



ISSN 1305-6433

e-ISSN 1305-6441

İstanbul Üniversitesi
İstanbul
Tıp Fakültesi
Dergisi



Journal of the Istanbul
Faculty of Medicine

Cilt/Volume 80 •

Sayı/Number 2 •

Yıl/Year 2017

ISSN 1305-6441 (Elektronik Dergi)
ISSN 1305-6433 (Basılı Dergi)

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ
Journal of Istanbul Faculty of Medicine



Cilt/Volume: 80

Sayı/Number: 2

Yıl/Year: 2017

3 AYDA BİR, YILDA DÖRT KEZ YAYINLANIR
(PUBLISHED QUARTERLY)
(MART/MARCH, HAZİRAN/JUNE, EYLÜL/SEPTEMBER, ARALIK/DECEMBER)

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ
Journal of Istanbul Faculty of Medicine

Kuruluş - 1916

Sahibi ve Sorumlu Müdür
Prof.Dr. Bahaüddin ÇOLAKOĞLU

Editör
Prof.Dr. Lale ÖÇAL
İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE

EDİTÖRLER KURULU

Prof.Dr. Atilla ARINCI	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Seldağ BEKPINAR	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Nilgün BOZBUĞA	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Rainer BRÖMER	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Tülin ÇAĞATAY	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Feza EKİZ	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Haluk ERAKSOY	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Hakan ERTİN	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Nilüfer GÖZÜM	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Hülya GÜL	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Funda GÜNGÖR UĞURLUCAN	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Birsen KARAMAN	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Çiğdem KEKİK ÇINAR	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Betigül ÖNGEN	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Beyza ÖZÇINAR	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Altay SENCER	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. Yasemin ŞANLI	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç.Dr. M.Öner ŞANLI	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Tufan TÜKEK	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Berrin UMMAN	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Aytül UYAR	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof.Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK	İstanbul Üniversitesi, TÜRKİYE

Adres:

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı
Yayın Kurulu, Çapa 34093 İSTANBUL
Tel: 0212 414 21 61
Tel: 0212 414 20 00/31926
e-mail: itfdergisi@istanbul.edu.tr
www.journals.istanbul.edu.tr/iuitfd
http://dergipark.ulakbim.gov.tr/iuitfd

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DERGİSİ YAZARLARA BİLGİ

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi, İstanbul Tıp Fakültesinin resmi bilimsel yayın organıdır ve yılda dört kez yayımlanır. Derginin yazı dili Türkçe ve İngilizcedir. Dergi hekimlik alanındaki orijinal deneysel ve klinik araştırmaları, olgu bildiri ve değerlendirmelerini, özel ve aktüel konularda literatür toplamalarını (derlemeleri), yayın tanıtımlarını ve haberlerini, yazarlara ve editöre mektupları kapsar. Orijinal metot geliştirme, yeni bir girişim tekniği ve orijinal çalışmaların ön sonuçlarını içeren kısa raporlar da yayımlanabilir.

Bir çalışmanın yayımlanması için Fakülte Kurulunun seçmiş olduğu Yayın Kurulu tarafından gerek yazı düzeni, gerek kapsam bakımından uygun görülmesi ve daha önce başka bir dergide yayımlanmamış olması gereklidir. Yayın Kurulu, makaleleri değerlendirmek üzere seçtiği ikisi İstanbul Tıp Fakültesi dışından, biri İstanbul Tıp Fakültesinden üç danışmanın (hakem) görüşü alındıktan sonra yayımlanıp yayımlanmayacağına karar verilir.

1. Yazıların bölümleri:

Başlık sayfası:

Bu sayfada aşağıdaki bilgiler bulunmalıdır:

- 1) Yazının kategorisi (Orijinal deneysel araştırma, orijinal klinik araştırma, derleme, olgu sunusu, kısa rapor, yayın tanıtımı, editöre mektup, yazara mektup)
- 2) Yazının ilişkili olduğu tıp disiplini (Örneğin: kardiyoloji, nöroloji, plastik cerrahi vb.-kardiyolojide elektrofizyoloji, hareket bozuklukları hastalıkları, el cerrahisi gibi daha spesifik tanımlamalar da yapılabilir)
- 3) Yazının Türkçe olarak tam başlığı,
- 4) Türkçe “kısaltılmış başlığı”,
- 5) Yazının İngilizce olarak tam başlığı,
- 6) İngilizce “kısaltılmış başlık”
Yazarların adı ve soyadı (Tüm yazarların gönderilen makalede akademik-bilimsel olarak doğrudan katkısı olmalıdır. Başlık sayfası dışındaki makale bölümlerinde yazarların kimlik bilgilerinin verilmesinden kaçınılmalıdır).
- 7) Yazarların çalışmanın yapıldığı tarihlerdeki çalıştığı kurumlar ve iletişim bilgileri.
- 8) Destekleyen kurum veya kuruluşlara teşekkür. (“Teşekkür” yazının yayımlanmasına karar verilmesi halinde “Tartışma ve sonuç” bölümünden sonra yer almak üzere metne ilave edilecektir).
- 9) Yazı daha önce bilimsel bir toplantıda sunulmuşsa toplantının resmi adı, tarihi ve yeri (“İstanbul Tıp Fakültesi Kurultayı”nda sunulan araştırmalar değerlendirilmek üzere öncelikle İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi’ne gönderilmelidir).
- 10) İletişim kurulması istenen yazarın adı, soyadı, posta iletişim adresi (posta kodu dahil, telefon, fax, ve özellikle e-mail adresi belirtilmeli, iletişim kurulacak yazar olarak belirlenen isim aşağıdaki özelliklerin tamamına sahip olmalıdır:

Makaledeki çalışmayı planlamalı veya yapmalı,
Makaleyi yazmalı veya revize etmeli,
Son halini kabul etmelidir)

Türkçe özet

Türkçe özetler şu düzene göre hazırlanmalıdır:

Amaç

Gereç ve Yöntem

Bulgular

Sonuç

Anahtar kelimeler

Anahtar kelimeler en az üç, en fazla 6 adet ve Index Medicus’a uygun olmalıdır. Medical Subjects Headings (MeSH terimleri) listesine uygun sözcükler kullanmaya özen gösterilmelidir. Her kelimenin arasında “;” konulmalıdır.

Derlemelerde amacı ve en önemli noktaları belirten kısa bir Türkçe ve İngilizce özet yer almalıdır.

Türkçe özet en çok 250 kelime olmalıdır.

İngilizce özet

İngilizce özetler şu düzene göre hazırlanmalıdır:

Objective

Materials and Methods

Results

Conclusion

Key words

Bu ara başlıklar kullanılarak devamında gerekli açıklamalar yazılmalıdır.

Anahtar Kelimeler Index Medicus’a uygun olmalıdır. Medical Subjects Headings (MeSH terimleri) listesine uygun İngilizce sözcükler kullanmaya özen gösterilmelidir. Her kelimenin arasında “;” konulmalıdır.

Olgularında ve kısa raporlarda İngilizce özet yer almalıdır. Olgu bildirilerindeki İngilizce özet olgunun sunulma nedenini açıklayıcı özellikte olmalıdır.

Kısa raporlarda ise metot, girişim veya ön çalışma raporunun önemini ve ana hatlarını içeren özellikte olmalıdır.

Derlemelerde amacı ve en önemli noktaları belirten kısa bir İngilizce özet yer almalıdır. İngilizce özet en çok 250 kelime olmalıdır.

Yazarlara bilgi

Metin

a)Dergimiz Türkçe ve İngilizce makalelerden oluşur. Yazılar Türkçe veya İngilizce olarak hazırlanmalıdır. Teknik terimler Türkçe, Latince, İngilizce veya Türk Tıp Terminolojisine yerleşmiş terimlerle yazılmalı, dilimize yerleşmiş terimler imla kurallarımıza göre hazırlanmalı ve Türk Dil Kurumunun yayımladığı “Yeni İmla Kılavuzu” ve Türkçe Sözlük esas alınmalıdır.

b)Yazılar “Word for Windows” programında, “Times New Roman” fontu ve 12 punto ile yazılmalı, tablolar aynı programın tablo formatı ile hazırlanmalı. Tablo, şekil ve resimlerin yayın içinde geçtiği yer belirtilmeli. Tablo resim ve şekillere ait açıklama yazısı metnin sonunda ayrıca eklenmelidir.

c)Yayının metni **giriş, gereç ve yöntem, bulgular, tartışma ve sonuç, kaynaklar** şeklinde devam eder. Gereç ve yöntem bölümünde olgular, ölçümler, sonuç değerlendirme yöntemleri, istatistiksel analiz gibi alt başlıklar bulunması önerilir.

Derlemeler kendi içinde uygun alt bölümlere ayrılabilir. Metin uzunluğu genel olarak 20 sayfayı geçmemelidir.

Kısa raporlar, (orijinal metot geliştirme, yeni bir girişim tekniği, orijinal çalışmaların ön sonuçları) 1000 kelimeyi geçmemek koşulu ile tarih sırası gözetmeksizin yayımlanır.

d)Metin içinde sadece standart kısaltmalar kullanılmalıdır. Kullanılan kısaltmalar ilk kullanıldığı zaman parantez içinde gösterilmelidir.

e)Yazılarda “International System of Units” (SI) birimleri kullanılmalıdır (<http://physics.nist.gov/cuu/Units/>).

f)**Tablo, şekil ve resimler** metinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalı, numara ve tanıtıcı başlık tablonun üstünde, şekil ve resimlerde altta belirtilmelidir.

Tablo şekil ve resimlerin toplam sayısı araştırma yazıları için 5, olgu sunumları ve kısa raporlar için 2, Editöre mektup için 1’den fazla olmamalıdır.

g) Olgu resimlerinde şahsın tanınmaması için gözlerinin bir bant ile kapatılması gerekmektedir.

h)Kullanılan kısaltmalar şekil, resim, tablo ve grafiklerin altındaki açıklamada belirtilmelidir.

ı)Net baskı elde edilebilmesi için, şekil, resim/fotoğraflar ayrı birer .jpg dosyası olarak (300dpi çözünürlükte), dergi sistemine yüklenmelidir. Daha önce basılmış şekil, resim, tablo ve grafik kullanılmış ise yazılı izin alınmalıdır ve bu izin açıklama olarak şekil, resim, tablo ve grafik açıklamasında belirtilmelidir. Resimler/fotoğraflar renkli, ayrıntıları görülecek derecede net olmalıdır.

Kaynaklar konu ile doğrudan ilişkili olmalıdır ve mümkün olduğunca son yıllarla sınırlı olmalıdır. Metinde geçen kaynaklar parantez içinde gösterilmelidir. Kaynaklar yayın içinde geçiş sırasına göre numaralandırılır ve geçtiği yerde, cümle sonunda parantez içinde gösterilir Örn: (1). Dergi adları Index Medicus’a uygun olarak kısaltılmalıdır. Kaynaklarda yazarların hepsi yazılmalı, yazar sayısı altıdan fazla ise sonrası “ve ark.” veya “at al.” şeklinde kısaltılmalıdır. Kullanılan kaynak sayısı genel olarak araştırmalar ve derlemeler için en fazla 50, olgu sunumu ve kısa raporlar için 10, editöre mektuplar için 5 olmalıdır.

Yazarlar kaynakların doğruluğu açısından tüm sorumluluğu taşırlar.

Makaleler için örnek:

Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. N Engl J Med yıl;cilt(sayı):(sayfa no) Sayfa numarsında tekrarlayan rakamlar yazılmaz. Örnek : 621-28.

Kitaplar için örnek:

Yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin başharf(ler)i, bölüm başlığı, editörün(lerin) ismi, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, şehir, yayınevi, yıl ve sayfalar belirtilmelidir.

Armitage P, Berry G. Statistical Methods in Medical Research, Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK, 2nd ed., 1987;p.3-10.

Kitap bölümü için:

Björnotorp P. The role of adipose tissue in human obesity. In: Greenwood MRC (ed). Obesity. Churchill Livingstone. New York, USA, 2nd ed., 1983;p.124-38.

Elektronik yayınlardan makale örneği:

Milan AM, Sugars RV, Embery G, Waddington RJ. Modulation of collagen fibrillogenesis by dentinal proteoglycans. Calcif Tissue Int, DOI: 10.1007/s00223-004-0033-0, November 4, 2004.

- Yukarıda sıralanan koşulları yerine getirilmemiş çalışma kabul edilmez ve eksiklerin tamamlanması için yazarına iade edilir.
- Yazarlara ayrı baskı gönderilmez. Açık Dergi Sistemini kullanmakta olan dergi sisteminden yayının PDF çıktısını temin edebilirsiniz.

Yayımlanmak üzere gönderilen makaleler için kontrol listesi:

1. Yazarların tamamının imzaladığı **Yayın Hakkı Devir Formu**
- 2.Editöre yazılmış mektup
3. Başlık sayfası
- 4.Yayının tam metni (Bu bölümde yazarların isim ve iletişim bilgilerinin olmaması gereklidir.)
- 5.Şekil, resim, tablolar, metin içinde geçen sıralarına göre numaralandırılmış ve açıklama yazıları yazılmış olarak sisteme ayrıca yüklenmelidir.
- 6.Makalede “Etik Kurul Onayı” alınması gerekli ise onay belgesi, örneği.

2. Yayın takibi:

Dergimize, <http://www.journals.istanbul.edu.tr/iuitfd> ya da <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/iuitfd> adreslerinden ulaşarak, kayıt olmanız gerekiyor. Kayıt olduktan sonra göndereceğimiz sistem şifre ve kullanıcı adıyla, adınızı takip ederek yayınlarımızı gönderebilirsiniz. Dergimize ulaşan yayınlar yukarıda belirttiğimiz kurallara uygunsa yayın kurulu tarafından yayının konusuyla ilgili 3 hakeme değerlendirme için gönderilerek yayımlanma süreci başlatılmış olur.

Yazarlara bilgi

Dergimiz tarafından yazara iletilen düzeltmeler, en geç 3 gün içerisinde Dergimize ulaştırılmalıdır.

3.Etik Kurallar:

Dergide çıkan yazıların tüm hakkı dergiye aittir. Yazılar için yazarlara telif hakkı ödenmez. Yayımlanan görüş ve düşünceler yazarlarına aittir ve İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığını bağlamaz. Makaleye ek olarak yukarıdaki şartları kaşif taramalarına dayalı yazılarda Anabilim Dalı (Bilim Dalı) Başkanlığı, Başhekimlik veya Servis Şefliği tarafından arşivde çalışılmasına izin verdiğine dair bir belgenin çalışmaya eklenmesi zorunludur. Prospektif klinik çalışmalar için resmi gazetenin 29.01.1993 tarih ve 21480 sayılı nüshasında yayımlanan yönetmeliğe uygun bir şekilde Etik Kurulu onayı alınmalıdır.

İstanbul Tıp Fakültesi Dergisinde iThenticate (Akademik intihal engelleme programı) kullanılmaktadır.

4. Yazışma adresi:

İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi (Journal of Istanbul Faculty of Medicine)
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı,
Yayın Komisyonu Bürosu,
Çapa, 34390, İSTANBUL
itfdergisi@istanbul.edu.tr
<http://www.journals.istanbul.edu.tr/iuitfd>
<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/iuitfd>
İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi'nin yazım kuralları International Committee of Medical Journal Editors-Nisan 2010 (www.icmje.org) temel alınarak hazırlanmıştır.

- Dergide yer alan makalelerin etik sorumluluğu yazarlarına aittir.

Sorularınız için iletişim bilgilerimizden bize ulaşınız.
Teşekkür ederiz.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Journal of Istanbul Faculty of Medicine is the official publication of Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine. Published quarterly, the Journal welcomes the submission of original experimental and clinical research articles, review articles, case reports, brief reports on a recently established method or technique or preliminary results of original studies related to all disciplines of medicine from all countries. Submitted manuscripts may be written either in Turkish or in English. All papers are subject to a reviewing process by three reviewers. The final decision regarding the publication of the paper is made by the editor based on the reports of the reviewers. For original experimental and clinical investigations using human or animal subjects, a local Ethics Committee approval is required.

Preparation of the Manuscript

The Journal features manuscripts written either in Turkish or in English. All elements of the manuscript should be double-spaced on one side of standard paper no larger than 21x29.7 cm with 2.5cm margins at top, bottom, and sides. Times New Roman font (with 12 points) is the preferred style. Manuscripts should in general not exceed 20 pages.

A submitted manuscript should include the following parts:

Cover letter addressed to the Editor should include the title of the manuscript to be submitted for publication in *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, along with statements that the material is original and not previously published, nor it is being considered elsewhere for publication. The cover letter should be signed by all the authors.

Title page should include:

- a) Manuscript type (Original experimental research, original clinical research, review article, case report, brief report, letter to the editor, letter to the authors)
- b) Manuscript category regarding the discipline of medicine with which the content of the manuscript is associated (e.g., cardiology, neurology etc.)
- c) The full title of the manuscript
- d) The names of the author(s) (without titles or qualifications)(Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content).
- e) Affiliations of all the authors
- f) Acknowledgement
- g) The name and the full address of the corresponding author (including phone, fax, and e-mail addresses)

Avoid any words or phrases in the blinded title-only page, abstract, main text, references, tables, and figures that could reveal the author's identity.(Only the title page could contain this type of information).

Blinded title-only page should be available that includes only the title to be used for reviewer copies. A running title should also be included on this page. Papers of the manuscript should be numbered on the lower right corner starting on this page.

Abstract

Abstracts should summarize the contents of the article in 250 words or less. The abstract should be structured

in the following format: Objective, Materials and methods, Results, Conclusion. When writing the abstract, subtitles mentioned should be included (i.e. Objective: The aim of this study is) At least four and at most six key words should be provided following the abstract for indexing with the use of MeSH terms.

There is no need for an abstract for case reports or brief reports. On the other hand, review articles should include an abstract focusing on the importance and practical points of the review article.

Main Text

The text of the original articles should be divided into sections with the headings: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion and Conclusion. In the "Materials and Methods" section, subheadings such as *Subjects, Testing procedures, Outcome measurements and Statistical analyses* are encouraged.

Other types of articles such as case reports, review articles, or brief reports may include appropriate subheadings.

Units of Measurement should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI).

Only standard abbreviations should be used. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.

References

Identify references in the text by numbers in parentheses. References should be numbered in alphabetical order. The titles of the journals should be abbreviated according to the style used in the Index Medicus. Include all authors in the references if there are six or less authors; if there are more than six authors, write "et al." after the sixth author. Authors bear complete responsibility for the accuracy of the references.

Examples of references:

Articles in Journals:

Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N Engl J Med* 1995;332:621- 8.

Complete books:

Armitage P, Berry G. *Statistical Methods in Medical Research*, Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK, 2nd ed., 1987;3-10.

Information for authors

Chapter of a book:

Björntorp P. The role of adipose tissue in human obesity. In: Greenwood MRC (ed). Obesity. Churchill Livingstone. New York, USA, 2nd ed., 1983;124-38.

Online publications:

Milan AM, Sugars RV, Embery G, Waddington RJ. Modulation of collagen fibrillogenesis by dentinal proteoglycans. Calcif Tissue Int, DOI:10.1007/s00223-004-0033-0, November 4, 2004.

Tables, figures, and pictures should each be typed on a separate sheet. They should be numbered consecutively in the order of appearance in the text. Figures should be professionally drawn. Figures, image/photos must be uploaded to the system as separate .jpg files (300dpi resolution) to provide a clear print

Galley proofs and proof-reading

Galley proofs will be sent to the corresponding author for proof reading. The galley proofs should be returned to the Editor within three days.

Check list for the submission of the manuscripts:

Copyright transfer agreement (signed by all authors)
Cover letter addressing the Editor
Title page
Blinded title-only page (Page numbers starting on this page)

Manuscripts may be rejected without review on the basis of lack of conformity to stated standards of preparation of manuscripts.

