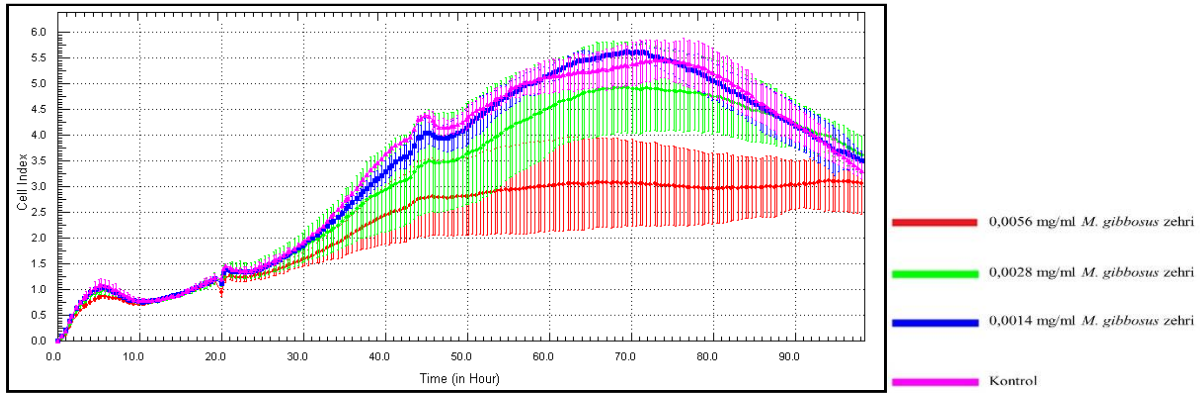
Tablodan da kolaylıkla anlaşılacağı üzere zehir konsantrasyon oranları düştükçe % apoptoz ve nekroz oranlarının düştüğü görülmektedir. A549 hücrelerinin apoptik ve nekrotik görüntüleri Şekil 4'te gösterildi.



Şekil 4. İkili boyama ile A549 hücrelerinde apoptoz ve nekrozun gösterilmesi. Apoptotik hücreler okla gösterildi. a) 0,0028 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri uygulanan A549 hücreleri. Apoptotik hücreler okla gösterildi. Hoechst 33342 DAPI filtresinde görüntülendi. b) 0,0112 mg/ml oranında *M. gibbosus* ham zehri A549 hücreleri. Propidium iodide FITC filtresinde görüntülendi. Nekrotik hücreler okla gösterildi. c) Kontrol grubu hücreleri.

Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile Hücre Proliferasyonu Sonuçları

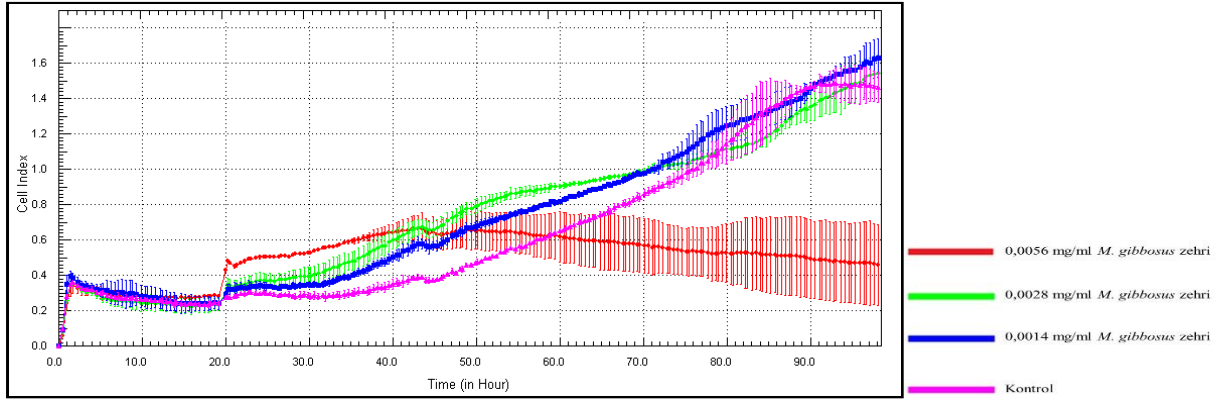
xCELLigence sistemi kullanılarak üç farklı hücre hattı üzerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki zehir örneğinin bu hücrelerin proliferasyonu yani çoğalması üzerine etkileri incelendi. Zehir uygulaması hücrelere 20. saatte yapıldıktan sonra MCF-7, L929 ve A549 hücrelerinin proliferasyonu takip edildi. MCF-7 hücrelerine, zehrin 0,0028 mg/ml ve 0,0014 mg/ml konsantrasyonlarının uygulandığı hücre proliferasyonu 72. saate kadar devam etti. *M. gibbosus* ham zehri örneklerinin 0,0056 mg/ml konsantrasyonlarının uygulandığı hücrelerde de proliferasyon 60. saatten itibaren durdu (Şekil 5). En yüksek zehir konsantrasyonunda hücre çoğalmasının inhibisyonu daha kısa sürede olmuş, zehir konsantrasyonu azaldıkça zehrin hücre çoğalmasının engellenme süresinin uzadığı anlaşıldı. Kontrol grubu hücrelerindeki hücre proliferasyonu 76. saatten itibaren durdu.



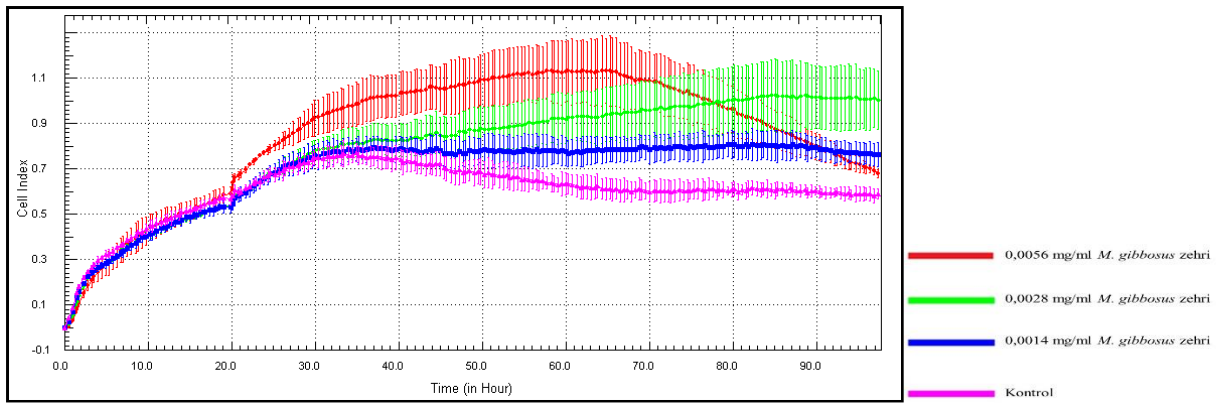
Şekil 5. MCF-7 hücrelerine ait proliferasyon grafiği. MCF-7 hücrelerine 20. saatte *M. gibbosus* ham zehri örnekleri (0,0056; 0,0028 mg/ml ve 0,0014 mg/ml) uygulanmıştır. Kontroller sadece besi ortamı içerir.

L929 normal fare fibroblast hücrelerine en yüksek zehir konsantrasyonu olan 0,0056 mg/ml oranında zehri örneği uygulandığında bu hücrelerin 40. saate kadar çoğalıp, bu saatten sonra çoğalmanın inhibe edildiği gözlemlendi. L929 hücresine ait proliferasyon grafiği Şekil 6'da verilmiştir.

İkinci bir kanser türü olan A549 küçük hücreli akciğer kanseri hücrelerine de zehir uygulaması yapıldıktan sonra hücrelerin proliferasyonunun devam ettiği Şekil 7'de kolaylıkla görülmektedir. Aslında farklı konsantrasyon ve kontrol grubundaki hücrelerin çoğalma eğrileri birbirine çok benzer şekildedir (Şekil 7).



Şekil 6. L929 fibroblast hücrelerine ait proliferasyon grafiği. L929 hücrelerine 20. saatte *M. gibbosus* ham zehri örnekleri (0,0056; 0,0028 mg/ml ve 0,0014 mg/ml) uygulanmıştır. Kontroller sadece besi ortamı içerir.



Şekil 7. A549 hücrelerine ait proliferasyon grafiği. A549 hücrelerine 20. saatte *M. gibbosus* ham zehri örnekleri (0,0056; 0,0028 mg/ml ve 0,0014 mg/ml) uygulanmıştır. Kontroller sadece besi ortamı içerir.

Tartışma

Zehirli hayvanlar içinde yılanlardan sonra en çok dikkat grup akrelerdir. Akreler gerek avlanma gerekse düşmanlarından korunmak için ürettikleri zehirleri kullanmaktadır. Yapılan çalışmalar, her bir akrebin salgıladığı zehrin içerisinde yüze yakın farklı peptit bulunduğunu göstermiştir. Aslında birçok farklı akrep türünün zehirleri ve içeriği konusunda çok fazla net bilgi bulunmamaktadır. Çünkü tüm akrelerin tamamının zehir içeriği çalışılmamıştır. Çalışmaya konu olan ülkemizde sarı akrep olarak bilinen ve oldukça da yaygın olarak bulunan *M. gibbosus*'un zehrin bileşimi çalışılmış ve zehirde bulunan bileşenlerin moleküler, biyokimyasal ve elektrofizyolojik karakterizasyonu çeşitli araştırmacılar tarafından yapılmıştır (15, 16). Yaygın bulunan bir akrep türü olması sebebiyle iyi çalışılmış bir türdür. Farklı çalışmalarda gen ekspresyonu ve toksinlerin genomik organizasyonunun kataloğu oluşturulmuş (17).

Farklı akrep türleri ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, akrelerin zehrinden izole edilen bazı peptitlerin farklı kanser türü hücreleri üzerine etkili olduğu yani akrep zehir toksinlerinin bazılarının antikanser özelliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmaların birinde, *Leiurus quinquestratus* zehrinden 36 aminoasitten oluşan bir peptit saflaştırılmış ve bu toksin klorotoksin olarak adlandırılmıştır. Klorotoksin ile yapılan çalışmalar, bu toksinin glioma kanser tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar akrep zehrinden izole edilen klorotoksinin (CLTx) glioma hücrelerini spesifik olarak tanıdığını ve glioma hücrelerine spesifik olan bir klor iyon kanalını eksprese ettiğini gösterilmiştir (18-21).

Farklı bir akrep türü olan *Buthus martensii* Karsch'ın zehri çalışılmış ve bu akrebin zehrinden izole edilen toksin BmK AGAP olarak adlandırılmıştır. Bu toksinin sinir hücrelerinin zerinde bulunan sodyum

kanalına özgü bir toksin olduğu belirtilmiştir. Ayrıca BmK AGAP toksinin apoptozisi uyarmak suretiyle kanser hücrelerinin proliferasyonunu engellediği belirtilmiştir (22). Ayrıca başka bir çalışmada da BmK toksinin insan embriyonik böbrek hücreleri ve fare miyoblast hücreleri üzerinde apoptotik ve nekrotik etkiye sahip oldukları belirtilmiştir (23).

Mesobuthus cinsine dahil olan farklı akreplerin zehirleri incelendiğinde bu cinse ait akreplerin hemen hepsinde klorotoksin gen ailesine dahil toksinlerin bulunabileceği ifade edilmiştir (17). Yukarıda da belirtildiği gibi klorotoksin glioma hücrelerine duyarlı bir toksindir. Klorotoksin glioma hücrelerine olan bu hassasiyeti belirlendikten sonra bu toksinin gliomanın teşhis ve tedavisi için özel bir belirleyici olarak kullanılabilmesi fikri oluşmuştur (22, 24). Başka bir çalışmada klorotoksin noninvasif tarama aracı olarak kolon, özefagal, servikal, akciğer ve cilt kanserinin belirlenmesinde kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (10).

Akrep zehirlerinden sadece toksin peptitler değil daha büyük proteinler, enzimlerde izole edilmiştir. Bunlardan birisi Buthus martensi'nin zehrinden izole edilen BmHYA1 olarak adlandırılan hyaluronidaz enzimidir. İnsan meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 hücrelerinin çok fazla miktarda hyaluron içerdiği bilinen agresif bir kanser hücresidir. Bu nedenle BmHYA1'in bu agresif meme kanseri hücrelerini azaltabileceği ve anti-kanser etki gösterdiği görülmüştür. Burada hareketle bu akrep zehir bileşeninin yan etkisi daha az yeni threapötiklerin oluşturulmasında kullanılabilmesi düşünülmektedir (10, 25).

Başka bir akrep türü olan Tityus discrepans akrebinin zehrinden neopladin I ve neopladin II olarak adlandırılan iki yeni farklı peptit tanımlanmıştır. İzole edilen bu yeni peptit toksinlerin insan meme kanseri türü olan SKBR3 hücrelerine etkili olabileceği düşünülmüş ve neopladin I ve II'nin kanser hücrelerinde nekroza yol açmadan oldukça etkili apoptotik özelliğe sahip oldukları belirtilmiştir (26). Farklı bir çalışmada Heterometrus bengalensis adlı akrep türünün zehir içeriğinde, U937 ve K562 insan lösemi hücre hatlarını etkileyecek ve bu kanser hücrelerine apoptojenik etki göstererek apoptozu uyarması sonucunda hücre proliferasyonunu engellediğini göstermişlerdir (27).

Bahsedilen tüm bu çalışmalar ışığında çalışmamızda M. gibbosus'un ham zehrinin sonuçlarına bakıldığında MCF-7 meme kanseri hücre hattında akrep zehrinin apoptozu uyurarak kanser hücrelerinin çoğalmasını yavaşlattığı görülmüştür. Ancak M. gibbosus'un ham zehrinin benzer etkiyi A549 akciğer karsinomu hücreleri üzerinde göstermediği yani akciğer kanser hücrelerinin proliferasyonunu azaltmadığı görülmüştür. Yukarıda da belirtildiği gibi Mesobuthus cinsine dahil olan akreplerin hemen hepsinde klorotoksin gen ailesine dahil toksinlerin bulunabileceği ifade edilmiştir (17). Çalışmamızda kullandığımız akrep türü M. gibbosus'un da Mesobuthus cinsine dahil olduğu hatırlanacak olursa bu türün zehrinde de klorotoksin bulunma ihtimalini ve dolayısıyla meme kanser hücrelerine etkisinin olabileceğini desteklemektedir.

Başka bir çalışmada M. gibbosus'un zehrinden jelatinolitik ve sitotoksik etkiye sahip proteazlar tanımlanmıştır. Bu enzimleri içeren zehrinde insan akciğer adenokarsinoma (A549) hücre hatlarına uygulandığında kanser hücrelerinin sayısını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (28). Ancak çalışmamızda, M. gibbosus'un ham zehrinin A549 kanser hücrelerine uygulayıp hücre çoğalmasını takip ettiğimizde bu zehrin akciğer kanser hücrelerinin çoğalmasını çok fazla azaltmadığını gördük.

Zargan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, Odontobuthus doriae akrebinin zehirde bulunan toksinlerin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine etkisini göstermiştir. Bu çalışmaya göre, akrep zehrinde bulunan bazı toksinlerin apoptozu uyardığı ve bu sayede kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurduğunu belirtmiştir. O. doriae akrep zehir bileşenlerinin, mitokondri depolarizasyon yoluyla apoptozu uyardığı meme kanseri hücrelerinin popülasyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde O. doriae zehrinin nöroblastoma hücrelerinde DNA sentezini dolayısıyla replikasyonu inhibe ettiği hücreleri S-fazında durduğu ve bu yolla hücreleri apoptoza yönlendirdiğini belirtmişlerdir (29).

Sonuçlar

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda *M. gibbosus* zehri in vitro ortamda MCF-7 meme kanseri hücre hattında denediğimizde gerçek zamanlı elektronik algılama sistemiyle hücrelerin doza ve zamana bağlı olarak hücre çoğalmasını inhibe ettiğini gözlemledik. Ancak hücrelerin hangi yol ya da mekanizma ile proliferasyonun azaldığını belirleyemedik. Ancak mevcut literatür bilgisi ışığında zehir bileşimindeki klorotoksin benzeri toksinlerin hücrelerde apoptozu indüklediği ve bunun sonucunda da hücre proliferasyonunun azaldığı düşünülmüştür.

Etik Kurul Onayı: Hücre hattı çalışması olduğu için etik kurul onayı alınmamıştır.

Bilgilendirilmiş Onam: Hücre hattı çalışması yapılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Teşekkür: Çalışmamızda, istatistiksel analizleri yaparak verdiği katkı ve destek için Dr. Müzeyyen Özhavzalı'ya (Kırıkkale Üniversitesi, Fatma Şenses Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu) teşekkür ederiz.

Kaynakça




1. Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Türkiye Onkoloji Hizmetleri Yeniden Yapılanma Programı 2010-2023. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı. 2010.
2. Tuncer M. Globalleşen Kanser ve Türkiye. 2008. www.nukte.org.
3. Brawley OW. A brief history of the American cancer society extramural research program. CA Cancer J Clin 2013; 63(1): 9-10.
4. Baskar R, Lee KA, Yeo R. Cancer and radiation therapy:current advances and future directions. Int J Medical Sci 2012; 9(3): 193-199.
5. Santibáñez-López CE, Possani LD. Overview of the Knottin scorpion toxin-like peptides in scorpion venoms: Insights on their classification and evolution. Toxicon. 2015; 107: 317-326.
6. Rein JO. <https://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/> 2022.
7. Ma Y, He Y, Zhao R, Wu Y, Li W, Cao Z. Extreme diversity of scorpion venom peptides and proteins revealed by transcriptomic analysis: implication for proteome evolution of scorpion venom arsenal. J Proteomics 2012; 75(5): 1563-1576.
8. Rodríguez de la Vega RC, Schwartz EF, Possani LD. Mining on scorpion venom biodiversity. Toxicon 2010; 56(7): 1155-1161.
9. Almaaytah A, Tarazi S, Mhaidat N, Al-Balas Q, Mukattash TL. Mauriporin, a novel cationic α -helical peptide with selective cytotoxic activity against prostate cancer cell lines from the venom of the scorpion *Androctonus mauritanicus*. Int J Pept Res Ther 2013; 19(4): 281-293.
10. Nabi G, Ahmad N, Ullah S, Khan S. Therapeutic Applications of Scorpion Venom in Cancer: Mini Review. J Biol Life Sci 2015; 6(1): 57.
11. Özkan Ö, Filazi A. The determination of acute lethal dose-50 (LD50) levels of venom in mice, obtained by different methods from scorpions, *Androctonus crassicauda* (Oliver 1807) Acta Parasitol Turcica 2004; 28:50-3.
12. Bradford MM. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-254.
13. Romijn JC, Verkoelen CF, Schroeder FH. Application of the MTT assay to human prostate cancer cell lines in vitro: establishment of test conditions and assessment of hormone-stimulated growth and drug-induced cytostatic and cytotoxic effects. The Prostate 1988; 12: 99-110.

14. Kho D, MacDonald C, Johnson R, Unsworth CP, O'Carroll SJ, Mez ED, Angel CE, Graham ES. Application of xCELLigence RTCA biosensor technology for revealing the profile and window of drug responsiveness in real time. *Biosensors* 2015; 5(2):199-222.
15. Ucar G, Tas C, Tümer A. Monoamine oxidase inhibitory activities of the scorpion *Mesobuthus gibbosus* (Buthidae) venom peptides. *Toxicon* 2005; 45(1): 43-52.
16. Ucar G, Tas C. Cholinesterase inhibitory activities of the scorpion *Mesobuthus gibbosus* (Buthidae) venom peptides. *FABAD J Pharm Sci* 2003; 28(1): 61-70.
17. Diego-García, E, Caliskan F, Tytgat J. The Mediterranean scorpion *Mesobuthus gibbosus* (Scorpiones, Buthidae): transcriptome analysis and organization of the genome encoding chlorotoxin-like peptides. *BMC Genomics* 2014; 15(1): 1-16.
18. Feng L, Gao R, Gopalakrishnakone P. Isolation and characterization of a hyaluronidase from the venom of Chinese red scorpion *Buthus martensi*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2008; 148(3), 250-257.
19. Kesavan K, Ratliff J, Johnson EW, Dahlberg W, Asara JM, Misra P, ... & Jacoby DB. Annexin A2 is a molecular target for TM601, a peptide with tumor-targeting and anti-angiogenic effects. *J Biol Chem* 2010; 285(7): 4366-4374.
20. Veiseh M, Gabikian P, Bahrami SB, Veiseh O, Zhang M, Hackman, RC, ... & Olson JM. Tumor paint: α -chlorotoxin: Cy5. 5 bioconjugate for intraoperative visualization of cancer foci. *Cancer Res* 2007; 67(14): 6882-6888.
21. Heinen TE, da Veiga ABG. Arthropod venoms and cancer. *Toxicon* 2011; 57(4): 497-511.
22. Wang WX, Ji YH. Scorpion venom induces glioma cell apoptosis in vivo and inhibits glioma tumor growth in vitro. *J Neuro-Oncol* 2005; 73(1): 1-7.
23. Omran MAA. Cytotoxic and apoptotic effects of scorpion *Leiurus quinquestriatus* venom on 293T and C2C12 eukaryotic cell lines. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2003; 9(2): 255-276.
24. Fu YJ, Yin LT, Liang AH, Zhang CF, Wang W, Chai BF, ... & Fan X.J. Therapeutic potential of chlorotoxin-like neurotoxin from the Chinese scorpion for human gliomas. *Neurosci Lett* 2007; 412(1): 62-67.
25. Sario J. Breast cancer in the young patient. *Am Surg* 2010; 76(12): 1397-1400.
26. D'Suze G, Rosales A, Salazar V, Sevcik C. Apoptogenic peptides from *Tityus discrepans* scorpion venom acting against the SKBR3 breast cancer cell line. *Toxicon* 2010; 56(8): 1497-1505.
27. Ortiz E, Gurrola GB, Schwartz EF, Possani LD. Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon* 2015; 93: 125-135.
28. Incesu Z, Caliskan F, Zeytinoglu H. (2005). Cytotoxic and gelatinolytic activities of *Mesobuthus gibbosus* (Brullé, 1832) venom. *Rev CENIC Cienc Biol* 38.
29. Zargan J, Umar S, Sajad M, Naime M, Ali S, Khan HA. Scorpion venom (*Odontobuthus doriae*) induces apoptosis by depolarization of mitochondria and reduces S-phase population in human breast cancer cells (MCF-7). *Toxicol In Vitro* 2011; 25(8): 1748-1756.



Kronik Hastalığı Olan Bireylerin El Yıkama Alışkanlıklarının Belirlenmesi

Determination of Hand Washing Habits of Individuals with Chronic Disease

Esin SEVGİ DOĞAN^{1*} , Dilan DENİZ AKAN¹ , Cansu KOŞAR ŞAHİN¹ 

Özden DEDELİ ÇAYDAM¹ , Sezgi ÇINAR PAKYÜZ¹ 

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Manisa, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 23.08.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 08.12.2022

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Öz

Amaç: Bu araştırmanın amacı, kronik hastalığı olan bireylerin el yıkama alışkanlıklarının belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntemler: Araştırmanın örneklemini 210 kronik hastalığı olan birey oluşturdu. Araştırma Ocak- Mart 2019 tarihleri arasında bir devlet hastanesindeki dâhiliye servisinde yürütüldü. Araştırma verileri "Hasta Tanıtım Formu" ve "El Yıkama Alışkanlıkları Skoru" kullanılarak toplandı. Verilerin değerlendirilmesinde sayı ve yüzde dağılımları, ortalama ve standart sapmalar ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular: Araştırmaya katılanların yaş ortalaması 63,07±14,40 yıl, %52,4'ü kadındır. Araştırmaya katılan bireylerin %72,4'ü tuvaletten sonra ellerini "daima" yıkadığını belirtti. "İnsanlarla tokalaştıktan sonra ellerini yıkama" durumuna katılımcıların verdikleri cevapların %28,6'sının "hiçbir zaman", %14,3'ünün "daima" olduğu saptandı. Araştırmaya katılan bireylerin cinsiyeti ve mesleklerine göre "Hayvanlara dokunduktan sonra el yıkama", "Bebeklerin bezi değişimi sonrası ellerini yıkama" ve "Ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama" durumları arasında fark bulundu. Ayrıca, katılımcıların primer tanılarına göre "yatmadan önce ellerini yıkama", "hayvanlara dokunduktan sonra ellerini yıkama", "sabah kalkınca ellerini yıkama", "Ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama", "Bulaşık yıkadıktan sonra ellerini yıkama" sıklıkları arasında anlamlı fark bulundu.

Sonuç: Araştırmaya katılan bireylerin büyük çoğunluğunun tuvaletten sonra ellerini yıkadıkları, diyabeti olan bireylerin yatmadan önce, hayvanlara dokunduktan sonra, sabah kalkınca ve ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama alışkanlıklarının hipertansiyon, artrit, kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı olan bireylere göre daha iyi olduğu görüldü. Araştırmaya katılan kronik hastalığı olan bireylerin insanlarla teması sonrasındaki el yıkama alışkanlıkları yetersizdi. Buna göre, COVID-19 pandemisinden önce yapılan bu araştırmanın tekrarlanması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik, Hastalık, El Yıkama

&

Abstract

Objective: The aim of this study is to determine the hand washing habits of individuals with chronic diseases.

Materials and Methods: The sample of the study consisted of 210 individuals with chronic diseases. The research was carried out in the internal medicine service of a state hospital between January and March 2019. Research data were collected using "Patient Information Form" and "Handwashing Habits Score". Number and percentage distributions, mean and standard deviation chi-square test were used to evaluate the data.

Results: The mean age of the participants in the study was 63.07±14.40 years, 52.4% of them were women. 72.4% of the individuals participating in the study stated that they "always" wash their hands after using the toilet. It was determined that 28.6% of the participants gave "never" and 14.3% "always" in the answers given to the situation of "washing your hands after shaking hands with people". According to the gender and occupation of the individuals participating in the research, a difference was found between "Washing hands after touching animals", "Washing hands after changing diapers" and "Washing hands after cleaning the house". In addition, according to the primary diagnosis of the participants, a significant difference was found between the frequencies of "washing your hands before going to bed", "washing your hands after touching animals", "washing your hands when you get up in the morning", "washing your hands after cleaning the house", "washing your hands after washing the dishes".

Conclusion: It was seen that the majority of individuals who participated in the study washed their hands after using the toilet, and individuals with diabetes had better habits of washing their hands before going to bed, after touching animals, after waking up in the morning and after cleaning the house, compared to individuals with hypertension, arthritis, heart failure and coronary artery disease. The hand washing habits of individuals with chronic diseases participating in the study after contact with people were insufficient. Accordingly, it is recommended to repeat this research, which was conducted before the COVID-19 pandemic.

Keywords: Chronic, Disease, Hand Washing

Atıf/Cite as: Sevgi Doğan, E. , Deniz Akan, D. , Koşar Şahin, C. , Dedeli Caydam, O. & Çınar Pakyüz, S. (2023). Kronik Hastalığı Olan Bireylerin El Yıkama Alışkanlıklarının Belirlenmesi. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 32-42 . DOI: 10.47493/abantmedj.1165817

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Arş. Gör. Dr. Esin Sevgi Doğan, e-mail: esinsevgi1990@gmail.com

Giriş

Kronik hastalıklar, bir yıldan fazla süregelen, devamlı tıbbi destek sağlanması gereken, bireylerin günlük yaşam aktivitelerinin kısıtlanmasına neden olan hastalıklardır. Kronik hastalıklar, Dünya ölüm nedenlerinin başında yer almaktadırlar. Ayrıca, sağlık bakım maliyetlerinin artmasında önemli role sahiptirler (1,2). Önemli sağlık sorunlarından biri olan kronik hastalıkların, 2008 yılında gerçekleşen ölümlerin (57 milyon) %63'ünden ve 2012' de gerçekleşen ölümlerin (56 milyon) % 68'inden sorumlu olduğu bildirilmektedir (3). Dünya Sağlık Örgütü'nün Türkiye verilerine göre, Türkiye'de de, tüm ölümlerin % 88'inin ve erken ölümlerin %17'sinin kronik hastalıklara bağlı olduğu belirtilmektedir (4).