Reprints

Reprints are not sent to the authors

Mailing address:

İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi (Journal of Istanbul Faculty of Medicine), Editorial Office,
İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine,
Publishing Office, Çapa, 34390, Istanbul, TURKEY
itfdergisi@istanbul.edu.tr

<http://www.journals.istanbul.edu.tr/iuitfd>

<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/iuitfd>

Spelling rules of Journal of Istanbul Faculty of Medicine is prepared based on International Committee of Medical Journal Editors- April2010 (www.icmje.org).

The policy of the Journal of Istanbul Faculty of Medicine is based on International Committee of Medical Journal Editors: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals-April 2010 (www.icmje.org)

Thankyou.

ARAŞTIRMALAR / RESEARCH ARTICLES

- Karın ön duvarı fitıklarının tamirinde açık ve laparoskopik yöntemlerin sonuçlarının karşılaştırılması**
Comparison of results of laparoscopic and open repair techniques in ventral and incisional hernias
İsmail Cem SORMAZ, Bahar CANBAY, Adem ALBAYRAK, İbrahim Fethi AZAMAT, Şeyma KARAKUŞ,
Elnur HÜSEYNOV, Levent AVTAN 54-58
- Trabekülektomi operasyonu sonrası erken dönemde yüksek göz içi basıncı için yapılan lazerle sütür kesilmesinin etkinliği**
Effectiveness of laser suture lysis after trabeculectomy with early-postoperative high intraocular pressure
Şerife BAYRAKTAR, Yasemin DERE, Belgin İZGİ 59-62
- Hematopoetik kök hücre izolasyonunda ALDH etkinliğinin önemi**
Importance of ALDH activity in hematopoietic stem cell isolation
Leyla TÜRKER ŞENER, Aycan BAŞ, İbrahim KALELLİOĞLU, Suzan ADIN ÇINAR, Işıl ALBENİZ 63-70

DERLEME/REVIEW

- OKÜLT HEPATİT B VİRUS ENFEKSİYONU: MOLEKÜLER MEKANİZMALAR VE KLİNİK ÖNEMİ**
Occult hepatitis B virus infection: Molecular mechanisms and clinical significance
Bülent ÇAKAL 71-81

OLGU SUNUMU/ CASE REPORT

- Pseudoangiomatous stromal hyperplasia (pash) of the breast in an adolescent: A case report and literature review**
Adolesan kız çocuğunda psödoanjyomatöz stromal hiperplazi: Olgu sunumu ve literatür derlemesi
Hasan Utkan AYDIN, Salih Onur BASAT, Burcu ÇELET ÖZDEN, Ufuk EMEKLİ, Sıtkı TUZLALI 82-85
- Periasetabuler ewing sarkomu olgu sunumu: Cerrahi teknik ve lumic asetabular implant ile rekonstrüksiyon**
Periacetabular ewing's sarcoma: A case report of surgical technique and reconstruction with lumic acetabular implant
Ahmet SALDUZ, Mehmet DEMİREL, Koray ŞAHİN, Levent ERALP 86-89
- Konsültasyonda akıllı telefonlar ve whatsapp: Yeni bir gündem meselesi olarak hasta mahremiyetinin ihlali**
Smartphones and whatsapp in consultation: "Breach of confidentiality" as a topical issue
Deniz ÖZCEKER, Yasin YILMAZ, Zeynep TAMAY, Nermin GÜLER 90-91

KARIN ÖN DUVARI FITIKLARININ TAMİRİNDE AÇIK VE LAPAROSKOPİK YÖNTEMLERİN SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF RESULTS OF LAPAROSCOPIC AND OPEN REPAIR TECHNIQUES IN VENTRAL AND INCISIONAL HERNIAS

İsmail Cem SORMAZ, Bahar CANBAY, Adem ALBAYRAK, İbrahim Fethi AZAMAT, Şeyma KARAKUŞ, Elnur HÜSEYNOV, Levent AVTAN*

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, kliniğimizde son dört sene içerisinde karın ön duvarı fıtığı nedeniyle laparoskopik ve açık yöntemlerle ameliyat edilen hastaların sonuçları karşılaştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2012 ve Ocak 2016 tarihleri arasında kliniğimizde karın ön duvarı fıtığı nedeniyle ameliyat edilen ve verileri kayıt edilen 76 olgunun verileri retrospektif olarak incelendi. Karın ön duvarı fıtıkları (kesi yeri fıtığı ve ventral herniler) dışında inguinal, femoral veya Spiegel gibi diğer karın duvarı fıtıkları nedeniyle ameliyat edilen hastalar çalışmaya alınmadı. Yama kullanılmadan primer tamir uygulanarak ameliyat edilen tüm karın duvarı fıtıkları da çalışmaya alınmadı. Çalışmaya dahil edilen 76 hasta, ameliyatı laparoskopik olarak bitirilen 43 hasta, grup 1 (n:43, %56,5), onlay teknik ile yama yerleştirilen hastalar ise grup 2 (n:33, %43,5) olarak tanımlandı. Olgular, demografik veriler, vücut kitle indeksi (VKİ), onarım yöntemleri, ameliyat süreleri, hastanede kalış süreleri ve ameliyat sonrası komplikasyonlar açısından değerlendirildi.

Bulgular: Ameliyata laparoskopik olarak başlanılan 44 hastadan 43'ünün ameliyatı laparoskopik olarak, 33 hastanın ameliyatı ise açık cerrahi teknik ile bitirildi. İki grubun demografik verileri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Laparoskopik grupta ameliyat süresi açık gruba oranla anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Buna karşılık hastanede kalış süresi anlamlı olarak daha düşük bulundu. Ameliyat esnasında ve sonrasında gelişen genel komplikasyon oranları karşılaştırıldığında Grup 2'de anlamlı şekilde daha fazla komplikasyon geliştiği saptandı. Nüksü etkileyen faktörler karşılaştırıldığında ise laparoskopik ve açık teknik arasında fark olmadığı, ancak geçirilmiş fıtık cerrahisinin nüks için önemli bir risk faktörü olduğu saptandı.

Sonuç: Çok büyük ventral herniler (≥ 15 cm) dışında laparoskopinin güvenli bir şekilde, yüksek hasta memnuniyeti ile birlikte güvenli bir şekilde uygulanabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Karın ön duvarı fıtığı; ventral herni; insizyonel herni; kesi fıtığı; herniorafi; laparoskopik tamir.

ABSTRACT

Objective: In this study, we compared the results of patients who underwent laparoscopic and open ventral and incisional hernia repair in our clinic during last four years.

Materials and Methods: The data of 76 patients who underwent surgery for ventral and incisional hernia between January 2012 and January 2016 in our clinic were analyzed retrospectively. The patients who underwent surgery for other types of abdominal wall hernias (such as inguinal, femoral, Spiegelian etc.) and patients who underwent primary repair without use of mesh were excluded. Forty-three patients (n: 43, 56,5%) whose operation was completed laparoscopically were defined as group1 and 33 patients (n:33, %43,5) who were operated using mesh with onlay technique were defined as group2. The cases were evaluated in terms of demographic data, body mass index (BMI), repair procedures, operation time, duration of hospital stay and postoperative complications.

Results: In 44 patients, operation was initiated laparoscopically and in 43 were completed laparoscopically, whereas 33 patients were operated by open surgical technique. There was no significant difference in demographic data between these two groups. In the laparoscopic group, the operation time was significantly higher than the open group. However, the duration of hospital stay was significantly shorter. When the general complication rates during and after the surgery were compared, it was found that group 2 had significantly more complications. When the factors affecting recurrence

Date received/Dergiye geldiği tarih: 09.02.2017 – Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 03.05.2017

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı İstanbul, Türkiye
(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: icsormaz@gmail.com)

were compared, it was found that there was no difference between laparoscopic and open techniques, but the history of a previous hernia operation was an important risk factor for recurrence.

Conclusion: In our opinion laparoscopy can be safely performed with high patient satisfaction except in cases with very large ventral hernias (≥ 15 cm).

Keywords: Abdominal wall hernia; ventral hernia; incisional hernia; hernioraphy; laparoscopic repair.

GİRİŞ

Karın ön duvarı fitikleri (KÖF) klinisyenlerin en sık karşılaştıkları patolojilerin başında gelir ve her dört kişiden biri hayatı boyunca bir defa KÖF nedeniyle (doğumsal veya kazanılmış) başvurur (1). Amerika Birleşik Devletlerinde genel cerrahlar tarafından en sık uygulanan 5 ameliyattan biridir ve yıllık maliyeti yaklaşık olarak 3.4 milyon Dolar kadardır (2).

KÖF'lerin, sadece primer sütür ile tamir sonrası nüks oranlarının %46'ya kadar ulaştığını bildiren çalışmalar mevcuttur (3). Nüks oranlarının bu kadar yüksek olması özellikle primer olarak kapatılmayan fitiklerde otojen/biyomateryallerin kullanımını ve sentetik yamaların kullanımını gündeme getirmiştir. İlk olarak 1958 yılında sentetik monofilamen polipropilen yamanın kullanımından sonra (4), politetrafloroetilen (PTFE), polyester, polyamid ve genişletilmiş (expanded) PTFE (e-PTFE) yamalar kullanılmaya başlanmıştır. Yama kullanımının yaygınlaşması sonrası primer tamire oranla, nüks oranlarının azalmasına karşılık yara yeri enfeksiyonu, seroma, fistül ve karın içi yapışıklıklarda artma saptanmıştır (5-9).

Konvansiyonel yöntemlerde yama kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilmesinin ardından, LeBlanc 1993 yılında laparoskopik olarak e-PTFE ile KÖF tamirini tanımlamıştır ve laparoskopik tamir artan sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (10). Büyük insizyon, geniş fasyal diseksiyon ve preparasyon yapılmayışı ayrıca daha az dren kullanılması ile ameliyat sonrası morbiditenin, hastanede kalış süresinin ve günlük hayata dönüş süresinin azaldığı tespit edilmiştir (11-15). Bu çalışmada son dört sene içerisinde kliniğimizde KÖF nedeniyle laparoskopik ve açık yöntemlerle tamir yapılan hastaların sonuçları karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2012 ve Ocak 2016 tarihleri arasında kliniğimizde karın ön duvarı fitiği nedeniyle ameliyat edilen ve verileri kayıt edilen 76 olgunun verileri incelendi.

Tüm hastalarla ameliyat öncesi yapılacak ameliyat hakkında detaylı olarak görüşüldü ve laparoskopik ve açık ameliyat hakkında detaylı bilgi verildi. Seçilecek yöntem hasta tercihine bağlı olarak, cerrah ve hasta tarafından beraber seçildi.

Karın ön duvarı fitikleri (kesi yeri fitiği ve ventral herniler) dışında inguinal, femoral veya Spiegel gibi diğer karın duvarı fitikleri nedeniyle ameliyat edilen hastalar çalışmaya alınmadı. Yama kullanılmadan primer tamir uygulanarak ameliyat edilen tüm karın duvarı fitikleri da çalışmaya alınmadı. Çalışmaya dahil edilen 76 hastada, ameliyatı laparoskopik olarak

bitirilen 43 hasta, grup 1 (n:43, % 56,5), onlay teknik ile yama yerleştirilen hastalar ise grup 2 (n:33, %43,5) olarak tanımlandı. Olgular, demografik veriler, vücut kitle indeksi (VKİ), onarım yöntemleri, ameliyat süreleri, hastanede kalış süreleri ve ameliyat sonrası komplikasyonlar açısından değerlendirildi.

Tüm hastalara ameliyattan önce tromboemboli ve antibiyotik profilaksisi uygulandı. Açık yöntemle ameliyat edilen tüm hastalara onlay teknik uygulandı. Bu teknikte rektus kılıfı cilt altı yağlı dokudan diseke edildikten sonra fitik boynu etrafındaki sağlam doku sınırları eğer gerilimsiz olarak karşılıklı geliyorsa PDS ile dikilerek kapatıldı. Daha sonra rektus kılıfı etrafında en az 3 cm sağlam dokuyu da örtecek şekilde polipropilen yama (PPY) konuldu ve prolen 2/0 veya 3/0 ile rektus kılıfı üzerine tesbit edildi. Eğer fitik boynu etrafındaki sağlam dokular karşılıklı olarak gergin bir şekilde geliyorsa Dual-mesh yama kullanılarak defekt onarıldı. Katmanları ayrıştırma (komponent seperasyonu) uygulanan hastalar çalışma dışına alındı. Cilt altı doku kapatılmadan önce defektin büyüklüğüne bağlı olarak en az bir adet aspiratif dren yerleştirildi. Cilt 3/0 prolen ile kapatıldı.

Laparoskopik tamirler ise defektin port girişine izin verişine bağlı olarak, eğer mümkünse lateral ve inferior trokar yerleşimi ile uygulandı. İlk port tercihen açık yöntemle veya optik görüşlü port yardımı ile girildikten sonra diğer portlar direkt görüş altında girildi. Karın içi yapışıklıklar künt ve keskin diseksiyonla ayrıldı. Yama (dual-mesh) defektten en az fitik çapının yarısı kadar geniş olacak şekilde laparoskopik zımba (tucker) yardımı ile karın ön duvarına tesbit edildi. Laparoskopik cerrahi uygulanan hastalarda ameliyat sonlandırılırken dren konulmadı.

Dren içeriği tamamen seröze döndükten sonra ve debisi 40 cc'nin altına düştükten sonra dren alındı.

Ağrı kesici olarak ameliyat sonrası 24 saat boyunca 4x500 mg IV parasetamol ve narkotik analjezikler (petidin hidroklorür 4x0.5 mg/kg) uygulandı. Ameliyat sonrası en az bir hafta süreyle oral 4x500 mg parasetamol verildi. Ameliyat sonrası 6. saatte oral sıvı alımı ve tolerasyonu olan tüm hastalara oral tam gıda başlandı.

Tüm olgular taburcu edildikten sonraki 10. günde poliklinik kontrolüne çağırıldı. Şikayeti olmayan hastalarda, takip eden kontroller ameliyat sonrası 1, 3 ve 12. ayda yapıldı. Gelmeyen hastalar telefon ile çağırıldı. Ameliyat yerinde şişlik olması, ultrasonografide (USG) fasyal defekt saptanması nüks olarak kabul edildi. Takipler esnasında yara yeri enfeksiyonu gelişmesi ve nüks saptanması durumunda takip sonlandırıldı.

Karın ön duvarı fitikleri tamir yöntemleri

Kontrollerde rutin fizik muayenenin yanında, klinik gereklilik halinde yüzeyel batın ultrasonografi yapıldı. İstatistiksel değerlendirme de, bağımsız örneklerde t testi, Ki-Kare testi (Fisher's exact test), Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametrelerin tümü ortalama (\pm standart sapma) şeklinde verildi. Tüm analizler Windows Excell 2016, WinSTAT Version 2012.1 istatistik paket programı ile yapıldı ve $p < 0.05$ anlamlı, üzerindeki değerler ise anlamsız (NS) olarak kabul edildi.

BULGULAR

Ocak 2012- Ocak 2016 arasında karın ön duvarı fitiği nedeni ile ameliyat edilen 76 hasta çalışmaya dahil edildi. Ameliyata laparoskopik olarak başlanılan 44 hastadan 43'ünün ameliyatı laparoskopik olarak tamamlandı. İki grubun demografik verileri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 1). Otuz üç hastanın ameliyatı ise açık cerrahi teknik ile tamamlandı. Laparoskopik grupta, 18 hastanın (%41.8) orta hat, 8 hastanın (%18.6) epigastrik, 6 hastanın (%13.9) Pfannenstiel, 4 hastanın (%9.3) göbek port yeri, 4 hastanın (%9.3) stoma yeri ve 3 hastanın (%6.9) paraumbilikal yerleşimli fitikleri mevcuttu. Açık cerrahi uygulanan grupta ise, 16 hastanın (%48.4) orta hat, 6 hastanın (%18.2) Pfannenstiel, 4 hastanın (%12.1) epigastrik, 3 hastanın (%9) göbek port yeri, 2 hastanın

(%6) stoma yeri ve 2 hastanın (%6) paraumbilikal yerleşimli fitikleri mevcuttu.

Tablo 1: Hastaların demografik verileri

	Grup 1	Grup 2	p
Hasta sayısı	43	33	
Yaş	54,11 \pm 12,81	49,36 \pm 13,58	NS
Cinsiyet (K/E)	28/15	21/12	NS
ASA skoru	1,58 \pm 0,79	1,57 \pm 0,83	NS
VKİ	32,5 \pm 1,2	30,5 \pm 1,4	NS

Laparoskopik grupta hiçbir hastaya dren konulmadı. Açık cerrahi uygulanan grupta ise ortalama dren kalış süresi 4.2 (2-14) gün olarak tesbit edildi. Laparoskopik grupta ameliyat süresi açık gruba oranla anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Buna karşılık hastanede kalış süresi anlamlı olarak daha düşük bulundu. Ortalama takip süresi her iki grupta da benzer şekildeydi (Tablo 2).

Tablo 2: Ameliyat süresi, hastanede kalış süresi ve ortalama takip sürelerinin karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	p
Ameliyat Süresi (dk)	86,4 \pm 19 (45-160)	66,5 \pm 14 (29-155)	< 0,05
Hastanede Kalış Süresi	2,4 \pm 1,4 (1-6)	5,3 \pm 2,4 (2-26)	<0,02
Ortalama takip süresi	24,2 \pm 14,4	26,2 \pm 13,7	>0,5

Ameliyat esnasında ve sonrasında gelişen genel komplikasyon oranları karşılaştırıldığında Grup 2'de anlamlı olarak daha fazla komplikasyon geliştiği saptandı (Tablo 3).

Nüksü etkileyen faktörler karşılaştırıldığında ise laparoskopik ve açık teknik arasında fark olmadığı, ancak geçirilmiş fitik cerrahisinin nüks için önemli bir risk faktörü olduğu saptandı (Tablo 4).

Tablo 3: Ameliyat esnasında ve sonrasında gelişen komplikasyonlar

	Grup 1 (n-%)	Grup 2 (n-%)	p
Komplikasyonlar (n-%)	10 - %23,2	11 - %33,3	P<0,5
Yara Yeri Enfeksiyonu (n-%)	1 - %2,3	1 - %3	
Hematom (n-%)	0	1 - %3	
Seroma (n-%)	1 - %2,3	1 - %3	
Greft Enfeksiyonu (n-%)	1 - %2,3	1 - %3	
İleus (n-%)	1 - %2,3	2 - %6*	
Cilt Nekrozu (n-%)	0	1 - %2,3	
Uzamış Ağrı (n-%)	0	0	
Barsak Yaralanması (n-%)	0	0	
Barsak Fistülü (n-%)	0	0	
Nüks (n-%)	6 - %13,9**	4 - %12,2***	

*1 hastada 6 ay sonra relaparatomiyi+İB rezeksiyon anastomoz,

**9 hasta nüks fitik nedeniyle ameliyatlı/ 2'si nüksün nüksü,

***8 hasta nüks fitik nedeniyle ameliyatlı/ 3'ü nüksün nüksü

Tablo 4: Nüksü etkileyen faktörler

	Nüks (+)	Nüks (-)	Toplam
Laparoskopi	6	37	>0.05
Açık cerrahi	4	29	>0.05
Geçirilmiş fitik ameliyatı	5	12	<0.05
VKİ	33,1 ± 1,1	31,9 ± 1,2	>0.05

TARTIŞMA

Karın ön duvarı fitikleri; kesi yeri, göbek, epigastrik ve suprapubik fitikleri içeren geniş bir yelpazeyi kapsayan fitiklerden oluşur. Morbid obezite, eşlik eden hastalıklar, immünsüpresyon ve işeme bozukluklarının eşlik ettiği prostat hastalıkları kesi yeri fitiklerinin (KYF) oluşmasında bilinen önemli faktörlerdir. KYF'lerin gelişimi için ameliyat sonrası ilk 5 yıl en kritik zaman olmasına karşın ilerleyen zamanlarda da gelişebilir (16). Minimal invazif tedavilerin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından sonra, daha kısa hastanede kalış süresi, yara yeri enfeksiyonlarında ve nüks oranlarında azalma saptanması, bu yöntemlerin artan sıklıkla kullanılmaya başlanmasına sebep olmuştur (17-19). Laparoskopik cerrahide minimum doku travması, greftin ve etraf sağlam dokunun detaylı olarak görülerek greftin serilmesi gibi avantajların yanında teleskopun magnifikasyon etkisi ile daha rahat bir görüş sağlanır fakat bu avantajların yanısıra başarılı sonuçlar için deneyim gerekmektedir. Ayrıca laparoskopiden açık cerrahiye geçiş başarısızlık veya komplikasyon olarak değerlendirilmemelidir. Biz bu serimizde 44 hastanın ameliyatına laparoskopik olarak başlayıp 1 hastada (%2) açık cerrahiye geçmek zorunda kaldık. Açık cerrahiye dönülen hasta daha önce 2 defa nüks nedeni ile ameliyat edilmiş ve multiple defektleri olan bir vakaydı. Bu hastada, fitik kesesinin içerisindeki ince barsak ve omentumun ileri derecede yapışıklıkları nedeniyle açık ameliyata geçildi.