Kronik hastalığı olan bireyler gerek süregelen hastalıklarının olması gerek de hastaların sürekli hastane ortamında bulunmaması nedeniyle hastalık yönetiminden kendileri sorumludurlar (1). Kronik hastalıkların yönetiminde genellikle tıbbi sağlık problemlerinin ve akut gelişen durumların yönetimine önem verilmektedir. Ancak, kronik hastalığı olan bireylerin hastaneye yatış oranlarını arttıran önemli faktörlerden birisi de enfeksiyonlardır. Kronik hastalığı olan bireylerde enfeksiyon hastalıkları riski artış göstermektedir. Örneğin diyabetli bireylerde pnömoni riski %30 ile %50 oranında artış göstermektedir. Enfeksiyonlar, sadece yatış oranını arttırmakla kalmayıp hastanede yatış süresini de arttırmaktadır. Bilindiği gibi enfeksiyonların gelişmesinin önlenmesinde en ucuz ve etkili yöntem el hijyenidir (5).

El hijyeni, mikroorganizmaların ellerden uzaklaştırılması ve bu mikropların başka bireylere bulaştırılmasını önleyen en etkili, basit ve ucuz yöntemdir. İş yerlerinde, sağlık kuruluşlarında, evlerde her türlü enfeksiyon hastalığının önlenmesinde önemlidir (6). Enfeksiyon hastalığı riski özellikle kronik hastalıkları olan bireylerde çok fazladır ve gelişmekte olan ülkelerin sağlık sistemleri bu durumda hem kronik hastalık hem de enfeksiyon hastalığı ile mücadele etmek zorunda kalabilmektedir (5). Weber ve arkadaşlarının (2012), yaptıkları bir araştırmada, solunum yoluyla bulaşan enfeksiyon hastalıkları riskinin el yıkama yöntemiyle %20'den fazla azaltılabileceğini gösterilmiş olup, uygun el hijyeni sağlanırsa enfeksiyon hastalıklarının azalabileceği belirtilmektedir (7).

El yıkamanın etkili olması sadece çok sık el yıkama ile değil aynı zamanda doğru zamanda ve doğru şekilde uygulanmasına bağlıdır. El yıkama alışkanlıklarının bireyden bireye değişiklik gösterdiği unutulmamalıdır (6). Yapılan birçok araştırma sağlık personellerinin el yıkama alışkanlıklarını değerlendirmekte ve sağlık personellerinin elleri ile enfeksiyonları hızlı yayıldıkları bildirilmektedir. Ancak, hastalar da sağlık personeli kadar enfeksiyon hastalıklarının yayılmasında etkili olmaktadır (8).

Literatürde, kronik hastalığı olan bireylerin el hijyeni alışkanlıklarını belirleyen araştırmalara rastlanmamıştır. Bu bağlamda, araştırma sonuçlarının literatüre önemli katkı sağlayacağı ve hastalarda gelişebilecek enfeksiyonları önlemenin en etkili yollarından birinin hastanın elleri olduğuna dikkatin çekileceği düşünülmektedir.

Bu bağlamda aşağıdaki sorulara yanıt aranacaktır.

- Kronik hastalığı olan bireylerde el yıkama alışkanlıkları nasıldır?
- Kronik hastalığı olan bireylerin sosyo-demografik özelliklerine göre el yıkama alışkanlıkları arasında fark var mıdır?

Gereç ve Yöntemler

Araştırmanın Amacı ve Tipi

Kronik hastalığı olan bireylerde el yıkama alışkanlıklarının belirlenmesi amacıyla yürütülen bu araştırma tanımlayıcı ve kesitsel tiptedir.

Araştırmanın Evreni, Örnekleme ve Zamanı

Araştırmanın evrenini, bir devlet hastanesine tedavi almak için gelen; diyabet, hipertansiyon, artrit, kalp yetersizliği, koroner arter hastalığı veya akut koroner sendrom hikayesi bulunan hastalar dahil edildi. Araştırmanın örnekleminin belirlenmesinde herhangi bir örnekleme yöntemi kullanılmadı. Araştırma örneklemini, araştırmaya dahil edilme ölçütlerine uyan ve Ocak-Mart 2019 tarihlerinde dahiliye servisinde yatarak tedavi gören 210 hastadan oluştu.

Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri

- 18 yaş ve üzeri olan,
- 1 yıl ve daha fazla süredir hipertansiyonu ve/veya diyabet ve/veya artrit ve/veya kalp yetersizliği ve/veya koroner arter hastalığı ve/veya akut koroner sendrom hikayesi olan,
- İşitme, algılama, görme ve herhangi bir fiziksel engellilik durumu olmayan,
- Mental olarak yeterli olan,
- Dil problemi olmayan,
- Çalışmaya katılmayı gönüllü olarak kabul eden bireyler

Veri Toplama Araçları

Veriler, "Hasta Tanıtım Formu" ve "El Yıkama Alışkanlıkları Skoru" ile toplandı.

Hasta Tanıtım Formu Formu: Araştırmacılar tarafından literatür taranarak oluşturulan form, yaş, cinsiyet, eğitim durumu, medeni durum, çalışma durumu, gelir durumu, sağlığı algılama durumu, kronik hastalık durumu gibi sorulardan oluşmaktadır (5,6,8).

El Yıkama Alışkanlıkları Skoru: T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlığın Geliştirilmesi Genel Müdürlüğü Tarafından Türkiye El Yıkama Araştırması'nda kullanılmak üzere oluşturulmuş 22 maddeli soru formunun kullanımı için Dr. Hakan Tüzün'den internet yolu ile izin alındı. 5'li likert tipinde hazırlanan soru formunun yanıtları puanlanırken, "hiçbir zaman" 0, "nadiren" 1, "bazen" 2, "çoğu zaman" 3, "her zaman" 4 olarak puanlandırılmaktadır (9).

Verilerin Toplanması

Araştırma verileri yüz yüze görüşme tekniği kullanılarak toplandı. Araştırmacı tarafından hastalara anket soruları yöneltilip soruları yanıtlaması beklendi. Verilerin toplanması 10- 15 dakikada tamamlandı.

Araştırmanın Etik Yönü

Araştırma öncesinde T.C. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'ndan (01/08/2018-20.478.486) etik kurul onayı, Manisa Merkezefendi Devlet Hastanesi'nden (2/11/2018/54988) kurum izni alındı. Araştırmaya başlanmadan önce çalışmanın konusu ve amacı, yapılacak uygulamalar, çalışmaya katılmanın olası yararları hakkında hastalara açıklama yapılarak hastalardan yazılı/sözlü onam alındı. Yan (BİAS) tutmayı engellemek amacıyla anlaşılabilen sorular ikinci kez okundu, ancak örneklerle yönlendirme yapılmadı. Araştırma, Helsinki Bildirgesi ilkeleri ile uyum içinde yürütüldü.

Verilerin Analizi

Araştırma verileri SPSS (Statistical Package for Social Science) paket programı ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi, homojen dağılıp dağılmadığı ise varyansların homojenliği testi ile belirlendi. Veriler, yüzdeler, sayı ile sunuldu. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesindeki kare testi kullanıldı.

Bulgular

Kronik hastalığı olan bireylerin yaş ortalamaları $63,07 \pm 14,40$ 'tır. Araştırma katılan bireylerin %52,4'ü kadın, %42,9'i ev hanımı, %85,7'si evliydi. Katılımcıların %38,1'i sağlık durumunu gelen olarak "iyi" olarak değerlendirmekte olup, %19,1'i sigara, %4,8'i alkol kullanmaktaydı (Tablo 1).

Araştırmaya katılan bireylerin %49,5'i yemeklerden önce, %59,5'i yemeklerden sonra, %41,4'ü tuvaletten önce, %72,4'ü tuvaletten sonra, %50,5 hayvanlara dokunduktan sonra ve sabah kalkınca, %61'i bebek bezi değiştirdikten sonra, %48,6'sı herhangi bir şey yemeden önce, %67'si ellerini kirli gördüğü zaman, %51'i yemek hazırlamadan önce ellerini "daima" yıkadığını belirtti. Araştırmaya katılanların %28,6'sı "hiçbir zaman", %28,1'i "nadiren", %16,2'si "bazen", %12,9'u "çoğu zaman", %14,3'ü "daima" insanlarda tokalaştıktan sonra ellerini yıkadığını söyledi. Katılanların %31,9'u "hiçbir zaman", %14,8'i "nadiren", %10,5'i "bazen", %16,2'si "çoğu zaman", %26,7'si "daima" insanlarda tokalaştıktan sonra ellerini yıkadığını söyledi (Tablo 2).

Araştırmaya katılan bireylerin cinsiyeti ve mesleklerine göre "Hayvanlara dokunduktan sonra el yıkama", "Bebeklerin bezi değişimi sonrası ellerini yıkama" ve "Ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama" durumları arasında fark bulundu. Ayrıca, katılımcıların mesleklerine göre "Ellerini kirli gördüğü zaman ellerini yıkama", "çöplere dokunduktan sonra ellerini yıkama", "Hasta insana dokunmadan önce ellerini yıkama", "hasta insana dokunduktan sonra ellerini yıkama" ve "saçlarına dokunduktan sonra ellerini yıkama" sıklıkları arasında fark olduğu belirlendi (Tablo 3).

Araştırmaya katılan bireylerin primer tanılarına göre "yatmadan önce ellerini yıkama", "hayvanlara dokunduktan sonra ellerini yıkama", "sabah kalkınca ellerini yıkama", "Ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama", "Bulaşık yıkadıktan sonra ellerini yıkama" sıklıkları arasında anlamlı fark bulundu (Tablo 4).

Tartışma

Bu araştırmada kronik hastalığı olan bireylerin el yıkama alışkanlıkları incelendi. Literatürde, kronik hastalığı olan bireylerin el yıkama alışkanlıklarını inceleyen araştırmalara rastlanmadı. Araştırma bulguları benzer araştırma sonuçları ile tartışıldı. Araştırmaya katılanların yaş ortalaması $63,07 \pm 14,40$ yıl ve yarısından fazlası (%52,4) kadındır. Katılımcıları %42,9'u ev hanımı ve büyük çoğunluğu (%85,7) evlidir. Sosya-demografik özellikler literatür (9,10) ile paraleldir.

Araştırmaya katılan bireylerin "daima" ellerini yıkadıklarını belirttikleri durumlar, sıklık sırasına göre "tuvaletten sonra ellerini yıkama (%72,9), "burnunu temizledikten sonra ellerini yıkama (%68,1)" ve "ellerini kirli gördüğü zaman ellerini yıkama (%67,1)" idi. Bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Tüzün ve arkadaşlarının (2015) toplum temelli olarak gerçekleştirdikleri araştırmada Türkiye genelinde daima ellerin yıkandığı belirtilen durumlar içinde sıklık sırasına göre ilk sırada tuvaletten sonra (%91,1) ellerini yıkama" yer aldığı bulunmuştur (9). Jeong ve arkadaşlarının (2007) yaptıkları bir araştırmada da, Kore toplumunun %79'unun tuvaletten sonra ellerini daima yıkadıkları belirlenmiştir (11). Ray ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları bir araştırmada ise Bangladeş'te el yıkama sıklığı iki farklı bölge için tuvaletten sonra %99-98 olarak saptanmıştır (12). Kenya'da beş yaş altı çocuğu olan annelerde yapılan bir çalışmada annelerin %62'sinin tuvaletten sonra ellerini yıkadıkları saptanmıştır (13). Irmak (2015)'ın hastanede yatan hastalarda yaptıkları araştırmada, araştırmaya katılan hastaların %94,8'i tuvaletten sonra ellerini yıkadıkları bulunmuştur (14). Park (2021) yaptıkları araştırmada, araştırmaya katılanları %63,2'si tuvaletten sonra "daima" ellerini yıkadığını belirtmiştir (10). Uğurlu ve arkadaşlarının (2020) Covid-19 pandemisi sırasında toplumsal kökenli olarak gerçekleştirdikleri araştırmada, katılımcıların en fazla (%98,6) tuvaletten çıktıktan sonra ellerini yıkadıkları belirlemişlerdir (15). Buna göre, bireylerin ellerinin en sık tuvalet sonrası kirli hissettikleri ve yıkama davranışına yönlendikleri söylenebilir. Bu durumun, toplumun her kesimini ilgilendiren bir sorun olduğu, diğer el yıkama alışkanlıklarının da kazandırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Araştırmaya katılanların “insanlarla tokalaştıktan sonra ellerini yıkama” durumuna katılımcıların verdikleri cevaplarda %28,6’sının “hiçbir zaman”, %28,1’inin “nadiren”, %16,2’sinin “bazen”, %12,9’unun “çoğu zaman” ve %14,3’ünün “daima” dediği belirlendi. Ayrıca, katılımcıların “hasta insana dokunmadan önce” ve “hasta insana dokunduktan sonra” ellerini yıkamaya sırasıyla %38,1 ve %66,2 oranında “daima” yanıtını verdiği bulundu. Bu araştırma sonuçları, Tüzün ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmanın sonuçları (9) ile paraleldir. Buna göre, araştırmaya katılan kronik hastalığı olan bireylerin insanlarla teması sonrası ve hasta insanlara dokunmadan önce ve sonrasında el yıkama alışkanlıklarının yetersiz olduğu söylenebilir. Oysaki enfeksiyonların oluşmasındaki en önemli kaynaklardan birisi hastaların elleridir. Çünkü eller birçok mikroorganizmanın vücuda taşınmasında en temel araçtır. El hijyeni de bu mikroorganizmaları uzaklaştırmak için ilk adımdır (16). Nitekim, enfeksiyonlara korunma konusunda elleri yıkamanın önemini COVID-19 sürecinde daha da iyi anlaşılmıştır (17). Özellikle, diyabet, hipertansiyon, koroner kalp hastalığı gibi kronik hastalıkları olan bireylerde Covid- 19’a bağlı ölüm oranlarının daha fazla olduğu belirtilmiştir. Dolayısı ile bu enfeksiyon hastalığından korunmak için yapılması gereken en önemli uygulamalardan birisinin el hijyeni olduğu vurgulanmaktadır (17, 18). Ancak, COVID-19 pandemisi sırasında toplumsal temelli olarak gerçekleştirilen bir araştırmada (15), araştırmaya katılanların %37’sinin insanlarla tokalaştıktan sonra, %60,7’sinin hasta insana dokunmadan önce, % 87,2’si hasta insanlara dokunduktan sonra “her zaman” ellerini yıkadıklarını belirtmişlerdir. Pandemi döneminde yapılan araştırmanın sonuçları, pandemi öncesi dönemde yapılan bu araştırmanın sonuçlarına göre daha iyi olmasına rağmen, sonuçların iyileştirilmesi gerekmektedir. Araştırma sonuçları arasındaki bu farkın, Covid-19 pandemisi boyunca hastalıktan korunmak için kişisel korunma uygulamalarına (El yıkama, sosyal mesafeyi koruma, maske takma) yönelik toplumsal eğitimlerin düzenlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırmaya katılan kronik hastalığı olan bireylerden “hayvanlar dokunduktan sonra el yıkama”, “Bebeklerin bezi değişimi sonrası ellerini yıkama” ve “Ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama” ifadelerine “çoğu zaman ve daima” yanıtı veren kadınların oranı erkeklere göre daha fazladır. Bu durumun, araştırmaya katılan bireylerin çoğunluğunun kadın olması, ev hanımı olması ve toplumsal olarak bebek bakımının ve ev işlerinin anneye atfedilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kronik hastalıkları olan bireylerin hastaneye yatmasına neden olan en önemli nedenlerinden birisi enfeksiyonlardır. Enfeksiyonlardan korunmanın en basit yolu ise uygun hijyenin sağlanmasıdır (5). Araştırmaya katılan bireylerin %31’inin diyabet, %23,3’ünün hipertansiyon %15,7’sinin artrit, %15,2’sinin kalp yetmezliği ve %14,8’inin koroner arter hastası olduğu, diyabetli birey oranının daha fazla olduğu görüldü. Diyabetli hastalar enfeksiyonlara yatkındırlar. Bundan dolayı, diyabet eğitim polikliniklerinde, diyabet hastalarına ve yakınlarına el yıkamanın önemi anlatılmakta ve öğretilmektedir (18, 19). Bu araştırmaya katılan kronik hastalığı olan bireylerden “yatmadan önce ellerini yıkama”, “hayvanlara dokunduktan sonra ellerini yıkama”, “sabah kalkınca ellerini yıkama”, “ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama” ve “bulaşık yıkadıktan sonra ellerini yıkama” ifadelerine çoğu zaman ve daima” yanıtı veren diyabetli olan bireylerin oranı diğer hastalıkları olan bireylerden daha fazla olduğu görüldü. Bu durum, diyabetli bireylerin düzenli olarak diyabet eğitim polikliniklerine gelip, diyabet hemşiresi tarafından takip edilmesi ve bu takiplerde hasta eğitiminin gerçekleştirilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Sonuçlar

Kronik hastalığı olan bireylerden “daima” ellerini yıkadığı belirtilen durumları sıklık sırasına göre ilk sırada “tuvaletten sonra ellerini yıkama gelmekteydi. Araştırmaya katılanların “insanlarla tokalaştıktan sonra ellerini yıkama” durumuna katılımcıların verdikleri cevapların %28,6’sının “hiçbir zaman” ve %14,3’ünün “daima” olduğu belirlendi. Ayrıca, katılımcıların “hasta insana dokunmadan önce” ve “hasta insana dokunduktan sonra” ellerini yıkamaya sırasıyla %38,1 ve %66,2 oranında “daima” yanıtını verdikleri saptandı. Buna göre, araştırmaya katılan bireylerin diğer bireyler ile temas durumundaki el yıkama davranışları yetersizdi. Diyabetli olan bireylerin “yatmadan önce ellerini yıkama”, “hayvanlara

dokunduktan sonra ellerini yıkama”, “sabah kalkınca ellerini yıkama”, “ev temizliği yaptıktan sonra ellerini yıkama” ve “bulaşık yıkadıktan sonra ellerini yıkama” alışkanlıkları hipertansiyonu, artriti, kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı olan bireylere göre daha iyiydi. Buna göre, pandemi öncesinde yapılan bu araştırmanın tekrarlanması, kronik hastalığı olan bireylerde el yıkama alışkanlıklarını değerlendiren araştırmaların artırılması önerilmektedir.

Etik Kurul Onamı: Araştırma öncesinde T.C. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu’ndan (01/08/2018-20.478.486) etik kurul onayı, Manisa Merkezefendi Devlet Hastanesi’nden (2/11/2018/54988) kurum izni alındı.

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan yazılı onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynakça

1. Durna Z (Editor). Kronik Hastalıklar ve Önemi. İçinde Kronik hastalıklar ve bakım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2012, s. 1-7.
2. World Health Organization. Noncommunicable disease. http://www.who.int/topics/noncommunicable_diseases/en/ (8 Temmuz 2022 tarihinde erişildi).
3. World Health Organization. Global Status Report on Noncommunicable Diseases. 2014 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/9789241564854_eng.pdf (27 Haziran 2022 tarihinde erişildi.).
4. World Health Organization, Noncommunicable diseases progress monitor 2017 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258940/9789241513029-%20eng.pdf?sequence=1> (8 Temmuz 2022 tarihinde erişildi.)
5. Mor A, Thomsen RW. Risk of Infections in Patients with Chronic Diseases. The Open Infectious Diseases Journal 2012; 6 (1): 25-26.
6. Türkmen L, Bakır B. Sağlık Teknikeri Adaylarının El Hijyeni (Rutin / El Yıkama) ile İlgili Bilgi, Davranış ve Tutumların Değerlendirilmesi. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2017; 6(3): 122 – 127.
7. Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health-care associated pathogens: Norovirus, Clostridium difficile, and Acinetobacter species. American Journal of Infection Control 2012; 38(5): 25-33.
8. Tsao YC. The Efficiency of Patients and Visitors’ Education for Promoting Handwashing and Respiratory Hygiene Compliance in A Local Community Hospital. Journal of Surgery 2017; J127. DOI: 10.29011/JSUR-127.000027.
9. Tüzün H, Karakaya K, Deniz EB. Turkey Handwashing Survey: suggestion for taking the ecological model into better consideration. Environmental Health and Preventive Medicine 2015; 20: 325–331
10. Park S. A study on the perception of hand washing and health status in Korean adults. Medicine (Baltimore) 2021; 100(3): e24421.
11. Jeong JS, Choi JK, Jeong IS, Paek KR, In HK, Park KD. Nationwide Survey on the Hand Washing Behavior and Awareness. Journal Preventive Medicine Public Health 2007; 40(3):197-204.
12. Ray SK, Zaman FA, Laskar NB. Hand washing practices in two communities of two states of Eastern India: an intervention study. Indian Journal of Public Health 2010; 54(3): 126-30.
13. Aunger R, Schmidt WP, Ranpura A, Coombes Y, Maina PM, Matiko CN et al. Three kinds of psychological determinants for hand-washing behaviour in Kenya. Social Science & Medicine 2010; 70(3): 383-391.

14. Irmak HY, Nur Naim. Hastanede Yatan Hastaların Kişisel Hijyen İle İlgili Bilgi Tutum Ve Davranışlarının Değerlendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2015.
15. Uğurlu Y K., Durgun H, Nemutlu E, Kurd O. Onurcan. COVID-19 salgını sırasında Türk toplumunun sosyal el yıkama bilgi ve tutumunun değerlendirilmesi. Journal of Contemporary Medicine 2020; 10(4): 617-624.
16. Bilici S, Buzgan T. İlköğretim Çocukları İçin El Hijyeni. https://gunesio.meb.k12.tr/meb_iys_dosyalar/18/01/702975/dosyalar/2017_03/18163703_ilkokul_iYin_el_hijyeni_kurallarY.pdf (15 Temmuz 2022 tarihinde erişildi.).
17. World Health Organization. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care; II, consensus recommendations; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144035/> (10 Temmuz 2022 tarihinde erişildi.).
18. Erener S. Diabetes, infection risk and COVID-19. Molecular metabolism 2020; 39: 101044.
19. Erdoğan TK, Koç Z. Tip 2 diyabet tanısı alan bireyin NANDA'ya göre hemşirelik tanıları ve NIC girişimlerinin belirlenmesi. Sağlık ve Toplum 2020; 30.2: 148-160.

Tablo 1

Kronik Hastalığı Olan Bireylerin Tanıtıcı Özelliklerinin Dağılımları (n=210)

| | | $x \pm xx$ | Min-max. | |
|-------------------------|-------------------------|-------------------|---------------|-----------------|
| Yaş (yıl) | | 63,07±14,40 | | 21-86 |
| | | | n | % |
| Cinsiyet | Kadın | | 110 | 52,4 |
| | Erkek | | 100 | 47,6 |
| Meslek | Memur | | 5 | 2,4 |
| | Esnaf | | 9 | 4,3 |
| | İşçi | | 9 | 4,3 |
| | Emekli | | 83 | 39,5 |
| | Ev Hanımı | | 90 | 42,9 |
| | Diğer | | 14 | 6,6 |
| Medeni durum | Evli | | 180 | 85,7 |
| | Bekar | | 30 | 14,3 |
| Öğrenim durumu | Okur-yazar değil | | 23 | 10,9 |
| | Okur-yazar | | 31 | 14,8 |
| | İlkoğretim | | 115 | 54,8 |
| | Ortaöğretim | | 16 | 7,6 |
| | Lise | | 15 | 7,1 |
| | Lisans | | 5 | 2,4 |
| | Lisans üstü | | 5 | 2,4 |
| | Aylık gelir durumu | Gelir giderden az | | 75 |
| Gelir gidere eşit | | | 120 | 57,2 |
| Gelir giderden fazla | | | 15 | 7,1 |
| Sağlığı algılama durumu | Kötü | | 36 | 17,1 |
| | Orta | | 68 | 32,4 |
| | İyi | | 80 | 38,1 |
| | Çok iyi | | 26 | 12,4 |
| Sigara kullanma durumu | Evet | | 40 | 19,1 |
| | Hayır | | 170 | 80,9 |
| Alkol kullanma durumu | Evet | | 10 | 4,8 |
| | Hayır | | 200 | 95,2 |
| Primer tanı | Diabetes Mellitus | | 65 | 31,0 |
| | Hipertansiyon | | 49 | 23,3 |
| | Artrit | | 33 | 15,7 |
| | Kalp Yetersizliği | | 32 | 15,2 |
| | Koronar Arter Hastalığı | | 31 | 14,8 |
| | | | x ± ss | Min-Max. |
| Primer tanı süresi | | | 10,11±8,25 | 1-40 |

n:sayı, %:yüzde, x±ss: ortalama±standart sapma, Min: minimum, Max: Maksimum

Tablo 2

Kronik Hastalığı Olan Bireylerin El Yıkama Durumlarının İncelenmesi (n=210)

| Maddeler | Hiçbir zaman | | Nadiren | | Bazen | | Çoğu zaman | | Daima | |
|--|--------------|------|---------|------|-------|------|------------|------|-------|------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 1. Yemeklerden önce ellerimi yıkarım. | 13 | 6,2 | 12 | 5,7 | 18 | 8,6 | 63 | 30 | 104 | 49,5 |
| 2. Yemeklerden sonra ellerimi yıkarım. | 3 | 1,4 | 1 | 0,5 | 13 | 6,2 | 68 | 32,4 | 125 | 59,5 |
| 3. Tuvaletten önce ellerimi yıkarım. | 39 | 18,6 | 24 | 11,4 | 21 | 10 | 39 | 18,6 | 87 | 41,4 |
| 4. Tuvaletten sonra ellerimi yıkarım. | 1 | 0,5 | 2 | 1 | 5 | 2,4 | 50 | 23,8 | 152 | 72,4 |
| 5. Dışardan eve gelince ellerimi yıkarım. | 18 | 8,6 | 26 | 12,4 | 31 | 14,8 | 50 | 23,8 | 85 | 40,5 |
| 6. İnsanlarla tokalaştıktan sonra ellerimi yıkarım. | 60 | 28,6 | 59 | 28,1 | 34 | 16,2 | 27 | 12,9 | 30 | 14,3 |
| 7. Yatmadan önce ellerimi yıkarım. | 67 | 31,9 | 31 | 14,8 | 22 | 10,5 | 34 | 16,2 | 56 | 26,7 |
| 8. Hayvanlara dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | 14 | 6,7 | 16 | 7,6 | 22 | 10,5 | 52 | 24,8 | 106 | 50,5 |
| 9. Sabah kalkınca ellerimi yıkarım. | 29 | 13,8 | 21 | 10 | 23 | 11 | 31 | 14,8 | 106 | 50,5 |
| 10. Bebeklerin bezi değişimi sonrası ellerimi yıkarım. | 11 | 5,2 | 5 | 2,4 | 18 | 8,6 | 48 | 22,9 | 128 | 61 |
| 11. Herhangi bir şey yemeden önce yıkarım. | 17 | 8,1 | 21 | 10 | 31 | 14,8 | 39 | 18,6 | 102 | 48,6 |
| 12. Ellerimi kirli gördüğüm zaman ellerimi yıkarım. | 1 | 0,5 | 3 | 1,4 | 12 | 5,7 | 53 | 25,2 | 141 | 67,1 |
| 13. Yemek hazırlamadan önce ellerimi yıkarım. | 17 | 8,1 | 22 | 10,5 | 20 | 9,5 | 44 | 21 | 107 | 51 |
| 14. Para alışverişinden sonra ellerimi yıkarım. | 37 | 17,6 | 35 | 16,7 | 41 | 19,5 | 34 | 16,2 | 63 | 30 |
| 15. Burnumu temizledikten sonra ellerimi yıkarım. | 3 | 1,4 | 5 | 2,4 | 12 | 5,7 | 47 | 22,4 | 143 | 68,1 |
| 16. Çöplere dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | 5 | 2,4 | 6 | 2,9 | 15 | 7,1 | 45 | 21,4 | 139 | 66,2 |
| 17. Hasta insana dokunmadan önce ellerimi yıkarım. | 30 | 14,3 | 31 | 14,8 | 32 | 15,2 | 37 | 17,6 | 80 | 38,1 |
| 18. Hasta insana dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | 22 | 10,5 | 22 | 10,5 | 24 | 11,4 | 42 | 20 | 100 | 47,6 |
| 19. Saçlarımı taradıktan sonra ellerimi yıkarım. | 75 | 35,7 | 23 | 11 | 26 | 12,4 | 23 | 11 | 63 | 30 |
| 20. Ev temizliği yaptıktan sonra ellerimi yıkarım. | 36 | 17,1 | 22 | 10,5 | 26 | 12,4 | 36 | 17,1 | 90 | 42,9 |
| 21. Bulaşık yıkadıktan sonra ellerimi yıkarım. | 36 | 17,1 | 26 | 12,4 | 35 | 11,9 | 40 | 19 | 83 | 39,5 |
| 22. Çamaşır yıkadıktan sonra ellerimi yıkarım. | 38 | 18,1 | 25 | 11,9 | 20 | 9,5 | 42 | 20 | 85 | 40,5 |
| 23. Ellerimi yıkadıktan sonra kurularım. | 4 | 1,9 | 1 | 0,5 | 12 | 5,7 | 54 | 25,7 | 139 | 66,2 |

n:sayı, %: yüzde

Tablo 3

Kronik Hastalığı Olan Bireylerin Cinsiyet ve Mesleklerine Göre El Yıkama Durumlarının Karşılaştırılması (n=210)

| Maddeler | Uygulama sıklığı | Kadın (n=110) | Erkek (n=100) | Emekli (n=83) | Ev Hanımı (n=90) | Diğer (n=37) |
|--|------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|-----------------|
| MD8. Hayvanlara dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 20 | 32 | 28 | 14 | 10 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 90 | 68 | 55 | 76 | 27 |
| | χ^2 / p | 6,142 / 0,02 | | | 7,783 / 0,02 | |
| MD10. Bebeklerin bezi değişimi sonrası ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 11 | 23 | 19 | 8 | 7 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 99 | 77 | 64 | 82 | 20 |
| | χ^2 / p | 7,175 / 0,01 | | | 6,486 / 0,039 | |
| MD12. Ellerimi kirli gördüğüm zaman ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 5 | 11 | 6 | 5 | 5 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 105 | 89 | 74 | 88 | 32 |
| | χ^2 / p | 3,394 / 0,07 | | | 6,777 / 0,034 | |
| MD16. Çöplere dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 9 | 17 | 14 | 5 | 7 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 101 | 83 | 67 | 87 | 30 |
| | χ^2 / p | 4,177 / 0,06 | | | 11,888 / 0,003 | |
| MD17. Hasta insana dokunmadan önce ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 45 | 48 | 48 | 28 | 17 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 65 | 52 | 35 | 62 | 20 |
| | χ^2 / p | 1,641 / 0,2 | | | 12,545 / 0,002 | |
| MD18. Hasta insana dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 30 | 38 | 39 | 18 | 11 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 80 | 8 | 44 | 72 | 26 |
| | χ^2 / p | 3,432 / 0,08 | | | 14,508 / 0,001 | |
| MD19. Saclarımı taradıktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 60 | 64 | 57 | 45 | 22 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 50 | 36 | 26 | 45 | 15 |
| | χ^2 / p | 2,085 / 0,2 | | | 6,230 / 0,044 | |
| MD20. Ev temizliği yaptıktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 37 | 47 | 39 | 25 | 20 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 73 | 53 | 44 | 65 | 17 |
| | χ^2 / p | 4,850 / 0,03 | | | 10,336 / 0,006 | |

n:sayı, χ^2 : ki-kare, p<0,05 anlamlılık

Tablo 4

Kronik Hastalığı Olan Bireylerin Primer Hastalıklarına Göre El Yıkama Durumlarının Karşılaştırılması (n=210)

| Maddeler | Uygulama sıklığı | DM | HT | Artrit | KY | KAH |
|--|------------------------------|--------|--------|----------------|--------|--------|
| | | (n=65) | (n=49) | (n=33) | (n=32) | (n=31) |
| MD7. Yatmadan önce ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 38 | 22 | 15 | 22 | 23 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 27 | 27 | 18 | 10 | 8 |
| | | | | x^2 / p | | |
| | | | | 10,328 / 0,035 | | |
| MD8. Hayvanlara dokunduktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 13 | 6 | 5 | 13 | 16 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 52 | 43 | 28 | 19 | 15 |
| | | | | x^2 / p | | |
| | | | | 24,061 / 0,001 | | |
| MD9. Sabah kalkınca ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 17 | 9 | 9 | 17 | 21 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 48 | 40 | 24 | 15 | 10 |
| | | | | x^2 / p | | |
| | | | | 28,374 / 0,001 | | |
| MD20. Ev temizliği yaptıktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 24 | 11 | 14 | 20 | 15 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 41 | 38 | 19 | 12 | 16 |
| | | | | x^2 / p | | |
| | | | | 14,285 / 0,006 | | |
| MD21. Bulaşık yıkadıktan sonra ellerimi yıkarım. | Hiçbir zaman, Nadiren, Bazen | 26 | 12 | 13 | 18 | 18 |
| | Çoğu Zaman, Bazen | 39 | 37 | 20 | 14 | 13 |
| | | | | x^2 / p | | |
| | | | | 12,338 / 0,015 | | |

n:sayı, x^2 : ki-kare, $p < 0,05$ anlamlılık



Ki-67 Proliferation Index Positivity Limit (Cut-off) Value in Meningiomas

Meningiomlarda Ki-67 Proliferasyon İndeks Pozitiflik Sınır Değeri

Neşe YELDİR^{1*} , Ezgi DOĞAN² , Hatice ÖZER¹ 

Burçak SÖYLEMEZ³ , Serkan ÇELİKGÜN⁴ , H. Reyhan EĞİLMEZ¹ 

¹Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Sivas, Türkiye

²Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Sivas, Türkiye

³Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Sivas, Türkiye

⁴Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Public Health, İzmir, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 20.09.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 03.01.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Abstract

Objective: Meningiomas are usually slow-growing grade 1 tumors according to World Health Organization (WHO) classification. Histological and molecular criterias were defined for the determination of meningiomas of high grade and more aggressive. The proliferation activity is also considered among histopathological criterias. A commonly used parameter for determining proliferation activity is the Ki-67 index. This study was formed retrospectively to identify the positivity limit (cut-off) value of the Ki-67 proliferation index in cases diagnosed with meningioma.

Materials and Methods: The Ki-67 indices of a total 190 patients diagnosed with meningioma was compared with the histological degrees of the tumors. The ROC analysis method was used in the statistical analysis for Ki-67 values.

Results: The mean Ki-67 proliferation index was found to be 6.3% for grade 1, 11.2% for grade 2 and 26% for grade 3 in the cases diagnosed with meningioma in our center. The Ki-67 proliferation index, which can be used in addition to histopathological findings in the distinction of grade 1 and grade 2 meningiomas in our laboratory, was determined as a positivity limit value of 6.5 (p>0.05).

Conclusion: The Ki-67 proliferation index in meningioma is an important parameter that can be used to determine the histological grade of atypical meningioma in particular. Although the index seems to be easy to use, it is a value that can create difficulties in borderline cases and also in interobserver and intraobserver evaluations. Therefore, each pathology laboratory should determine the Ki-67 value that they can accept as a limit for meningioma grading.

Keywords: Meningioma, ROC Analysis, Positivity Limit Value (cut-off value)

&

Öz

Amaç: Meningiomlar genellikle yavaş büyüyen Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırma sistemine göre derece 1 tümörlerdir. Meningiomların yüksek derece ve daha agresif olduğunu belirleyebilmek için bazı histolojik ve moleküler özellikler tanımlanmıştır. Proliferasyon aktivitesi bu histopatolojik özellikler arasında yer almaktadır. Proliferasyon aktivitesini belirlemek için kullanılan en yaygın parametrelerden biri Ki-67 indeksidir.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışma retrospektif olarak meningiom tanılı olgularda Ki-67 proliferasyon indeksinin pozitiflik sınır değerinin belirlenmesi için yapıldı. Meningiom tanısı alan toplam 190 hastada Ki-67 değerleri tümörlerin histolojik dereceleri ile karşılaştırıldı. Ki-67 değerlerinin istatistiksel analizi için ROC analiz yöntemi uygulandı.

Bulgular: Merkezimizde meningiom tanılı olgular için ortalama Ki-67 proliferasyon indeks değerleri derece 1 için %6,3, derece 2 için %11,2 ve derece 3 için %26 bulundu. Derece 1 ve derece 2 meningiomların ayırımında histopatolojik bulgulara ek olarak laboratuvarımızda uygulanan Ki-67 proliferasyon indeks pozitiflik sınır değeri 6,5 olarak bulundu (p>0,05).

Sonuç: Menenjiyomda Ki-67 proliferasyon indeksi, özellikle atipik menenjiyomun histolojik derecesini belirlemede kullanılacak önemli bir parametredir. İndeks kullanımı kolay gibi görünse de borderline durumlarda ve ayrıca gözlemciler-arası ve gözlemci-içi değerlendirmelerde güçlük yaratabilecek bir değerdir. Bu nedenle her patoloji laboratuvarı menenjiyom derecelendirmesi için sınır olarak kabul edebileceği Ki-67 değerini belirlemelidir.

Anahtar Kelimeler: Meningiom, ROC Analizi, Pozitiflik Sınır Değeri

Atıf/Cite as: Yeldir, N., Doğan, E., Özer, H., Söylemez, B., Çelikkün, S. & Eğilmez, R. (2023). Ki-67 Proliferation Index Positivity Limit (Cut-off) Value in Meningiomas. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 43-50. DOI: [10.47493/abantmedj.1177937](https://doi.org/10.47493/abantmedj.1177937)

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Neşe Yeldir, e-mail: nese.yeldir@gmail.com

Introduction

Meningiomas are tumors that originate from meningotheial cells in the arachnoid layer, most commonly seen in middle and advanced-age adults and women. These tumors often show slow growth. Most are among the grade 1 tumors in the classification of the central nervous system of the World Health Organization (WHO) (1). Although the exact etiology of meningioma is unknown, it has been suggested that trauma, radiation, oncogenic viruses, chromosome anomalies, and hormonal factors are likely to play a role. Histological grading is one of the major prognostic parameters in meningioma. Some histological criteria for high grade and more aggressive meningioma have been identified (2, 3).

Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS) was last updated by WHO in 2021. This fifth update contains major changes related to molecular diagnoses of tumors. Fifteen subtypes of meningioma have been identified according to their histopathological features. Among them, meningotheial, fibrous, and transitional meningiomas are the most common.

Most meningioma subtypes are benign and grade 1 tumors. The tumors such as chordoid and clear cell meningiomas are considered grade 2 due to the higher recurrence rates compared to grade 1 tumors. Until recently, papillary and rhabdoid meningiomas were considered grade 3. According to the recently updated WHO classification system, it is suggested that the tumor should be evaluated together with immunohistochemical and molecular features instead of being graded only based on morphological features (1).

The histopathological criteria defined for atypical (WHO grade 2) meningioma are characterized by having at least three features including the 4-19 mitotic figures in 10 consecutive HPF (each 0.16 mm²) or brain invasion or specific morphological subtype (chordoid or clear cell) or visible nucleoli, increased cellularity, growth without a pattern, increased nucleocytoplasmic ratio, and foci of necrosis (4). Anaplastic meningioma (WHO grade 3) is a highly aggressive tumor that morphologically resembles a high-grade sarcoma or carcinoma. Typically, much higher rates of mitosis are observed compared to atypical meningioma.

Criteria defined for anaplastic (WHO grade 3) meningioma are characterized by 20 or more mitotic figures in 10 consecutive HPF (each 0.16 mm²) or TERT promoter mutation or homozygous deletion of CDKN2A and/or CDKN2B (2, 5).

Materials and Methods

This study was conducted retrospectively with a total of 190 patients diagnosed with meningioma between 1998 and 2021. Data on the age, gender, tumor localization, histopathological diagnosis, tumor histological grading, and immunohistochemical staining results of the patients were obtained from the hospital archive. Descriptive statistical methods were applied to the data and Ki-67 indexes were compared with tumor histological grades. The ROC analysis method was used in the statistical analysis for Ki-67 values.

This study was approved by the Ethics Committee of Non-Interventional Clinical Research of Sivas Cumhuriyet University (date: 10.03.2021 and approval number: 2021/03-21).

Results

The study included a total of 190 patients diagnosed with meningioma. The sex distribution of these patients was 135 female (71%), 55 male (29%) and the mean age of them was 55 (age distribution 20-88). The localizations of tumors of patients are most often intracranial (173 cases) and a smaller number of cases are intraspinaly located (17 cases).

The distribution of histopathological subtypes of meningioma cases; meningotheial meningioma 34% (Figure 1), transitional meningioma 27%, fibrous meningioma 17%, atypical meningioma 8%,

psammomatous meningioma 4% (Figure 2), clear cell meningioma 2%, secretory meningioma 2%, malignant meningioma 1%, angiomatous meningioma 1%, chordoid meningioma 1%, anaplastic meningioma 1%, microcystic meningioma 0.5% and papillary meningioma 0.5%. Histological subtypes and localizations of tumors according to the grades of cases are indicated in the table.

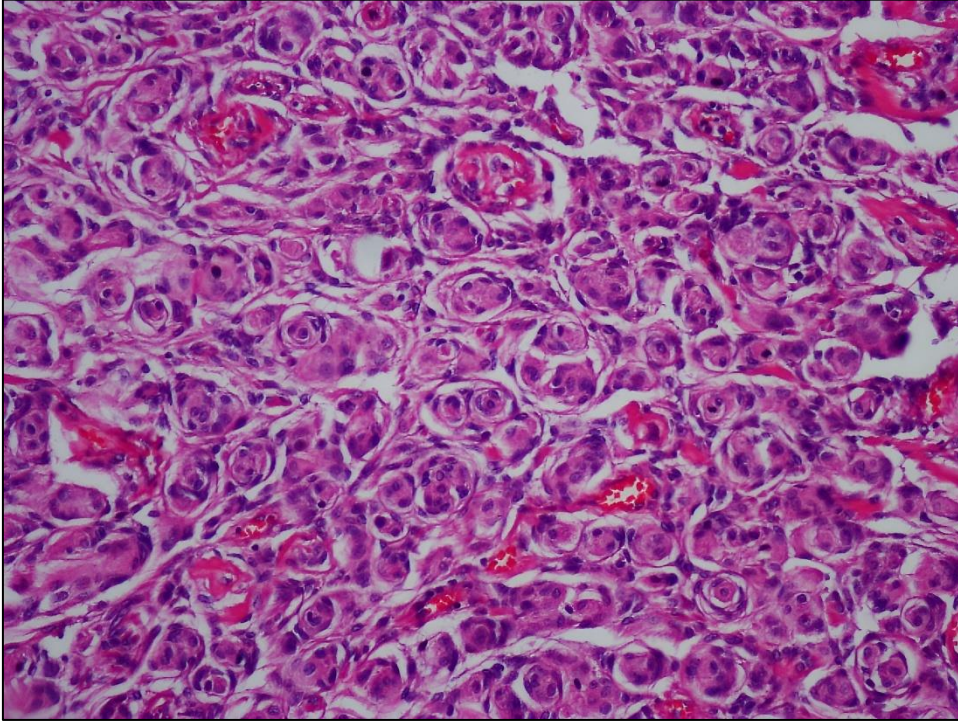


Figure 1. A case of meningothelial meningioma (Hematoksilen eosin stain, x200)

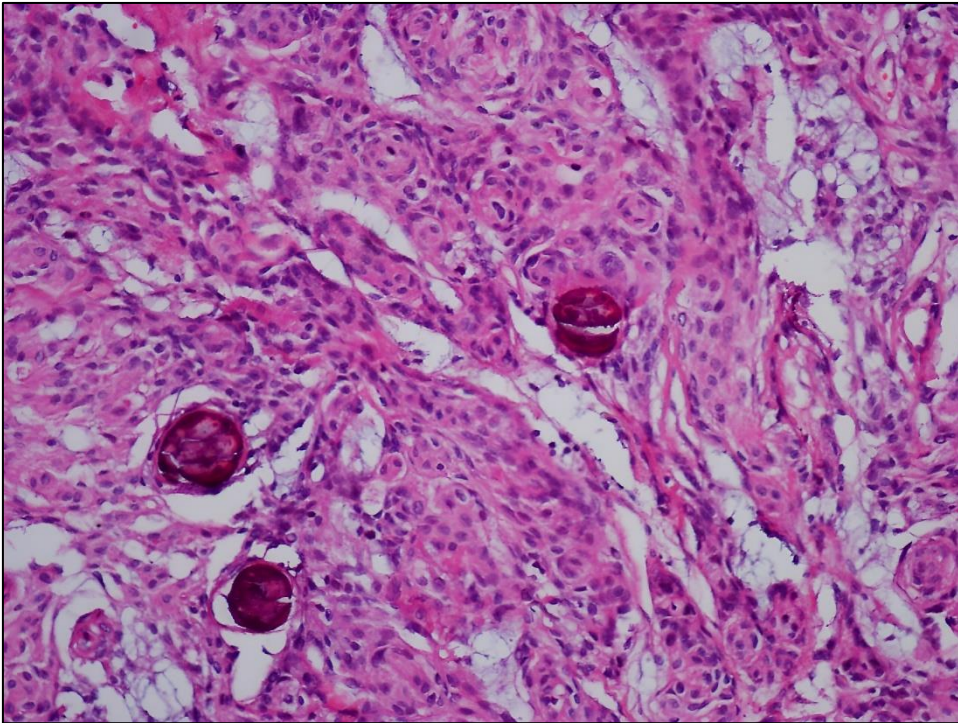


Figure 2. A case of psammomatous meningioma (Hematoksilen eosin stain , x200)

Table 1.
Histological Subtypes and Localizations of Tumors.

| WHO GRADE 1 (N=163) | | | | |
|------------------------------|---------------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| LOCALIZATION | | | | |
| <i>Intracranial (n=146)</i> | | | | |
| <i>Histological subtypes</i> | <i>Intraspinal (n=17)</i> | <i>Cerebral</i> | <i>Cerebellar</i> | <i>Ventricular</i> |
| Meningothelial | 11 | 50 | 1 | 1 |
| Transitional | 1 | 45 | - | 1 |
| Fibroblastic | 3 | 20 | 4 | - |
| Psammomatous | 2 | 6 | - | - |
| Others | - | 18 | - | - |

| WHO GRADE 2 (N=20) | | | | |
|----------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| LOCALIZATION | | | | |
| <i>Intracranial (n=20)</i> | | | | |
| | <i>Intraspinal</i> | <i>Cerebral</i> | <i>Cerebellar</i> | <i>Ventricular</i> |
| Chordoid | - | 2 | - | - |
| Atypical | - | 14 | - | - |
| Clear cell | - | 4 | - | - |

| WHO GRADE 3 (N=7) | | | | |
|------------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| LOCALIZATION | | | | |
| <i>Intracranial (n=7)</i> | | | | |
| <i>Histological subtypes</i> | <i>Intraspinal</i> | <i>Cerebral</i> | <i>Cerebellar</i> | <i>Ventricular</i> |
| Rhabdoid | - | 4 | - | - |
| Anaplastic | - | 2 | - | - |
| Papillary | - | 1 | - | - |

Histologically, the cases were divided into three degrees according to WHO classification criteria. The histological degrees of the cases were 163 cases of grade 1 (86%), 20 cases of grade 2 (10%) and 7 cases of grade 3 (4%) (Figure 3). The Ki-67 proliferation index was found to be 6.3% for grade 1 (Figure 4), 11.2% for grade 2 (Figure 5), and 26% for grade 3 on average in cases diagnosed with a meningioma (Figure 6).

In addition to histopathological findings, the positivity limit value of the Ki-67 proliferation index, which can be used to distinguish between grade 1 and grade 2 meningioma, was determined as 6.5 for our laboratory ($p>0.05$). There was no statistically significant positivity limit value for the Ki-67 index in the distinction between meningioma grade 2 and grade 3 ($p<0.05$).

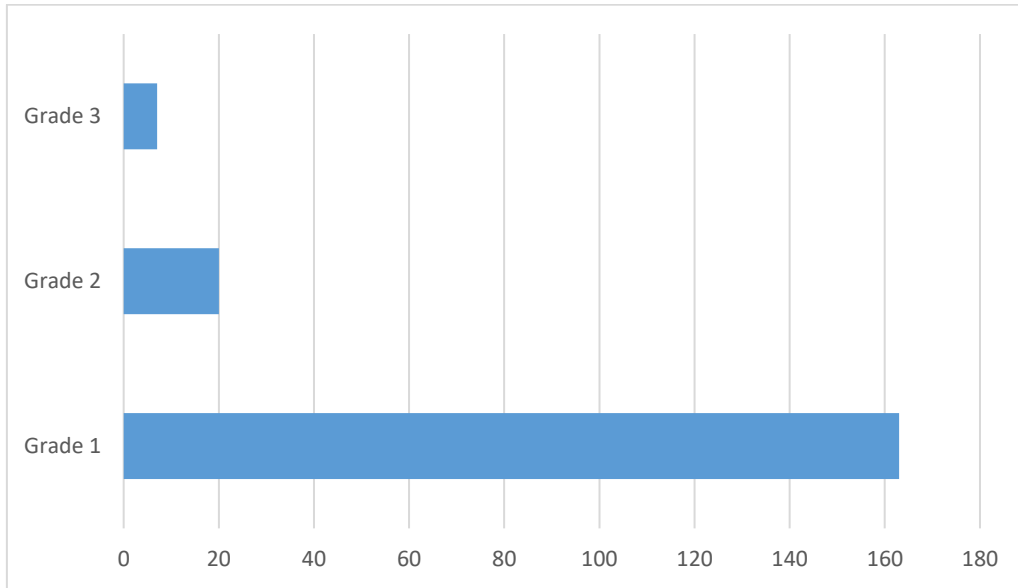


Figure 3. Distribution of grade 1-2-3 in meningioma cases (number of patients).

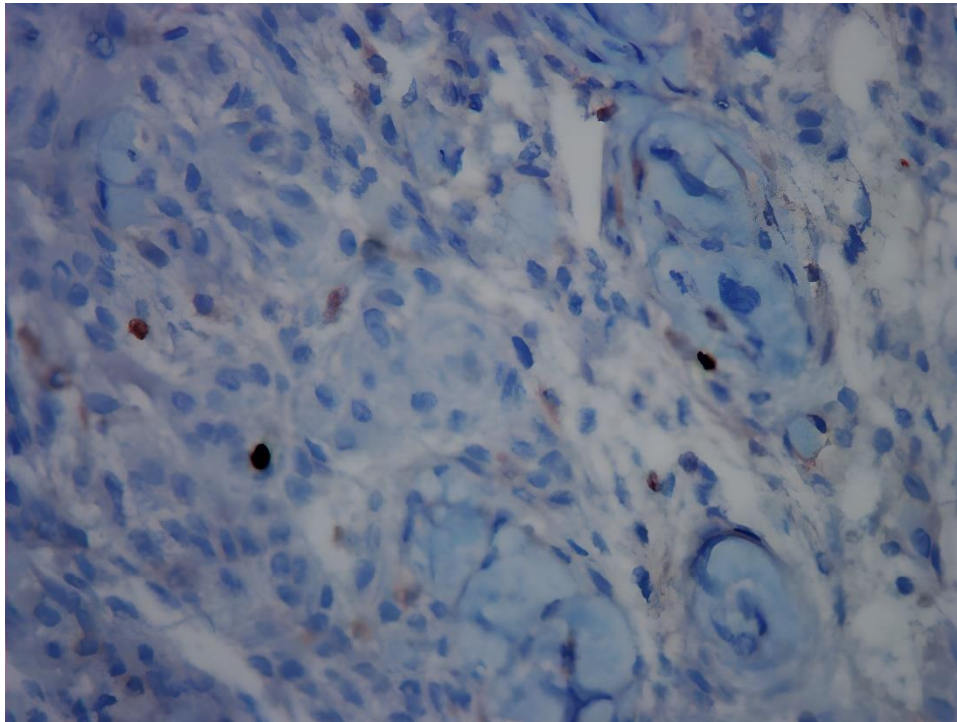


Figure 4. Ki-67 index of a case of grade 1 meningioma (x400)

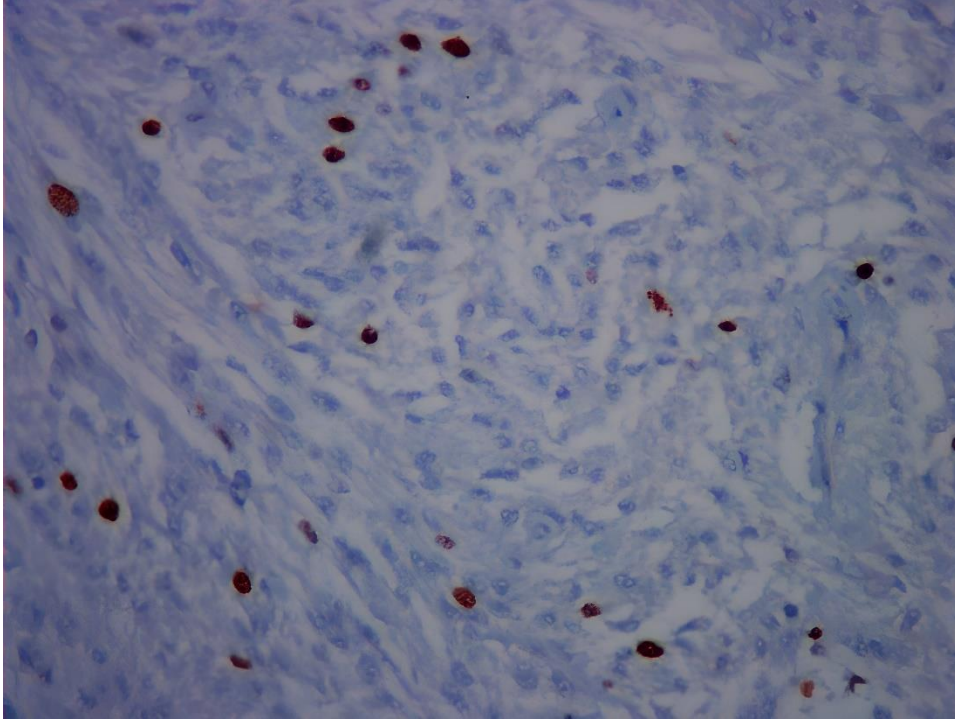


Figure 5. Ki-67 index of a case of grade 2 meningioma; increased proliferation index (x400)

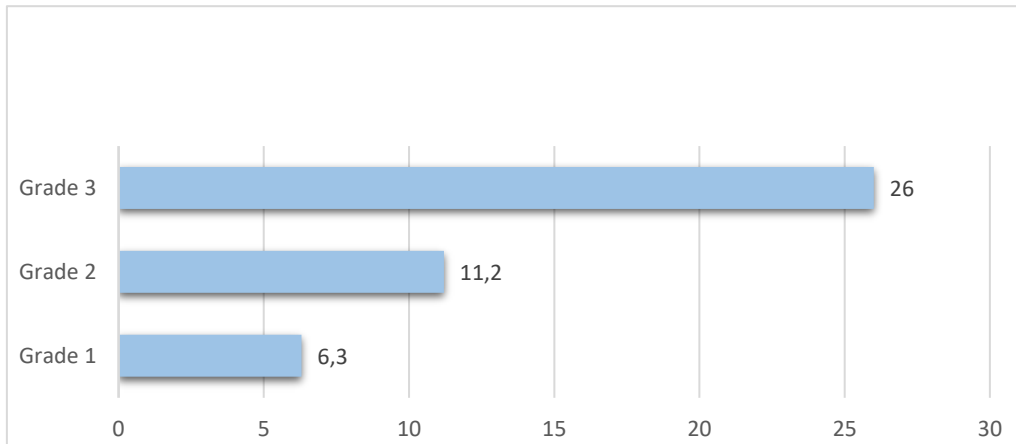


Figure 6. Average values of Ki67 proliferation index in meningioma cases.

Discussion

Meningioma is a well-circumscribed central nervous system tumor most of which have benign features. Meningioma with higher histological grades, more aggressive course, and higher recurrence rates are also present. According to the WHO tumors classification system of the central nervous system, meningioma is graded as 1, 2, and 3 according to its histopathological and molecular features. As the histological grade increases, the risk of recurrence and aggressiveness of the tumor also increases (6).

The number of mitosis and proliferation activity in meningioma are also criteria that provide information about the grade of the tumor (7). Although the prognostic significance of proliferation indexes determined by immunohistochemical methods has been emphasized by numerous studies, it has not been included among the grading criteria of meningioma in the latest WHO classification. The most commonly used immunohistochemical markers for this purpose are Ki-67, PCNA, and DNA Topoisomerase II. Universally accepted thresholds do not yet exist for any of these markers. However, it is known that the Ki-67 index, in particular, shows a rather significant increase in meningioma in atypical and malignant forms compared to benign forms (8,9). It is observed that there is a direct proportion between the grade of the tumor and the Ki-67 index. In accordance with this, an increase in the Ki-67 proliferation index and histological grading in our study were also found to be correlated.