Literatüre benzer şekilde laparoskopik grupta ameliyat süresi açık cerrahi uygulanan gruba kıyasla anlamlı olarak uzun, hastanede kalış süresi ise anlamlı olarak daha kısa bulundu bulundu (16,17,20,21). Laparoskopik grupta ameliyat süresinin uzun olmasını, cerrahi ekibin öğrenme eğrisini tamamlarken yapılan ameliyatların uzun sürmesi ve yama tesbitleme esnasında geçen süre olarak değerlendirdik.

Komplikasyon oranlarına bakıldığında ise açık cerrahi uygulanan grupta anlamlı derecede daha fazla komplikasyon olduğu saptandı. Castro ve ark.'nın yaptığı bir meta-analizde laparoskopinin ameliyat sonrası hastanede kalış süresini ve perioperatif dönemdeki enfeksiyon oranını azalttığı ancak ameliyat süresi, enterotomi ve ameliyat sonrası ağrıyı artırdığı saptanmış (22). Benzer şekilde, Itani ve ark.'nın çalışmasında da hastanede kalış süresi, nüks, komplikasyon ve enfeksiyon oranlarının laparoskopik grupta daha düşük olduğu saptanmıştır, fakat bu çalışmada ameliyat süresi de laparoskopik grupta daha kısa bulunmuştur (23). Bizim serimizde de laparoskopik grupta ameliyat süresi açık gruba oranla anlamlı olarak daha yüksek bulundu, hastanede kalış

süresi ise anlamlı olarak daha düşük bulundu. Açık cerrahi uygulanan grupta, bir hastada yatış süresinin uzamasına (26 gün) sebep olan cilt nekrozu gelişti. Her iki grupta da birer hastada uzamış ileus gelişti ve konservatif takiple geriledi. Açık cerrahi uygulanan bir hastada ise ameliyat sonrası beşinci ayda ileus gelişmesi üzerine ameliyata alındı. Karın içerisinde ileri derecede yapışıklıklar saptanan hastaya bridotomi, kısmi ince barsak rezeksiyonu ve uç-uca anastomoz uygulandı.

Seroma gelişimi laparoskopik vakalarda %8-17 arasında gözlenirken (16,24), laparotomi uygulanan vakalarda ise %0-66 olarak görülmektedir (16,25). Literatürden farklı olarak bizim serimizde her iki grupta da seroma sadece 1 hastada gözlendi (grup 1 vs grup 2; %2,3 vs %3).

Nüks gelişimi açısından laparoskopik ve açık cerrahi girişimler arasında fark saptanmadı. En önemli etkenin daha önce geçirilmiş olan fitik cerrahisi olduğu tesbit edildi.

Çalışmamızın en önemli kısıtlayıcı tarafı retrospektif ve non-randomize bir çalışma olmasıdır.

Çok büyük ventral herniler ($\geq 15\text{cm}$) dışında laparoskopinin, yüksek hasta memnuniyeti ile birlikte güvenli bir şekilde uygulanabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Bedewi MA, El-Sharkawy MS, Al Boukai AA, Al-Nakshabandi N. Prevalence of adult paraumbilical hernia. Assessment by high-resolution sonography: a hospital-based study. *Hernia*. 2012;16(1):59–62.
2. Martindale RG, Deveney CW. Preoperative risk reduction: strategies to optimize outcomes. *Surg Clin North Am* 2013;93(5):1041–55.
3. George CD, Ellis H. The results of incisional hernia repair: a twelve-year review. *Ann R Coll Surg Engl*. 1986;68:185–7.
4. Usher FC, Ochsner J, Tuttle LLD. Use of Marlex mesh in repair of incisional hernias. *Am Surg* 1958; 24:969–74.
5. Anthony T, Bergen PC, Kim LT, Henderson M, Fahey T, Rege RV, et al. Factors affecting recurrence following incisional herniorrhaphy. *World J Surg* 2000; 24(1):95–100.
6. Luijendijk RW, Hop WC, van den Tol MP, de Lange DC, Braaksma MM, Ijzermans JN, et al. A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. *N Engl J Med* 2000; 343(6):392–8.
7. Morris-StiV GJ, Hughes LE. The outcomes of nonabsorbable mesh placed within the abdominal

- cavity: literature review and clinical experience. *J Am Coll Surg* 1998; 186(3):352–67.
8. Holzman MD, Purut CM, Reintgen K, Eubanks S, Pappas TN. Laparoscopic ventral and incisional hernioplasty. *Surg Endosc* 1997; 11(1):32–5.
 9. Leber GE, Garb JL, Alexander AI, Reed WP. Longterm complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. *Arch Surg* 1998; 133(4):378–382.
 10. LeBlanc KA, Booth WV. Laparoscopic repair of incisional abdominal hernias using expanded polytetrafluoroethylene: preliminary findings. *Surg Laparosc Endosc* 1993;3:39–41.
 11. White TJ, Santos MC, Thompson JS. Factors affecting wound complications in repair of ventral hernias. *Am Surg* 1998; 64(3):276–80.
 12. Carbajo MA, Martín del Olmo JC, Blanco JI, Toledano M, de la CC, Ferreras C, et al. Laparoscopic approach to incisional hernia. *Surg Endosc* 2003; 17(1):118–22.
 13. Carbajo MA, del Olmo JC, Blanco JI, de la CC, Martín F, Toledano M, et al. Laparoscopic treatment of ventral abdominal wall hernias: preliminary results in 100 patients. *JSLs* 2000; 4(2):141–5.
 14. Heniford BT, Park A, Ramshaw BJ, Voeller G. Laparoscopic ventral and incisional hernia repair in 407 patients. *J Am Coll Surg*. 2000; 190(6):645–50.
 15. Berger D, Bientzle M, Müller A. Postoperative complications after laparoscopic incisional hernia repair. Incidence and treatment. *Surg Endosc* 2002; 16(12):1720–3.
 16. Barbaros U, Asoglu O, Seven R, Erbil Y, Dincçag A, Deveci U, et al. The comparison of laparoscopic and open ventral hernia repairs: a prospective randomized study. *Hernia* 2007; 11(1), 51-6.
 17. Othman H, Methwally YH, Bakr IS, Amer YA, Gaber MB, Egoary SA. Comparative study between laparoscopic and open repair of paraumbilical hernia. *J Egypt Soc Parasitol* 2012; 42: 175-82.
 18. Hussain D, Sarfraz SL, Kasmani JS, Baliga KS, Ibrahim M, Syed HS, et al. Laparoscopic Repair of Ventral Hernia. *J Coll Physicians Surg Pak* 2012; 22: 683-5.
 19. Heniford BT, Park A, Ramshaw BJ. Laparoscopic repair of ventral hernias. A nine year experience with 850 consecutive hernias. *Ann Surg*. 2003; 238: 391-400.
 20. Malik AM. Laparoscopic versus open repair of para-umbilical hernia. Is it a good alternative? *J Pak Med Assoc* 2015; 65(8):865-8.
 21. Itani KM, Hur K, Kim LT, Anthony T, Berger DH, Reda D, Neumayer L; Veterans Affairs Ventral Incisional Hernia Investigators. Comparison of laparoscopic and open repair with mesh for the treatment of ventral incisional hernia: a randomized trial. *Arch Surg* 2010; 145:322-8.
 22. Castro PMV, Rabelato JT, Monteiro GGR, GUERRA GCD, Mazzurana M, et al. Laparoscopy versus laparotomy in the repair of ventral hernias: systematic review and meta-analysis. *Arquivos de gastroenterologia* 2014; 51(3), 205-211.
 23. Itani KM, Neumayer L, Reda D, Kim L, Anthony T. Repair of ventral incisional hernia: the design of a randomized trial to compare open and laparoscopic surgical techniques. *Am J Surg* 2004; 188(6S):22–9
 24. Pring CM, Tran V, O'Rourke N, Martin JJ. Laparoscopic versus open ventral hernia repair: a randomized controlled trial. *ANZ J Surg* 2008;78:903-6.
 25. Carbajo MA, Martín del Olmo JC, Blanco JI, de la Cuesta C, Toledano M, et al. Laparoscopic treatment vs open surgery in the solution of major incisional and abdominal wall hernias with mesh. *Surg Endosc* 1999;13:250-2.

TRABEKÜLEKTOMİ OPERASYONU SONRASI ERKEN DÖNEMDE YÜKSEK GÖZ İÇİ BASINCI İÇİN YAPILAN LAZERLE SÜTÜR KESİLMESİNİN ETKİNLİĞİ

EFFECTIVENESS OF LASER SUTURE LYSIS AFTER TRABECULECTOMY WITH EARLY-POSTOPERATIVE HIGH INTRAOCULAR PRESSURE

Şerife BAYRAKTAR, Yasemin DERE, Belgin İZGİ*

ÖZET

Amaç: Trabekülektomi operasyonu sonrası erken dönemde yüksek göz içi basıncı (GİB) için yapılan lazerle sütür kesilmesinin (LSK) etkinliğini değerlendirmek.

Gereç ve Yöntem: 2005 ile 2013 yılları arasında trabekülektomi cerrahisi sonrası erken dönemde yüksek GİB'ları olan, masajla blebleri belirginleşen ve bu sebeple LSK yapılan 42 hastanın 47 gözü retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Olguların 22si kadın, 20si erkekti ve ortalama yaşı 62,1±16 (min 34; max 81) idi. Kırk yedi olgunun 22 sinde (%46,8) sadece 1 kez, 25 inde (%53,2) >1 kez LSK yapıldı. Yapılan ortalama LSK sayısı 1,63±0,7 (1-3) idi. Trabekülektomi öncesi ortalama GİB 30,2 mmHg, LSK öncesi ise 24,1±6,3 mmHg (14-42 mmHg) idi. LSK ile trabekülektomi arasında geçen süre ortalama 7,9±6,3 gündü. Bir kez LSK yapılan grupta LSK öncesi ortalama GİB 24,15±6,93 mmHg, LSK sonrası 17,47±5,81 mmHg idi. >1 kez LSK yapılan grupta ise LSK öncesi ortalama GİB 23,96±7,0 mmHg, LSK sonrası ise 16,6±4,61 mmHg idi. Her iki grupta aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.001). Olguların son muayenesindeki ortalama GİB 14,6±4,07 mmHg idi (4-25 mmHg) (p<0,001). Olguların ortalama takip süresi 21,4±20,01 (1-89 ay) aydı.

Sonuç: Trabekülektomi sonrası erken dönemde GİB yüksek bulunan olgularda hedef GİBna ulaşmak için argon lazerle sütür kesilmesi etkin ve güvenilir bir yöntemdir ve birden çok kez uygulanabilir.

Anahtar kelimeler: Glokom; trabekülektomi; lazerle sütür kesilmesi.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effectiveness of laser suture lysis (LSL) in patients with early high intraocular pressure (IOP) after trabeculectomy.

Material and Methods: Forty seven eyes of 42 patients who had high IOP and bleb formation after ocular massage in early postoperative period after trabeculectomy and undergone LSL between 2005 and 2013 were evaluated retrospectively.

Results: Twenty-two patients were female, 20 patients were male and the mean age was 62.1±16 (34-81). LSL was performed once in 22 eyes (46.8%) and more than once in 25 eyes(53.2%). The mean number of LSL was 1.63±0.7. The mean IOP before trabeculectomy was 30.2 mmHg and it was 24.1±6.3 mmHg (14-42 mmHg) before LSL. The mean interval time between trabeculectomy and performance of suture lysis was 7.9±6.3 days. The mean IOPs before and immediately after laser suture lysis were 24.15±6.93 mmHg and 17.47±5.81 mmHg respectively in patients that LSL was performed once (p<0.001). The mean IOPs before and immediately after laser suture lysis were 23.96±7 mmHg and 16.6±4.61 mmHg respectively in patients that LSL was performed more than once (p<0.001). The difference was statistically significant in two groups (p<0.001). At the last visit, the mean IOP was 14.6±4.07 mmHg (4-25 mmHg) (p<0.001). The mean follow-up time was 21.4±20.01months (1-89 months).

Conclusion: Laser suture lysis is a safe and effective method in the management of the patients in whom the target IOP was not reached after trabeculectomy and it can be performed more than once.

Key words: Glaucoma; trabeculectomy; laser suture lysis.

Date received/Dergiye geldiği tarih: 05.12.2016 – Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 04.05.2017

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: serifcanturk@yahoo.com)

GİRİŞ

Trabekülektomi günümüzde en sık tercih edilen ve “altın standart” olma özelliğini halen koruyan glokom cerrahisidir. İlk kez 1968 yılında Cairns tarafından tarif edilmiştir (1). Yalnız postoperatif dönemde aşırı filtrasyona bağlı oküler hipotoni, sığ ön kamara gibi istenmeyen komplikasyonlar görülebilmektedir. Bu durum mitomisin-C’ nin (MMC) intraoperatif kullanımının artışı ile paralellik göstermektedir (2-5). Aşırı filtrasyona bağlı komplikasyonlar skleral flebin sıkı kapatılması ile önlenebilmektedir. Skleral flebin sıkı kapatılması cerrahi sonrası erken dönemde filtrasyonun yetersiz olmasına ve göz içi basıncında (GİB) hedeflenen düşüşün sağlanamamasına yol açmaktadır. Tedavide önceden serbestleştirilebilir sütün konmuşsa gevşetme tekniği kullanılabilir veya minimal invaziv bir yöntem olan lazerle sütün kesilmesi (LSK) tekniği uygulanabilir (6-13).

İlk defa 1983’te Lieberman ve sonra Hoskins ve Migliazzo tarafından tanımlanan lazerle sütün kesilmesi tekniği trabekülektomi sonrası 9/0 veya 10/0 nylon skleral flep sütünlerinin termal lazer kullanılarak transkonjonktival yolla kesilmesidir (6,14).

Biz bu çalışmada trabekülektomi operasyonu sonrası erken dönemde yüksek göz içi basıncı (GİB) için yapılan lazerle sütün kesilmesinin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Glokom Birimi’nde 2005 yılından itibaren trabekülektomi ameliyatı sonrası lazerle sütün kesilmesi (LSK) yapılan 22’ si kadın, 20’ si erkek 42 hastanın 47 gözü çalışmaya dâhil edildi. Dosyalar geriye dönük olarak incelendi. Hastalar cinsiyet, yaş, takip süreleri ve glokom tipi; cerrahinin antimetabolitli ve antimetabolitsiz olması açısından değerlendirildi. Hastaların Goldmann aplanasyon tonometre ile ölçülen LSK öncesi, LSK hemen sonrası ve son takipteki GİB değerleri, yapılan LSK sayısı, LSK öncesi ve sonrası kullanılan medikasyon sayısı kaydedildi.

Sıkı yara yeri kapanmasına bağlı yetersiz filtrasyon, düz bleb, derin ön kamara, oküler masaj öncesi GİB’nin 21 mmHg ve üzerinde olması, masajla GİB’nin düşerek blebin belirginleşmesi argon LSK için endikasyon olarak belirlendi.

Cerrahi Teknik: Gerekli cerrahi sterilizasyon sağlandıktan sonra limbal tabanlı konjonktival fleb oluşturuldu. Yarı kalınlıkta, 3x4 mm boyutlarında dikdörtgen şeklinde skleral fleb hazırlandı. Antimetabolit kullanılanlarda 3 dakika süreyle 0,2 mg/ml Mitomisin-C (MMC) / 5-Fluorouracil (5-FU) ile ısıtılmış sponj subkonjonktival bekletildi. Ön kamaraya parasentez yapılarak GİB kontrollü olarak düşürüldü. Skleral fleb altından 1x2 mm trabekülüm dokusu çıkarılıp, periferik iridektomi yapıldı. Skleral flep 10/0 siyah nylon sütün ile iki köşesinden ve yanlardan ikişer sütün ile kapatıldı. Sütün sayısı ve sıklığı, peroperatif glob üzerine hafif manuel bası ile sıvı sızıntısına izin verecek şekilde kontrol edilerek ayarlandı. Konjonktiva 8/0 vicryl sütün ile kapatıldı. Postoperatif topikal

tedavide; moksifloksasin HCl günde 4 kez, prednizolon asetat %1 günde 5 kez uygulandı.

Lazer tekniği: Lazerle sütün kesilmesi; topikal anestezi altında Argon mavi-yeşil lazer (Visulas 532s, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany) ile yapıldı. 50-100 spot büyüklüğü, 0,1 sn süreyle 300-500 mW güç kullanılarak sütünler kesildi. Sütün kesilmesi için Hoskins lensi (Ocular instruments, Inc., Bellevue, WA, USA) konjonktivayı bastırmak ve beyazlatmak için kullanıldı.

BULGULAR

Hastaların ortalama yaşı 62,1±16 (min 34; max 81) idi. 14 hastanın psödoeksfolyatif glokom, 12 hastanın primer açık açılı glokom, 5 hastanın dar açılı glokom, 7 hastanın sekonder glokom, 3 hastanın juvenil glokom, 1 hastanın ise pigmenter glokom tanısı mevcuttu. Hastaların demografik özellikleri Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1: Hastaların demografik özellikleri

	n=42 (%)
Cinsiyet (%)	
Erkek	20 (%48)
Kadın	22 (%52)
Yaş (ort±SD)	62,1±16
Glokom tipi (%)	
PSXG	14 (%33)
PAAG	12 (%29)
SG	7 (%17)
DAG	5 (%12)
JG	3 (%7)
PG	1 (%2)
LSK öncesi GİB (ort±SD)	24,1±6,3
LSK öncesi medikasyon sayısı (ort±SD)	3,66±1,0
PAAG:Primer açık açılı glokom, PSXG:Psödoeksfolyatif glokom, DAG:Dar açılı glokom, SG: Sekonder glokom, JG: Juvenil glokom, PG: Pigmenter glokom, LSK: Lazerle sütün kesilmesi, GİB: Göz içi basıncı	

Yapılan 47 trabekülektomi operasyonunun 19’ u (%40,4) antimetabolitli, 28’ i (%59,6) antimetabolitsiz idi. Antimetabolit olarak 12 olguda (%63) MMC, 7 olguda (%37) 5-FU kullanıldı. Beş hastanın 2 gözüne, 37 hastanın ise tek gözüne trabekülektomi ve sonrasında LSK yapıldı.