In histopathological grading of meningiomas, determining an accurate mitotic index is one of the most important factors. Increased mitotic count is associated with a higher grade and, thus, a worse prognosis. Ho et al. showed that $\geq 1.5/\text{mm}^2$ mitotic activity rate was one of the best indicators of recurrence (10).

The atypical meningioma limit value of the Ki-67 proliferation index, a parameter that can be used to determine the aggressive course of meningioma, is considered to be $>4\%$ (11). However, this limit value may differ in each pathology laboratory. For our laboratory, this value was found to be $>6.5\%$. Differences in the immunohistochemical staining method and the Ki-67 evaluation method are considered to be effective in the detected high value.

Conclusion

In conclusion, the Ki-67 proliferation index in meningioma is an important parameter that can be used to determine the histological grade of atypical meningioma in particular. Although the index seems to be easy to use, it is a value that can create difficulties in borderline cases and also in interobserver and intraobserver evaluations. Therefore, each pathology laboratory should determine the Ki-67 value that they can accept as a limit for meningioma grading.

Ethics Committee Approval: The study was approved by the Ethics Committee of Sivas University (date: 10.03.2021 and approval number: 2021/03-21).

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

References

1. Cree IA, Lokuhetty D, Peferoen LAN, White VA (editors). WHO Classification of Tumors of Central Nervous System. 5th ed. IARC;2021.
2. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Branger DF, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, Deimling AV, Ellison DW. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology* 2021; 23:1231-51.
3. Solomon DA, Pekmezci M. Pathology of meningiomas. *HandbClinNeurol* 2020; 169:87-99.
4. Saygın I, Cakır E, Ercin ME. Interobserver variability in mitotic count for meningioma grading: How can we reduce it? *TurkNeurosurg* 2020; 30:643:50.
5. Terzi A, Saglam EA, Barak A, Soylemezoglu F. The significance of immunohistochemical expression of Ki-67, p53, p21 and p16 in meningiomas tissue arrays. *PatholResPract* 2008;204:305-14.
6. Buttrick S, Shah AH, Komotar RJ, Ivan ME. Management of atypical and anaplastic meningiomas. *NeurosurgClinNA* 2016; 27:239-47.
7. Liu N, Song SY, Jiang JB, Wang TJ, Yan CX. The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in meningioma: A systematic review with meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2020;99: e18644.

8. Roser F, Samii M, Ostertag H, Bellinzona M. The Ki-67 proliferation antigen in meningiomas. Experience in 600 cases. *Acta Neurochir (Wien)* 2004; 146:37-44.
9. Mirian C, Skyрман S, Bartek Jr J, Jensen LR, Kihlström, Förander P, Orrego A, Mathiesen T. The Ki-67 proliferation index as a marker of time to recurrence in intracranial meningioma. *Neurosurgery* 2020; 87:1289-98.
10. Ho DM, Hsu CY, Ting LT, Chiang H. Histopathology and MIB-1 labeling index predicted recurrence of meningiomas: A proposal of diagnostic criteria for patients with atypical meningioma. *Cancer* 2002; 94:1538-47.
11. Pavelin S, Becic K, Forempoher G, Mrklic I, Pogorelic Z, Titlic M, Andelinovic S. Expression of Ki-67 and p53 in meningiomas. *Neoplasma* 2013; 60:480-5.



The Acute Effects Of ATP-Sensitive Potassium Channel Opener (Pinacidil) And Blocker (Glimepride) On the Ischemia or Reperfusion-Induced Arrhythmias

ATP-Bağımlı Potasyum Kanal Açıcısı Pinacidil ve Blokeri Glimeprid'in İskemi ve Reperfüzyon ile Uyarılan Aritmiler Üzerine Akut Etkisi

Ömer BOZDOĞAN^{1*}, Esra YAVUZ¹, Anıl TEMİZ¹, Şevval ÖZDEMİR¹

¹Department of Biology, Faculty of Art and Sciences, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 29.09.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 14.03.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Abstract

Objective: Myocardial ischemia generated by coronary occlusion and myocardial reperfusion by the opening of occluded coronary vessel in the acute stage leads to lethal arrhythmia and sudden death in humans. That is why pharmacological drug research to decrease these arrhythmias have been researched intensively. In this study, the effect of acute administration of pinacidil and glimepride, on ischemia or reperfusion-induced arrhythmia was aimed to be researched.

Materials and Methods: Two groups were designed; In the first group, only ischemia was produced by the ligation of the left coronary artery in 20 minutes, and in the second group 6 minutes of ischemia by the ligation of the artery and the subsequent 15 minutes of reperfusion were produced by the opening of the occluded artery. Drugs were administered intravenously at 2 minutes of ischemia in the first group and just following the reperfusion in the second group. The ECG and blood pressure were recorded during ischemia and reperfusion period. The type, duration, incidence of arrhythmia, heart rate, blood pressure, and the death rate from the recording were calculated. All data were first compared by one-way ANOVA. Then, the drug groups with their control, and control and drug groups with each other were compared by a one-tailed t-test. The incidence of arrhythmia and the death rate between groups was compared by the Ki square test.

Results: Pinacidil significantly decreased the arrhythmia score both in the ischemia and reperfusion period but glimepride was not effective when they were given intravenously in the acute stage of ischemia or reperfusion.

Conclusion: This study suggests that pinacidil might be a candidate for drugs that can be used to decrease arrhythmia in the acute stage of myocardial infarction but more study is needed to reveal the antiarrhythmic or proarrhythmic effect of glimepride with different doses in the acute stage of myocardial infarction.

Keywords: Ischemia, Reperfusion, Arrhythmia, Pinacidil, Glimepride.

&

Öz

Amaç: Miyokart enfarktüsünün akut döneminde koroner damar tıkanmasına bağlı olarak oluşan miyokardiyal iskemi ve arkasından damarın açılmasıyla oluşan reperfüzyon insanlarda öldürücü aritmilerin oluşmasına ve ani ölümlere yol açmaktadır. Bu nedenle bu aritmilerin azaltılması için farmakolojik ilaç araştırmaları yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Bu çalışmada pinacidil ve glimepridin akut uygulamasının iskemi ve-reperfüzyon aritmileri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: İki grup oluşturulmuştur; Birinci grupta sol koroner arter 20 dakika süreyle bağlanarak sadece iskemi oluşturulmuş, ikinci grupta damar bağlanarak 6 dakika iskemi ve arkasından tıkanan damar açılarak 15 dakika reperfüzyon yapılmıştır. İlaçlar intravenöz olarak birinci grupta, iskeminin ikinci dakikasında, ikinci grupta, hemen reperfüzyondan sonra uygulanmıştır. İskemi ve reperfüzyon süresince EKG ve kan basıncı kaydedilmiştir. Kayıtlardan aritmilerin tipi, süresi ve yoğunlukları, kalp atım hızı, kan basıncı ve ölüm oranı belirlenmiştir. Bütün veriler tek yönlü ANOVA ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra ilaç grupları kendi kontrol gruplarıyla, ilaç ve kontrol grupları kendi aralarında ikili olarak tek kuyruklu t testi ile karşılaştırılmıştır. Aritmi yoğunlukları ve ölüm oranları Ki kare testi ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: İskemi ve reperfüzyon sırasında intravenöz olarak verildiklerinde, pinacidil hem iskemi, hemde reperfüzyon periyodunda belirgin bir şekilde aritmi skorunu azaltmış, glimeprid ise etkisiz kalmıştır.

Sonuç: Bu çalışma pinacidilin miyokart enfarktüsünün akut döneminde oluşan aritmileri azaltmada etkili bir ilaç olabileceğini ortaya koymuştur. Ancak glimepridin miyokart enfarktüsünün akut döneminde antiaritmik ya da proaritmik etkisinin ortaya konması için farklı dozları ile daha fazla çalışma gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: İskemi, Reperfüzyon, Aritmi, Pinacidil, Glimeprid

Atf/Cite as: Bozdoğan, Ö., Yavuz, E., Temiz, A. & Özdemir, Ş. (2023). The Acute Effects Of ATP-Sensitive Potassium Channel Opener (Pinacidil) And Blocker (Glimepride) On the Ischemia or Reperfusion-Induced Arrhythmias. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 51-62. DOI: 10.47493/abantmedj.1181993

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Ömer Bozdoğan e-mail: bozdogan_o@ibu.edu.tr

Introduction

Acute myocardial infarction (AMI) is still a common cause of sudden death in humans. Severe arrhythmia appearing in the first minutes or hours of AMI is the major cause of death (1). The treatment in the acute phase of AMI has been usually mediated by thrombolytic drugs or by antiarrhythmic drugs. In the experimental studies, the ATP-dependent channel blockage or opening was observed to be effective in decreasing the arrhythmias and death of animals following ischemia and reperfusion (2). Glimepiride is a potassium channel blocker and has been used in diabetic patients to increase insulin release (3). It was indicated that the death due to cardiovascular disease is lesser in patients who used glimepiride (4). In animal studies, it was shown that glimepiride blocks the sarcolemmal ATP dependent potassium channel but not the mitochondrial ATP dependent potassium channel (5) and induces NO release (6) and has fewer effects to decrease myocardial blood flow and contraction than other sulfonylurea drugs, glibenclamide (7). In the previous animal study, glimepiride administered before coronary ligation was shown to decrease the ventricular arrhythmia observed following myocardial ischemia and reperfusion (8, 9). Pinacidil has been used as a hypotensive drug in clinics (10,11). Pinacidil is ATP dependent potassium channel opener and induces early repolarisation of a myocardial cell (12) and decreases contraction (13). In animal studies, the pretreatment of pinacidil was found to decrease ventricular arrhythmia that occurred during myocardial ischemia and reperfusion (2,14,15). But there are also some studies indicating the proarrhythmic effect of pinacidil (16). Clinically the treatment of arrhythmia by drugs has been performed during the early ischemia or reperfusion period of AMI. One previous study suggested that pinacidil by shortening the action potential in normal myocardial cells and glimepiride by increasing action potential duration in ischemic cells may decrease heterogeneity in action potentials and produce an antiarrhythmic effect (17). This study aims to observe the effect of acute administration of pinacidil and glimepiride on ischemia or reperfusion-induced arrhythmias and the survival of the animal.

Materials and Methods

Animals

In this study, 80 male Sprague Dawley rats 6-7 months old were used. Animals were grown 12L/12D photoperiods and fed with food and water ad libitum. All animals were experimented with adherence to all guiding principles in the care and use of animals with the recommendation from the declaration of Helsinki and approved by the local animal ethic committee of Abant İzzet Baysal University (Protocol number; 2019-21/53, 2019-24/51). The ethical approval for the study were obtained for ischemia (2019/24), and ischemia-reperfusion groups (2019/21) individually. Two groups of the animal were designed as ischemia and ischemia-reperfusion groups. The drug-control and drug-treated groups were defined as a subgroup in ischemia and ischemia-reperfusion group.

Surgical Operation

All surgical operations were performed under the urethane (Sigma Aldrich, Interlab/Türkiye) (2gr/kg) anesthesia. Tracheostomy for artificial respiration, the right carotid artery cannulation for blood pressure measurement, thoracotomy between 4.-5. intercostal space for coronary artery ligation was performed. In the first group, the coronary artery was ligated 2 mm away from its origin, aorta to produce 20 minutes of ischemia. Drugs were given from the tail vein at 2 minutes following coronary ligation in this group. In the second group, six minutes of ischemia by the ligation of coronaries, following 15 minutes of reperfusion by the releasing of ligature were produced. Drugs were given just following the reperfusion in this group. At the end of ischemia or reperfusion, the respirator was cut off, and animals having spontaneous reflex respiration were accepted as live animals. The heart of these animals was ablated from the thorax and perfused from the aorta for the determination of the risk of the infarct zone. The arrhythmia and other values including blood pressure, heart rate, the type and duration of arrhythmia recorded during ischemia,

and reperfusion were evaluated. Animals having no spontaneous respiration at the end of ischemia were accepted as dead animals and the arrhythmia data obtained in these animals were not evaluated.

Drugs

The dose of pinacidil and glimepride used in this study were chosen according to the previous research work (3, 12); Pinacidil (Sigma Aldrich, Interlab/Türkiye) in 0.1mg/ml/kg, glimepride (Sigma Aldrich, Interlab/Türkiye) in 1mg/ml/kg. In control animals, the only solvent of the drug (saline for pinacidil and DMSO ¼ + Etil alcohol ¼ + saline solution 2/4 for glimepride) was administered. Drugs were prepared daily and given intravenously from the tail vein.

Recording And Evaluation of Arrhythmia

Lead II of ECG and blood pressure were recorded during ischemia and reperfusion by a computerized recording system (Biopac System Inc, USA; Türkiye representative: Commat Ltd, Ankara) using Pro 3.7 software. The duration, type, and the incidence of arrhythmia were determined from recorded ECG and the arrhythmias were evaluated according to the Lambeth convention (18). Blood pressure and heart rate were determined at 1,3,5,10 and 15 minutes following coronary artery ligation in the first group and 1,3,5,10,15 minutes following ischemia or reperfusion in the second group.

Determination of Risk of Infarct Zone

Before the heart was excised out together with the aorta, diluted heparin solution (1/10) was given intravenously from the cannulated carotid artery. To demarcate the ischemic and nonischemic zone of the heart, the aorta was perfused first with physiologic saline solution and then ethyl alcohol. Following perfusion with the alcohol, the color of perfused myocardium changes to white, and the ischemic portion remain pinkish. All procedures used for the determination of the risk of infarct zone were done according to the Lepran et al (19).

Biochemical Analysis

Blood glucose levels before coronary ligation and at the end of the experiment were determined by a glucometer from a blood sample taken from the tail vein. Blood sugar at the end of the experiment in the dead animals at the end of 15 minutes of reperfusion in I/R groups and the end of 20 minutes of ischemia in the ischemia group were not measured.

Statistical Analysis

The mean and standard error for the duration of arrhythmia, total arrhythmia, heart rate, blood pressure, the weight of the heart, and the risk of infarct zone were determined and compared by one-way ANOVA. Then the drug and drug control group were compared by one tail t-test. The incidence of all type of arrhythmia between drug and drug control groups were compared by the Ki square test.

Results

ST-segment elevations and the changes in the amplitude of QRS were observed following coronary ligation. The values including the weight of animals, the weight of the infarct zone and the percentage of risk of infarct zone, and the blood glucose level in each group were presented in table 1 (Ischemia group) and table 2 (Reperfusion group). There was no significant difference between drug control and drug-treated groups in the blood pressure during 20 minutes of ischemia in the first group, figure 1, and 6 minutes of ischemia / 15 minutes reperfusion in the second group, figure 2. There were also no significant differences in the heart rate between the drug control and drug-treated group during 20 minutes of ischemia, table 3 and 15 minutes of reperfusion, table 4. There was no significant difference in arrhythmia score between the glimepride treated group and its control in the ischemia group, table 5. But in ischemia reperfusion group, nonsignificant increment in the score of arrhythmias was observed in glimepride treated group in respect

to its control, table 6. Pinacidil significantly decreased the arrhythmia scores in the ischemia group, table 5, and in the I/R group in respect to its controls, table 6. Similarly, pinacidil significantly, glimepride nonsignificantly decreased total arrhythmia observed in the ischemia group, table 5. Total arrhythmia and ventricular premature contraction during reperfusion in the I/R group were significantly higher in glimepride treated rats, and VT and VF were lower in pinacidil treated rats than pinacidil control, table 6. In the I/R group, the incidence of ventricular premature contraction and ventricular tachycardia was also higher in glimepride treated rats, but lower in pinacidil treated rats regarding their control, table 7. The incidence of ventricular tachycardia in the ischemia group was higher in glimepride treated animals but lower in the pinacidil treated group in respect to its control, table 8. The death of animals at the end of 20 minutes of ischemia was more in glimepiride treated animals but lesser in pinacidil treated animals regarding to their control. The death rate did not change significantly in the I/R group after both pinacidil and glimepride treatment.

Table 1

Body weight, risk of enfarct zone and blood glucose level in animals used in ischemia group (Mean \pm Standart error).

| Groups | Body weight (gr) | Risk of infarct zone (gr) | Risk of infarct zone (%) | Blood glucose before ligation, mg/dl | Blood glucose at the end of ischemia period mg/dl |
|------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------------|---|
| Glimepride Control (a) | 361 \pm 44 (n=5) | 0,50 \pm 0,03 (n=5) | 43 (n=5) | 94 \pm 15 (n=5) | 65 \pm 8 (n=5) |
| Glimepride Drug (b) | 394 \pm 14 (n=6) | 0,51 \pm 0,06 (n=6) | 45 (n=6) | 106 \pm 19 (n=6) | 91 \pm 25 (n=3) |
| Pinacidil Control (c) | 345 \pm 25 (n=6) | 0,41 \pm 0,03 (n=6) | 40 (n=6) | 131 \pm 31 (n=5) | 139 (n=1) |
| Pinacidil Drug(d) | 342 \pm 12 (n=8) | 0,46 \pm 0,02 (n=8) | 47 (n=8) | 112 \pm 44 (n=8) | 112 \pm 30 (n=6) |

n: Number of animals

Table 2

Body Weight, Risk of Enfarct Zone and Blood Glucose Level in Animals Used in Ischemia-Reperfusion Group (Mean \pm Standart error).

| Groups | Body weight (gr) | Risk of infarct zone (gr) | Risk of infarct zone (%) | Blood glucose before ligation mg/dl | Blood glucose at the end of reperfusion period mg/dl |
|------------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--|
| Glimepiride Drug Control (a) | 319 \pm 15 (n=7) | 0,44 \pm 0,02 (n=7) | 42 (n=7) | 112 \pm 21 (n=6) | 68 \pm 18 (n=5) |
| Glimepiride Drug (b) | 398 \pm 26 (n=7) | 0,52 \pm 0,02 (n=7) | 45 (n=7) | 125 \pm 33 (n=7) | 63 \pm 15 (n=5) |
| Pinacidil Drug Control (c) | 313 \pm 19 (n=7) | 0,37 \pm 0,06 (n=7) | 39 (n=7) | 122 \pm 21 (n=7) | 99 \pm 26 (n=7) |
| Pinacidil Drug (d) | 342 \pm 27 (n=6) | 0,51 \pm 0,01 (n=6) | 51 (n=6) | 104 \pm 11 (n=6) | 78 \pm 7 (n=6) |

n: Number of animals

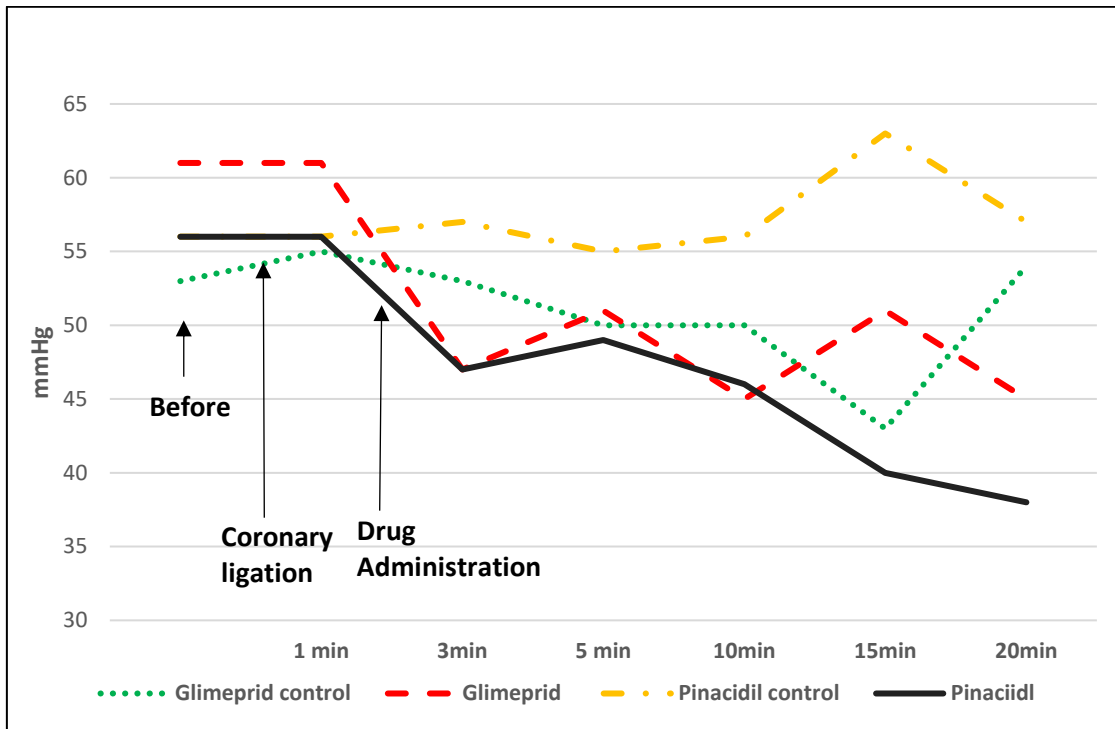


Figure 1. The blood pressure before and following coronary ligation during 20 minutes in ischemia group.

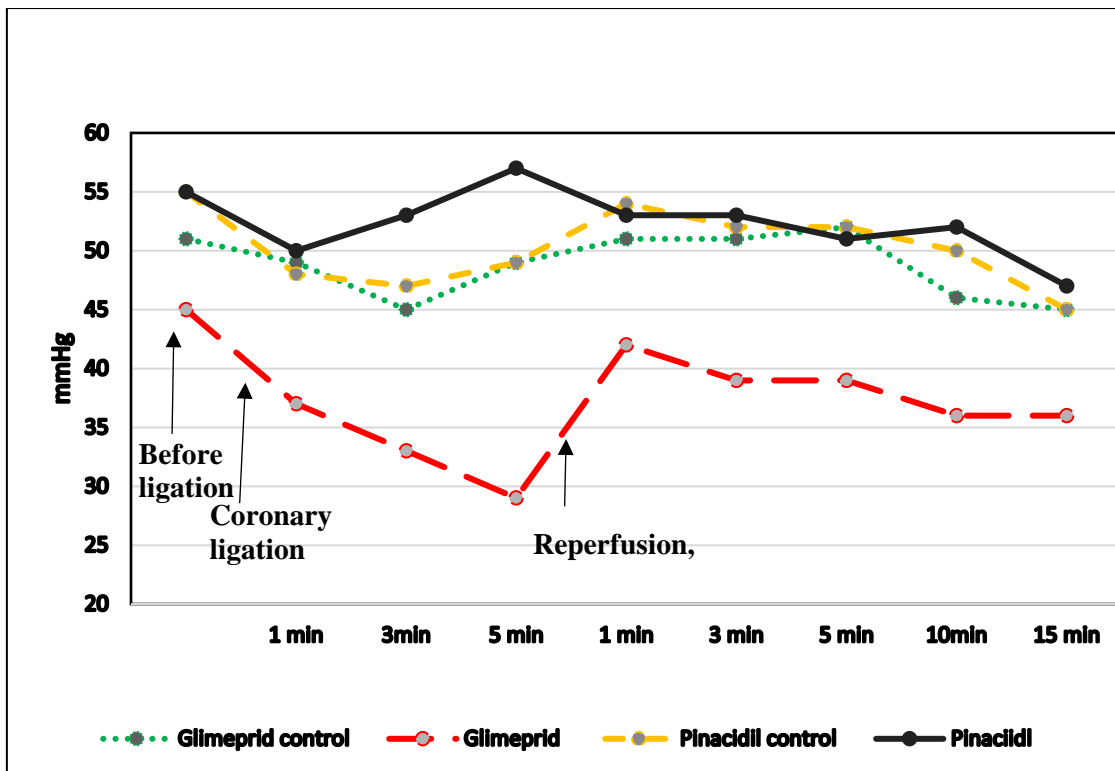


Figure 2. The blood pressure before and following 6 minutes ischemia and 15 minutes reperfusion in ischemia-reperfusion group.

Tablo 3

Heart Rate Before and During Ischemia in Ischemia Group, Beat/Minute (Mean ± Standart Error).

| | Before coronary ligation | Following coronary ligation | | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 1 min | 3 min | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min |
| Glimepride Drug Control (a) | 300 ± 41 (n=6) | 273 ± 43 (n=5) | 262 ± 38 (n=5) | 259 ± 41 (n=5) | 263 ± 49 (n=4) | 275 ± 40 (n=5) | 314 ± 16 (n=3) |
| Glimepride Drug (b) | 290 ± 24 (n=6) | 285 ± 20 (n=5) | 268 ± 33 (n=4) | 294 ± 18 (n=5) | 240 ± 62 (n=3) | 261 ± 17 (n=2) | 279 ± 15 (n=3) |
| Pinacidil Drug Control (c) | 381 ± 18 (n=6) | 345 ± 34 (n=3) | 387 ± 29 (n=4) | 384 ± 29 (n=4) | 387 (n=1) | 368 ± 44 (n=2) | 364 ± 49 (n=2) |
| Pinacidil Drug (d) | 334 ± 24 (n=8) | 324 ± 19 (n=7) | 305 ± 25 (n=7) | 323 ± 17 (n=6) | 322 ± 17 (n=6) | 299 ± 19 (n=6) | 301 ± 20 (n=6) |

n: Number of animals

Tablo 4

Heart Rate Before and Following Ischemia-Reperfusion in Ischemia-Reperfusion Group, Beat/Minute (Mean ± Standart Error), *P<0,05, **P<0,01, **A: Difference from Glimeprid Control

| | Before Ligation | Following coronary ligation | | | Following reperfusion | | | |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | 1 min | 3 min | 5 min | 1 min | 5 min | 10 min | 15 min |
| Glimepride Drug Control (a) | 315 ± 12 (n=7) | 320 ± 7 (n=6) | 265 ± 36 (n=6) | 298 ± 28 (n=6) | 275 ± 36 (n=6) | 283 ± 36 (n=6) | 281 ± 40 (n=6) | 282 ± 50 (n=5) |
| Glimepride Drug (b) | 304 ± 23 **a (n=7) | 298 ± 30 **a (n=5) | 300 ± 28 (n=5) | 282 ± 44 (n=5) | 277 ± 25 (n=5) | 322 ± 22 (n=5) | 319 ± 25 (n=6) | 293 ± 24 (n=5) |
| Pinacidil Drug Control (c) | 333 ± 17 (n=7) | 346 ± 18 (n=7) | 318 ± 28 (n=7) | 335 ± 21 (n=7) | 335 ± 21 (n=7) | 329 ± 19 (n=7) | 329 ± 21 (n=7) | 310 ± 22 (n=7) |
| Pinacidil Drug(d) | 354 ± 13 (n=6) | 338 ± 9 (n=6) | 302 ± 30 (n=6) | 330 ± 11 (n=6) | 318 ± 10*c (n=6) | 310 ± 14 (n=6) | 316 ± 17 (n=6) | 306 ± 18 (n=6) |

n: Number of animals

Table 5

The Type, Duration, And Score of Arrhythmia During 20 Minutes of Ischemia, (Mean ± Standart Error) *P<0,05, **P<0,01, *C: Difference from Pinacidil Control

| | VPC (Sec) | VT (Sec) | VF (Sec) | Total arrhythmia (Sec) | Bradycardia (Sec) | Score of arrhythmia |
|--------------------------------|----------------------|--------------------|----------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|
| Glimepride Drug Control (a) | 88,2 ± 51,1 (n=5) | 3,6 ± 3,6 (n=5) | 24,2 ± 20,8 (n=5) | 116 ± 45,3 (n=5) | 314,6 ± 193 (n=5) | 4,0 ± 0,6 (n=5) |
| Glimepride Drug (b) | 60,5 ± 14,0 (n=4) | 8,0 ± 6,4 (n=4) | 1,7 ± 1,7 (n=4) | 70,5 ± 12,6 (n=4) | 269,7 ± 269,7 (n=4) | 4,1 ± 0,6 (n=6) |
| Pinacidil Drug Control (c) | 96,5 ± 4,5 (n=2) | 5,3 ± 2,7 (n=2) | 0,0 (n=2) | 101,3 ± 1,2 (n=2) | 0,0 (n=2) | 5,3 ± 1,0 (n=6) |
| Pinacidil Drug (d) | 27,6 ± 11,8 (n=6) | 2,6 ± 1,8 (n=6) | 11,9 ± 11,9 (n=6) | 42,3 ± 21,4*c (n=6) | 11,9 ± 11,9 (n=6) | 3,1 ± 0,8*c (n=8) |

VPC; Ventricular premature contraction, VT; Ventricular tachycardia, VF; Ventricular fibrillation
n: Number of animals

Table 6

The Type, Duration, And Score of Arrhythmia During 15 Minutes of Reperfusion Following 6 Minutes of Ischemia, (Mean ± Standart Error) *P<0,05, **P<0,01, *A: Difference from Glimeprid Control, *C: Difference from Pinacidil Control

| | VPC (Sec) | VT (Sec) | VF (Sec) | Total arrhythmia (Sec) | Bradycardi a (Sec) | Score of arrhythmia |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Glimepride Drug Control (a) | 4,1 ± 2,7 (n=6) | 1,1 ± 1,1 (n=6) | 1,8 ± 1,9 (n=6) | 7,1 ± 5,5 (n=6) | 155,8 ± 155,8 (n=6) | 1,7 ± 0,99 (n=7) |
| Glimepride Drug (b) | 62,6 ± 59,1 *a (n=5) | 1,2 ± 0,8 (n=5) | 0,0 ± 0,0 (n=5) | 63,8 ± 59,3 *a (n=5) | 4,2 ± 4,2 (n=5) | 2,8 ± 1 (n=7) |
| Pinacidil Drug Control (c) | 4,0 ± 2,8 (n=7) | 2,2 ± 1,8 (n=7) | 0,4 ± 0,4 (n=7) | 6,7 ± 4,7 (n=7) | 0,0 ± 0,0 (n=7) | 1,1 ± 0,6 (n=7) |
| Pinacidil Drug (d) | 1,5 ± 1,5 (n=6) | 0,0 ± 0,0 *c (n=6) | 0,0 ± 0,0 *c (n=6) | 1,5 ± 1,5 (n=6) | 0,0 ± 0,0 (n=6) | 0,1 ± 0,1 *c (n=6) |

VPC; Ventricular premature contraction, VT; Ventricular tachycardia, VF; Ventricular fibrillation
n: Number of animals

Table 8

The Death Rate and The Incidence of Arrhythmia at The End Of 20 Minutes of Ischemia in Rats. Mean \pm Standart Error, *P<0,05, **P<0,01, **A: Difference from Glimeprid Control, *C: Difference from Pinacidil Control

| Groups | N | Death rate (N) / % | Arrhythmia, N/% | | | BradycardiaN/ % |
|--------------------------------|---|-----------------------|-----------------|-----------|----------|--------------------|
| | | | VPC | VT | VF | |
| Glimepride Drug Control (a) | 5 | 0 / 0 | 4 / 67 | 1 / 17 | 2 / 33 | 3 / 50 |
| Glimepride Drug (b) | 6 | 2 / 33**a | 6 / 100 | 4 / 67**a | 2 / 33 | 3 / 50 |
| Pinacidil Drug Control (c) | 6 | 4 / 67 | 6 / 100 | 4 / 67 | 3 / 86 | 2 / 33 |
| Pinacidil Drug (d) | 8 | 2 / 25*c | 6 / 75 | 2 / 25*c | 1 / 13*c | 3 / 38 |

VPC; Ventricular premature contraction, VT; Ventricular tachycardia, VF; Ventricular fibrillation, N; Number of animals

Discussion

In several previous studies, the antiarrhythmic or proarrhythmic effect of ATP-dependent potassium channels in experimentally produced myocardial ischemia or reperfusion was observed in animals (2,13,20). ATP-dependent channel opener, pinacidil (2,13, 21,22), and glimepride (8) were shown to be effective to decrease ischemia or reperfusion-induced arrhythmia. In these studies, drugs were given to animals intravenously or intraperitoneally before coronary ligation. Similarly to some of previous study indicated above, pinacidil was found to be effective to decrease ventricular type of arrhythmia when it was administered in the acute stage of ischemia and also at reperfusion period. However, glimepride was not found to be effective in decreasing the arrhythmia observed during 20 minutes of ischemia, but oppositly glimepride administered at the start of reperfusion nonsignificantly increased the arrhythmia. The antiarrhythmic effect of pinacidil observed in this study may be due to its vasodilator effect or decreasing heterogeneity in action potential duration between ischemic and nonischemic cells. Pinacidil induces NO release and activates the Na/H⁺ exchanger (23). Vasodilator effect of pinacidil may increase blood flow via the collateral to the ischemic myocardium and decrease ischemia-induced damage and arrhythmia. Pinacidil was observed to increase coronary blood flow during ischemia and reperfusion even in very low doses (24). Antiarrhythmic effect of pinacidil in the acute stage may also be caused by decreased calcium overload in myocardial cell (25). Calcium overload increases in myocardial cells in prolonged action potential and increase contraction and oxygen usage. This might be the cause of increased reperfusion induced arrhythmia in glimepride treated group. Otherwise pinacidil decreases calcium overload and contraction and myocardial oxygen usage and increases resistance against ischemic injury. Early after depolarization (EAD) is one of the causes of arrhythmia occurred following ischemia or reperfusion. Pinacidil was shown to decrease EAD with abnormal automaticity generated in the Purkinje cell (26). Pinacidil decreases the action potential and duration of QT interval (27, 28) and increases the recovery of action potentials in ischemic cells (29). The heterogeneity in action potentials occurring in ischemic and

non-ischemic cells is a major cause of arrhythmia. Antiarrhythmic effect of ATP dependent potassium channel opener even blocker may depend on their effect to decrease heterogeneity in action potentials. Heterogeneity in action potentials duration was observed even between epicardial and endocardial nonischemic myocardial cells and pinacidil decreased this heterogeneity (30). It was also observed that pinacidil decreased the action potential duration in epicardial cells more than the endocardial cells (31). The elevation of the ST segment that occurs just the following ischemia was not observed after pinacidil administration (32). All of these effects of pinacidil mentioned above might be responsible for less arrhythmia observed during ischemia or reperfusion in the present study.

Glimepiride is an antidiabetic drug used in the treatment of diabetes. It was shown that cardiovascular disease and morbidity are lesser in patients using glimepride than the other sulphonylurea drugs (33). It was also indicated that glimepride increases coronary sudden death and decreases the incidence of ventricular arrhythmia (34). In the present study, glimepride was not effective to decrease or increase arrhythmia during 20 minutes of ischemia, but similarly, it increased the death of animals. There are a few studies investigating the pretreatment effect of glimepride on ischemia-reperfusion-induced arrhythmia (9) and there was no study found on the acute effect of glimepride on ischemia or reperfusion-induced arrhythmia. Glimepride is ineffective to block the preconditioning effect of ischemia even potentiating the preconditioning effect of ischemia concerning other sulphonylurea drugs such as glibenclamide (35). Glimepride blocks the sarcolemmal ATP dependent potassium channel but without effect on the mitochondrial ATP dependent potassium channel and this effect of glimepiride was shown to block by pinacidil (5). The blockage of the sarcolemmal ATP-dependent potassium channel is more effective to decrease ventricular arrhythmia than the blockage of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel (36). It was found that glimepride increases NO production from an embryonic stem cell (6). It was also shown that glimepride is less effective than glibenclamide to decrease coronary blood flow and contraction (37). All of these mentioned above studies support there is a protective effect of glimepride against ischemia. In our study, a nonsignificant protective effect of glimepride against arrhythmia was seen during 20 minutes ischemic period, but it did not have a significant effect on the score of arrhythmia. There was also no significant effect of acute administration of glimepride on the arrhythmia when it was given at reperfusion period. The reason for the ineffectiveness of glimepride on reperfusion-induced arrhythmia might be due to the time and route of administration. In a previous study, glimepiride was given intraperitoneally before coronary ligation, but in this study, it was administered intravenously (9). The time, route, and dose of glimepride or pinacidil may be a factor in decreasing or increasing arrhythmia. The action potentials in ischemic cells shorten and pinacidil may decrease heterogeneity in AP duration between the ischemic and non-ischemic regions and decrease arrhythmia. But glimepiride given during ischemia will not be effective on the normoxic myocardial cells, because ATP-dependent potassium channels in normal myocardial cells are in a closed state. Glimepiride administered following coronary ligation was possibly ineffective on the ischemic cells, because glimepride given just the following ligation could not be reached the ischemic region. In reperfusion, the heterogeneity in AP of myocardial cells in the reperfused region is higher and that's why normally more severe ventricular arrhythmia is seen in this period (38). Pinacidil increases blood flow to the normal and reperfused myocardial region and recovers the ischemic myocardial cell earlier. Since pinacidil decreases heterogeneity in AP duration, the ventricular arrhythmia and the score of arrhythmia decreased during the reperfusion period. Glimepride was expected to decrease the ventricular arrhythmia and the score of arrhythmia in the reperfusion period, but it did not. A possible explanation for that glimepiride increases heterogeneity in AP duration, especially during reperfusion, and induces more ventricular tachycardia and ventricular premature contraction. Glimepride used in a 1mg/kg dose may be higher and may increases heterogeneity in AP duration of myocardial cells more in the reperfused region and that may be the cause of more ventricular arrhythmia observed in the I/R group.

Conclusion

Pinacidil decreases arrhythmia when it was given in the acute stage of ischemia or reperfusion. Glimepiride was nonsignificantly effective in decreasing ventricular arrhythmias when it was administered in the ischemic period but not effective on the arrhythmia when it was administered reperfusion period. More studies are needed specially to find the effective dose of glimepiride on ischemia or reperfusion-induced arrhythmia.

Study Limitation: The number of animals used in this study was limited to 10 animals for each group. Dose-dependent effect of pinacidil and glimepiride on the ischemia-reperfusion arrhythmias could not be studied.

Ethics Committee Approval: The study was approved by the local animal ethic committee of Abant İzzet Baysal University (Protocol numbers: 2019-21/53, 2019-24/51).

Informed Consent: N/A.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Bolu Abant İzzet Baysal University Research Fund (Protocol number: BAP 2020.03.01.1442) and Bilim Pharmaceuticals Company, Istanbul/Türkiye. This research was performed in Abant İzzet Baysal University Cardiovascular Research Laboratory of Biology Department. Bilim Drug company supported the project financially to buy laboratory animals. Two MSc students studied in this project toward their MSc degree and the financial support to buy other materials for the project was supported by Abant İzzet Baysal University.

References

1. Sara JD, Eleid MF, Gulati R, Holmes DR Jr. Sudden cardiac death from the perspective of coronary artery disease. *Mayo Clinic Proceedings* 2014; 89(12):1685-98.
2. Gonca E, Bozdogan O. Both mitochondrial KATP channel opening and sarcolemmal KATP channel blockage confer protection against ischemia/reperfusion-induced arrhythmia in anesthetized male rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 2010;15(4): 403-411.
3. Basit A, Riaz M, Fawwad A. Glimepiride: evidence-based facts, trends, and observations (GIFTS). *Vascular Health and Risk Management* 2012; 8: 463-472.
4. Aravind, S. R., Mittal, S., Venkatraman, S., Deka, N., Parmar, G., Amarnath, S., & Mohan, V. Cardiovascular Profile of Modern Sulfonylureas: Focus on Glimepiride. *Journal of the Association of Physicians of India* 2019; 67: 17
5. Mocanu MM, Maddock HL, Baxter GF, Lawrence CL, Standen NB, Yellon DM. Glimepiride, a novel sulfonylurea, does not abolish myocardial protection afforded by either ischemic preconditioning or diazoxide. *Circulation* 2001; 103(25): 3111-3116.
6. Ueba H, Kuroki M, Hashimoto S, Umemoto T, Yasu T, Ishikawa SE, Saito M, Kawakami M. Glimepiride induces nitric oxide production in human coronary artery endothelial cells via a PI3-kinase-Akt dependent pathway. *Atherosclerosis* 2005; 183(1): 35-39.
7. Végh A, Papp JG. Hemodynamic and other effects of sulphonylurea drugs on the heart. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1996; 31: (Suppl 2); S43-53.
8. Bozdogan, O., Leprán, I., & Papp, J. G. Effect of glimepiride and glibenclamide, inhibitors of ATP-dependent K (+)-channel, on ischemia-reperfusion induced arrhythmias in rats. *Acta Physiologica Hungarica* 1996; 84(3): 265-266
9. El-Reyani NE, Bozdogan O, Baczkó I, Leprán I, Papp JG. Comparison of the efficacy of glibenclamide and glimepiride in reperfusion-induced arrhythmias in rats. *European Journal of Pharmacology* 1999; 365(2-3): 187-192.

10. Goldberg MR. Clinical pharmacology of pinacidil, a prototype for drugs that affect potassium channels. *Journal Cardiovascular Pharmacology* 1988; 12 (Suppl 2): S41-47.
11. Fish FA, Prakash C, Roden DM. Suppression of repolarization-related arrhythmias in vitro and in vivo by low-dose potassium channel activators. *Circulation* 1990; 82(4): 1362-1369.
12. Fedorov VV, Glukhov AV, Ambrosi CM, Kosteki G, Chang R, Janks D, Schuessler RB, Moazami N, Nichols CG, Efimov IR. Effects of KATP channel openers diazoxide and pinacidil in coronary-perfused atria and ventricles from failing and non-failing human hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2011; 51(2): 215-225.
13. Cole WC, McPherson CD, Sontag D. ATP-regulated K⁺ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. *Circulation Research* 1991; 69(3): 571-581.
14. Leprán I, Baczkó I, Varró A, Papp JG. ATP-sensitive potassium channel modulators: both pinacidil and glibenclamide produce antiarrhythmic activity during acute myocardial infarction in conscious rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1996 Jun; 277(3):1215-20.
15. Antzelevitch, C., & Di Diego, J. M. Role of K⁺ channel activators in cardiac electrophysiology and arrhythmias. *Circulation* 1992; 85(4): 1627-1629
16. D'Alonzo AJ, Zhu JL, Darbenzio RB, Dorso CR, Grover GJ. Proarrhythmic effects of pinacidil are partially mediated through enhancement of catecholamine release in isolated perfused guinea-pig hearts. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 1998; 30(2): 415-23.
17. Yaşar S, Bozdoğan Ö, Kaya ST, Orallar HS. The effects of ATP-dependent potassium channel opener; pinacidil, and blocker; glibenclamide, on the ischemia-induced arrhythmia in partial and complete ligation of coronary artery in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2015;18(2):188-193.
18. Curtis MJ, Hancox JC, Farkas A, Wainwright CL, Stables CL, Saint DA, Clements-Jewery H, Lambiase PD, Billman GE, Janse MJ, Pugsley MK, Ng GA, Roden DM, Camm AJ, Walker MJ. The Lambeth Conventions (II): guidelines for the study of animal and human ventricular and supraventricular arrhythmias. *Pharmacol Ther.* 2013 Aug;139(2):213-48.
19. Leprán, I., Koltai, M., & Szekeres, L. Coronary artery ligation, early arrhythmias, and determination of the ischemic area in conscious rats. *Journal of Pharmacological Methods* 1983; 9(3): 219-230
20. Leonard CE, Hennessy S, Han X, Siscovick DS, Flory JH, Deo R. Pro- and Antiarrhythmic Actions of Sulfonylureas: Mechanistic and Clinical Evidence. *Trends Endocrinology Metabolism* 2017; 28(8): 561-586.
21. Spinelli W, Sorota S, Siegal M, Hoffman BF. Antiarrhythmic actions of the ATP-regulated K⁺ current activated by pinacidil. *Circulation Research* 1991; 68(4): 1127-1137.
22. Friedel HA, Brogden RN. Pinacidil. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the treatment of hypertension. *Drugs* 1990; 39(6): 929-967.
23. Iguchi, K., Saotome, M., Yamashita, K., Ikoma, T., Hasan, P., Maekawa, Y., & Watanabe, Y. The Effects of Pinacidil, an ATP Sensitive K⁺ Channel Opener on Cardiac Na⁺/Ca²⁺ Exchanger Function in Guinea Pig Cardiomyocytes. *Biophysical Journal* 2019; 116(3): 98a-99a.
24. Tosaki A, Szerdahelyi P, Das DK. Reperfusion-induced arrhythmias and myocardial ion shifts: a pharmacologic interaction between pinacidil and cicletanine in isolated rat hearts. *Basic Research Cardiology* 1992; 87(4): 366-384.
25. Zhang L, Cao S, Deng S, Yao G, Yu T. Ischemic postconditioning and pinacidil suppress calcium overload in anoxia-reoxygenation cardiomyocytes via down-regulation of the calcium-sensing receptor. *Peer Journal* 2016; 2612; 1-14.
26. Antzelevitch, C., & Di Diego, J. M. Role of K⁺ channel activators in cardiac electrophysiology and arrhythmias. *Circulation* 1992; 85(4): 1627-1629
27. Frommeyer G, Garthmann J, Ellermann C, Dechering DG, Kochhäuser S, Reinke F, Köbe J, Wasmer K, Eckardt L. Broad antiarrhythmic effect of mexiletine in different arrhythmia models. *Europace* 2018; 20(8): 1375-1381.

28. An MY, Sun K, Li Y, Pan YY, Yin YQ, Kang Y, Sun T, Wu H, Gao WZ, Lou JS. Therapeutic effects of a taurine-magnesium coordination compound on experimental models of type 2 short QT syndrome. *Acta Pharmacologica Sinica* 2018; 39(3): 382-392.
29. Cole WC, McPherson CD, Sontag D. ATP-regulated K⁺ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. *Circulation Research* 1991; 69(3):571-81.
30. Di Diego, J. M., & Antzelevitch, C. Pinacidil-induced electrical heterogeneity and extrasystolic activity in canine ventricular tissues. Does activation of ATP-regulated potassium current promote phase 2 reentry? *Circulation* 1993; 88(3): 1177-1189
31. Yan GX, Antzelevitch C. Cellular basis for the Brugada syndrome and other mechanisms of arrhythmogenesis associated with ST-segment elevation. *Circulation* 1999;100(15):1660-1666.
32. Ichiro Watanabe and Leonard S. Gettes. Effects of Pinacidil on ST-T Wave Alternans During Acute Myocardial Ischemia in the In-situ Pig Heart. *J. Nihon University. Medical Association* 2017; 76 (6): 273–279
33. Aravind, S. R., Mittal, S., Venkatraman, S., Deka, N., Parmar, G., Amarnath, S., & Mohan, V. Cardiovascular Profile of Modern Sulfonylureas: Focus on Glimepiride. *Journal of the Association of Physicians of India* 2019; 67: 17
34. Leonard CE, Brensinger CM, Aquilante CL, Bilker WB, Boudreau DM, Deo R, Flory JH, Gagne JJ, Mangaali MJ, Hennessy S. Comparative Safety of Sulfonylureas and the Risk of Sudden Cardiac Arrest and Ventricular Arrhythmia. *Diabetes Care* 2018; 41(4): 713-722.
35. Hausenloy, D. J., Wynne, A. M., Mocanu, M. M., & Yellon, D. M. Glimepiride treatment facilitates ischemic preconditioning in the diabetic heart. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics* 2013; 18(3): 263-269
36. Vajda S, Baczkó I, Leprán I. Selective cardiac plasma-membrane K(ATP) channel inhibition is defibrillatory and improves survival during acute myocardial ischemia and reperfusion. *European Journal of Pharmacology* 2007; 577(1-3): 115-23.
37. Végh A, Papp Hemodynamic and other effects of sulphonylurea drugs on the heart. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1996; 31 Suppl: S43-53.
38. Hayashi, H., Terada, H., & McDonald T. F. Electrical heterogeneity and conduction block in reoxygenated guinea pig papillary muscles. *Japanese heart journal* 1996; 37(3): 383-391



Estimation of LDL-C Using Machine Learning Models and its Comparison with Directly Measured and Calculated LDL-C in Turkish Pediatric Population

Türk Pediatrik Popülasyonunda Makine Öğrenimi Modelleri Kullanılarak LDL-K Tahmini ve Doğrudan Ölçülen ve Hesaplanan LDL-K ile Karşılaştırılması

Necla KOÇHAN ^{1*} 

^{1*} İzmir Biomedicine and Genome Center (IBG), İzmir, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 11.12.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 03.04.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Abstract

Objective: The assessment of lipid profiles in children is critical for the early detection of dyslipidemia. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) is one of the most often used measures in diagnosing and treating patients with dyslipidemia. Therefore, accurate determination of LDL-C levels is critical for managing lipid abnormalities. In this study, we aimed to compare various LDL-C estimating formulas with powerful machine-learning (ML) algorithms in a Turkish pediatric population.

Materials and Methods: This study included 2,563 children under 18 who were treated at Sivas Cumhuriyet University Hospital in Sivas, Türkiye. LDL-C was measured directly using Roche direct assay and estimated using Friedewald's, Martin/Hopkins', Chen's, Anandaraja's, and Hattori's formulas, as well as ML predictive models (i.e., Ridge, Lasso, elastic net, support vector regression, random forest, gradient boosting and extreme gradient boosting). The concordances between the estimates and direct measurements were assessed overall and separately for the LDL-C and TG sublevels. Linear regression analyses were also carried out, and residual error plots were created between each LDL-C estimation and direct measurement method.

Results: The concordance was approximately 0.92-0.93 percent for ML models, and around 0.85 percent for LDL-C estimating formulas. The SVR formula generated the most concordant results (concordance=0.938), while the Hattori and Martin-Hopkins formulas produced the least concordant results (concordance=0.851).

Conclusion: Since ML models produced more concordant LDL-C estimates compared to LDL-C estimating formulas, ML models can be used in place of traditional LDL-C estimating formulas and direct assays.

Keywords: Cardiovascular Diseases, Cholesterol, Lipoproteins, Low-Density Lipoprotein, Machine Learning

&

Öz

Amaç: Çocuklarda lipid profillerinin değerlendirilmesi, dislipideminin erken saptanması için kritik öneme sahiptir. Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), dislipidemik hastaların teşhis ve tedavisinde en sık kullanılan ölçümlerden biridir. Bu nedenle, LDL-K düzeylerinin doğru belirlenmesi, lipid anormalliklerinin yönetimi için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada, Türk pediatrik popülasyonunda çeşitli LDL-K tahmin formüllerini güçlü makine öğrenmesi algoritmalarıyla karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde tedavi gören 18 yaş altı 2,563 çocuk dahil edildi. LDL-K değerleri Roche direkt yöntemi kullanılarak ölçüldü ve Friedewald, Martin/Hopkins, Chen, Anandaraja ve Hattori formülleri ile makine öğrenmesi modelleri (Ridge, Lasso, elastik net, destek vektör regresyonu, rastgele orman, gradyan artırma ve aşırı gradyan artırma) kullanılarak tahmin edildi. Tahminler ve direkt ölçümler arasındaki uyum hem genel olarak hem de LDL-K ve TG alt seviyeleri için ayrı ayrı değerlendirildi. Ayrıca, doğrusal regresyon analizleri gerçekleştirilmiş olup her bir LDL-K tahmini ile direkt ölçüm yöntemi arasındaki fark artık hata grafikleri ile gösterilmiştir.

Bulgular: Tahminlenen LDL-K değerleri ile Roche direkt metodu ile ölçülen LDL-K değerleri arasındaki uyum, makine öğrenmesi modelleri için yaklaşık yüzde 0,92-0,93 ve LDL-K tahmin formülleri için yaklaşık %0,85 idi. Destek vektör regresyonu en uyumlu sonuçları (uyum=0,938) verirken, Hattori ve Martin-Hopkins formülleri en az uyumlu sonuçları (uyum=0,851) vermiştir.

Sonuç: Makine öğrenmesi modelleri, LDL-K tahmin formüllerine kıyasla daha uyumlu LDL-K tahmini yaptığından, makine öğrenmesi modelleri, geleneksel LDL-K tahmin formülleri ve doğrudan analizlerin yerine kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyovasküler Hastalıklar, Kolesterol, Lipoproteinler, Düşük-Yoğunluklu Lipoprotein, Makine Öğrenimi

Atıf/Cite as: Koçhan, N. (2023). Estimation of LDL-C using machine learning models and its comparison with directly measured and calculated LDL-C in Turkish pediatric population. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 63-75. DOI: 10.47493/abantmedj.1217478

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

Introduction

Cardiovascular diseases (CVDs) are the leading cause of death worldwide. Dyslipidemia, a condition caused by abnormal lipoprotein metabolism, is a significant risk factor for CVDs. It produces atherosclerotic lesions in children ages 2 to 16, leading to an elevated risk of CVDs later in their lives (1,2). Indeed, fatty lines and other early symptoms of atherosclerosis have been observed in children as young as two years old (1). Therefore, if the symptoms of CVD development are detected in childhood, CVDs can be prevented later in their adulthoods with earlier interventions, such as lowering lipid levels or regulating lipid status, which have been shown as effective interventions not only for primary but also for secondary preventions (3–5).

The serum level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) is one of the most critical markers used for CVD risk assessment (6,7). The gold standard for LDL-C measurement is β -quantification, where lipoprotein particles are separated by ultracentrifugation (8). However, β -quantification is inappropriate for routine use because it is costly, time-consuming, necessitates a large cohort and some specialized tools (9–12). Therefore, except in a few laboratories, the use of this method has remained limited (12) and other direct methods or various equations such as Friedewald and Martin/Hopkins equations are mostly preferred to measure LDL-C levels.

LDL-C estimate using the Friedewald formula was a brand-new method that was introduced in 1972. Due to its benefits over β -quantification methods, including cost effectiveness and time savings, it established a new norm in clinical guidelines worldwide (9). This method, despite its extensive use in clinical laboratories, has several limitations. First, Friedewald uses TG/5 formula (TG: triglycerides) to calculate very-low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C), which does not always provide an accurate estimate. Second, the Friedewald formula necessitates fasting serum for accurate LDL-C estimation. The chylomicrons present in the fed state lead to an overestimated VLDL-C (8). The use of Friedewald's equation is not recommended in the presence of high TG concentrations (TG>400) and type III hyperlipidemia. The third limitation is that in cases where LDL-C is <70 and TG \geq 150 mg/dL, it may lead to underestimation of LDL-C and inadequate treatment of patients (13). To overcome such limitations, others have developed new formulas. Martin/Hopkins formula is one of those formulas that estimates an adjustable ratio using triglyceride and non-high-density lipoprotein (non-HDL-C) levels (14). Thus, with a more accurate estimate of VLDL-C, the LDL-C calculation is assumed to be more reliable. The use of the Martin/Hopkins formula was recommended in 2018 by the American College of Cardiology and American Heart Association guidelines for those with low LDL-C due to the advantages of the formula (15). Additionally, other formulas such as Chen (16), Anandaraja (17), and Hattori (18) have been developed. Even though these formulas have been validated in various populations, additional research is still required (19). Recently, machine learning (ML) methods such as gradient boosting, random forest, and support vector machines, etc., have been investigated for LDL-C estimation in different populations (19–22). However, the literature on the pediatric population particularly in Turkish pediatric population regarding LDL-C estimation is limited, and while ML approaches are employed, their application to the pediatric population is limited, as well.

Therefore, the purpose of this study was to examine the validity of the LDL-C levels estimated by various LDL-C estimating formulas (i.e., Friedewald, Martin-Hopkins, Chen, Anandaraja, Hattori) and powerful ML algorithms with the directly measured LDL-C levels by Roche commercial kits in the pediatric population of Türkiye.

Materials and Methods

Study Population

The study was conducted in a retrospective design and the study cohort consisted of 2,356 lipid profile samples collected between March 3, 2011, and December 31, 2019. The LDL-C, HDL-C, TG, and total

cholesterol (TC) lipid profiles that were directly measured between these dates were analyzed. The study was carried out in compliance with the Declaration of Helsinki and followed Good Clinical Practice guidelines. This study was approved by Sivas Cumhuriyet University of medical sciences with document no: 2022-06/02 (date: 22.06.2022).

Lipid Measurements

Roche (Mannheim-Germany) Cobas 8000, c-702 and c-501 modules were utilized to directly measure HDL-C, LDL-C, TG and TC. The colorimetric enzymatic reaction is used for all other measures. The analytical coefficient of variation (CV) for each parameter on each module was calculated by using two-level internal quality control results over a one-year period and pooled CV results were established using these data. The bias for each parameter on each module was given as the average absolute % deviation determined from the external quality assessment over the same year period. Bias and CV values for Cobas c501 were found as follows, respectively; 3.34 and 3.49 for TC; 2.77 and 3.92 for HDL-C; 3.51 and 2.85 for LDL-C; 3.25 and 2.69 for TG. Bias and CV values for Cobas c702 were found as follows, respectively; 4.0 and 3.29 for TC; 3.05 and 2.90 for HDL-C; 3.63 and 3.58 for LDL-C; 3.30 and 2.86 for TG.