Hastalar 1 kez LSK yapılanlar ve >1 kez LSK yapılanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kırk yedi olgunun 22’ sinde (%46,8) sadece 1 kez, 25’ inde (%53,2) >1 kez

LSK yapıldı. Yapılan ortalama LSK sayısı $1,63 \pm 0,7$ (1-3) idi. Trabekülektomi öncesi ortalama GİB $30,2$ mmHg, LSK öncesi ise $24,1 \pm 6,3$ mmHg (14-42 mmHg) idi. LSK ile trabekülektomi arasında geçen süre ortalama $7,9 \pm 6,3$ gündü. Bir kez LSK yapılan grupta LSK öncesi ortalama GİB $24,15 \pm 6,93$ mmHg, LSK sonrası $17,47 \pm 5,81$ mmHg idi. >1 kez LSK yapılan

grupta ise LSK öncesi ortalama GİB $23,96 \pm 7,0$ mmHg, LSK sonrası ise $16,6 \pm 4,61$ mmHg idi. Her iki grupta aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$, $p < 0,001$). Son vizitteki ortalama GİB ise $14,6 \pm 4,07$ mmHg idi ($p < 0,001$) (Tablo 2).

Tablo 2: Olguların LSK öncesi, LSK sonrası ve son vizitteki GİB değerleri

	LSK öncesi GİB (mmHg)	LSK sonrası GİB (mmHg)	Son GİB (mmHg)	P
1 LSK	$24,15 \pm 6,93$	$17,47 \pm 5,81$	$13,55 \pm 4,24$	$<0,001$
>1 LSK	$23,96 \pm 7,00$	$16,60 \pm 4,61$	$15,20 \pm 8,48$	$<0,001$

LSK: Lazerle sütür kesilmesi, GİB: Göz içi basıncı

Trabekülektomi ile LSK arası ortalama süre $7,9 \pm 6,3$ gündü. Antimetabolit kullanılmayanlarda bu süre $7,0 \pm 4,2$ gün, kullanılanlarda ise $9,4 \pm 4,9$ gün idi. Antimetabolit kullanılanlarda süre daha uzun olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hastaların trabekülektomi öncesi kullandıkları antiglokomatöz ajan sayısı $3,66 \pm 1,0$; son vizitte ise $1,0 \pm 1,3$ idi ($p < 0,001$). Yirmi üç olguda (%49) ilaçsız, 24 olguda (%51) ilaçla hedeflenen GİB'na (<21 mmHg) ulaşıldı. Bir olguda post-op 8. günde yapılan LSK sonrası hipotoni (<6 mmHg) gözlemlendi ancak takiplerde koroid dekolmanı ve hipotoni saptanmadı. Hastaların ortalama takip süresi $21,4 \pm 20,01$ ay (2-89) idi.

TARTIŞMA

Glokomda, GİB yüksekliği kontrol edilebilir tek risk faktörüdür. Tıbbi veya cerrahi tedavi yöntemleri ile etkin bir şekilde GİB düşüşü sağlanabilmektedir. Trabekülektomi günümüzde en sık tercih edilen glokom cerrahisi tekniğidir (1). Ancak erken dönemde, aşırı filtrasyon; postoperatif hipotoni ve buna bağlı seröz koroid dekolmanı, suprakoroidal hemoraji, sığ ön kamara (ÖK), periferik anterior sineşi, makülopati, erken katarakt gelişimi, bu cerrahinin komplikasyonları arasındadır. Daha önceki yıllarda GİB' nın yeterli düzeyde düşürülemeyeceği düşünülerek skleral flebe gevşek sütürler konmaktaydı. Buna bağlı olarak postoperatif hipotoni görülme oranı yüksekti. Son yıllarda postoperatif LSK yapılmaya başlanması ile skleral flebe istenilen sıklıkta sütür koyabilme imkânı doğdu. Özellikle MMC kullanılan olgularda postoperatif hipotoni gelişim riskini azaltabilmek için sıkı sütür konularak postoperatif GİB yüksek olgularda LSK tekniği sayesinde hedef GİB' na ulaşılmış oldu (15-20).

Macken ve ark. 200 gözünü içeren çalışmalarında 99 göze postoperatif LSK uygulandı, işlem sonrası GİB' de anlamlı düşüş elde etmiş ve LSK uygulanan olgular ile uygulanmayan olgular arasında sonuç ortalama GİB açısından anlamlı fark saptamışlardır (21).

LSK birçok çalışmada trabekülektomi başarısını arttırmada etkili bulunmuştur (8-9,15-17,20,22-25). LSK' dan dan hemen sonra GİB düşüşü $11,8$ ile $22,7$ mmHg arasında değişmekte ve takiplerde de bu başarının devam ettiği görülmektedir (8-9,15,19-23).

Bizim çalışmamızda ise LSK' dan dan hemen sonra GİB düşüşü ortalama $8,6$ mmHg idi.

Trabekülektomi cerrahisi sonrası skleral fleblerde fibrozis gelişmesi genellikle 2-3 hafta sürmektedir. Bu nedenle bu süre zarfından sonra yapılacak olan sütür kesilmesi işleminin faydalı olmadığı, LSK' nın skarlaşmanın olmadığı postop ilk 2 günden sonra 2-3 hafta içinde yapılmasıyla en iyi sonuçların alınacağı pek çok çalışmada bildirilmiştir (15,19,20,23).

Savage ve ark' nın antifibrotik ajan kullanmaksızın trabekülektomi sonrası 43 göze LSK uyguladıkları bir çalışmada, LSK ile en fazla GİB düşüşünün postop ilk 2 haftada, orta dereceli düşüşün 3-4. haftada sağlandığı, 4. haftadan sonra ise etkisinin olmadığı belirtilmiştir (21). Ancak antimetabolit kullanımı ile yara iyileşmesinin gecikmesi nedeniyle trabekülektomi-sütür lizis arası 'pencere periyodu' nun uzadığı, 21. haftaya kadar başarılı olduğu bildirilmiştir (9,20,23-24,26). Ralli ve arkadaşları postoperatif ilk 10 günde yapılan LSK' nın geç dönemdekine göre 12 aylık süreçte GİB düşüşü üzerine daha etkili olduğunu göstermiştir (11). Bizim çalışmamızda ise trabekülektomi ile LSK arası ortalama süre $7,9 \pm 6,3$ (min 2; max 27) gündü. Antimetabolit kullanılmayanlarda bu süre $7,0 \pm 4,2$ (min 2; max 22) gün, kullanılanlarda ise $9,4 \pm 4,9$ (min 2; max 27) gün idi.

Hipotoni ve ön kamara sığlaşması LSK sonrası en sık gelişen komplikasyonlar olarak tespit edilmiştir. Savage ve ark. (22) yaptıkları çalışmada (43 göz), 5 gözde konjonktival sızıntı ve 3 gözde cerrahi olarak düzelttikleri sığ ön kamara tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda LSK sonrası sızıntı izlenmemiştir. Bir hastada LSK sonrasında GİB 4 mmHg ölçülmüş ancak takiplerinde hipotoni, sızıntı veya koroid dekolmanına rastlanmamıştır.

Çalışmanın zayıf yönü hasta gruplarının hem glokom tipi açısından hem de cerrahi sırasında antimetabolit kullanılıp kullanılmaması ve de aynı metabolitin kullanılmaması açısından homojen olmamasıdır.

Sonuç olarak trabekülektomi sonrası erken dönemde GİB yüksek bulunan olgularda hedef GİB' na ulaşmak için argon lazerle sütür kesilmesi etkin bir yöntemdir. LSK postoperatif hipotoniden doğan erken komplikasyonları azaltırken tatmin edici cerrahi

sonuçlar elde etmenin de en güvenilir yollarından birisidir.

KAYNAKLAR

1. Cairns JE. Trabeculectomy. Preliminary report of a new method. *Am J Ophthalmol* 1968;66: 673-9.
2. Jampel HD, Pasquale LR, Dibernardo C. Hypotony maculopathy following trabeculectomy with mitomycin C. *Arch Ophthalmol* 1992;110: 1049-50.
3. Shields MB, Scroggs MW, Sloop CM, Simmons RB. Clinical and histopathologic observations concerning hypotony after trabeculectomy with adjunctive mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 1993;116:673-83.
4. Costa VP, Wilson RP, Moster MR, Schmidt CM, Gandham S, Smith M. Hypotony maculopathy following the use of topical mitomycin C in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surg* 1993;24: 389-94.
5. Zacharia PT, Deppermann SR, Schuman JS. Ocular hypotony after trabeculectomy with mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 1993;116:314-26.
6. Hoskins HD, Migliazzo C. Management of failing filtering blebs with the argon laser. *Ophthalmic Surg* 1984;15: 731-3.
7. Shin DH. Removable-suture closure of the lamellar scleral flap in trabeculectomy. *Ann Ophthalmol* 1987;16: 51-3.
8. Pappa KS, Derick RJ, Weber PA, Kapetansky FM, Baker ND, Lehmann DM. Late argon laser suture lysis after mitomycin C trabeculectomy. *Ophthalmology* 1993;100:1268-71.
9. Melamed S, Ashkenazi I, Glovinski J, Blumenthal M. Tight skleral flap trabeculectomy with postoperative laser suture lysis. *Am J Ophthalmol* 1990;109:303-9.
10. Kapetansky FM. Laser suture lysis after trabeculectomy. *J Glaucoma* 2003;12: 316-20.
11. Ralli M, Nouri-Mahdavi K, Caprioli J. Outcomes of laser suture lysis after initial trabeculectomy with adjunctive mitomycin C. *J Glaucoma* 2006;15: 60-7.
12. Aykan U, Bilge AH, Akin T, Certel I, Bayer A. Laser suture lysis or releasable sutures after trabeculectomy. *J Glaucoma* 2007;16: 240-5.
13. Mudgil AV, To KW, Balachandran RM, Janigian RH, Tsiaras WG. Relative efficacy of the argon green, argon blue-green, and krypton red lasers for 10-0 nylon subconjunctival laser suture lysis. *Ophthalmic Surg Lasers* 1999;30: 560-4.
14. Lieberman MF. Suture lysis by laser and goniosens. *Am J Ophthalmol* 1983;95: 257-8.
15. Singh J, Bell RW, Adams A, O'Brien C. Enhancement of posttrabeculectomy bleb formation by laser suture lysis. *Br J Ophthalmol* 1996;80: 624-7.
16. Altan Ç, Özturker C, Eren H, Bayraktar Ş, Kayaarası Z, Yılmaz O F. Trabekülektomi sonrası lazer sütün lizisi. *Glo-Kat* 2006;1: 35-8.
17. Şatana B, Kocasarac C, Altan Ç, Baz Ö, Başarır B, Küçükşümer Y ve ark. Trabekülektomi sonrası erken dönem yüksek göz içi basıncında lazer sütün lizisinin etkinliği *Türk J Ophthalmol* 2013;43: 91-3.
18. Ritch R, Potash SD, Liebmann JM. A new lens for argon laser suture lysis. *Ophthalmic Surg* 1994;25: 126-7.
19. Sayın İ, Temel A, Kazokoğlu H. Trabekülektomi sonrası lazer suture lizis sonuçlarımız. *Türk Oftalmoloji Derneği XXVIII. Ulusal Kongresi Bulteni* 1994;1: 267-8.
20. Bardak Y, Cuypers MH, Tilanus MA, Eggink CA. Ocular hypotony after laser suture lysis following trabeculectomy with mitomycin C. *Inter Ophthalmol* 1998;21:325-30.
21. Macken P, Buys Y, Trope G E. Glaucoma laser sütün lysis, *Br J Ophthalmol* 1996;80: 398-401.
22. Savage JA, Condon GP, Lytle RA, Simmons RJ. Laser suture lysis after trabeculectomy. *Ophthalmology* 1988;95: 1631-8.
23. Morinelli EN, Sidoti PA, Heuer DK, Minckler DS, Baerveldt G, LaBree L, et al. Laser suture lysis after mitomycin C trabeculectomy. *Ophthalmology* 1996;103:306-14.
24. Geijssen HC, Greve EL. Mitomycin, suturelysis and hypotony. *Int Ophthalmol* 1992;16: 371-4.
25. Porges Y, Ophir A: Surgical outcome after early intraocular pressure elevation following combined cataract extraction and trabeculectomy. *Ophthalmic Surg Lasers* 1999;30: 727-33.
26. Kapetansky FM. Laser suture lysis after trabeculectomy. *J Glaucoma* 2003;12: 316-20.

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE İZOLASYONUNDA ALDH ETKİNLİĞİNİN ÖNEMİ

IMPORTANCE OF ALDH ACTIVITY IN HEMATOPOIETIC STEM CELL ISOLATION

Leyla TÜRKER ŞENER*, Aycan BAŞ**, İbrahim KALELLİOĞLU***,
Suzan ADIN ÇINAR****, Işıl ALBENİZ*

ÖZET

Amaç: Kan hücrelerine kolaylıkla farklılaşabilen hematopoetik kök hücrelerin (HKH) saflaştırmasında tercih edilen yöntem, flow sitometrik veya magnetik ayırım sistemi ile CD34⁺ hücrelerin seçimidir. İnsan kök hücrelerini tamamen fenotipik hücre yüzey belirteçlerine dayanmadan etkin olarak saptayan metodlara ihtiyaç vardır. Bu metodlardan biri retinoid metabolizması ve HKH'lerin siklofosamid gibi alkilleyici ajanlara direncinde rol oynayan sitozolik aldehyd dehidrogenaz (ALDH)'dır. Farklı fonksiyonları olan kordon kanından klinik uygulamalarda kullanılabilen en primitif insan hematopoetik kök ve progenitor hücrelerin daha yüksek saflıkta eldesinin CD34⁺CD38⁻ yüzey belirteçlerinin yanı sıra ALDH ile de işaretlenerek akım sitometri analizi sonrası ALDH⁺ hücrelerin diğer hücrelerden ayrılarak olabileceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hematopoetik hücre serilerine farklılaştırılma çalışmaları için sadece CD34⁺ hücrelerin seçilmesinin yeterli olmadığı ALDH⁺ ve CD38⁻ negatifliğin de analiz edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: Biz çalışmamızda CD34 yüzey belirteci olan hücreleri kordon kanından magnetik nanopartiküller kullanarak ayırdıktan sonra flow sitometre cihazıyla, bu hücrelerin içerisinden ALDH etkinliği olup CD38 yüzey antijeni-olmayan hücreleri saflaştırdık. Bu hücre gruplarını floresan mikroskopu ile görüntüledik.

Bulgular: Yaptığımız bu çalışmada kordon kanından saflaştırdığımız CD34⁺ hücrelerin ALDH-FITC işaretlenmeleri sonucunda aldığımız floresan mikroskop ve flow sitometrik (facs) analizinde CD34⁺ olan hücrelerin ALDH⁺ olduğu görüldü.

Sonuç: Bu çalışmamızın sonucunda kordon kanından hematopoetik kök hücre izolasyonunda ALDH⁺ hücre grubu CD34⁺CD38⁻ hücrelerden zengin olduğu ve hücre kültüründe koloni oluşturma özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Kordon kanından hematopoetik kök hücre izolasyonunda yalnızca CD34⁺ olmasının yeterli olmadığı ALDH⁺ ve CD38⁻ negatifliğin de analiz edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Hematopoetik kök hücre; kordon kanı; ALDH; CD34.

ABSTRACT

Objective: The preferred method for the purification of hematopoietic stem cells (HSCs), which can easily differentiate into blood cells, is the selection of CD34⁺ cells by flow cytometry or magnetic discrimination. Methods are needed that effectively determine human stem cells without entirely relying on phenotypic cell surface markers. One of these methods is cytosolic aldehyde dehydrogenase (ALDH), which plays a role in retinoid metabolism and resistance of HSCs to alkylating agents such as cyclophosphamide. The prospective isolation of human hematopoietic stem and progenitor cells with different functions, as well as surface markers, are also recommended by ALDH and flow cytometry. In the above findings, ALDH⁺ cells can be isolated from other cells and the most primitive hematopoietic stem cells can be isolated and used in clinical applications.

Materials and methods: In our study, we separated the CD34 surface marker cells from cord blood using magnetic nanoparticles and then purified the cells with ALDH activity and non-CD38 surface antigen by flow cytometer. We visualized these cell groups with fluorescence microscopy.

Results: We observed that the majority of CD34⁺ cells were ALDH⁺ in fluorescence microscopy and flow cytometry (FACS) analysis of CD34⁺ cells purified from cord blood as a result of ALDH-FITC markings.

Date received/Dergiye geldiği tarih: 13.03.2017 – Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 03.05.2017

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, * Biyofizik Anabilim Dalı, ** *Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, **** Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, **Altınbaş Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Odiometri Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: leylasen@istanbul.edu.tr)

Conclusion: As a result of this study, it was found that the ALDH⁺ cells group is rich in CD34⁺ CD38⁻ cells in hematopoietic stem cells isolated from cord blood, and is capable of colony formation in cell culture. It is suggested that in hematopoietic stem cell isolation from cord blood, only CD34⁺ cells are not sufficient and ALDH⁺ and CD38⁻ negativity should also be analyzed.

Keywords: Hematopoietic stem cells; cord blood; ALDH; CD34.

GİRİŞ

Kök hücreler kendilerini yenileyebilme, proliferasyon ve çeşitli hücre tiplerine (kemik, kırıldak, kas, yağ, v.b.) farklılaşma potansiyeline sahip; eritroid seri, miyeloid seri ve megakaryositik seri ile lenfoid serilerin her biri için birer unipotansiyel farklılaşmamış hücrelerdir (1). Erişkin kök hücreler mezenkimal ve hematopoetik kök hücreler olmak üzere ikiye ayrılırlar. HKH'ler kendi kendini yenileyebilme ve tüm kan hücrelerine farklılaşabilme özellikleri ile kan hücreleri öncülleridir. Farklılaşabildikleri kan hücreleri: myeloid hücreler (monositler, makrofajlar, bazofiller, eosinofiller, eritrositler, megakaryositler/ plateletler ve bazı dendritik hücreler) ve lenfositler (T-hücreleri, B-hücreleri, NK-hücreler, bazı dendritik hücreler)'dir. Bu hücreler periferik kana 3-4 günlük bir süre içerisinde mobilize olmaktadır. İnsan kordon kanında CD34⁺ kök ve progenitor hücre kompartmanlarını ayırmada ALDH aktivitesini ilk kullanan Storm ve arkadaşlarıdır (2). ALDH⁺ hücrelerin çoğunda CD34⁺ün de pozitif olduğunu ancak bazı hücrelerin ya CD34 ya da ALDH ekspresine ettiğini Fallon ve arkadaşları (4) yaptıkları çalışmada gösterdiler. Bulgularına göre; farklı serilere gelişim sağlayabilen ilkel progenitor hücrelerin birçoğu ALDH⁺CD34⁺ hücre grubundaydı ve kısa süreli miyeloid progenitorlerden zengindi, ALDH⁺CD34⁺ hücrelerde ise ilkel progenitor sayısı ve kısa süreli miyeloid potansiyel az olduğunu bildirmişlerdir. Lacombe ve arkadaşları (5) yaptıkları hayvan çalışmasında ALDH⁺ hücrelerin tipik primitif hematopoetik öncül hücreler olduğunu ve in vitro hematopoetik progenitor fonksiyonunun ALDH⁺ grupta, ALDH gruptan daha yüksek olduğunu ve daha yüksek telomeraz aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir. Aldefluor, kendisi ALDH'nın substratı olmayan bodipy-aminoasetaldehit dietil asetal (BAAA-DA) şeklindedir. BAAA-DA, dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözünür ve ALDH için floresan bir substrat olan bodipy-aminoasetaldehite (BAAA) dönüştürülmek için asite maruz bırakılır. BAAA yüksüzdür ve intakt canlı hücreleri plazma membranlarından serbestçe difüzyona uğrar. İntraselüler ALDH, BAAA'yı serbest difüzyona izin vermeyen negatif yükü nedeniyle hücre içinde biriken bodipyaminoasetata (BAA) dönüştürür (Şekil 1) (7).