Lipid Estimations by Formulas and Machine Learning Models

To estimate LDL-C concentration, we used both traditional LDL-C estimating formulas and ML algorithms. For traditional formulas, we used Friedewald (9), Martin/Hopkins (14), Chen (16), Anandaraja (17) and Hattori (18). These formulas are listed below.

Friedewald's LDL-C estimation formula, which is denoted by LDL-C_F, is defined as follows:

$$LDL-C_F = TC - HDL-C - (TG/5)$$

Martin/Hopkins LDL-C estimation formula denoted by LDL-C_M is defined as follows:

$$LDL-C_M = TC - HDL-C - (TG/C)$$

In this formula, C denotes the adjustable factor that is used to estimate the TG/VLDL-C ratio. As stated in (14), 180-cell strata-specific median TG/VLDL-C ratio table was generated to estimate C. These median ratios range between 3 to 12 and are calculated using the TG and non-HDL-C sublevels. For more details and the 180-cell strata table, the readers are referred to see (14).

Chen's LDL-C estimation formula, which is denoted by LDL-C_C, is defined as

$$LDL-C_C = (0.9*TC) - (0.9*HDL-C) - (0.1*TG)$$

Anandaraja's LDL-C estimation formula, which is denoted by LDL-C_A, is defined as

$$LDL-C_A = (0.9*TC) - (0.9*TG/5) - 28$$

Hattori's LDL-C estimation formula, which is denoted by LDL-C_H, is defined as

$$LDL-C_H = (0.94*TC) - (0.94*HDL-C) - (0.19*TG)$$

For ML algorithms, we implemented Ridge, Lasso, elastic net, random forest (RF), gradient boosting (GBM), extreme gradient boosting (XGBoost), and support vector regression (SVR), algorithms using TC, TG and HDL-C to predict the LDL-C concentrations. Ridge, Lasso and elastic net are three widely used penalized regression models, each of which aim to decrease the number of regression coefficients by shrinking the coefficients towards zero. Ridge regression penalizes the regression model with a penalty term called L2-norm, whereas Lasso penalizes the regression model with a penalty term called L1-norm. The penalty can be fine-tuned using a constant known as lambda (λ). Elastic net, on the other hand, is a convex combination of Ridge and Lasso models. For more details, readers are referred to (23,24). RF is an ensemble learning model that combines multiple decision trees to produce more accurate predictions or results. It has numerous advantages, including the avoidance of overfitting (23). Gradient boosting is a

boosting learning algorithm that learns from the previous mistakes-residual errors and XGBoost is an optimized GBM with high speed and performance. Support Vector Regression (23) operates on the same principle as the support vector machines. The main goal is to find the line that fits the data the best. This line is called as hyperplane.

For ML algorithms, the original dataset was randomly split into training (70%) and test (30%) sets. The model was trained using the training set, and the model's performance was evaluated using the test set. The models' hyperparameters were fine-tuned using 10-fold- cross-validation. The caret package in R (version 4.0.4) was used to implement ML models (25).

Statistical Analysis

To assess the performance of the regression models, standard error of the estimate (SEE) was calculated using the following formula:

$$SEE = \sqrt{\frac{(\text{Observed} - \text{Predicted})^2}{N}}$$

where N is the number of observations in the data. The 95% confidence interval for each model was also calculated using chi-square distribution with N-1 degrees of freedom:

$$\sqrt{\frac{\sum(N-1)SEE^2}{\chi_{0.025}^2}} < SEE < \sqrt{\frac{\sum(N-1)SEE^2}{\chi_{0.975}^2}}$$

The overall concordance statistic was used to determine the consistency between estimated LDL-C and directly measured LDL-C. The concordance statistic, which was calculated as the ratio of direct LDL-C within a specific range as estimated LDL-C levels in the same range as direct LDL-C, was mathematically defined as follows:

$$\text{Concordance} = \frac{\# \text{ of } A \cap B}{\# \text{ of } B}$$

where A and B denote the samples with estimated LDL-C within a specific range and the samples with directly measured LDL-C in the same range as A, respectively. The concordance statistics for TG and non-HDL-C sublevels were also computed. In order to compare the estimated and directly measured LDL-C levels, ordinary least squares regression analyses were employed for each method and Roche direct assay. Moreover, residual error plots were produced to demonstrate the difference between measured and estimated LDL-C levels based on TG levels. R 4.0.4 (www.r-project.org) was used to perform all statistical analyses.

Results

Patient Characteristics

Table 1 summarizes the patient characteristics. The study included a total of 2,356 children, with 57.85% being females and 42.15% being males. The median age of all individuals participated in this study was 13(9-16). The mean values of directly LDL-C, TC, TG, and HDL-C levels were 94.36±32.26 mg/dL,

152.96±36.80 mg/dL, 118.05±67.69 mg/dL, and 45.64±12.39 mg/dL, respectively. Patient characteristics for both the training and the test sets were also given (see Table 2).

Table 1

Characteristics of the study population (N = 2,356)

| Characteristics | Values |
|----------------------------|--------------|
| Age (years) | 13(9-16) |
| Sex | |
| Female | 1363 (57.85) |
| Male | 993 (42.15) |
| Lipid values | |
| TC (mg/dL) | 152.96±36.80 |
| TG (mg/dL) | 118.05±67.69 |
| HDL-C (mg/dL) | 45.64±12.39 |
| Non-HDL-C (mg/dL) | 107.32±34.89 |
| LDL-C _D (mg/dL) | 94.36±32.26 |

Values are presented as N (%), mean±SD or median (1st – 3rd quartiles). TC: total cholesterol; TG: triglycerides; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-CD: low-density lipoprotein cholesterol measured by Roche direct assay

Table 2

Characteristics Of the Training and Test Sets

| Characteristics | Values (Training) | Values (Test) |
|----------------------------|-------------------|---------------|
| Age (years) | 13(9-16) | 13(10-15.5) |
| Sex | | |
| Female | 709 (43) | 284 (40.17) |
| Male | 940 (57) | 423 (59.83) |
| Lipid values | | |
| TC (mg/dL) | 152.9±37.34 | 153.20±35.52 |
| TG (mg/dL) | 118.40±67.69 | 117.30±67.73 |
| HDL-C (mg/dL) | 45.46±12.35 | 46.08±12.50 |
| Non-HDL-C (mg/dL) | 107.40±35.62 | 107.10±33.15 |
| LDL-C _D (mg/dL) | 94.30±33.06 | 94.510±30.32 |

Values are presented as N (%), mean±SD or median (1st – 3rd quartiles). TC: total cholesterol; TG: triglycerides; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-CD: low-density lipoprotein cholesterol measured by Roche direct assay

The Results of Hyperparameter Tuning

All ML methods were applied as recommended in the documentation and hyperparameters were tuned using 10-fold cross validation and grid search. In Ridge, Lasso, and elastic net models, the parameter that was tuned was lambda (range 0-1). The optimal lambda values for Ridge, Lasso, and elastic net were 0, 1, and 1e-08, respectively. Two parameters, sigma (range 0-1) and C (tradeoff between decision boundary and misclassification error, range 0.25-1), were fine-tuned in SVR. The best values for sigma and C were 0.001 and 1, respectively. We note here that radial basis kernel was chosen for SVR. The hyperparameters that were tuned in RF were number of trees (found 2000) and mtry, which is the number of variables randomly sampled as candidates at each split (found 3). For GBM, interaction depth (range 1-7), number of trees (range 500-5000), shrinkage or eta (learning rate, 0.01-0.1) and the minimum number of observations in the terminal nodes of trees (n.minobsinnode, range 10-15) were tuned. The optimal values for interaction depth, number of trees, learning rate and n.minobsinnode were 1, 5000, 0.01 and 10, respectively. For XGBoost, the number of rounds was set to 1000, gamma was set to 0 and maximum depth of tree (max.depth, range 1-5), the percentage of columns to be randomly sampled for each tree (colsample_bytree, range 1-3), learning rate (eta, range 0.025-0.1) and subsample (range 0.5-1) were fine-tuned. The optimal parameters for XGBoost were found to be 1 for max.depth, 0.1 for eta, and 1 for subsample.

Comparison of LDL-C Concentrations Calculated by Various Formulas and ML Models versus Roche Direct Assay

To assess and compare the performance of the formulas and predictive ML models, standard error of estimate was used. The SEE and 95% confidence intervals for the LDL-C estimating formulas and ML models are provided in Figure 1. While ML models performed comparably, they all outperformed the LDL-C estimating formulas. Ridge, Lasso, and elastic net models, on the other hand, outperformed all other ML models, with the lowest SEE (Figure 1). Furthermore, Chen's formula has the lowest SEE when compared to other LDL-C estimating formulas.

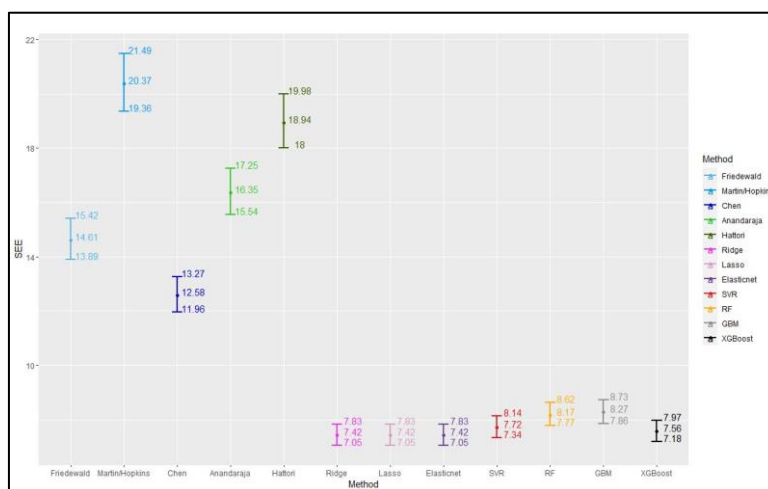


Figure 1. Standard error of estimate and 95% confidence intervals for each LDL-C estimating model. Each bar in the graph shows the lower confidence interval for SEE, SEE and the upper confidence for SEE from bottom to top, respectively. While x axis represents each model used for estimating LDL-C levels, y axis represents the SEE for each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models).

Overall Concordances of Each Method Used for LDL-C Estimation

The concordance statistic was used to assess the consistency between estimated LDL-C and directly measured LDL-C. Figure 2 shows the overall concordances for each formula and ML models. The concordance was about 0.92-0.93 percent for ML models, while it was around 0.85 percent for LDL-C estimating formulas. The SVR formula generated the most concordant results (concordance=0.938), while the Hattori and Martin-Hopkins formulas produced the least concordant results (concordance=0.851), as shown in Figure 2.

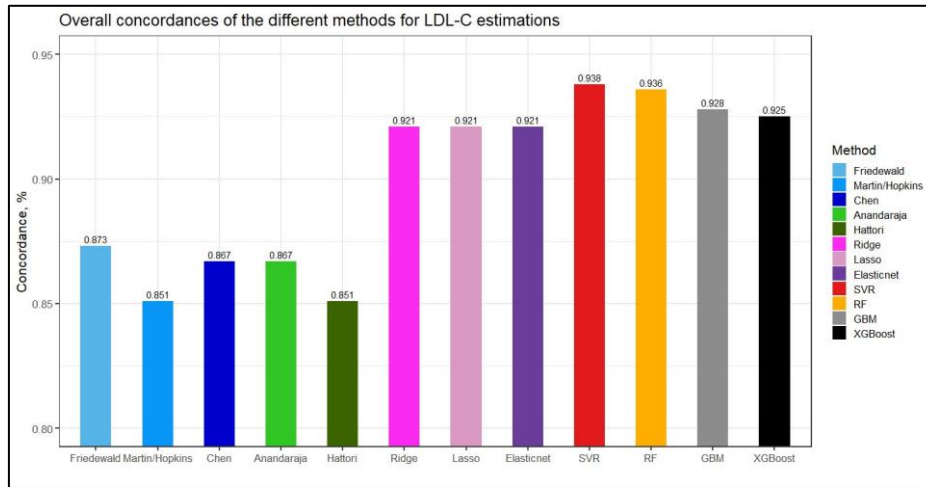


Figure 2. Overall concordance of each method used for LDL-C estimation. Overall concordances of each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models) used for LDL-C estimation are shown in a bar chart, with each bar displaying the concordance of LDL-C concentrations by each LDL-C estimating formulas or predictive ML models with the Roche direct assay.

Concordances of Each Method Used for LDL-C Estimation by LDL-C Sublevels

The concordances of each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models) used for LDL-C estimation by LDL-C sublevels (< 110 mg/dL, 110 to 129 mg/dL and \geq 130 mg/dL) are provided in Figure 3 and Supplementary File (Results.xlsx). When LDL-C was less than 110 mg/dL, the overall performance of LDL-C estimating formulas was superior to ML models. However, Anandaraja's formulas showed the least concordant result compared to LDL-C estimating formulas. Even though the Friedewald's formula was slightly better than Anandaraja's formula, the most concordant results were achieved with Hattori's formula. When LDL-C levels were between 110 and 129 mg/dL, each method's overall concordance decreased. However, the ML models gave the most concordant results. In contrast to the LDL-C<110 sublevel, Hattori had the lowest concordancy and Martin-Hopkins had the second lowest when LDL-C was between 110 and 129 mg/dL. It can be seen from figure that ML models outperformed the LDL-C estimating formulas and for ML models, the highest performances were achieved with SVR and RF models. When LDL-C was higher than 129 mg/dL, ML models performed better than LDL-C estimating formulas. Among LDL-C estimating formulas, Anandaraja's formula performed best, while SVR performed best among ML models.

Concordances of Each Method Used for LDL-C Estimation by Triglycerides Sublevels

The concordances of each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models) used for LDL-C estimation by triglycerides sublevels (<75 mg/dL, 75 to 129 mg/dL and \geq 130 mg/dL) are given in Figure 4 and Supplementary File (Results.xlsx). The results showed that ML models gave higher concordant results overall for each TG sublevels. The performance of ML models varies depending on TG sublevel. When TG<75 mg/dL, RF produced the most concordant results, whereas Anandaraja produced the least concordant results. The results of ML models such as SVR, Ridge, Lasso, and elastic net were quite similar. When the TG was between 75 mg/dL and 129 mg/dL, ML models outperformed the LDL-C estimating formulas in terms of concordance. SVR and RF performed the best among all ML models, and Anandaraja performed the best among all LDL-C estimating formulas. When TG was above 129 mg/dL, ML models produced the most concordant results, with SVR being the best. However, the overall concordance for each model decreased when TG \geq 130.

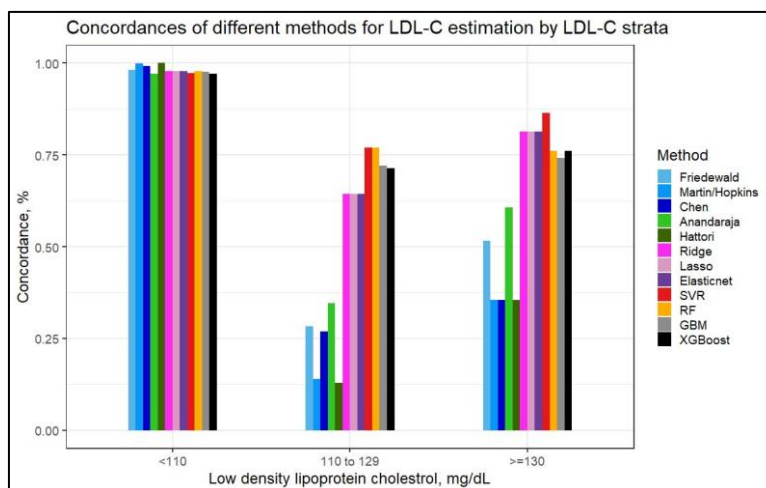


Figure 3. Concordance of each method used for LDL-C estimation by LDL-C sublevels. Concordances of each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models) for LDL-C estimation by LDL-C sublevels are shown in a bar chart, with each bar displaying the concordance of LDL-C concentrations by each LDL-C estimating formulas or predictive ML models with the Roche direct assay.

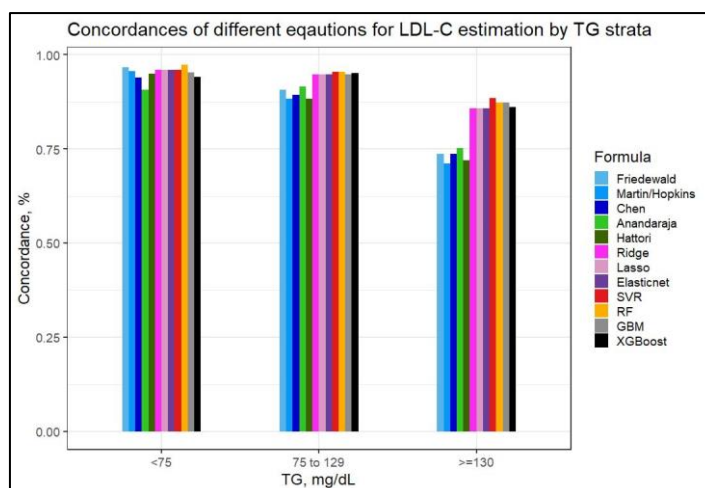


Figure 4. Concordance of each method used for LDL-C estimation by triglycerides sublevels. Concordances of each method (i.e., LDL-C estimating formulas and ML models) for LDL-C estimation by triglycerides sublevels are shown in a bar chart, with each bar displaying the concordance of LDL-C concentrations by each LDL-C estimating formulas or predictive ML models with the Roche direct assay for each triglycerides sublevel.

Regression Analysis Between Estimated and Directly Measured LDL-C Levels

Linear regression analyses were performed to investigate the relationship between estimated LDL-C levels and directly measured LDL-C levels. Figure 5 shows the regression plots between estimated and directly measured LDL-C levels for each formula and ML model. It is obvious to see that ML models display a better correlation with directly measured LDL-C levels overall.

The residual error plots, showing the difference between LDL-C estimations and direct measurements varies according to triglyceride levels, are given in Figure 6. It can be seen from the figure that LDL-C estimating formulas underestimated the LDL-C levels when TG level elevated. It was observed that the difference for ML models, particularly for Ridge, Lasso and elastic net was close to zero.

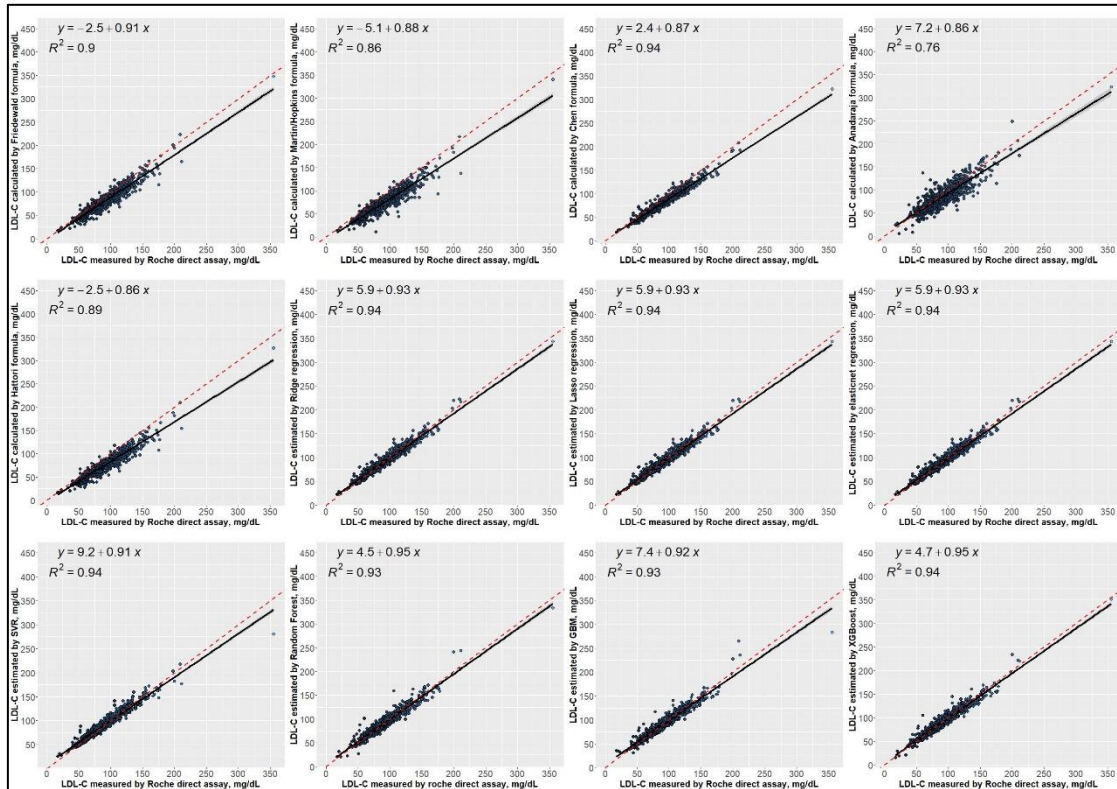


Figure 5. Regression analysis between estimated and directly measured LDL-C levels. Correlations between LDL-C levels estimated by different formulas or ML predictive models with LDL-C levels measured by Roche direct assay.

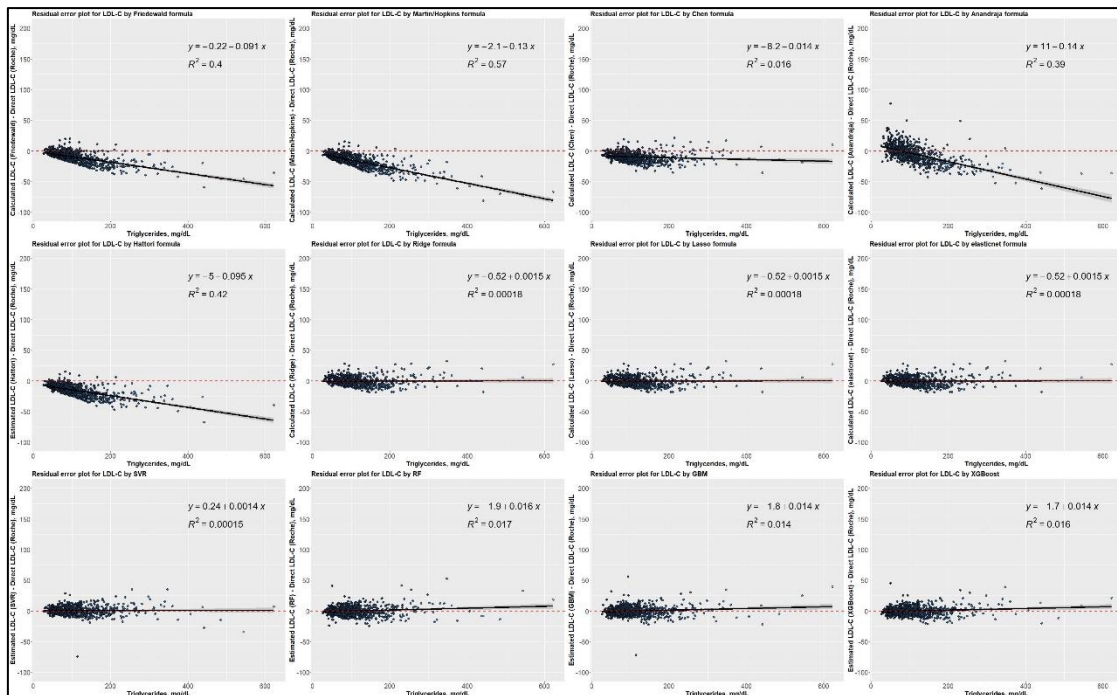


Figure 6. Residual error plots for LDL-C by either different formulas or ML predictive models with respect to Roche direct assay. The values on the x-axis demonstrate TG levels, while the values on the y-axis demonstrate the difference between estimated LDL-C (i.e., LDL-C estimating formulas and ML predictive models) and directly measured LDL-C.

Discussion

The standard error of estimate, which assesses the predictive power of the model, is a statistical measure used to estimate the accuracy of predictions or estimates made by a statistical model (26). It represents the average amount by which the observed values deviate from the predicted values, which helps us understand the variability of the data points around the regression line. We calculated the SEE for each model and the results showed that ML models outperformed the LDL-C estimating formulas in terms of SEE (Figure 1).

While studies investigating the association between LDL-C levels and cardiovascular risk in children and adolescents are relatively common, studies using machine learning algorithms for LDL-C estimation are limited. However, studies in adult populations have shown that ML algorithms can provide more accurate and reliable estimates of LDL-C levels compared to traditional equations (19,20,21,22), and our results suggest that this may also be true in the pediatric population. Our study demonstrated that ML algorithms outperformed the traditional LDL-C estimating equations in estimating LDL-C levels in a pediatric population, suggesting that ML algorithms may provide a more accurate and reliable approach for LDL-C estimation in the Turkish pediatric population. These findings highlight the potential utility of ML algorithms in improving cardiovascular risk assessment and management in children and adolescents. However, further studies are needed to confirm these findings and to evaluate the clinical utility of ML-based LDL-C estimation in the pediatric population.

Due to the Friedewald formula's limitations, such as the requirement for fasting serum and an underestimation of LDL-C values less than 70 and greater than 150 mg/dL, new formulas such as Chen, Anandaraja, Hattori, and Martin-Hopkins formulas were developed. Recently, researchers have started to explore ML algorithms for the purpose of LDL-C estimation due to the fact that they can learn the natural structure of the data as well as the relationship between variables that produces more accurate predictions (19,21,22,27). However, very little research has been conducted in the pediatric population to assess the validity of traditional LDL-C estimating equations and powerful ML algorithms. In this study, we investigated the validity of ML algorithms, as well as several LDL-C estimating equations for the Turkish pediatric population. The performance of the ML algorithms was also compared with these conventional LDL-C estimating equations. The results showed that ML algorithms predict LDL-C levels more accurately than the LDL-C estimating formulas. However, there is no single model that we can call the best among ML algorithms. The performance of ML models varies according to LDL-C levels.

Recently, it has been demonstrated that ML techniques can be used to replace existing LDL-C estimation models, particularly for higher TG levels. In the presence of high TG levels, chylomicrons accumulate at high levels, which may potentially alter the association between TG and cholesterol levels. In order to assess the impact of high TG levels on the precision of each method developed for LDL-C estimation in the children and adolescence, we used the cut-off value of ≥ 130 mg/dL, abnormally high TG levels in children and adolescents (28). The results showed that SVR gave the highest concordance for TG ≥ 130 mg/dL. Given that SVR and RF had the most concordant results overall, and SVR performed best at higher TG levels, we believe that ML models can be used as an alternative method to the conventional LDL-C estimating equations for accurate LDL-C estimation.

There are three limitations of our study. First, we did not use beta quantification as a reference method because it is an expensive and labor-intensive manual technique. However, using this method instead of the Roche direct assay could yield more accurate results. Second, we did not analyze the results for fasting and non-fasting subjects separately. The concentrations of TG-enriched chylomicrons were shown to be higher in non-fasting samples than in fasting samples, which may result in an increased ratio of TG to cholesterol in VLDL (20,29). As a result, Friedewald's underestimation of LDL-C may have been overstated. Third, the study scope is limited due to the absence of external validation, and to enhance the applicability of the findings, further validation is necessary. It is crucial to validate the study results not only in other

Turkish pediatric populations but also across diverse pediatric populations from different ethnicities. This will enable researchers to verify whether the results are consistent across a broader population and promote the external validity of the study.

Conclusion

In conclusion, it has been demonstrated that ML algorithms outperformed traditional LDL-C estimating equations in the Turkish pediatric population. SVR and RF models, among ML algorithms, provided more accurate LDL-C estimates in the Turkish pediatric population.

Ethics Committee Approval: This study was approved by Sivas Cumhuriyet University of medical sciences with document no: 2022-06/02 (date: 22.06.2022).

Informed Consent: Consent was not obtained as it was a retrospective study.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

Acknowledgement: We would like to express our gratitude to Dr. Halef Okan Doğan for generously sharing the data used in this research. Additionally, we extend our thanks to the referees and editors for their insightful comments, which greatly contributed to the refinement and overall quality of the paper.

References

1. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman W, Tracy RE, Wattigney WA, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med.* 1998; 338 (23): 1650-1656. doi: 10.1056/NEJM199806043382302.
2. Daniels SR, Greer FR. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics.* 2008; 122 (1): 198-208. doi: 10.1542/peds.2008-1349.
3. McGill HC, McMahan CA, Zieske AW, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Effects of nonlipid risk factors on atherosclerosis in youth with a favorable lipoprotein profile. *Circulation.* 2001; 103 (11): 1546-1550. doi: 10.1161/01.cir.103.11.1546.
4. Gidding SS. Cholesterol Guidelines Debate. *Pediatrics.* 2001; 107 (5): 1229-1230. <https://doi.org/10.1542/peds.107.5.1229>.
5. Fox KM, Wang L, Gandra SR, Quek RGW, Li L, Baser O. Clinical and economic burden associated with cardiovascular events among patients with hyperlipidemia: A retrospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2016; 16 (1). doi: 10.1186/s12872-016-0190-x.
6. Molavi F, Namazi N, Asadi M, Sanjari M, Motlagh ME, Shafiee G, et al. Comparison common equations for LDL-C calculation with direct assay and developing a novel formula in Iranian children and adolescents: The CASPIAN v study. *Lipids Health Dis.* 2020; 19 (1). <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01306-7>.
7. Silverman MG, Ference BA, Im K, Wiviott SD, Giugliano RP, Grundy SM, et al. Association between lowering LDL-C and cardiovascular risk reduction among different therapeutic interventions: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016; 316 (12): 1289-1297. doi: 10.1001/jama.2016.13985.
8. CDC. Centers for Disease Control and Prevention National Reference System for Cholesterol - Cholesterol Reference Method Laboratory Network - Total Cholesterol - Certification Protocol for Manufacturers- Revised. 2004;(cited 2022 April 20). Available from: <http://www.cdc.gov/labstandards/pdf/crmln/FrozVsFreshProtocolOct04.pdf>

9. Friedewald Wt Fau - Levy RI, Levy Ri Fau - Fredrickson DS, Fredrickson DS, Clin C. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun; 18 (6): 499-502.
10. De Cordova CMM, Schneider CR, Juttel ID, De Cordova MM. Comparison of LDL-cholesterol direct measurement with the estimate using the Friedewald formula in a sample of 10,664 patients. *Arq Bras Cardiol*. 2004; 83 (6). doi: 10.1590/s0066-782x2004001800006.
11. de Cordova CMM, de Cordova MM. A new accurate, simple formula for LDL-cholesterol estimation based on directly measured blood lipids from a large cohort. *Ann Clin Biochem*. 2013; 50 (1): 13-9. doi: 10.1258/acb.2012.011259.
12. Türkalp I, Çil Z, Özkazaç D. Analytical performance of a direct assay for LDL-cholesterol: A comparative assessment versus Friedewald's formula. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2005; 5 (1):13-17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15755695/>.
13. Hermans MP, Ahn SA, Rousseau MF. Novel unbiased equations to calculate triglyceride-rich lipoprotein cholesterol from routine non-fasting lipids. *Cardiovasc Diabetol*. 2014; 13 (1). <https://doi.org/10.1186/1475-2840-13-56>.
14. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, et al. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2013; 310 (19): 2061-2068. doi: 10.1001/jama.2013.280532.
15. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Vol. 139, *Circulation*. 2019.
16. Chen Y, Zhang X, Pan B, Jin X, Yao H, Chen B, et al. A modified formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol values. *Lipids Health Dis*. 2010; 9 (1). doi: 10.1186/1476-511X-9-52.
17. Anandaraja S, Narang R, Godeswar R, Lakshmy R, Talwar KK. Low-density lipoprotein cholesterol estimation by a new formula in Indian population. *Int J Cardiol*. 2005; 102 (1): 117-120. doi: 10.1016/j.ijcard.2004.05.009.
18. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, et al. Development of approximate formula for LDL-cholesterol, LDL-apo B and LDL-cholesterol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL. *Atherosclerosis*. 1998; 138 (2): 289-299. doi: 10.1016/s0021-9150(98)00034-3.
19. Anudeep PP, Kumari S, Rajasimman AS, Nayak S, Priyadarsini P. Machine learning predictive models of LDL-C in the population of eastern India and its comparison with directly measured and calculated LDL-C. *Ann Clin Biochem*. 2022; 59 (1): 76-86. doi: 10.1177/00045632211046805.
20. Çubukçu HC, Topcu Dİ. Estimation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Concentration Using Machine Learning. *Lab Med*. 2022; 53 (2): 161-171. doi: 10.1093/labmed/lmab065.
21. Tsigalou C, Panopoulou M, Papadopoulos C, Karvelas A, Tsairidis D, Anagnostopoulos K. Estimation of low-density lipoprotein cholesterol by machine learning methods. *Clin Chim Acta*. 2021; 517: 108-116. doi: 10.1016/j.cca.2021.02.020.
22. Kwon Y-J, Lee H, Baik SJ, Chang H-J, Lee J-W. Comparison of a Machine Learning Method and Various Equations for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Korean Populations. *Front Cardiovasc Med* 2022 Feb 10; 9(February): 824574. doi: 10.3389/fcvm.2022.824574.
23. Hastie, Trevor, Tibshirani, Robert, Friedman J. *The Elements of Statistical Learning The Elements of Statistical Learning Data Mining, Inference, and Prediction*, Second Edition. Springer series in statistics. 2009.
24. Hastie T, Tibshirani R, Wainwright M. *Statistical learning with sparsity: The lasso and generalizations. Statistical Learning with Sparsity: The Lasso and Generalizations*. 2015.
25. Kuhn M. Building predictive models in R using the caret package. *J Stat Softw*. 2008; 28 (5): doi: 10.18637/jss.v028.i05.
26. Kuhn, Max. *Applied Predictive Modeling*. Springer. 2013.

27. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. Vol. 76, Journal of the American College of Cardiology. 2020.
28. Lim JS, Kim EY, Kim JH, Yoo JH, Yi KH, Chae HW, et al. 2017 clinical practice guidelines for dyslipidemia of korean children and adolescents. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2020; 25 (4): 454-462. doi: 10.3345/cep.2020.01340.
29. Lund SS, Petersen M, Frandsen M, Smidt UM, Parving HH, Vaag AA, et al. Agreement between fasting and postprandial LDL cholesterol measured with 3 methods in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chem.* 2011; 57 (2): 298-308. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.133868>.



Klebsiella Variicola: Bir Bakteriyemi Olgusu ile Literatürün Değerlendirmesi

Klebsiella Variicola: Evaluation of The Literature with A Case of Bacteremia

Şeyma KUVVETLİŞİK¹ , Zehra KARACAER^{1*} , Cemal BULUT¹ 

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Gülhane Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 28.07.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 06.01.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Öz

Bir üçüncü basamak hastanesine ateş ile başvuran hasta enfeksiyon kaynağı araştırılmak üzere takip edildi. Hastada toplum kaynaklı bir enfeksiyon kaynağı görüldü, bakteriyemide etken olarak Klebsiella variicola (K. variicola) saptandı. K. variicola sporadik enfeksiyonlara ya da salgınlara yol açabilmektedir. Olguda sunduğumuz izolat duyarlı bir suş olmasına rağmen ilerleyen dönemlerde dirençli suşların gelişebilmesine yol açabileceği için önem arz etmektedir. Bu durumda etkenin sağlıklı tespit edilmesi ve tanımlanmasında kolay uygulanabilecek sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Klebsiella Variicola, Bakteriyemi, Olgu

&

Abstract

The patient who was admitted to a tertiary hospital with fever was followed up to investigate the source of infection. A community-acquired source of infection was observed in the patient, and Klebsiella variicola was found to be the causative agent in bacteremia. K. variicola can cause sporadic infections or epidemics. Although the isolate we presented in our case is a susceptible strain, it is thought that resistant strains can develop and this may pose a problem in the future. In this case, easy-to-apply systems are needed to detect and identify the causative agent.

Keywords: Klebsiella variicola, Bacteremia, Case

Atıf/Cite as: Kuvvetlişik, Ş. , Karacaer, Z. & Bulut, C. (2023). Klebsiella Variicola: Bir Bakteriyemi Olgusu ile Literatürün Değerlendirmesi. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 76-80. DOI: [10.47493/abantmedj.1150011](https://doi.org/10.47493/abantmedj.1150011)

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author): Zehra Karacaer, e-mail: zehrakaracaer@yahoo.com

Giriş

Klebsiella variicola çoğunlukla bitkilerde enfeksiyona yol açmakla birlikte, son zamanlarda insan ve hayvan enfeksiyonlarında etken olarak dikkat çekmektedir. Bu bakteri Enterobacteriaceae familyasından Klebsiella pneumoniae kompleksinin bir üyesidir ve son yıllarda artan sıklıkta izole edilen bir mikroorganizma haline gelmiştir. Farklı duyarlılıkta toplum kaynaklı ya da hastane kaynaklı olarak izole enfeksiyon ya da salgın etkeni olarak izole edilmektedir (1).

Olgu

Altmış bir yaşında erkek hasta ateş şikayeti ile kliniğimize yatırıldı. Hipotiroidi dışında kronik hastalığı olmayan hastada son bir yıldır devam eden, her ay tekrarlayan ve yaklaşık üç dört gün süren ateş ile üşüme ve titreme, son 6-7 aydır gece terlemesi şikayetleri mevcuttu. Hastanın daha önce başka bir sağlık merkezine başvurduğu, yatırılarak yapılan muayene ve tetkiklerde ateş etiyojisi saptanamadığı anlaşıldı.

Hastanın kliniğimizdeki takiplerinde ilk gün ateşi 39 °C, arteriyel kan basıncı:109/74 mmHg, nabız:98 atım/dk, solunum sayısı:19/dk saptandı. Fizik muayenesinde patolojik bulgu tespit edilmedi. Laboratuvar değerleri C-reaktif protein (CRP): 325 mg/dl (0-5mg/dl) , sedimantasyon: 33/h, tam kanda beyaz küre (WBC) düzeyi: 6200 mcl (4490-10900 mcl) (nötrofil:%80), prokalsitonin: 25 ng/L (0-0,65 ng/L), rutin biyokimyasal analizlerde patolojik aralıklarda olanlar açlık kan şekeri:189 mg/dl (74-110 mg/dl), üre:46 mg/dl (17-43 mg/dl), trigliserid:335 mg/dl (50-200 mg/dl), γ -glutamil transferaz (GGT): 63 U/L (0-55 U/L) , hemoglobin (Hb):10,2 g/dl (13,5-16,9 g/dl) (1 ay önceki Hb değeri:12,2 g/dl), serum demir: 17 μ g/dl (70-180 μ g/dl), tiroid uyarıcı hormon (TSH): 0,008 mIU/ml (0,38-5,33 mIU/ml) idi. Takibimiz esnasında hastanın ateş yüksekliği üç gün devam etti ve günlük kan kültürü alındı. Hastaya ampirik olarak sefaperazon-sulbaktam başlandı. Ateş yüksekliği esnasında genel durumu ve vital bulgularında bozulma gözlenmedi. Birinci ve ikinci gün alınan kan kültürlerinde Klebsiella variicola üredi. BACTEC kan kültür sisteminden izole edilen bakteri otomatize sistemde tanımlandı ve aynı sistem ile antibiyogramı yapıldı, EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi. Kültür antibiyogramı ampisilin dirençli, gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, ertapenem, seftriakson, meropenem, sefepim, sefoksitin, seftazidim, siprofloksasin, piperasilin-tazobaktam, sefuroksim-aksetil, amikasin duyarlı, sefazolin, sefuroksim orta duyarlı olarak sonuçlandı. Hastanın antibiyotik tedavisi antibiyograma uygun olduğu için devam edildi. Hastanın radyolojik tetkiklerinde ve tranözafagial ekokardiyografisinde patoloji saptanmadı. Dispeptik şikayetleri nedeniyle yapılan endoskopi ve kolonoskopide alınan biyopsi sonucunda mide korpusunda gastrik adenom saptandı. Hastanın ateşi geriledi, CRP:50 mg/dl, prokalsitonin:0,75 μ g/L, WBC:5700 mcl (nötrofil: %70) olarak laboratuvar değerleri düzeldi. Yatışının üçüncü gününde alınan kan kültüründe üremesi olmadı, antibiyotik tedavisi yedi güne tamamlandı.

Tartışma

Klebsiella variicola bitki ekosistemine ait bir patojendir. Ancak insan ve hayvanlarda da enfeksiyonlara yol açmaya başlamıştır. Bu bakteri Enterobacteriaceae familyasının Klebsiella pneumoniae kompleksinde yer alır. Yakın zamanda taksonomide değişiklikler olmuş ve yeni tanımlamalar sonucunda K. pneumoniae kompleksi şu şekilde genişlemiştir: K. pneumoniae, K. quasipneumoniae subsp. quasipneumoniae, K. quasipneumoniae subsp. similipneumoniae, K. variicola subsp. variicola (pratikte ise bu alt türü K. variicola olarak adlandırılmaktadır), K. variicola subsp. tropikalensis ve K. africanensis bakteri türleri.

Sonradan *K. quasivariicola* eklense de bu kompleks yayınlarda hala önceki gibi tanımlanmaktadır (1). Birkaç yıl öncesine kadar *K. variicola* klasik mikrobiyolojik yöntemler ayırıcı tanımlamada yeterli olmadığı için *K. pneumoniae* olarak bilinmekteydi. Bu tanımlama hatası *K. variicola* ile ilgili klinik uygulamalarda ve çalışmalarda kısıtlamalara yol açmıştır (1). Yanlış tanımlamalar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (2, 3), whole-genome sequencing (WGS) genomik sekanslama analizleri ve matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) kullanımı ile giderek azalmaktadır (4, 5).

K. variicola varlığının artması enfeksiyonun kaynağı, ciddiyeti, antibiyotik direnci açısından toplumsal bir sorun olup olmadığı gibi soruları gündeme getirmektedir. Enfeksiyon kaynağı düşünüldüğünde ilk olarak bitkiler akla gelmektedir. Çünkü bitkilerde *K. variicola* kolonizasyonuna sıklıkla rastlanılmaktadır (6). Bu durum insanlardaki enfeksiyonlarda bitkilerin rezervuar olabileceğini düşündürmekte, hatta *K. variicola* enfeksiyonları için “fitnoz” tanımı kullanılmaktadır (1).

K. pneumoniae kompleksi üyelerinin ciddi seyreden enfeksiyonlara yol açması ve antibiyotik direnci nedeniyle tedavide güçlükler neden olması yaygın bir sorundur. Bu üyelerden biri olan *K. variicola* da kan dolaşımı ve idrar yolu enfeksiyonları başta olmak üzere çeşitli enfeksiyonlarda etken olarak izole edilmiştir (7-12). *K. variicola* ilk olarak mortal seyreden toplum kökenli bir kan dolaşımı enfeksiyon olgusu ile dikkatleri çekmiştir (10). Bakteriyemi dışında enfeksiyon odağı olarak literatürde primer endodontik enfeksiyon (11), nörocerrahi sonrasında gelişen menenjit vakaları bildirilmiştir (12). Bu olgularda ilk tanımlamanın *K. pneumoniae* olarak yapıldığı, geriye dönük detaylı analizler sonucunda izolatların *K. variicola* olarak düzeltilmesi görülmektedir. Bilindiği gibi *K. pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonuna neden olan en yaygın ikinci patojendir (13). Yanlış tanımlama sorunu göz önüne alındığında, bu izolatların bir kısmının *K. variicola* olabileceği düşünülebilir. Potter ve ark tarafından yürütülen retrospektif bir çalışmada bu etkenin idrar yolu enfeksiyonundaki yeri gösterilmiştir. Bu çalışmada *K. variicola* izolatlarının %70'i idrardan izole edilmiştir (8).

Salgınlar yüksek oranda mortalite yol açtığı için önlenmeye çalışılan sağlık kurumlarının önemli bir sorunudur. *K. variicola* sporadik enfeksiyonlara neden olabileceği gibi salgın etkeni olarak da karşımıza çıkabilmektedir. Bangladeş'te yapılan bir çalışmada yenidoğan ünitesinde yüksek mortaliteli *K. variicola* salgını bildirilmiştir. Bu salgın *K. variicola* tarafından bildirilen ilk neonatal sepsis salgınıdır (14). Salgınlarda olduğu gibi sporadik enfeksiyonlarda *K. variicola* mortalite oranları yüksektir. Bildirilen vakaların çoğunun kaybedildiği görülmektedir. Japonya'da 2011 yılında maksiller karsinomu olan hastada kemoradyoterapi tedavisi alırken *K. variicola* nedeniyle ölümcül sepsis tanımlanmıştır (9). Başka bir çalışmada ise 52 yaşında bir erkek hastada toplum kaynaklı bir bakteriyemi etkeni olarak *K. pneumoniae* saptanmış, sepsiste olan hastanın tedavisinin 72. saatinde ölüm gelişmiştir. Geriye dönük yapılan araştırmada *K. pneumoniae* ve *K. variicola*'nın karışık bir enfeksiyonu saptanmış, hastanın kötü seyrine *K. variicola*'nın katkısı olduğu belirtilmiştir (15). Otuz günlük mortalitenin araştırıldığı bir çalışmada da kan ve beyin omurilik sıvısı kültürlerinde *K. variicola* saptanan hastalarda *K. pneumoniae* izole edilenlere göre daha yüksek ölüm görülmüştür (7). Mortalite ile ilişkili faktörler araştırıldığında ise izolatların dirençli olmasının yanı sıra ileri yaş ve komorbidite varlığının birer risk faktörü olabileceği ortaya konulmuştur (7, 14).

Taksonomideki yerini yeni almış olsa da, *K. variicola* izolatlarında mortalite ile ilişkili bir faktör olan antibiyotik direnci verileri literatürde yer almaya başlamıştır. Diğer *K. pneumoniae* kompleksi üyeleri gibi bu bakterinin de kromozomal beta-laktamaz varlığı nedeniyle ampisiline doğal dirençli olduğu bilinmektedir. Çoğu antibiyotik sınıfına duyarlı olmakla birlikte bu durum zaman içinde değişmiştir. Çevresel örneklerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) ve karbapenemaz üreten *K. variicola* izolatlarının saptanması direnç genlerinin çevreden kazanıldığını düşündürmektedir (1). Çevresel örneklerde New Delhi metallo-beta-lactamase-9 (NDM-9) geni taşıyan *K. variicola* saptanırken, klinik örneklerde kolistin direnci ve efluks pompa varlığı bildirimleri de yapılmaktadır (16-19). Çoklu ilaca direnç (MDR) oranları değişkenlik göstermektedir. Stokholm'da yapılan çalışmada 139 izolattan beşinde (%3,6) MDR gözlenmiştir (7). Meksika'da yapılan bir araştırmada kandan elde edilen 801 *K. variicola* izolatının,

%47,4'ünde MDR ve ESBL varlığına rastlanılmıştır (2). Long ve ark. (6) bu etkenlerde *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) ve NDM-1 direnç genlerini tespit etmiştir. Bir başka çalışmada ise fosfomisin direnç proteini (FOSA 6) saptanmış, ayrıca dezenfektanlara çapraz direnç varlığı dikkati çekilmiştir (20). Olgumuzda saptanan etkenin direnç profili araştırılmadığı için bu konuda karşılaştırma yapılamamıştır.

Literatürde yer alan bazı olgularda etkenin üst solunum yolu kaynaklı olabileceği düşünüldüğü (9, 11), diğer bildirimlerde ise *K. variicola* enfeksiyonu için net bir kaynaktan bahsedilmediği dikkati çekmektedir. Burada sunulan olgumuzda bakteriyemi için bir odak saptanamadı. Hastanın önceki ateş periyotlarında kan kültüründe üreme olmaması ampirik antibiyotik tedavileri ile ilişkili olabilir.

Takip ettiğimiz bu olgu kliniğimizde dikkatimizi çeken ilk *K. variicola* bakteriyemi olgusuydu. Ülkemizde yayınlanan benzer bir olguya literatürde rastlamadık. Bu olgu ile son yıllarda ileri mikrobiyolojik analizler ile tanımlanabilen *K. variicola*'ya dikkat çekmek istedik. Doğada yaygın bulunan bitki kaynaklı bu etkenin özellikle yenidoğanlarda veya immünsüpresif bireylerde mortal seyredabilen, salgınlara yol açabilen enfeksiyonlara neden olabileceği, antibiyotik direncinin kısa sürede önemli bir soruna dönüşebileceği akılda tutulmalıdır. Literatürde bu suşların hem prevelansını hem de enfeksiyon ve direnç gelişimi açısından olası risk faktörlerini irdeleyen araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Bilgilendirilmiş Onam: Bireyden yazılı ve sözlü onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Rodríguez-Medina N, Barrios-Camacho H, Duran-Bedolla J, Garza-Ramos U. *Klebsiella variicola*: an emerging pathogen in humans. *Emerg Microbes Infect.* 2019;8(1):973-988.
2. Garza-Ramos U, Silva-Sánchez J, Martínez-Romero E, Tinoco P, Pina-Gonzales M, Barrios H, Martinez-Barnette J, Gomez-Barreto RE, Tellez-Sosa J. Development of a multiplex-PCR probe system for the proper identification of *Klebsiella variicola* (published correction appears in *BMC Microbiol.* 2016;16(1):43.
3. Humberto BC, Jesús SS, Elena CA, Luis LA, Josefina DB, Alejandro AV, Elvira GG, Paola BI, Rayo MO, Rigoberto HC, Ulises GR. PCR system for the correct differentiation of the main bacterial species of the *Klebsiella pneumoniae* complex. *Arch Microbiol.* 2021;24;204(1):73.
4. Berry GJ, Loeffelholz MJ, Williams-Bouyer N. An Investigation into Laboratory Misidentification of a Bloodstream *Klebsiella variicola* Infection. *J Clin Microbiol.* 2015;53(8):2793-2794.
5. Long SW, Linson SE, Saavedra MO, Cantu C, Davis JJ, Brettin T, Olsen RJ. Whole-Genome Sequencing of Human Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates Reveals Misidentification and Misunderstandings of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*. *mSphere.* 2017;2(4): e00290-17.
6. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;22; 8:4.
7. Maatallah M, Vading M, Kabir MH, Bakhrouf A, Kalin M, Naucler P, Brisse S, Giske CG. *Klebsiella variicola* is a frequent cause of bloodstream infection in the stockholm area, and associated with higher mortality compared to *K. pneumoniae*. *PLoS One.* 2014;26;9(11):e113539.
8. Potter RF, Lainhart W, Twentyman J, Wallace MA, Wang B, Burnham CAD, Rosen DA, Dantasa G. Population Structure, Antibiotic Resistance, and Uropathogenicity of *Klebsiella variicola*. *mBio.* 2018;9(6):e02481-18.
9. Seki M, Gotoh K, Nakamura S, Akeda Y, Yoshii T, Miyaguchi S, Inohara H, Horii T, Oishi K, Iida T, Tomono K. Fatal sepsis caused by an unusual *Klebsiella* species that was misidentified by an automated identification system. *J Med Microbiol.* 2013; 62:801-803.

10. Long DL, Wang YH, Wang JL, Mu SJ, Chen L, Shi XQ, Li JQ. Fatal community-acquired bloodstream infection caused by *Klebsiella variicola*: A case report. *World J Clin Cases*. 2022;10(8):2474-2483.
11. Nakamura-Silva R, Macedo LMD, Cerdeira L, Oliveira-Silva M, Silva-Sousa YTC, Pitondo-Silva A. First report of hypermucoviscous *Klebsiella variicola* subsp. *variicola* causing primary endodontic infection. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(2):303-304.
12. Akine D, Sasahara T, Watanabe S, Ishishita Y, Yamaguchi T, Cui L, Morisawa Y. Post-surgical meningitis caused by *Klebsiella variicola*. *IDCases*. 2019;18: e00622.
13. Mazzariol A, Bazaj A, Cornaglia G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *J Chemother*. 2017;29(sup1):2-9.
14. Farzana R, Jones LS, Rahman MA, Andrey DO, Sands K, Portal E, Watkins WJ, Pervin M, Banerjee M, Walsh TR. Outbreak of Hypervirulent Multidrugresistant *Klebsiella variicola* Causing High Mortality in Neonates in Bangladesh. *CID* 2019:68.
15. Long DL, Wang YH, Wang JL, Mu SJ, Chen L, Shi XQ, Li JQ. Fatal community-acquired bloodstream infection caused by *Klebsiella variicola*: A case report. *World J Clin Cases* 2022; 10(8): 2474-2483.
16. Doris YW Di, Jeonghwan J, Tatsuya U, Hor-Gil H. Emergence of *Klebsiella variicola* positive for NDM-9, a variant of New Delhi metallo- β -lactamase, in an urban river in South Korea. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 1063–1067.
17. Lu Y, Feng Y, McNally A, Zong Z. Occurrence of colistin-resistant hypervirulent *Klebsiella variicola*. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73: 3001–3004.
18. Campos TA, Almeida FM, Almeida APC, Nakamura-Silva R, Oliveira-Silva M, Sousa IFA, Cerdeira L, Lincopan N, Pappas GJ, Jrand Pitondo-Silva A. Multidrug-Resistant (MDR) *Klebsiella variicola* Strains Isolated in a Brazilian Hospital Belong to New Clones. *Front. Microbiol*. 2021; 12:604031.
19. Wang Y, Zhu B, Liu M, Dong X, Ma J, Li X, Cheng F, Guo J, Lu S, Wan F, Hao Y, Ma W, Hao M and Chen L. Characterization of IncHI1B Plasmids Encoding Efflux Pump TmexCD2-ToprJ2 in Carbapenem-Resistant *Klebsiella variicola*, *Klebsiella quasipneumoniae*, and *Klebsiella michiganensis* Strains. *Front. Microbiol*. 2021; 12:759208.
20. Srinivasan VB, Rajamohan G. Comparative genome analysis and characterization of a MDR *Klebsiella variicola*. *Genomics*. 2020;112(5):3179-3190.



A Rare Case Report: Anal Malignant Melanoma and Evaluation of the Literature

Nadir Karşılaşılan Bir Olgu: Anal Malign Melanom, ve Literatürün Gözden Geçirilmesi

Samet ŞAHİN¹ , Önder ÖZCAN¹ , İlğaz KAYILIOĞLU¹ 

Özcan DERE¹ , Cenk YAZKAN¹ , İpar Selin DEMİRCİ² 

Efe ÜNÜBOL³ , Okay NAZLI¹ 

¹ Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, General Surgery Department, Muğla, Türkiye

² Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Türkiye

³ Kale State Hospital, Denizli, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 03.01.2023

Kabul Tarihi (Accepted): 02.04.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Abstract

Anal malignant melanomas are relatively rare tumors. Because of their polypoid structure, they can be confused with benign anorectal diseases. Wide excision and lymph node dissection is recommended especially in melanomas including lymph node metastasis because it reduces local recurrence. We performed abdominoperineal resection + bilateral inguinal + bilateral iliac + paraaortic lymph node dissection in our 77-year-old female patient with the diagnosis of anal malignant melanoma as a result of colonoscopic biopsy performed on the polypoid mass in the anal canal. Since 2 lymph nodes located outside the pararectal fascia persisted in postoperative MRI, we performed lymph node excision with a posterior approach. And the pathology result of the excision performed in this second session was found to be compatible with metastasis. Lymph node dissections are beneficial in terms of local recurrence and survival, especially in patients with anal malignant melanoma with lymph node metastases.

Keywords: Anal Malignant Melanoma, Anal Cancer, Anal Malignancy

&

Öz

Anal malign melanomlar görece nadir tümörlerdir. Sıklıkla polipoid yapıda olmaları nedeniyle benign anorektal hastalıklarla karışabilmektedir. Özellikle lenf nodu metastazını içeren melanomlarda geniş eksizyon ve lenf nodu diseksiyonu lokal nüksü azaltması nedeniyle önerilmektedir. 77 yaşındaki kadın hastamıza anal girimdeki polipoid kitleye yapılan kolonoskopik biyopsi sonucunda gelen anal malign melanoma tanısı ile abdominoperineal rezeksiyon + bilateral inguinal + bilateral iliyak + paraaortik lenf nodu diseksiyonu yapıldı. Pararektal fasyanın dışında yer alan iki adet lenf nodunun da postoperatif MR da sebat etmesi üzerine posterior yaklaşımla lenf nodu eksizyonu yapıldı ve bu ikinci seansta yapılan eksizyonun patoloji sonucu metastazla uyumlu görüldü. Özellikle lenf nodu metastazı olan anal malign melanom hastalarında lenf nodu diseksiyonları lokal nüks ve sağkalım açısından faydalıdır.