Aldefluor kiti içinde bulunan buffer BAA'nın hücrelerden dışarı çıkmasını engelleyen bir transport inhibitörü içerir. Sonuç olarak, yüksek miktarda ALDH sentezleyen hücrelerde BAA ve böylece floresans birikir. Bu floresans standart akım sitometri ile ölçülebilmektedir. BAAA'lı hücrelerin 10 kat daha fazla miktarda ALDH inhibitörü dietil amino benzaldehit (DEAB) ile

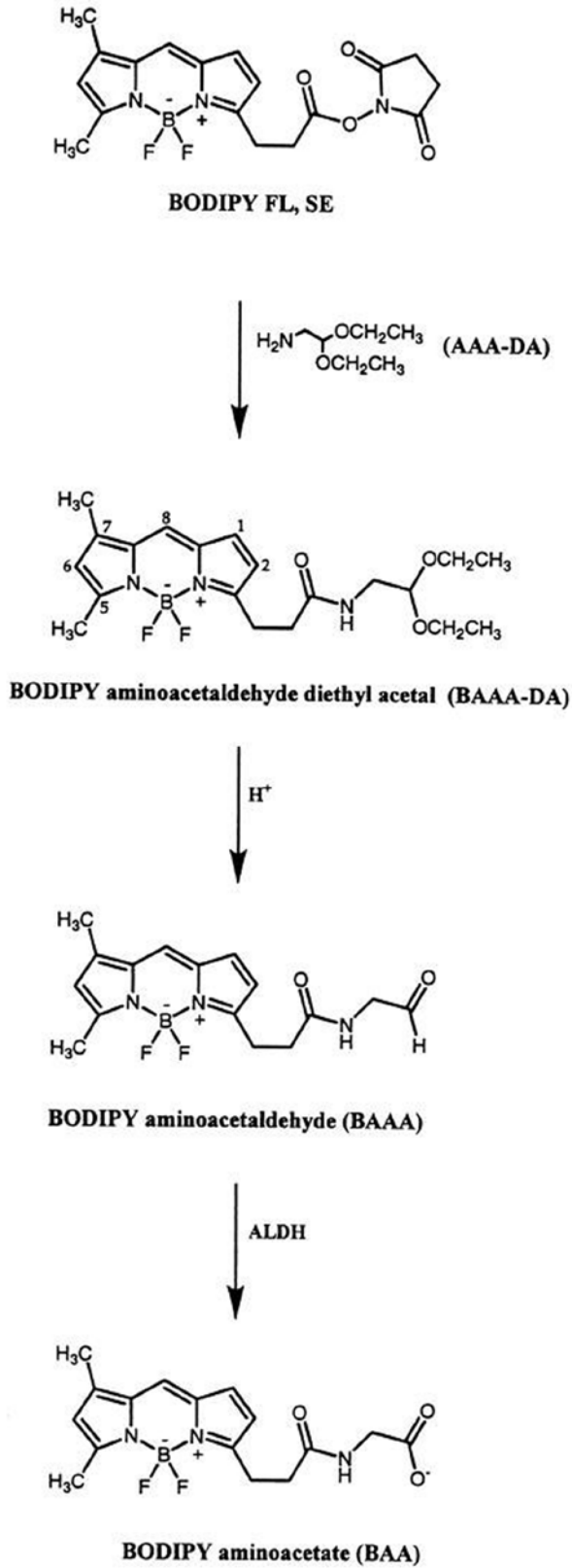
inkübasyonu ALDH^{br} (Aldehit dehidrogenaz bright) hücrelerin floresans yoğunluğunda önemli azalmayla sonuçlanır ve negatif kontrol olarak kullanılır. Mobilize periferik kan hücrelerindeki ALDH sıklığı %3.1±4.8 olarak bildirilmiştir. Kordon kanında ALDH^{br} hücre sıklığı ise yaklaşık %1 olarak bulunmuştur. Çeşitli çalışmalarda CD34 ekspresine eden ALDH^{br} hücrelerin sıklığı kordon kanı ve mobilize periferik kan hücreleri arasında küçük farkla %73-95 olarak bildirilmiştir. CD34 anlatımı olan ALDH^{br} insan kemik iliği hücrelerinin sıklığı ise daha azdır (%49-59). ALDH^{br} kordon kanı ve kemik iliği hücrelerinin büyük çoğunluğu, ALDH'nın ilkel hematopoetik hücrelerde anlatımı ile uyumlu olarak, CD34⁺CD38^{-/lo} fenotipindedir. CD34⁺CD38^{-/lo} olan ALDH^{br} hücrelerin mobilize periferik kandaki sıklığı sadece %0.75±1.2 olarak bildirilmiştir. ALDH^{br} hücrelerin büyük kısmı ilkel hematopoetik hücrelerin karakteristik fenotipik özelliklerine de sahiptir (örneğin CD117 ve CD133). ALDH^{br} hücrelerin %63'ünde lineage antijenler azdır veya bulunmaz. Lin- ALDH^{br} hücrelerin çoğu CD34⁺tir. CD34⁻ALDH^{br} hücreler lineage antijen anlatımı açısından heterojendir.

Hess ve ark (8) otooloji mobilize periferik kan kök hücre graflarıyla verilen ALDH^{br} hücre sayısı ile nötrofil ve trombosit düzelmesine kadar geçen süre arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar ALDH^{br} hücre sayımının CD34⁺ hücre ölçümüne bir alternatif olabileceğini yani HKH'lerin fenotip yerine fonksiyonel özelliklere dayalı olarak tanımlanıp sayılabileceğini gösterir (9).

Daha önce ALDH^{br} hücrelerle yapılan tüm çalışmalarda ALDH^{br} kordon kanı ve mobilize periferik kanın CD34⁺ ve CD38⁻ hücrelerden zengin olduğu gösterilmiştir (10,11,12). ALDH^{br}CD34⁺ hücreler en ilkel hematopoetik progenitorlardan zengindir. ALDH ve CD34 anlatımı insan hematopoezinin gelişimsel aşamalarını ayırmada da kullanılabilir. En ilkel hematopoetik hücreler ALDH ve CD34 sentezler.

İnsan hücrelerine toksik olmayan Aldefluor substratı; insan hücrelerinin çoğalma fonksiyonunu değiştirmez. Deoksiribonükleik asit (DNA) arasına girmez. Sonuç olarak ALDH aktivitesine bağlı izolasyon DNA'ya bağlanan boyalarla seçime kıyasla relatif olarak daha güvenli olarak gözükmektedir. Değişken hücre yüzey molekülleri kullanmadan kök hücreleri diğer dokulardan ayırmada standart bir yöntem sağlayabilir (13).

BAAA ile boyama yüksek oranda tekrarlanabilen basit bir işlemdir. BAAA'nın emisyon spektrumu diğer florokromlarla önemli ölçüde çakışmaz böylece çok parametrelili FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting) analizi ile ilave belirteçlerin kullanılmasına izin verir.



Şekil 1: BAAA-DA (Bodipy aminoasetaldehyit dietilasetal), BAAA (Bodipy aminoasetaldehyit) ve BAA (Bodipy aminoasetat)'nın yapısı(7)

BAAA'nın hücrenin canlılığını gösteren bir boya olması onu kriyoprezervasyon uygulanan hücrelerin ve canlılığı bozulmuş diğer örneklerin boyanmasında da yararlı kılar. CD34'e dayalı yöntemler canlı ve cansız hücreleri

ayırılmaz (14). BAAA boyası hem lineage negatif CD34⁺ hücreleri hem de CD34⁻ hücreleri kapsar. ALDH^{br} popülasyonun bir alt grubu olan lineage negatif CD34 yüzey antijeninin hücrelerdeki biyolojik önemi halen bilinmemektedir.

ALDH⁺ hücrelerin izolasyonu tümör hücreleriyle kontaminasyonun temizlenmesinde de yararlı olabilir. Kordon kanının dondurulması ve çözülmesi türü işlemler sırasında membran hasarına uğrayan hücreler ALDH reaksiyonuna ait ürünü kaybeder ve sonuçta tüm ALDH⁺ hücreler saptanamayabilir. Bu sebepten dolayı kordon kanından progenitor hücre saflaştırması yapılırken çalışmalarda taze kordon kanı ile çalışılması verimi artırır.

Son olarak, birçok dokudaki kök hücreler yüksek miktarda ALDH ekspresyone edebileceğinden ALDH^{br} hücrelerin tanımlanması hematopoetik sistem dışındaki barsak, karaciğer ya da deri gibi diğer dokulardan kök hücrelerin izole edilmesinde yararlı bir yöntem olabilir (15,16).

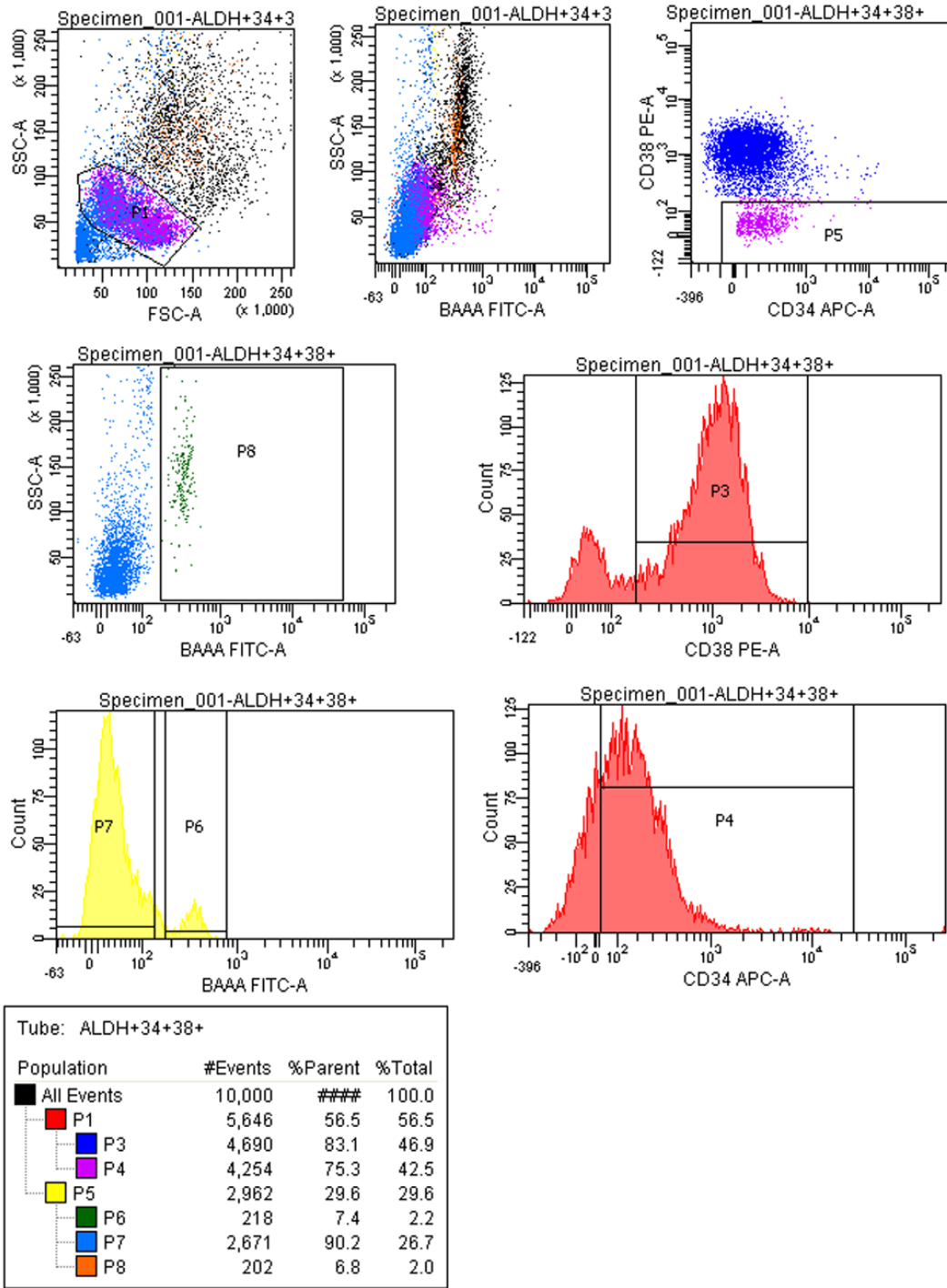
MATERYAL VE METOD

Kordon Kanından CD34⁺ Hücre İzolasyonu

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Doğum Anabilim Dalı tarafından K2EDTA'lı tüplere alınan 10 ml kordon kanı 1:1 oranda PBS ile seyreltildi. Ficoll üzerine seyreltilmiş olan kordon kanı yavaşça tabakalandırıldı. 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj yapıldı. Buffy coat polistrenli tüpe alındı ve 1 ml medyum (%2 FBS+ 1mM EDTA içeren PBS) eklendi. Sırası ile EasySep™ Human CD34 Positive Selection Kit (Stemcell Technology, Vancouver, Canada) içerisindeki 100 µl kokteyl eklendi; pipetaj yapıldı ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Ardından magnetik nanopartikül içeren karışımdan 50 µl eklendi; 4-5 kez çekip bıraktıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Toplam hacmin medyuma 2500 µl olması sağlandı ve magnet içerisine alınan tüp 5 dakika burada bekletildi. Magnetten çıkarmadan tüp içeriği 2-3 sn beklenerek boşaltıldı. Tüp magnetten çıkartıldı ve tekrar 2,5 ml PBS eklenerek 4 kez daha yıkandı. Tüp içeriği (CD34⁺ hücreler) saflaştırılmış oldu.

Kordon Kanından CD34⁺ Hücrelerin Seçiminden Sonra (ALDH)⁺ CD38⁻ Hücrelerin Seçilmesi

ALDECOUNT RUO Assay Kit + Buffer (Stemcell Technology) kullanılarak, belirteç tüpüne (reagent tube) 50 µl aktivatör eklendi ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Tüpe 1,5 ml nötralizasyon tamponu eklendi. Aynı anda kontrol tüpüne 5 µl DEAB eklendi. 500 µl hacimde bulunan hücre örneği (kordon kanından elde edilen) belirteç tüpüne aktarıldı. 2 ml olan tüpten 500 µl kontrol tüpüne aktarıldı. 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Belirteç tüpünden 1 ml örnek ayrı bir flow tüpüne alındı. 5 µl CD34 APC ve 5 µl CD38 PE eklendi. DEAB kontrol tüpünden 250 µl örnek ayrı bir flow tüpüne alındı. 5 µl CD34 APC ve 5 µl CD38 PE eklendi. Tüm tüpler 37°C'de 20 dakika karanlıkta inkübe edildi. 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılarak üst sıvısı alındı. 0,5 ml ölçüm tamponu eklenerek



Şekil 2: Kök hücrelerin seçildiği tüp. APC işaretli CD34⁺ hücrelerin FITC işaretli Bodipy-aminoasetaldehyd (BAAA), PE işaretli CD38 antikorlarıyla muamele edildiği tüpün analizi ve toplanacak hücrelerin seçimi.

Becton Dickinson (USA) firmasının BD FACS Aria II cihazına geçildi. Veriler (Becton Dickinson) FACS Diva Software 6.1.2 program kullanılarak elde edildi.

İmmü Floresan Mikroskopisi

İzole edilen hücre örnekleri polylizin kaplı lam üzerine yayılarak oda sıcaklığında 2 saat kurutuldu. Hücreleri sabitlemek amacıyla lam %2 paraformaldehitli PBS içerisinde +4°C'de 1 saat bekletildikten sonra 2 kez PBS ile yıkandı ve PBS içerisinde +4°C'de 12 saat bekletildi. Hücreler çeşitli renkte FITC, PE antikorları ile işaretlendi. Sonrasında lam üzerine hücre çekirdeğinin

belirlenmesi için DAPI damlatılarak lamel ile kapatıldı ve floresan mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi. Görüntüler Olympus DP-72 kamera sistemi ve DP2-TWAIN yazılım programı ile fotoğrafları çekildi. Çalışmada kullanılan floroforların uyarılma-salınım değerlerine karşılık floresan mikroskopta Olympus U-25ND25 ve U-25ND6 filtreleri kullanıldı. Bu değerler; DAPI için uyarılma 345 nm – yayılım 458 nm, FITC için uyarılma 494 nm – yayılım 518 nm olarak belirlendi.

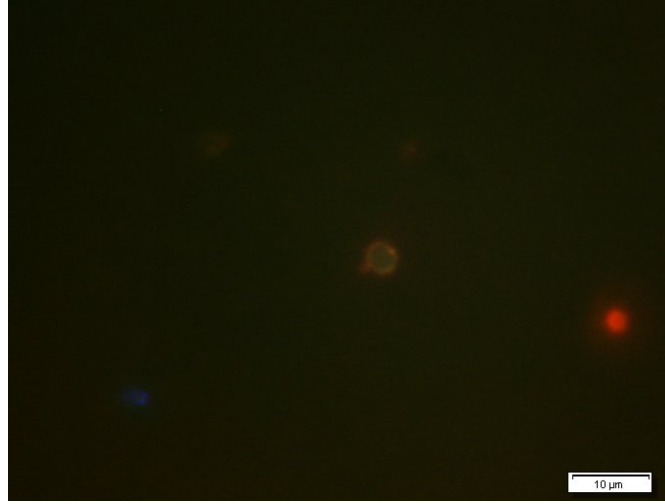
BULGULAR

Kordon Kanından CD34⁺ Hücrelerin Seçiminden Sonra (ALDH)⁺ CD38⁻ Hücrelerin Seçilmesi

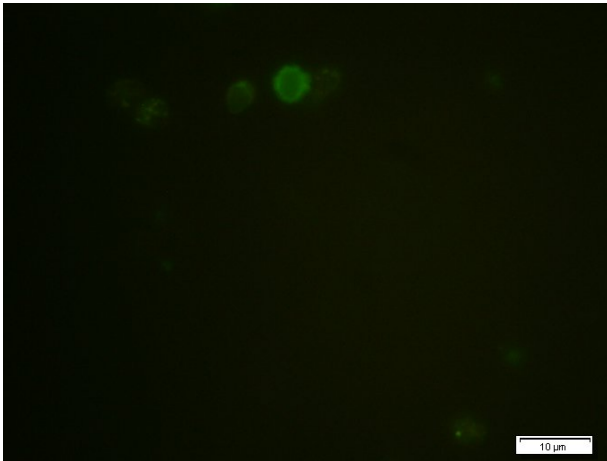
ALDH etkinliği olan hücrelerin seçimi materyal-metod kısmında anlatıldığı şekilde gerçekleştirilip ardından CD38 antijeni için CD38^{PE} işaretli antikorla işaretlendi. Magnetik ayırım sistemi ile CD34⁺ olan seçilmiş hücrelerden, bu işaretli antikorlar aracılığıyla CD38⁻ALDH⁺ hücreler seçildi (Şekil-1). Becton Dickinson (USA) firmasının BD FACS Aria II cihazıyla bu seçilen hücreler toplandı. 1 nolu dot plotta CD34 hücrelerinden lenfosit kapısını alındı. Daha sonra seçmiş olduğumuz kapıdaki hücreleri CD34 (P4) ve CD38 (P3) parametrelerinde okundu. CD34/CD38 parametresinden CD34(+)/CD38(-) olan hücre grubunu kapılayarak (P5) bu hücre grubu içerisindeki ALDH oranını okundu. ALDH(+)(P6) ve ALDH(-)(P7) olarak gördüğümüz popülasyonlardan ALDH(+)(P8) olan kısmı sort ederek ayrıldı (Şekil 2).

Kordon Kanından Saflaştırılan Hematopoetik Progenitor Hücre ve Önceki Aşamalarının Floresan Mikroskopunda Görüntülenmesi

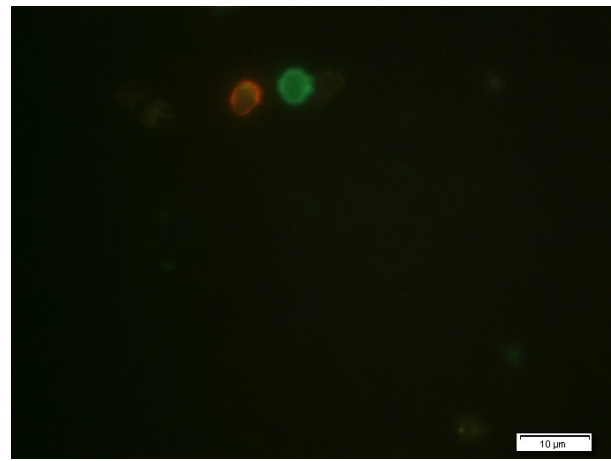
Magnetik ayırım sistemi ile izole edilen CD34⁺ hücreler ile BD FACS Aria II cihazıyla ile seçilip toplanan CD34⁺CD38⁻ALDH⁺ hücreler, CD38^{PE} ve ALDH-FITC ile işaretlenerek Olympus BX51 floresan mikroskopunda görüntüldü. Magnetik ayırım sistemi ile sadece CD34⁺ olan hücrelerin CD38^{PE} ile boyanması sonucu elde edilen Şekil 3'de verilmiştir. ALDH ve CD38 işaretlenmeleri sonucu alınan görüntülerde, bu hücrelerin tamamının kök hücre olmadığı görüldü (Şekil 4a-4b). ALDH(+)/CD34(+)/CD38(-) belirteçlerine sahip olan kök hücrelerin toplanması sırasında lazer ışığı kullanıldığından uyarılma sonrası toplanırken BAAA-FITC sönmüldü. Dolayısıyla FACS ile toplanmış olan kök hücreler floresan mikroskopunda, DAPI ile boyanmış çekirdekleri mavi renkte olan hücreler olarak görüntüldüler (Şekil 5).



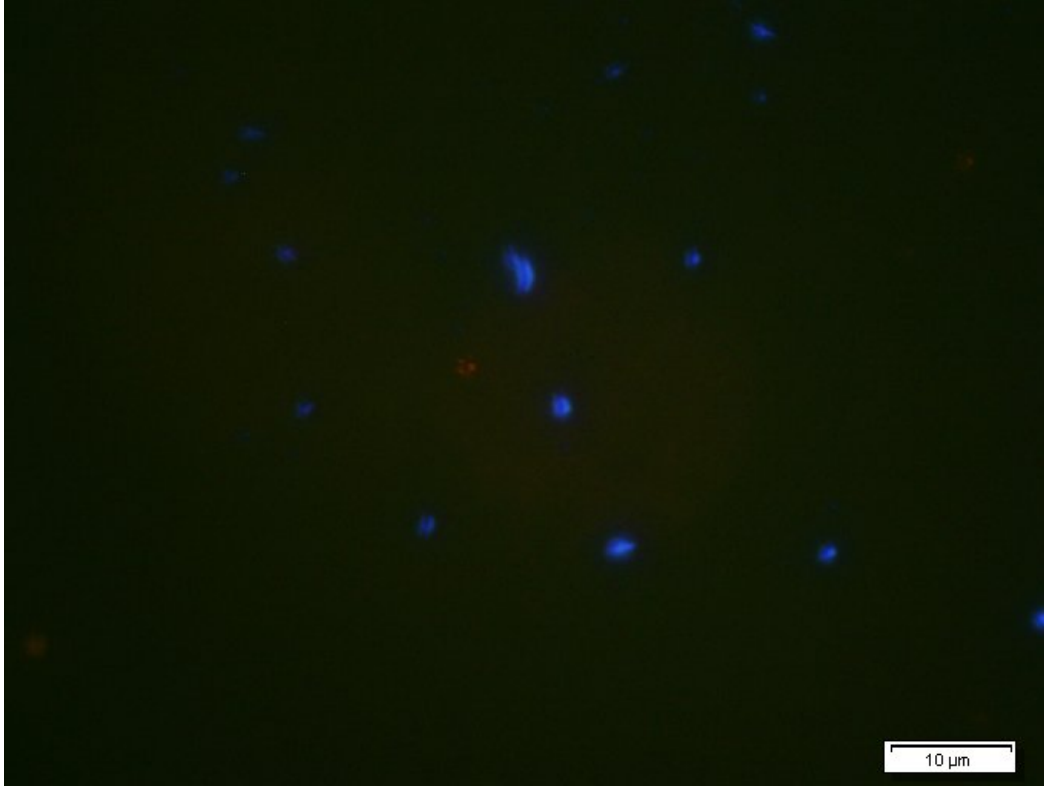
Şekil 3: CD34⁺ hücrelerin CD38^{PE} ile işaretlenmiş hücrelerin floresan mikroskop görüntüsü.



Şekil 4: a- CD34⁺ hücreler seçildikten sonra ALDH enzimatik etkinliğinin ve CD38 yüzey antijenine sahip hücrelerin incelendiği floresan mikroskop görüntüsü



Şekil 4: b- CD34⁺ hücreler seçildikten sonra ALDH enzimatik etkinliğinin ve CD38 yüzey antijenine sahip hücrelerin incelendiği floresan mikroskop görüntüsü



Şekil 5: CD34⁺CD38⁻ALDH⁺ hücrelerin FACS ile toplanması aşamasından sonra hücrelerin floresan mikroskop görüntüsü.

SONUÇ

Çalışmamızda insan kordon kanı kökenli hematopoetik kök hücre saflaştırılmasında öncelikle magnetik ayırım sistemi kullanılarak CD34⁺ hücreler toplanmış; ardından ALDH işaretlemesi sonrası FACS ile CD34⁺CD38⁻ALDH⁺ hücreler toplanmıştır. Biz çalışmamızda CD34, CD38, ALDH antikorlarını işaretlemeye kullandık ve ardışık kapılar alırken monositleri kapı olarak analiz dışı bıraktık. CD34⁺ seleksiyon aşamasından sonra ALDH seçimine gidildiği için arada zamandan ve ortamdan kaynaklanan canlılığı bozulmuş hücreler görülmüştür. BAAA sayesinde bu canlılığı bozulmuş hücreler saflaştırma dışı bırakılmıştır. ALDH ölü hücreleri boyamaması özelliğinden dolayı dondurulup çözülün veya izolasyon sırasında kök hücrelere canlılık boyası olan 7-aminoaktinomisin D (7-AAD) testinin yapılmasına gerek kalmamaktadır. Floresan mikroskopta magnetik ayırım sistemiyle toplanan CD34⁺ hücreler incelendiğinde bu hücrelerin tümünün ALDH etkinliğine sahip olmadığı; ayrıca hematopoetik kök hücrelerin CD38⁻ olması gerekirken bu CD34⁺ hücre popülasyonunun içerisinde CD38⁺ olan hücrelerin de bulunduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla kordon kanında hematopoetik kök hücre izolasyonunda CD34⁺ pozitifliğin yeterli olmadığı ALDH etkinliği de önemli olduğu görülmektedir.

ALDH⁺ hücre grubu CD34⁺CD38⁻ hücrelerden zengindir ve kültürde koloni oluşturma özelliğine sahiptir. Bu da mobilize periferik kandaki ALDH⁺ hücrelerin ilkel hematopoetik hücrelerin fenotipik özelliklerine sahip oldukları sonucuna vardırırdı. Kordon kanından elde edilen CD34⁺CD38⁻ALDH⁺ hematopoetik kök hücrelerin eritroid seriyeye

farklılaşmaları aşamaları esnasında CD38⁺ hücrelerin varlığı tespit edilmiştir. (17). Hematopoetik kök hücreler CD38⁻ iken farklılaşmaya başladığında yüzeylerinde CD38 belirteçleri oluşmaktadır. Buna göre de hücrelerin CD38 yüzey belirteçlerinin negatif ve pozitif olması kordon kanı hematopoetik kök hücre izolasyonu açısından önemlidir.

ALDH⁺ hücrelerin çoğunda CD34⁺ün de pozitif olduğunu ancak bazı hücrelerin ya CD34 ya da ALDH ekspresye ettiğini Storms ve arkadaşları (18) yaptıkları çalışmada gösterdiler. Bulgularına göre; farklı serilere gelişim sağlayabilen ilkel progenitör hücrelerin birçoğu ALDH⁺CD34⁺ hücre grubundaydı ve kısa süreli miyeloid progenitörlerden zengindi, ALDH⁻CD34⁺ hücrelerde ise ilkel progenitör sayısı ve kısa süreli miyeloid potansiyel azdı. Bizim yaptığımız kordon kanından saflaştırılan CD34⁺ hücrelerin ALDH-FITC işaretlenmeleri sonucunda aldığımız floresan mikroskop ve flow sitometrik analizinde CD34⁺ olan hücrelerin birçoğunun ALDH⁺ olduğu görüldü. Armstrong ve arkadaşları (19) yaptıkları hayvan çalışmasında ALDH⁺Lin⁻ hücrelerin tipik primitif hematopoetik öncül hücreler olduğunu ve in vitro hematopoetik progenitör fonksiyonun Lin⁻ ALDH⁺ grupta ALDH⁻ gruptan daha yüksek olduğunu gösterdiler. Bu hücreler daha yüksek telomerez aktivitesi ve S fazında en az hücreye sahipti. Araştırmacılar yukarıda saptanan bulgular ışığında ALDH⁺ hücrelerin diğer hücrelerden ayrılarak izole edilebileceğini ve klinik uygulamalarda kullanılabilirliğini belirttiler (20). Analiz için kullanılan çok renkli flow sitometre ve saflaştırmada kullanılan yüksek hızlı hücre saflaştırma

cihazı bu alandaki çalışmalarda kullanılan başlıca cihazlar olmuştur.

TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmanın sonucunda kordon kanından hematopoetik kök hücre izolasyonunda yalnızca CD34⁺ olmasının yeterli olmadığı ALDH⁺ ve CD38⁻ negatifliğin de analiz edilmesi gerektiği düşünülmektedir. ALDH etkinliğinin analiz sistemi hücreler açısından toksik olmaması ve en ilkel hematopoetik kök hücrelerin dahi ALDH etkinliğine sahip olmasından dolayı hematopoetik kök hücre ayırımında oldukça önemlidir (21,22). Bu teknik ile kordon kanından kök hücre izolasyonu gerçekleştirilmesi ile hematopoetik hücre serilerine farklılaştırılmak sureti ile kullanımı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Akel S., Perrow S.C., Laughlin J.M., Ruscett W. Neutralization of Aytocrine Transforming Growthβ Factor-βin Human Cord Blood CD34⁺ CD38⁻ Lin⁻ Cell Promotes Stem Cell Factor-Mediated Erythropoietin-Independend Early Erythroid Progenitor Development and Reduces Terminal Differentiation. *Stem Cells* 2003;21:557-67.
2. Storms R.W., Green P.D., Saford K.M., Niedzwiecki D., Cogle C.R., Colvin O.M., Chao N.J., Rice H.E., Smith C.A. Distinct hematopoietic progenitor compartments are delineated by the expression of aldehyde dehydrogenase and CD34. *Blood* 2005; 106: 95-102.
3. Jones R.J., Zuehlsdorf M., Rowley S.D., Hilton J., Santos G.W., Sensenbrenner L.L., Colvin O.M. Variability in 4- hydroperoxycyclophosphamide activity during clinical purging for autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1987; 70: 1490-4.
4. Fallon P., Gentry T., Balber A.E., Boulware D., Janssen W.E., Smilee R., Storms R.W., Smith C. Mobilized peripheral blood SSClo ALDHbr cells have the phenotypic and functional properties of primitive haematopoietic cells and their number correlates with engraftment following autologous transplantation. *Br J Haematol* 2003; 122: 99- 108.
5. Lacombe C., Mayeux P. Biology of erythropoietin *Haematologica* 1998; 83:724-32.
6. Yalcintepe L., Albeniz I., Cinar S., Tiryaki D., Bermek E., Lee H.C. Nuclear CD38 in retinoic acid-induced HL-60 cells. *Exp Cell Res* 2005;303(1):14-21.
7. Russo J., Hilton J., Colvin O. The role of aldehyde dehydrogenase isozymes in cellular resistance to the alkylating agent cyclophosphamide. In: *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism*. H.Weiner & T. Flynn, editors. p.65. New York.
8. Hess D.A., Meyerrose T.E., Wirthin L., Craft T.P., Herrbrich P.E., Creer M.H., Nolta J.A. Functional characterization of highly purified human hematopoietic repopulating cells isolated according to aldehyde dehydrogenase activity. *Blood*. 2004; 104: 1648-55.

9. Williams O., Demirer T., Lilleby K., Buckner C.D. Bensinger W.I. Tempo of hematologic recovery correlates with peripheral blood CD34⁺ cell level in patients undergoing stem cell mobilization. *J Clin Apher*. 1998; 13: 1-6.
10. Lagasse E., Connors H., Al-Dhalimy M., Reitsma M., Dohse M., Osborne L., Wang X., Finegold M., Weissman I.L., Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*. 2000; 6: 1229-34.
11. Armstrong L., Stojkovic M., Dimmick I., Ahmad S., Stojkovic P., Hole N., Lako M. Phenotypic characterization of murine primitive hematopoietic progenitor cells isolated on basis of aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells*. 2004; 22: 1142-51.
12. Gacar G. Mezenkimal kök hücrelerin karakterizasyonunda flow sitometri. Temel kök hücre teknikleri ve moleküler biyolojide uygulamaları kursu. 2010.
13. Dunphy C.H. Applications of Flow Cytometry and immunohistochemistry to Diagnostic Hematopathology. *Arch. Pathol. Lab. Med* 2004;128:9,1004-22.
14. Laane E., Tani E., Bjorklund E., Elmberger G., Everaus H., Skoog L., Porwit-MacDonald A. Flow cytometric immunophenotyping including Bcl-2 detection on fine needle aspirates in the diagnosis of reactive lymphadenopathy and non-Hodgkin's lymphoma. *Cytometry Part B Clinical Cytometry* 2005;64:34-42.
15. Luider J., Cyfra M., Johnson P., Auer, I. Impact of the New Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-Color Flow Cytometer on a Regional Flow Cytometry Clinical Laboratory Service. *Laboratory Hematology* 2004;10:102-8.
16. Stewart C.C., Woodring M.L., Podnieszinski E., Gray E. Flow Cytometer in the Infrared: Inexpensive Modifications to a Commercial Instrument. *International Society for Analytical Cytology* 2005; 67:104-11.
17. Albeniz I, Türker-Şener L, Baş A, Kalelioğlu I, Nurten R. Isolation of hematopoietic stem cells and the effect of CD38 expression during the early erythroid progenitor cell development process. *Oncol Lett* 2012 ;3(1):55-60.
18. Storms R.W., Green P.D., Saford K.M., Niedzwiecki D., Cogle C.R., Colvin O.M., Chao N.J., Rice H.E., Smith C.A. Distinct hematopoietic progenitor compartments are delineated by the expression of aldehyde dehydrogenase and CD34. *Blood* 2005; 106: 95-102.
19. Armstrong L., Stojkovic M., Dimmick I., Ahmad S., Stojkovic P., Hole N., Lako M. Phenotypic characterization of murine primitive hematopoietic progenitor cells isolated on basis of aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells* 2004; 22: 1142-51.
20. Mitchell S., Cairo and John E. Wagner Placental and/or Umbilical Cord Blood: An Alternative Source of Hematopoietic Stem Cells for Transplantation. *Blood The American Society of Hematology* 1997; 90, 12.

21. Moreb J.S. Aldehyde dehydrogenase as a marker for stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2008; 3(4):237-46.
22. David M. Putman, Tyler T. Cooper, Stephen E. Sherman, Ayesh K. Seneviratne, Mark Hewitt, Gillian I. Bell, David A. Hess, Expansion of Umbilical Cord Blood Aldehyde Dehydrogenase Expressing Cells Generates Myeloid Progenitor Cells that Stimulate Limb Revascularization, *Stem cells translational medicine,* 2017; DOI: 10.1002/sctm.16-0472.

OKÜLT HEPATİT B VİRUS ENFEKSİYONU: MOLEKÜLER MEKANİZMALAR VE KLİNİK ÖNEMİ

OCCULT HEPATITIS B VIRUS INFECTION: MOLECULAR MECHANISMS AND CLINICAL SIGNIFICANCE

Bülent ÇAKAL*

ÖZET

Okült Hepatitis B Virüs (HBV) enfeksiyonu (OBİ) serum HBV DNA statüsü dikkate alınmaksızın mevcut serolojik testler ile HBV yüzey antijeni (HBsAg) negatif tespit edilen bireylerin karaciğerin de HBV genomunun uzun süreli persistan varlığı olarak tanımlanır. OBİ virüse ve infekte bireye ait faktörler ile çevresel faktörlerin zemininde gelişen genetik, epigenetik ve immünolojik mekanizmaların karşılıklı etkileşimi ile şekillenen, HBV enfeksiyonunun doğal seyri içerisinde yer alan muhtemel safhalarından biri olarak kabul edilir. OBİ klinik açıdan; okült virüsün kan transfüzyonu, doğum, hemodiyaliz ve ortotopik karaciğer gibi organ nakli yolu ile bulaşımı takiben alıcıda tipik yeni HBV enfeksiyonuna neden olabilmesi, immünsüpresyon koşullarında OBİ reaktivasyonu ve takiben HBV ilişkili (akut ve fulminan hepatit) karaciğer hastalıkları, kronik karaciğer hastalıklarının (KKH) progresyonu üzerine etkisi ile özellikle hepatoselüler karsinoma (HSK) için artan bir risk faktörü olduğu yönünde hipotez uyarınca yoğun bir tartışma ve araştırma konusudur. Buna karşın gerek HBV enfeksiyonunun bu özgün formuna neden olan gerekse ilişkili olduğu karaciğer hastalıklarının patogeneğinde rol alan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu derlemede OBİ'nin klinik önemi, epidemiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısına yönelik bilimsel literatürün gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B virüs; okült hepatit B virüs enfeksiyonu; bulaş; reaktivasyon; kronik karaciğer hastalığı; hepatoselüler karsinoma.

ABSTRACT

Occult Hepatitis B Virus (HBV) infection (OBI) is defined as the long-lasting persistence of HBV genomes in the hepatocytes of individuals testing negative for HBV surface antigen (HBsAg) by currently available assays and usually for serum HBV DNA. OBI is considered as the possible phase in the natural history of chronic HBV infection that the host's immune surveillance and epigenetic mechanisms are likely involved. Clinical impact of OB is that it can be transmitted (i.e., through blood transfusion, by liver organ transplantation, hemodialysis and parturition) causing classic forms of hepatitis B in newly infected individuals. The development of an immunosuppressive status may induce OBI reactivation and development of acute and often severe hepatitis. OBI can favor the progression of liver fibrosis. Also OBİ infection has been hypothesized to be a significant risk factor contributing to the progression of chronic liver diseases (CLD) with increased risk for hepatocellular carcinoma (HCC) which may lead to an increased progression of liver diseases. Although OBI is considered a phase in the natural history of HBV, the molecular mechanisms leading to its occurrence and its contribution to HCC development are yet poorly understood. In this review, it is aimed to examine clinical importance, epidemiological aspects and laboratory diagnosis of OBI in recent literature.

Keywords: Hepatitis B virüs; occult hepatitis B virus infection; transmission; reactivation; chronic liver disease; hepatocellular carcinoma.