Anahtar Kelimeler: Anal Malign Melanom, Anal Kanser, Anal Malignansiler

Atf/Cite as: Şahin, S. , Özcan, Ö. , Kayılıoğlu, I. , Dere, Ö. , Yazkan, C. , Demirci, İ. S. , Ünübol, E. & Nazlı, O. (2023). A Rare Case Report: Anal Malignant Melanoma and Evaluation of the Literature. Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 81-86. DOI: 10.47493/abantmedj.1218184

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

Introduction

Anal malignant melanoma is an extremely aggressive and luckily very rare tumor. Surgical resection is the main treatment, unfortunately value of adjuvant treatments is limited (1). Only 0.5–2% of anorectal cancers and less than 2% of melanomas are caused by it. The most common site of primary gastrointestinal melanoma is the anal canal. Only 2% of cutaneous melanomas metastasize to gastrointestinal tract, and only 2% of these metastases are rectal metastases (1). The median age at which anorectal melanoma first appears is 55, but this range is broad (2).

All melanomas develop from melanocytes. When melanocytes are exposed to carcinogenic stimuli, malignant transformation into melanoma is observed. It has been clearly demonstrated that risk of cutaneous melanoma increases with exposure to sunlight, especially ultraviolet B radiation. It is unclear what triggers the development, though, as the anal mucosa is not exposed to light (3).

Melanin pigment in malignant cells is the basis of histological diagnosis. Presence of junctional changes helps to establish the diagnosis. Without melanin or junctional changes, immunohistochemistry may be helpful. S-100, HMB-45 and vimentin stained positively respectively in 78, 94 and 100% of the tumors(4). The aim of our case report is to present a patient with primary anal malignant melanoma who underwent abdominoperineal resection + radical lymph node dissection in our clinic.

Case Report

A 77-year-old female patient was admitted to the outpatient clinic of an external center with complaints of swelling, bleeding and pain in the rectal region. First evaluation of the patient was in favor of hemorrhoidal disease and medical treatment was started. Afterwards, the patient was admitted to our general surgery outpatient clinic because her complaints did not regress despite medical treatment. On rectal examination, a stalked polyp of approximately 5 cm in diameter, which almost completely covered the lumen, was palpated at the anal entrance. In the colonoscopy, multiple biopsies were performed from the polypoid lesion at the anal entrance (Figure 1, 2)



Figure 1. Polypoid mass closing the lumen in colonoscopy.



Figure 2. Polypoid mass closing the lumen in colonoscopy.

Pathological evaluation was reported as "In sections, it does not contain surface epithelium, forms layers and islands on the background of necrotic tissue, has large pleomorphic nuclei, prominent eosinophilic nucleoli, shows high mitotic activity, positive with HMB45, S100, MelanA and Vimentin, p16, CK7, CK20, CDX2, ER, PR, CEA. Negatively stained neoplastic proliferation with LCA, PanCK, EMA, SMA was observed. Malignant melanoma was considered.". Ki 67 proliferation index was found around 35%.

Thereupon, the patient was examined with imaging methods in terms of metastatic disease and the MR imaging of the patient was reported as "A polypoid mass lesion filling the lumen is observed in the 5 cm distal part of the rectum. Heterogeneous diffusion features and enhancements are observed in the lesion. As far as can be seen, the lesion extends proximal to the anal canal. The 11x8 mm nodular lesion on the right lateral wall of the pelvis with diffusion restriction and enhancement is compatible with metastatic LAP. In addition, another 10x8 mm metastatic lymph node is observed on the right lateral wall of the pelvis, close to the acetabular roof. No significant metastatic lesion was observed in the perirectal adipose tissue. The mesorectal fascia is free." (Figure 3)

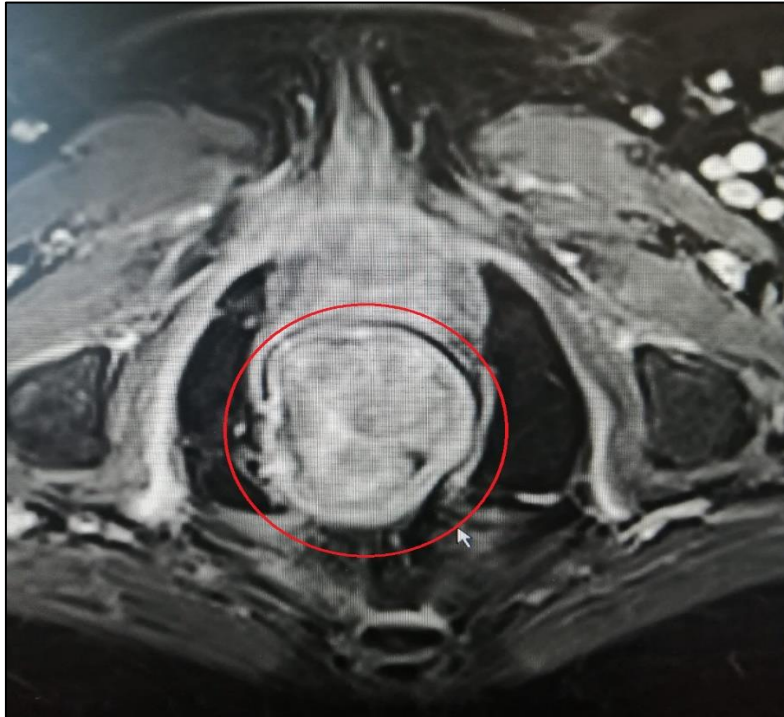


Figure 3. Malignant melanoma with polypoid appearance at the anal entrance on preoperative MRI.

The tumor board assessed the patient and made the decision to operate as abdominoperineal resection (APR), bilateral iliac, inguinal and paraaortic lymph node dissection. Afterwards, the patient underwent surgery.

The final pathology result of the patient was reported as; "The tumor is situated on the dentate line of the anal canal, 6x5x4.5 cm in size, shows polypoid development, invades the muscular layer of the intestinal wall, and is 2.5 cm from the nearest (distal surgical margin) surgical margin. There is perineural invasion, no lymphovascular invasion. Surgical margins are intact. Additionally, there is no tumor in the radial surgical margin. There were 5 paraaortic, 13 right pelvic, 7 left pelvic, 4 left inguinal, 6 inguinal lymph nodes from both right and left sides which was sent for frozen diagnosis, and 15 lymph nodes from the intestinal periphery. Overall 50 lymph nodes were reactive."

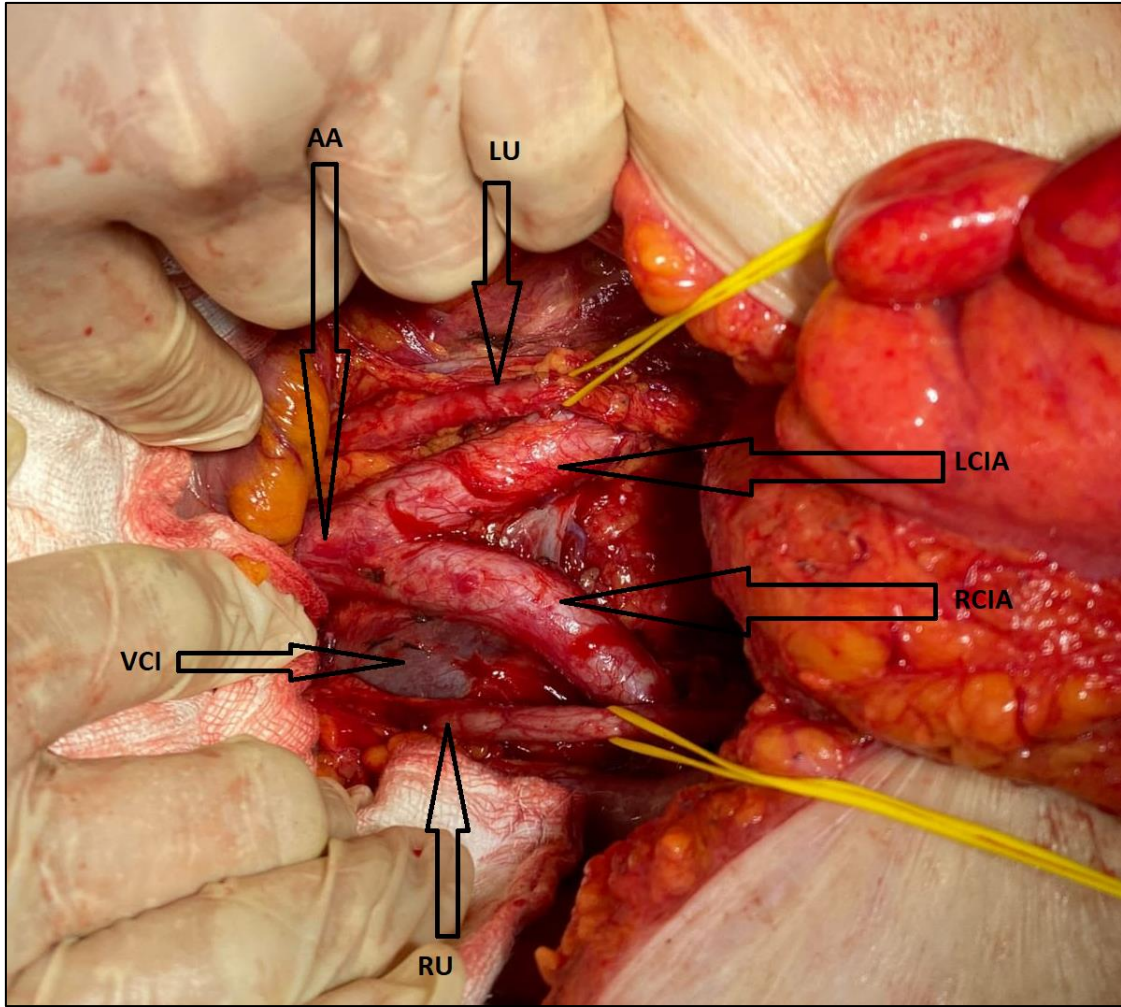


Figure 4. Operation image of abdominoperineal resection + bilateral parailiac + paraaortic lymph node dissection (AA: abdominal aorta, LU: left ureter, RU: right ureter, LCIA: left common iliac artery, RCIA: right common iliac artery, VCI: vena cava inferior).

For the patient's postoperative assessment, a new contrast-enhanced MRI was taken. It was observed during the radiological evaluation that the lymph node with pathological appearance, which was described outside the pararectal area in the previous MRI, on the right pelvic wall close to the acetabular roof, was still persistent. Thereupon, transsacral lymph node dissection with stereotaxic marking was planned for the patient (Figure 5).



Figure 5. CT image of 2 pathological lymph nodes and stereotaxy wire at the level of the sacrococcygeal ligament.

With the use of intraoperative ultrasound, the lymph nodes were removed during the surgery. On the postoperative 2nd day, intestinal contents were collected through patient's drain placed in the pelvic. The patient underwent an emergency laparotomy due to concerns of an intraoperative injury. It was observed that the ileal loop located in the pelvic fossa during the exploration was perforated with a width of 3 mm in the second operation due to secondary thermal damage to the energy devices used during the exploration. This region underwent wedge resection and anastomosis. The lymph nodes excised during the second procedure were shown to be consistent with metastasis in the final pathological assessment.

Discussion

Approximately 8300 new cases of anal cancers are diagnosed causing approximately 1200 deaths annually. It is a very uncommon malignancy that makes up around 3% of all gastrointestinal malignancies (5, 6).

Surgical excision remains primary treatment. Surgery is the preferred form of therapy; however, the best method is not universally agreed upon. (7,8). Since metastatic lymph nodes were observed in the MR imaging of our patient, APR and paraaortic + parailiac + bilateral inguinal lymph node dissection was preferred.

Chemotherapy and radiation have a restricted role. Although the disease is well controlled with WLE and adjuvant radiotherapy, it has been stated by some authors that the general prognosis of the disease is not affected (9).

Despite the addition of new treatment modalities over time, the lack of improvement in survival for the last 30 years indicates the requirement for treatment that prioritizes quality of life, in a multidisciplinary setting (8).

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

References

1. Singer, M. and M.G. Mutch, Anal melanoma. *Clinics in colon and Rectal Surgery*, 2006. 19(02): p. 078-087.
2. Brady, M.S., J.P. Kavolius, and S.H. Quan, Anorectal melanoma. *Diseases of the colon & rectum*, 1995. 38(2): p. 146-151.
3. Carcoforo, P., et al., Primary anorectal melanoma: an update. *Journal of Cancer*, 2012. 3: p. 449.
4. Kobakova, I., et al., Anorectal melanoma-a histopathological case report and a review of the literature. *Folia Med (Plovdiv)*, 2018. 60: p. 641-646.
5. Hillenbrand, A., et al., Anorectal amelanotic melanoma. *Colorectal Disease*, 2008. 10(6): p. 612-615.
6. Longo, W.E., et al., Rare anal canal cancers in the US veteran: patterns of disease and results of treatment. *The American surgeon*, 1995. 61(6): p. 495-500.
7. Meguerditchian, A.-N., S.H. Meterissian, and K.B. Dunn, Anorectal melanoma: diagnosis and treatment. *Diseases of the colon & rectum*, 2011. 54(5): p. 638-644.
8. Jutten, E., et al., Surgical treatment of anorectal melanoma: a systematic review and meta-analysis. *BJS open*, 2021. 5(6): p. zrab107.
9. Mireia, M.R. and C.S. Carlos, Anal Melanoma: A Rare Perianal Tumor With a Poor Prognosis. *Diseases of the Colon & Rectum*, 2020. 63(5): p. 573-576.



Üretrada Papillom Benzeri Görünümde Prostat Kanseri Düşünmeli miyiz?

Should We Consider Prostate Cancer with A Papilloma-Like Appearance in The Urethra?

Mustafa KÜÇÜKYANGÖZ^{1*} , Emrullah SOGUTDELEN² , Uğur ÜYETÜRK² 

¹ Necip Fazıl Şehir Hastanesi, Üroloji Kliniği, Kahramanmaraş, Türkiye

² Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

Geliş Tarihi (Received): 25.12.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 14.04.2023

Yayın Tarihi (Published): 28.04.2023

Öz

Üretranın skuamöz hücreli papillomu; nadir görülen, dizüri gibi alt üriner septomlarla bulgu veren, benign proliferatif skuamöz lezyondur. Kesin tanı ve tedavi için cerrahi eksizyon ve patolojik inceleme gerekmektedir. Bu olgu sunumunda makroskopik hematüri nedeniyle başvuran 76 yaşında hastanın sistouretraskopik incelemesinde üretrada boylu boyunca gözlenen birçok papillomun transüretral eksizyonu sonucu yapılan patolojik incelemesinde tümöral lezyonun prostat kanserine bağlı metastazlar olduğu saptandı. Literatürde malign üretral lezyonların sıklıkla mesane kanserine bağlı metastazlar olduğu görülmüştür. Bu nedenle nadir görülen bu vakayı sunmayı amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Üretra, Papillom, Prostat Kanseri, Mesane Kanseri

&

Abstract

Squamous cell papilloma of the urethra is a rare disease and benign proliferative squamous lesion presenting with lower urinary symptoms such as dysuria. There is no significant risk of malignancy. Surgical excision and careful pathological examination are required for definitive diagnosis and treatment. In this case report, a 76-year-old patient who applied with the complaint of macroscopic hematuria. In a cystourethroscopic examination, many papillomas were observed in the urethra. After transurethral excision of these lesions, the pathological analysis revealed that papillomas were due to prostate cancer metastases. In the literature, it has been observed that urethral metastases are mostly metastases due to bladder cancer. Therefore, we aimed to present this rare case.

Keywords: Urethra, Papilloma, Prostate Cancer, Bladder Cancer

Atıf/Cite as: Küçükyangöz, M. , Sogutdelen, E. & Üyetürk, U. (2023). Üretrada Papillom Benzeri Görünümde Prostat Kanseri Düşünmeli miyiz? Abant Tıp Dergisi, 12 (1), 87-90. DOI: 10.47493/abantmedj.1224158

Copyright © Published by Bolu Abant İzzet Baysal University, Since 2022 – Bolu

Giriş

Üretranın invaziv olmayan skuamöz lezyonları nadir görülmekle birlikte klinik önemi net olarak ifade edilememektedir (1). Mesane ve üretrada gözlenmiş skuamöz papillom sayısı oldukça azdır. Bu hastalık genellikle 40'lı ve 70'li yaş kadınlarda görülmüştür. Bu hastaların geliş şikayeti irritatif işeme semptomları olmuştur (2). Bu lezyonlar oldukça nadir görüldüğü için risk faktörlerini belirlemek oldukça zordur. Risk faktörleri arasında sigara ve aromatik aminlere maruz kalma düşünülebilir (3). Bu lezyonlar düşük dereceli papiller üretelyal karsinoma benzerler (2).

Üretral karsinom ise çok nadir görülür. En sık 50-70 yaşlarında görülmekte ve yaşla beraber artmaktadır. Üretral papillom ve karsinomun ayırt edilmesi oldukça önemlidir. Bu üretral lezyonları ayırt etmek için eksizyonel biyopsi ve transüretral rezeksiyon kullanılabilir (1).

Bu olgu sunumunda makroskopik hematüri nedeniyle başvuran 76 yaşında hastanın sistoüretroskopik incelemesinde üretrada boylu boyunca gözlenen papillomların prostat kanserine bağlı metastazlar olduğu saptandı. Bu tür lezyonlarda nadir görülen prostat kanserinin üretral papillomatöz metastazının akılda tutulması gerektiğini vurgulamak amacıyla vakamızı sunmayı amaçladık.

Olgu

76 yaşında erkek hasta 15 gündür olan makroskopik hematüri şikayetiyle kliniğimize başvurdu. Öz geçmişinde sigara kullandığı ve hipertansiyon hastası olduğu öğrenildi. Soy geçmişinde bilinen hastalık öyküsü olmayan hastanın fizik muayenesinde; rektal tuşede prostat derece 2-3 ve prostat sol lobunun sert olduğu saptandı.

Yapılan laboratuvar incelemesinde; WBC: 6,53 K/uL, Hb: 8,4 g/dl, platelet: 330 K/uL, üre: 32 mg/dl, kreatinin: 0,94 mg / dl, total Prostat Spesifik Antijen (tPSA): 38 ng / ml, tam idrar tetkikinde +++ eritrosit ve idrar mikroskopik incelemesinde bol eritrosit saptandı.



Şekil 1. Endoskopik olarak üretral papillomların görüntüleri.

Klinik incelemesinde genel durumu iyi, vitalleri stabil olan ve elektrolit imbalansı olmayan hastaya poliklinik şartlarında sistoüretroskopi yapıldı. İnceleme sonucu tüm üretra boyunca uzanan birçok papillom benzeri lezyonlar görüldü. Mesanede tümöral oluşuma rastlanılmadı. Hemogloblin düşüklüğü olan hastaya 2 ünite eritrosit süspansiyon replasmanının ardından spinal anestezi altında üretrada gözlenen tüm papiller oluşumlara transüretral rezeksiyon yapıldı. Alınan tüm parçalar eksiksiz olarak patolojik incelemeye gönderildi. Patoloji sonucu gleason 4+5=9 (International society of urologic pathology- ISUP 5) prostat adenokanser olarak raporlandı. Ardından hastaya tüm abdominal tomografi ve tüm vücut kemik sintigrafisi çekildi. Bu tetkiklerde prostat kanserine ait metastaz görülmedi. Fakat üretrada gözlenen papillomların prostat kanserine bağlı metastazlar olduğu görülerek hastaya androjen deprivasyon tedavisi başlandı ve hasta klinik takibe alındı.

Tartışma

Erkeklerde üretral inverted papillom nadir görülen ve genellikle nüks etmeyen soliter lezyonlardır (4, 5). Kliniğe sıklıkla dizüri ve hematüri şikayetiyle gelirler. Ön üretraya yerleşen papillomlarda üretral kanama gözlenebileceği gibi hastalar nadiren akut idrar retansiyonu kliniği ile başvurabilirler (4, 6).

Primer üretral karsinom oldukça nadir görülen bir durum olup etyolojide üretral darlık, aralıklı kateterizasyon, kronik irritasyon, radyasyon, üretrit, üretral divertikül, idrar yolu enfeksiyonu rol oynamaktadır. Tanıda sistoüretroskopi ve lezyondan biyopsi oldukça önemlidir. Sağ kalımı etkileyen faktörler; yaş, metastaz varlığı, tümörün yeri, boyutu, evresi, derecesi ve histolojik tipidir. Tedavide onkolojik prensiplere uygun radikal ürektomi yapılmaktadır. (7). Küçük yüzeysel distal üretra tümörlerinde standart tedavi olmamasına rağmen lokal ekzisyon yeterli olabilmektedir (8).

Mesane kanseri dünyada yaygın kanserler arasındadır. Kas invazif mesane kanserinin diğer organlara metastaz yapma ihtimali yüksektir (9). Mesane kanseri sıklıkla pelvik ve retroperitoneal lenf nodları, akciğer, karaciğer, kemik ve böbrek üstü bezlerine metastaz yapabilir (10). Radikal sistoprostatektomi yapılan hastalarda yaklaşık %48 oranında prostatik üretelyal kanser saptanır (11). Ayrıca sistektomi yapılan 348 hastanın %7'sinde üretrada üretelyal kanser görülmüş olup, bazı hastalarda ise karsinoma insitu ve belirgin atipi görülmüştür (12).

Mesane kanseri olmayan hastalarda prostatik üretelyal tümörler çok nadirdir. Prostatın bezinin çoğunluğu glandüler doku oluşturur. Prostatın primer üretelyal kanser sıklığı yaklaşık olarak %3'tür. Prostatik üretelyal karsinom ise prostatın drenaj kanallarındaki değişici epitelden meydana gelir. Bu tümörlerde üretra, prostatik kanal, periüretral gland bazal tabakaya yayılmada doğal bir bariyer oluşturmaktadır. Mesaneden direk veya endirek yayılımla üretrada tümör tutulumu gözlenebilir. Bazen de üst üriner sistem tümörlerinin implantasyonu görülebilir (11).

Bizim olgumuzda ise anterior ve posterior üretrada boylu boyunca üretral papilloma benzeri lezyonlar mevcuttu. Literatüre bakıldığında üretral papillom ve üretral tümörler oldukça nadir görülmektedir. Mesane kanserinine bağlı üretral metastazlar da nadiren görülmektedir. Bu olguda ise prostat kanser metastazının üretrada birçok papillom benzeri görünüme yol açtığı görülmüştür. Bu nedenle papillomatöz üretral lezyonlarda prostat kanseri metastazı akılda bulunması gerekmektedir.

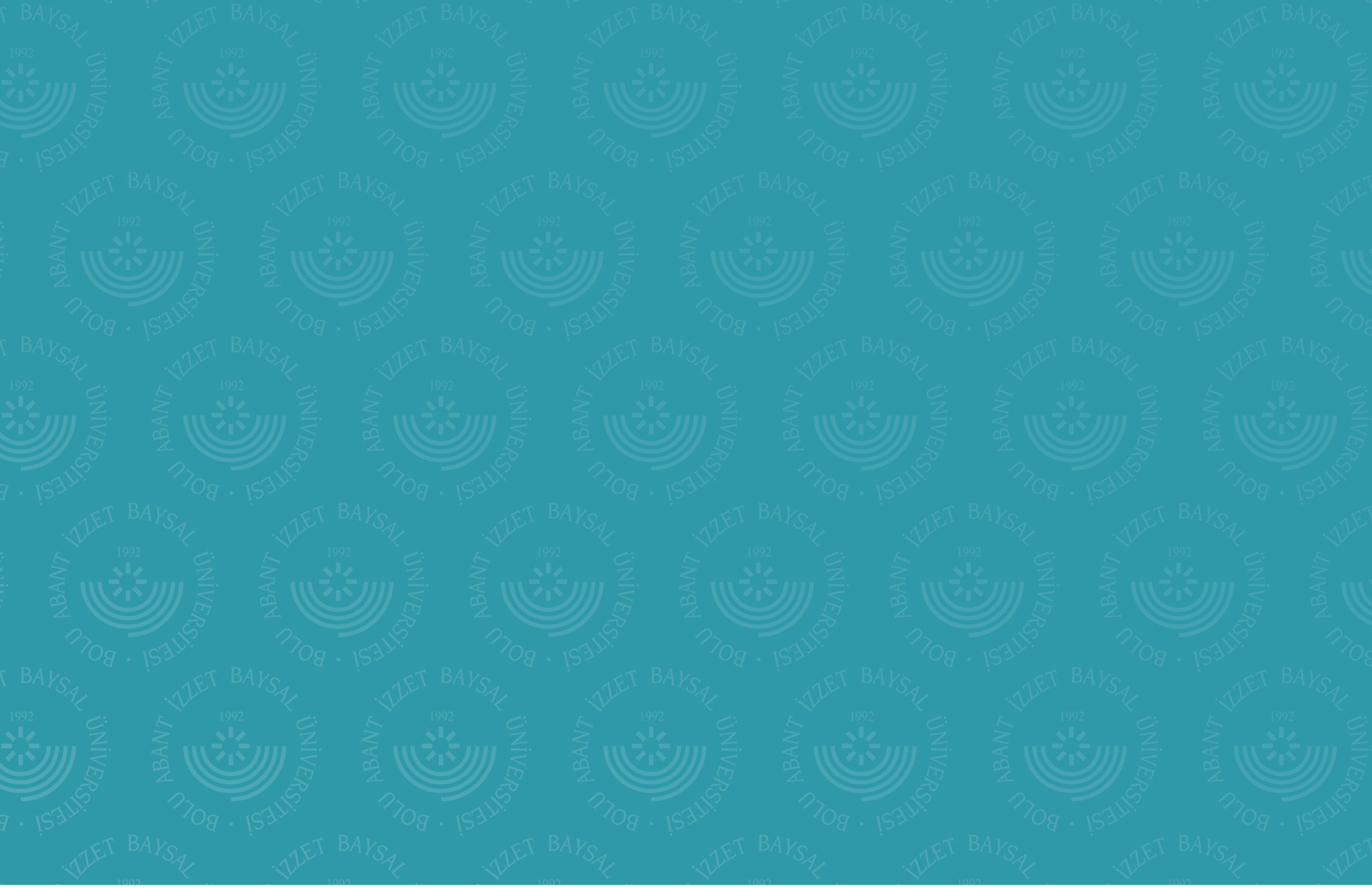
Bilgilendirilmiş Onam: Bireyden yazılı ve sözlü onam alınmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Gustafson, P., H.N. Fenster, and A.I. So, Urethral squamous cell papilloma: Case report and literature review. *Can Urol Assoc J*, 2014. 8(5-6): p. E364-5.
2. Bostwick, D.G. and L. Cheng, *Urologic surgical pathology*. 2008: Elsevier Health Sciences.
3. Cheng, L., et al., Squamous papilloma of the urinary tract is unrelated to condyloma acuminata. *Cancer*, 2000. 88(7): p. 1679-86.
4. Ochoa Undargarain, O., J.A. Hermida Pérez, and J. Ochoa Montes de Oca, Inverted papilloma of the anterior male urethra. Case report and bibliographic review. *Arch Esp Urol*, 2006. 59(2): p. 183-6.
5. Coronel Sánchez, B., et al., Inverted papilloma of the bladder with recurrence in prostatic urethra. *Actas Urol Esp*, 2005. 29(10): p. 989-92.
6. Ishizaki, F. and S. Hanyu, Inverted papilloma of the prostatic urethra: a report of two cases. *Hinyokika Kyo*, 2008. 54(2): p. 143-5.
7. Gakis, G., et al., EAU guidelines on primary urethral carcinoma. *Eur Urol*, 2013. 64(5): p. 823-30.
8. Üçer, O., et al., Partial Urethrectomy for Female Urethral Transitional Epithelial Cell Carcinoma. *Uroonkoloji Bülteni Bulletin of Urooncology*, 2016. 15(2): p. 80.
9. Nadal, R. and J. Bellmunt, Management of metastatic bladder cancer. *Cancer Treat Rev*, 2019. 76: p. 10-21.
10. Bekiş, R., E. Acar, and U. Mungan, Mesane Kanserinde Pozitron Emisyon Tomografi/Bilgisayarlı Tomografi. *Bulletin of Urooncology*, 2015. 14: p. 13-17.
11. Adsan, Ö., Prostatın primer ürotelyal tümörlerinde tedavi yaklaşımları. *Üroonkoloji Bülteni*, 2010. 1: p. 22-4.
12. Schellhammer, P.F. and W.F. Whitmore, Jr., Transitional cell carcinoma of the urethra in men having cystectomy for bladder cancer. *J Urol*, 1976. 115(1): p. 56-60.



Abant Medical Journal