Date received/Dergiye geldiği tarih: 31.07.2016 – Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 31.03.2017

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: bulentcakal@yahoo.com)

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ); serolojik veriler uyarınca Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin en önemli onkojenik etkenler arasında ilk sıralarda yer alan HBV ile temas ettiğini, 240 milyondan fazla kişinin ise kronik HBV yüzey antijen (HBsAg) taşıyıcısı olduğunu, ayrıca her yıl akut ve kronik Hepatit B (KHB) enfeksiyonu ile ilişkili 780.000'den fazla insanın yaşamını yitirdiğini bildirmektedir (1). Hepatoselüler karsinoma (HSK) küresel ölçekli bir halk sağlığı sorunudur. Karaciğer kanseri erkeklerde en sık rastlanan kanserler arasında beşinci, tüm bireylerde kansere bağlı ölüm oranları arasında ise her yıl yaklaşık 700 bin üzerinde ölüm oranı ile ikinci sırada yer almaktadır (2). KHB prevelansının yüksek olduğu Kuzey Doğu Asya, Çin ve Japonya gibi toplumlarda, KHB prevelansının düşük olduğu Kuzey Amerika ve Batı Avrupa toplumlarına oranla HBV ilişkili HSK prevelansının daha yüksek olması, kronik HBV taşıyıcılarında primer hepatoselüler karsinoma (PHK) rölatif riskinin enfekte olmayan bireylere göre yaklaşık olarak 100 kat daha fazla olması ve küresel ölçekli aşılama kampanyalarının çocukluk çağı HSK insidans oranlarının azalması ile sonuçlandığına dair epidemiyolojik veri ve gözlemler, karaciğer karsinogenezinin etiopatogenezinde HBV'nin rolünü destekler niteliktedir (3-5). Ayrıca her yıl rapor edilen son dönem karaciğer hastalıkları ve HSK vakalarının % 60'nın, karaciğer nakillerinin ise % 5- 10' nun kronik HBV ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir (6).

Kronik B enfeksiyonu dinamik bir süreç olup hastalığın doğal seyrinde, enfekte bireyin bağışıklık düzeyi, genetik faktörler ve viral faktörlere ek olarak özellikle Hepatit C virüs (HCV), Hepatit D virüs (HDV) ve İnsan İmmün Yetmezlik virusu (Human İmmunodeficiency virus; HIV) gibi diğer viral enfeksiyonlar ile alkol tüketimi ve obesiteyi içeren komorbid faktörlerin karşılıklı etkileşimi belirleyici olabilmektedir (7). HBV enfeksiyonunun tanısı genellikle sirkülasyondaki HBsAg'nin serolojik yöntemler ile tespitine dayanır. KHB enfeksiyonunda spontan serum HBsAg kaybı nadir olup daha çok interferon ve/ya nükleoz(t)id analogları ile tedavi edilen hastalarda gözlemlenir (8). Serumda tespit edilebilir düzeylerde süregen HBsAg varlığı KHB enfeksiyonunun temel serolojik özelliği olmasına karşın, HBsAg seroklirensi HBV eradikasyonuna delalet etmeyebilir. Yakın geçmişte daha duyarlı HBV DNA tanı yöntemlerinin uygulanmaya başlaması ile HBsAg negatif HBV enfeksiyonlarının varlığı belirlenmiştir. Bu özel durum okült HBV enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır. OBİ mevcut serolojik testler ile HBsAg negatif saptanan bireylerde serum HBV DNA varlığı dikkate alınmaksızın karaciğer dokusunda (intrahepatik) HBV DNA'nın persistan varlığı olarak tanımlanır (9-12). OBİ vakalarının çoğunda anti HBV antikorları pozitif saptanmasına karşın (Anti-HBs ve Anti-HBc veya salt Anti-HBc) vakaların %20'den fazlasında ise anti HBV antikorları negatif saptanabilmektedir. (9). Dolayısıyla OBİ serolojik açıdan, seropozitif (Anti-HBc ve Anti-HBs pozitif veya salt Anti-HBc pozitif) ve seronegatif (Anti-HBc ve Anti-HBs negatif) olarak

sınıflandırılabilir. Seropozitif OBİ'lerde HBsAg seroklirensi ya akut enfeksiyonun rezüstasyonundan hemen sonra ya da aşıkâr kronik HBV enfeksiyonundan yıllar ya da onyıllar sonrası gözlemlenebilmektedir (10,11). OBİ'li bireylerde serum HBV DNA düzeyleri (<200 IU/ml) HBsAg pozitif KHB'li hastalar ile karşılaştırıldığında oldukça düşük, hatta saptanamaz düzeylerde olmasına karşın karaciğer dokusunda (intrahepatik düzeyde) HBV DNA saptanabilmektedir (13). OBİ, özellikle HBsAg seroprevelansının yüksek olduğu bölgelerde yaşayanlar ile geçirilmiş HBV ve kronik HCV/HIV enfeksiyonlu bireylerde, kriptonjenik hepatit, kriptonjenik siroz ve HSK'lı hastalarda, Talasemi ve Hemofili gibi hematolojik maligniteli hastalarda ve hemodiyaliz hastalarında daha yüksek oranda tanımlanabilmektedir (14-16).

OBİ'nin aşıkâr HBV enfeksiyonlarına benzer şekilde protoonkogenik aktivite artışına neden olarak siroz ve/ya HSK gelişimine katkı sağladığı hipotez edilmektedir (10, 17-24). OBİ'nin immünsüpresif ve özellikle immünsüpresyon uygulanan hasta grublarında reaktivasyonlara, uygun preemtif tedavi uygulanmadığı için OBİ pozitif donörden karaciğer nakli yapılan hastalarda tipik hepatit B gelişimine, kan transfüzyonu sonrası ise alıcıda HBV bulaşma riskine de neden olabildiğinden sırasıyla transplantasyon ve tranfüzyon tıbbi açıdan da klinik önemine dair özellikle son yirmi yılda önemli oranda bilimsel veri elde edilmiştir (25-28). OBİ, HBV'nin doğal seyrinde ayrı bir faz olarak değerlendirilmesine karşın, HBV enfeksiyonunun bu özgün formu ile ilişkili olduğu karaciğer hastalıklarının patogenezinde rol alan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu derlemede OBİ'nin klinik önemi, epidemiyolojik özellikleri, ile laboratuvar tanısını içeren bilimsel literatürün irdelenmesi amaçlanmıştır.

OBİ'de Moleküler Mekanizmalar

Okült enfeksiyonun moleküler temeli; HBV'e özgü viral yaşam siklusu ile kovalent bağlarla bağlı kapalı DNA halkasının (*covalently closed circular DNA*; cccDNA) enfekte hepatositlerin nükleusunda kromatize serbest epizomal formda stabil (kararlı) olarak hepatosit yarılanma ömrü süresince persistan varlığı ile yakından ilişkili olup, bu durum HBsAg serokonversiyonuna rağmen HBV enfeksiyonunun süresiz devamına imkân sağlar (29,30). Nihayetinde cccDNA'nın hepatositlerde persistan varlığı, HBV enfeksiyonunun konak immün sistemi tarafından güçlü bir şekilde kontrol edilse bile yaşam boyu kalıcı olma olasılığına işaret eder (31). OBİ; viral transkripsiyon ve replikasyon aktivitesi konak savunma mekanizmaları tarafından önemli oranda kontrol edilmesine karşın düşük düzeyde de olsa viral biyosentez kapasitesine sahip virüsler ile ilişkilidir (29). Dolayısıyla OBİ'nin; vakaların önemli bir kısmında viral transkripsiyon ve replikasyonu kontrol eden immün denetim mekanizmalarının genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanan aksaklıklar ve yetersizlikler sonucu bu denetimin kesintiye uğraması ile ilişkili olabileceği, ayrıca olası bazı tersinir özel koşulların da viral replikasyonu ve tipik HBsAg pozitif aşıkâr HBV enfeksiyonunu teşvik edebileceği öne sürülmektedir (18,29). OBİ vakaların

bir kısmında ise, viral yüzey ve polimeraz genlerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu sırasıyla yüzey kaçış mutasyonları ve replikasyon defekti ile karakterizedir (32). Bu derlemenin kapsamı dışında olmakla birlikte özetle OBİ; virüse ait faktörler ile HBV replikasyonu ve biyosentezini kontrol eden bağışıklık sisteminin kontrol mekanizmalarındaki aksaklıklar ve viral biyosentezin regülasyonunda rol alan epigenetik mekanizmalar ve ayrıca diğer viral enfeksiyonları da (HCV, HIV) içeren konakçı faktörleri ile ilişkilendirilmektedir.

Epidemiyoloji

OBİ'nin prevelansı; HBV endemi oranı, karaciğer hastalığı, laboratuvar tanı amacıyla kullanılan yöntemleri de içeren çok sayıda faktöre bağlı olarak farklılık gösterir. Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler OBİ prevelansının HBV'nin endemik olduğu bölgelerde ve özellikle kronik C hepatitli hastalar arasında yüksek olduğu yönündedir (10). Bu açıdan Doğu Asya gibi HBV'nin endemik olduğu bölgelerde yaşayan ve geçmişinde HBV teması olanlarda OBİ prevelansı % 41-90 gibi yüksek oranda saptanmasına karşın, Kuzey Amerikada bu oranın %5-20 arasında olduğu bildirilmektedir.(33). Genel popülasyondaki OBİ oranına ilişkin veriler az olmakla birlikte bu amaçla yapılan bir çalışmada seropozitif ve seronegatif gruplarda saptanan HBV DNA pozitifliği oranı sırasıyla % 18 ve % 8 oranında; %15.3'ü hematopoietik kök hücre donörü olan HBV/HCV negatif serum transaminaz değerleri normal sağlıklı grup ile yapılan bir diğer çalışmada ise okült HBV DNA saptanma oranı %16; aile geçmişinde kronik HBV enfeksiyonu olan HBsAg negatif bireylerde OBİ prevelansı ise % 8 oranında tespit edilmiştir (34-37). HBsAg negatif, çoğunun HBV antikörleri pozitif, karaciğer hastalığı olmayan, abdominal cerrahi sırasında karaciğer iğne biyopsisi veya karaciğer rezeksiyonu yapılan 98 kişiyi kapsayan bir çalışmada, hastaların 16'sında (%16) intrahepatik düzeyde HBV DNA varlığı saptanmıştır (38,39). Kan donörlerinde OBİ prevelansı, HBV endemi oranlarına bağlı olarak gelişmiş ülkelerde %1'in altında buna karşın az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere ise %17 gibi yüksek düzeylere varan oranlarda, anti-HCV pozitif kan donörlerinde %0-15, HIV enfekte bireylerde ise %0-89 oranında rapor edilmektedir (40-48). OBİ prevelansının enfeksiyonun parenteral bulaş riski olan gruplarda daha yüksek olması beklenir, keza bu açıdan yapılan bir çalışmada damar içi uyuşturucu bağımlıları ile hemofili hastalarında OBİ prevelansı sırasıyla %45 ve %51 oranında tespit edilmiştir (49,50). HBsAg negatif kronik C hepatitli hastalarda HBV DNA pozitiflik oranının Akdeniz kuşağını içeren bölgelerde %30, uzak doğu Asya'da ise %50'nin üzerinde olduğu rapor edilmesine karşın, HCV negatif kronik karaciğer hastalarında OBİ varlığı daha az araştırılmakla birlikte kriptonjenik kronik karaciğer hastalarında bildirilen OBİ prevelansı %20-30 arasındadır (10,51). HIV pozitif bireyler için bildirilen OBİ prevelansları ile kombine anti retroviral tedavinin OBİ üzerine etkisi oldukça tartışmalı olmakla birlikte, tek başına HIV enfeksiyonundan ziyade HIV/HCV koenfeksiyonun

daha sıklıkla OBİ reaktivasyonlarına neden olabildiği, prevelansın enfeksiyonun endemisite oranına göre değişmekle birlikte %1-40 arasında olduğu rapor edilmektedir (52). Hemodiyaliz hastalarında OBİ prevelansının % 0-36 arasında olduğu bildirilmektedir (53,54). OBİ prevelansı kriptonjenik karaciğer sirozlu ve HSK'lı hastalarda ise sırasıyla %32 ve %70.4 oranında rapor edilmektedir (14,55). İlginç olarak Amerikada HBV prevelansı çok düşük olmasına karşın, HCV ilişkili siroz nedeniyle karaciğer nakli gerçekleştirilen hastalarda OBİ pozitifliği % 50 gibi yüksek düzeylerde saptanmıştır (56).

OBİ'nin Klinik Önemi

OBİ'nin klinik önemi yoğun bir tartışma konusu olmaya devam etmektedir. OBİ klinik açıdan özetle; 1- okült virüsün kan transfüzyonu, doğum (perinatal bulaş), hemodiyaliz ve ortotopik karaciğer gibi organ nakli yolu ile bulaşını takiben alıcıda tipik yeni HBV enfeksiyonuna neden olabilmesi 2- immünsüpresyon koşullarında OBİ reaktivasyonu ve takiben HBV ilişkili (akut ve fulminan hepatit) karaciğer hastalıkları 3- özellikle kronik C hepatitli hastalarda karaciğer hastalığının progresyonu üzerine etkisi ve 4- hepatokarsinogenez sürecindeki rolü yönüyle önem taşımaktadır (9-11,17-19,22,27,29,49-53).

Bulaşma Riski

Kan transfüzyonu: Son 20 yıldan beri özellikle gelişmiş ülkelerde toplumsal farkındalığın artışı ile duyarlılığı ve özgülüğü yüksek tanı testlerinin kullanımına paralel olarak transfüzyon aracılı HBV bulaş riski önemli oranda azalmasına karşın, enfeksiyonun endemik olduğu az gelişmiş bölgelerde kısmen de olsa devam etmektedir (57). Transfüzyon aracılı HBV bulaşına neden olan koşullar şematik olarak 3 grupta incelenebilir. İlki, OBİ pozitif kan donörlerinin çok az bir kısmını oluşturan donörün pencere dönemi olarak nitelenen HBsAg negatif viremi ile karakterize HBV enfeksiyonunun erken akut dönemidir. İkinci grup donörün replikasyon aktivitesi ve gen ifadesi baskılanmış yabani (wild) tip virüs ile enfekte olduğu tipik OBİ taşıyıcılığının olduğu gruptur. Burada önemli olan nokta, OBİ'nin düşük düzeylerde de olsa geçici vireminin saptanabildiği dönemler ile serumda HBV DNA'nın tespit edilemediği geçici zamansal dalgalanmalar ile karakterize olduğudur (18,57,58). Dolayısıyla OBİ'li bireyler zamansal dalgalanmalar ile seyreden enfektif kan profiline sahip olabilmektedir. Bu açıdan önemli olan OBİ taşıyıcılarında genellikle çok düşük miktarlarda da olsa var olan serum HBV DNA'nın alıcıda akut HBV gelişimine neden olabileceği gerçeğidir (18). OBİ infektivitesi tranfüzyon yapılan plazma hacmi ile anti-HBs ve alıcının immün yanıt düzeyine bağlı olup, bilindiği üzere serolojik markerler (belirteçler) açısından salt anti-HBc'li HBV DNA pozitif donörler (%10-20) salt anti-HBs taşıyıcılarına (<%5) oranla daha infektif kabul edilir (59). Şempanzelere ilişkin hayvan modellerinde HBV'nin minimumum %50 enfeksiyöz dozunun tahminen yaklaşık olarak 10 kopya olduğu belirtilmesine karşın, insanlar için akut enfeksiyon olasılığı; viral yüke, tranfüzyon yapılan plazma miktarına, alıcının immünolojik koşulları ile alıcı ve vericinin anti-HBs ve

anti-HBc düzeylerine bağlı olarak oldukça değişiklik gösterebilmektedir (60). Ayrıca alıcıda akut hepatit tablosunun gelişmemesi, teorik olarak alıcının okült HBV ile enfekte olma olasılığını dışlamaz (18,28). Üçüncü grup ise donörün yüzey kaçış mutantlarını içeren HBV varyantları ile enfekte olduğu grubu içerir. Bu durum kan transfüzyonu aracılı HBV bulaşının en önemli sebebi olarak gözükmektedir. HBsAg kaçak mutantları ile enfekte kan donörlerinin tanımlanması amacıyla birden çok viral yüzey antijen epitopuna karşı anti-HBs antikorları içeren yüksek duyarlılığa sahip serolojik tanı kitlerinin kullanılması önerilmesine karşın yine de bu strateji potansiyel olarak viral genomik farklılıkların daha sık rastlanabildiği, enfeksiyonun endemik olduğu coğrafik bölgelerde transfüzyon aracılı HBV bulaşımı tam olarak sınırlayamamaktadır (9). Nükleik asit testleri (NAT) yüksek tanısal duyarlılığa sahip olmasına karşın, OBİ'li kan donörlerine ait serum örneklerinden HBV DNA'nın tespitine yönelik tanısal duyarlılığı sınırlıdır. Ayrıca NAT testleri ile elde edilen verilerin, gerek test edilen popülasyonun ve enfeksiyon prevalansının gerekse kullanılan yöntemlerin duyarlılıklarının değişkenlik gösterebilmesi nedeniyle karşılaştırılabilirliği zordur. Ek olarak OBİ ve HBV yüzey kaçış mutantları içeren enfeksiyonlar, çoğu anti-HBc pozitif olup bu vakaların da yarısı anti-HBs pozitif örneklerde saptanabilir olmasına karşın, aşı ve aşız kan donörlerinde de anti-HBc olmaksızın anti-HBs pozitif serolojik profile sahip vakalara da nadiren de olsa rastlanabilmektedir (61). Bu açıdan yine de özellikle HBV prevalansının yüksek olduğu bölgelerde tranfüzyon aracılı HBV bulaşımı sınırlamak için tranfüzyon öncesi nükleik asit ve/ya en azından anti-HBc varlığının tespitine yönelik tarama testlerinin yapılması önerilmektedir (57, 62).

Organ Transplantasyonu: Hepatositlerin HBV cccDNA için rezarvaruar teşkil etmesi nedeniyle, OBİ'li donörden gerçekleştirilen özellikle ortotopik karaciğer nakli başta olmak üzere nadiren böbrek, kalp ve kemik iliği nakilleri sonrası HBV bulaşı HBV naif alıcılarda yeni (*de nova*) bir B hepatiti gelişimine neden olabilmektedir (27). Dolayısıyla anti-HBc pozitif donörden organ nakli uygulanan HBsAg negatif alıcılara Hepatit B immünglobülin veya lamivudin monoterapisi ya da kombinasyonlarını içeren anti-HBV profilaksisi, alıcıda hepatit B bulaşımının önlenmesinde genel kabul gören etkili bir strateji olmasına karşın, bu stratejinin tüm vakalarda tekrarlayan HBV enfeksiyonlarının önlenmesinde yetersiz olabileceği de belirtilmektedir (27,63). Belirtmek gerekir ki, HBV seronegatif bireylerden OBİ bulaşı kesin olmadığı gibi tanımlanması da oldukça güçtür. Okült B'li karaciğer ve/ya organ alıcılarında OBİ'li donörden organ nakli sonrası, alıcının yeni karaciğer dokusunda alıcı veya donöre ya da her ikisine ait HBV sekanslarını içeren (ek olarak HBV cccDNA) OBİ varlığı tespit edilebilmekte (64), fakat bu durumun nakil sonrası dönemde HCV pozitif hastalarda progresyon artışına neden olabileceğine dair kısmi verilerin dışında klinik önemi henüz bilinmemektedir. Ayrıca Hepatit B immünglobülin ve lamivudin tedavisi alan nakil sonrası dönemde

HBsAg'si negatifleşen HBsAg pozitif organ alıcılarında da OBİ gelişebildiği rapor edilmektedir (64,65).

OBİ Reaktivasyonları

Viral replikasyonunun kontrolünde rol oynayan bağışıklık sisteminin hastalıkları veya baskılanması, kronik HBsAg taşıyıcılarında meydana gelen HBV reaktivasyonlarına benzer şekilde OBİ hastalarında da reaktivasyonlara neden olabilmektedir. Nihayetinde bu durum OBİ indüksiyonunda immün kontrol mekanizmalarının indirekt rolüne dair yaklaşımları destekler niteliktedir (18). Birçok faktöre bağlı olarak değişmekle birlikte, OBİ reaktivasyonlarının prevalansının %3-45 arasında olduğu rapor edilmektedir (66). OBİ reaktivasyonları; immünsüpresif tedavi alan hematolojik maligniteli hastalarda, hematopoetik kök hücre nakli, romatolojik hastalığı ve solid organ transplantasyonu nedeniyle sırasıyla anti-CD20 (Rituximab), anti-CD52 (Alemtuzumab) monoklonal antikor, anti-tümör nekroz faktör antikor tedavisi ve kemoterapi alanlar ile anti-HIV pozitif olgularda daha sık oluşmakta ve vakaların %20'sinde yaşamı tehdit edebilen karaciğer hasarına neden olabilmektedir (66-68). İmmün aracılı enflamatuvar hastalığı nedeniyle monoklonal anti-TNF- α (tumor necrosis factor alpha) ve yüksek doz steroid tedavisi alan romatoloji hastaları ile solid organ tümörleri nedeniyle kemoterapi/radyoterapi alan hastalarda, aşık HBV reaktivasyonlarına daha sık rastlanılmasına ve anti-HBV profilaksisi uygulanabilmesine karşın, bu hasta gruplarında araştırılan ve/ya rapor edilen OBİ reaktivasyonları sıklığı henüz net olarak bilinmemektedir (66). Ayrıca belirtmek gerekir ki histon deasetilaz inhibitörlerinin OBİ reaktivasyonları ile ilişkili olduğuna dair veriler, HBV reaktivasyonunun kontrolünde viral cccDNA minikromozomunun yapı ve dinamiğini etkileyen epigenetik modifikasyonların rolüne ilişkin indirekt kanıtları oluşturmaktadır. (69). OBİ'li hastalarda viral reaktivasyon sıklığı HBsAg pozitif vakalara oranla oldukça nadir olup, klinik olarak genellikle akut B enfeksiyonu varlığı sonrası tanımlanabilmektedir. İmmün sistemi baskılanmış OBİ'li bireylerin HBV serolojik profili sıklıkla değişim gösterebilmekte, keza allojenik hematopoetik kök hücre nakli nedeniyle immünsüpresif tedavi alan anti-HBs pozitif hastalarda antikor titreleri azalarak kaybolan hastaların bir kısmında tersine serokonversiyon ve sonrası tekrar serokonversiyon gözlemlenebilmekte, buna karşın bu olguların sadece az bir kısmında klinik olarak tipik akut hepatit gelişebilmektedir (70,71). Dolayısıyla OBİ reaktivasyonları özellikle yukarıda belirtilen hasta gruplarında sıklıkla oluşabilmesine karşın, bu durum klinik olarak akut enfeksiyonu takiben nadiren gözlemlenebildiğinden, rutin klinik pratikte vakaların büyük bir kısmında OBİ tanısının atlandığı ileri sürülebilir.

Kemoterapi ve immünsüpresif tedavi alan HBsAg pozitif hastalarda HBV reaktivasyonlarını önlemek için nükleozid/t analoglarını içeren preemtif tedavi oldukça iyi bir şekilde düzenlenebilmesine karşın, OBİ şüpheli hastalarda ise preemtif tedavi (HBsAg negatif, anti-HBc pozitif/negatif, anti-HB pozitif) hala tartışma konusudur. Genel olarak OBİ'li hastalarda nükleozid/t

analoglarını içeren farmakolojik tedaviler hastanın serolojik profili, allta yatan hastalık ve uygulanan immünsüpresif tedavi baz alınarak düzenlenmektedir. Avrupa Karaciğer Araştırmaları Derneği (EASL) tarafından yayınlanan kılavuz (2012) uyarınca; kemoterapi ve immünsüpresif tedavi alan, HBsAg negatif, anti-HBc pozitif hastaların, HBV DNA testlerinin yapılarak, serum HBV DNA varlığı tespit edilenlerin HBsAg pozitif hastalara benzer şekilde tedavi edilmesini, buna karşın HBV DNA varlığı tanımlanamayan hastaların ise anti-HBs profili dikkate alınmaksızın, ALT ve HBV DNA testleri yönünden yakın izleme alınarak, ALT yüksekliği öncesi HBV reaktivasyonunun konfirmasyonunu takiben nükleozid/t analogları ile tedavilerinin planlanması ve izlem sıklığının da immünsüpresif tedavinin tipi ve komorbiditelere bağlı olarak 1-3 ay arasında değişebileceği önerilmektedir (72). Kılavuz da ayrıca bazı uzmanlar tarafından, rituximab ve/ya kombine tedavi alan hematolojik malignensili HBsAg negatif, anti-HBc pozitif tüm hastalar için, eğer hastalar anti-HBs negatif ve/ya HBV DNA yönünden yakın izlemi sınırlı ise lamivudin profilaksisi önerildiği belirtilmektedir (72). Nükleoz(t)id profilaksisi ayrıca anti-HBc pozitif, kemik iliği ve kök hücre nakli gerçekleştirilen hastalar için de önerilmekte fakat bu endikasyonlar için optimal tedavi süresi bilinmemekle (72), birlikte HBsAg negatif, anti-HBc pozitif, rituximab ve yüksek doz kortikosteroid ve benzeri immünsüpresyon tedavisi alan hematopoetik kök hücre nakli ve onko-hematoloji hastalarında lamivudin ya da entakavir içeren antiviral profilaksisinin immünsüpresif tedavinin sonlanmasından 1 hafta öncesi ile tedavi sonrası 18 aya kadar uzanan sürelerde rutin olarak uygulanmasına dair öneriler de mevcuttur. (66). Bilindiği üzere EASL; anti-HBc pozitif vericiden HBsAg negatif alıcıya gerçekleştirilen karaciğer naklinde alıcıya lamivudin profilaksisinin süresiz uygulanmasını önermektedir (72).

Kronik Karaciğer Hastalığı Ve OBİ

OBİ'li hastaların serum HBV DNA düzeyleri, viral yükün tespit edilebilir olmasına rağmen çok düşük ya da saptanamayan viremi dalganmaları gösterir. Bu geçici ve kısmi viral reaktivasyonlara serum transaminaz düzeylerinde hafif düzeyde yükselmeler de eşlik edebilmektedir. Farklı çalışmalarda OBİ'nin özellikle HCV gibi kronik hepatitin daha şiddetli formları ile ilişkili olabildiği ve çeşitli nedenlere bağlı gelişen karaciğer fibrozisinin ilerlemesi yönünde etkisinin de olabileceği ileri sürülmektedir (11,18,73-75). Çok sayıda çalışmada çoğu tüm HBV serum markerleri açısından negatif olan HSK'lı hastalarda HBsAg negatif, persistan HBV enfeksiyonunun varlığı gösterilmiştir (76-81). Buna karşın okült HBV'nin karaciğer hasarının induksiyonu veya progresyonu üzerindeki direkt rolü hala tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte replikasyon ve transkripsiyon kapasitesine sahip okült virüsün, enfekte hepatositlerde genellikle serbest epizomal formdaki persistan varlığının, hafif şiddette karaciğer nekroenflamasyonunu yaşam boyu indükleyebileceği dolayısıyla OBİ'nin kronik karaciğer hastalığının siroz

yönünde progresyonunun artışına ve nihayetinde HSK gelişimine katkıda bulunabileceği öne sürülmektedir (15). Bu açıdan karaciğer hasarına dair herhangi bir klinik ve biyokimyasal kanıt olmadan iyileşme ile sonlanmış akut HBV enfeksiyonlu bireylerde on yıllar sonra OBİ persistanlığı ile ilişkili olabilen karaciğerde hafif düzeyde nekroenflamasyona dair histolojik veriler, OBİ'nin kronik karaciğer hastalıklarının patogenezindeki rolünü destekler niteliktedir (82,83). Bu gözlemlerin Woodchuck (WHV) hepatitis virüs ile enfekte woodchuck'larda (dağ sıçanı/kemirgen) akut enfeksiyon sonrası sınırlı düzeyde viral replikasyon ile ilişkili yaşam boyu süren hafif düzeyde nekroenflamasyon ile karakterize persistan enfeksiyona dair hayvan modeli çalışmalarından elde edilen veriler ile uyumlu olduğu belirtilmektedir (84). Buna karşın, OBİ ve KHB'li hastaların intrahepatik HBV DNA düzeyleri (replikatif aktivite) ile karaciğer histolojileri üzerine etkilerini değerlendirilmesine yönelik bir çalışmada; OBİ'li hastalarda gerek intrahepatik HBV DNA düzeyi gerekse nekroenflamasyon (HAİ) ve fibrosis skorunun KHB'li hastalara oranla istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük tespit edildiği, dolayısıyla OBİ'nin normal karaciğer histolojisi ile ilişki olabileceği de belirtilmektedir (85).

Son yirmi yıldan beri HBV ve HCV'nin laboratuvar tanısında oldukça duyarlı yöntemlerin kullanılmaya başlanmasıyla, HBsAg negatif, HBV DNA pozitif ve anti-HCV pozitif serolojik profile sahip koenfeksiyonların prevalansının yüksek oranda olduğuna dair veriler bu enfeksiyonlara yönelik yeni bir virolojik yaklaşımın da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Özellikle Akdeniz kuşağında, HBsAg negatif kronik C hepatitli bireylerin üçte birinde, uzak doğu Asya ülkelerinde ise vakaların %50'sinden fazlasında OBİ saptanmasına ek olarak, OBİ varlığında kronik C hepatiti ilişkili karaciğer hastalıklarının agresif progresyonuna dair veriler de, OBİ'nin kronik C hepatiti ile ilişkili karaciğer hastalıklarının progresyonunu artırıcı yönde rolü olabileceğini düşündürmektedir (10,18,56,57). OBİ'li Kronik hepatit C hastalarında ALT düzeyleri artışına paralel olarak serum HBV DNA'nın tekrar saptanabilir düzeyde varlığına dair veriler, HBV replikasyonundaki geçici reaktivasyonların karaciğer hücre hasarındaki aktif rolüne işaret edebileceğini belirtilmektedir (86).

Dolayısıyla bu veri ve gözlemlerden hareketle, en azından immün kompetan koşullarda OBİ'nin tek başına zararsız olabildiği, buna karşın kronik HCV enfeksiyonu ve alkol bağımlılığı gibi karaciğer hasarına neden olabilen diğer önemli faktörler ile birarada bulunduğu ise okült virüse karşı oluşan immün yanıtı bağlı olarak gelişen minimal düzeydeki lezyonların zaman içerisinde karaciğer hastalığının klinik seyrinin kötüleşmesine katkıda bulunabileceği öne sürülmektedir (18,75,87). Dolayısıyla bu yaklaşım siroz ve karaciğer fibrozisinin progresyonu ile kriptojenik karaciğer hastalıklarının OBİ ile ilişkilendirilmesine yönelik veri ve kanıtların açıklanmasını zorlaşmaktadır. Keza bu vakaların bir kısmı geçmişte aktif bir HBV enfeksiyonu olan progresif olarak serum HBsAg miktarı ve viral

replikasyonun azaldığı bireylerle de olabilir. HBsAg, aşikâr HBV'nin stümüle ettiği şiddetli karaciğer hasarının varlığına rağmen zaman içerisinde kaybolabilir ve/veya zamanla okült enfeksiyona dönüşebilir. Buna karşın yine de nedeni bilinmeyen karaciğer hasarlarında OBİ'nin katkısının dışlanamaz olduğu da göz ardı edilmemelidir(18).

Okült B İnfeksiyonu ve HSK

1980'ler sonrası yapılan birçok epidemiyolojik ve moleküler çalışmanın verileri, aşikâr HBV enfeksiyonuna ek olarak okült enfeksiyon varlığının da, HSK gelişimi için majör risk faktörü olduğunu destekler yöndedir (17,88,89). Çok sayıda çalışmada çoğu tüm HBV serum belirteçleri açısından negatif olan HSK'lı hastalarda, HBsAg negatif persistan HBV enfeksiyonunun varlığı gösterilmiştir (78-81,90). Bu amaçla yapılan çalışmaların verilerine ilişkin meta analiz değerlendirmeleri, OBİ'nin hem HCV enfekte hemde HCV negatif kronik karaciğer hastalarında HSK gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğu yönündedir (74). Asya ve Avrupa ülkelerinde yapılan birçok çalışmada; kronik C hepatiti ilişkili HSK'lı hastalarda OBİ prevalansının, HSK gelişmeyen kronik C hepatitli hastalar ile karşılaştırıldığında %60-70 gibi yüksek oranlarda tespitine dair verilerin, OBİ'nin kronik C hepatitli hastalarda HSK gelişimi için önemli bir risk faktörü olabileceği yaklaşımını destekler nitelikte olduğu belirtilmektedir (15,77,90,91). Nedeni bilinmeyen karaciğer hasarı, alkol kullanımı ve etiyolojisinde viral etkenlerin olmadığı karaciğer patolojileri gibi serolojik ve virolojik belirteçler uyarınca HCV negatif hastalar arasında da OBİ'nin protoonkogenik rolünün öne çıktığı anlaşılmaktadır (51). HCV enfeksiyonu haricinde de alkole bağlı gelişen HSK vakalarının çoğunda, OBİ tespit edilebilmesi de KHB'li hastalarda alkolün KHBV enfeksiyonu ile birlikte karaciğer hasarına neden olabilmesine benzer şekilde hepatokarsinogenez riskini artırabildiği yönündeki hipotezi destekler nitelikte olduğu belirtilmektedir (92,93). Ancak Çin'de yapılan bir meta analiz çalışmasının sonuçları uyarınca, OBİ'nin hem HCV enfekte ve hem de HCV dışı nedenlere bağlı gelişen kronik karaciğer hastalarında HSK riskini artırdığı ileri sürülmesine karşın, Kuzey Amerika'da yapılan farklı bir meta analiz çalışmasının sonuçları ise bu korelasyonu desteklememektedir (74,94). Bununla birlikte bir grup araştırmacı, meta analiz sonuçları arasındaki bu farklılığın, her iki çalışmada kullanılan hasta serileri ile özellikle OBİ tanısı amacıyla kullanılan laboratuvar yöntemlerinin farklılıklardan kaynaklanabileceğini öne sürmektedir (11).

OBİ'nin HCV enfeksiyonunun klinik sonuçları üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla hastaların ortalama 11 yıl süre ile izlendiği bir başka çalışmada ise, OBİ pozitif grupta negatif gruba oranla; HSK gelişim oranının istatistiksel olarak ($P < 0.01$) anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu, dekompanse siroz gelişiminin daha sık, kümülatif sağkalım oranlarının da daha düşük olduğu tespit edilmiştir (75). Bu veriler OBİ'nin tek başına şiddetli karaciğer hasarını indüklemeyebileceği hipotezi ile çelişkili görünmekle birlikte, OBİ'li hastaların HBsAg klerensi ile birlikte

geçerilmiş akut veya KHB sonrası iyileşme saptanan hastalar ile örtüşebileceği göz önüne alındığında, OBİ'nin sonuçları; aktif HBV enfeksiyonun süresine, HBsAg klerensi öncesi karaciğer hasarının çapına ve HBsAg klerensi ile OBİ tanısı arasındaki geçen zamana bağlı olabilmektedir (10,95). Bu açıdan HBV enfeksiyonu ve sonuçlarının tespiti amacıyla, 20 yılı aşan bir süre Tayvanlı doğum yapan kadınların izlendiği popülasyon bazlı bir kohort çalışmasında HSK gelişme riskinin, kronik ya da aktif HBV enfeksiyonlu bireylerde en yüksek, persistan enfeksiyonlu ya da izlem süresince HBsAg seroklerensi saptananlarda ise HBV teması olmayanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş; dolayısıyla çalışmanın verileri yukarıdaki yaklaşımı destekler nitelikte olup, çalışmada ayrıca HBV ilişkili HSK gelişme riski erkeklerle göre daha az olduğu bilinen kadınlarda da persistan virüsün protoonkogenik rolünü sürdürdüğü ifade edilmektedir (96). Okült enfeksiyonlu hastaların karaciğer dokusunda düşük de olsa saptanabilir düzeydeki viral transkripsiyon ve replikasyon aktivitesinin HSK gelişimi için yeterli zemin hazırladığı öne süren yaklaşımın (51,97) hepadnavirüslere duyarlı hayvan modellerinde de gözlemlenebildiği, keza Woodchuck (WHV) hepatitis virüs ile enfekte woodchuck (dağ sıçanı/kemirgen) HSK modelinde WHV ile enfekte hayvanların çoğunda HSK gelişmesine karşın, WHV yüzey antijeni serokonversiyonu ve enfeksiyonun kontrolünü işaret eden uygun antikor profili saptandığı, ayrıca hayvanların tümör dokularında saptanan WHV DNA miktarının da insanlarda saptanan viral DNA miktarları gibi aşikâr WHV enfeksiyonlu woodchuck'lardan daha az miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir (98-100). Yine farklı olarak ground squirrels hepatitis B virüs (GSHV) ile enfekte edilen Ground squirrels'ler (Yer Sincapları) viral klerens sonrası bile HSK gelişimi açısından yüksek risk içerirler ve tüm viral belirteçleri seronegatif HSK'lı hayvanlarda GSHV DNA'sı saptanabilmektedir (101). Dolayısıyla Ground squirrels HBV hayvan modelinde saptanan bu verilerin; sirotik olmayan HBsAg negatif HSK'lı hastalarda saptanan viral DNA'da olduğu gibi HBV'in karaciğer kanserindeki direkt rolünü destekler nitelikte olduğu belirtilmektedir. (11). Ayrıca intrahepatik kolanjiokarsinom ve Hodgkin dışı lenfoma gibi malignensiler ile HBV enfeksiyonu arasında ilişkiye dair veriler ve yine bazı koşullarda belirtilen patolojilerde OBİ'ninde rolü olduğuna dair yaklaşımlar dikkat çekici olarak yorumlanmaktadır (102,103). Bu açıdan 1- Viral genomun hem infekte bireyin genomuna integrasyonu hemde hepatositlerin nükleusunda kromatize serbest epizomal formda persistan varlığı 2- Virüsün bu süreçte çok düşük düzeylerde de olsa transkripsiyon, replikasyon ve protein sentezini sürdürebilir olması 3- Siroz progresyonunu artırıcı yönde hafif düzeyde olmasına karşın, kronik nekroenflamasyonun kesintisiz devam ediyor olduğu düşünüldüğünde, OBİ'nin aşikâr HBV enfeksiyonunun neden olabileceği HSK gelişimine benzer direkt ve indirekt mekanizmalar aracılığı ile hepatosellüler transformasyona katkıda bulunabileceği hipotez edilmektedir (76,78,82,83,104,105).

OBİ Riski Yüksek Hasta Grupları ve Kontrolü

OBİ ilişkili hastalıkların tanı, tedavi ve kontrolünün sağlanabilmesi amacıyla, OBİ riski taşıyan (aşağıda listelenen) hastalarda RT-PCR gibi yüksek duyarlılığa sahip moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak HBV DNA tespitine yönelik tarama testlerinin gerçekleştirilmesi önerilmektedir (106).

OBİ riski yüksek hasta grupları;

- 1- HBV enfeksiyon geçmişi olan hastalar
- 2- HCV/HIV koenfekte hastalar
- 3- Anti-CD20 kemoterapisi uygulanan hastalar
- 4- Organ nakli alıcıları
- 5- Kan donörleri
- 6- Organ nakli donörleri
- 7- Talasemi ve hemofili hastaları
- 8- Sağlık çalışanları
- 9- Kriptojenik hepatit ve kriptojenik ilişkili karaciğer hastalığı (Siroz ve HSK) olanlar
- 10-Özellikle HBV endemesi yüksek bölgelerde HBV aşılama çağındaki çocuklar
- 11-Hemodiyaliz hastaları
- 12-Lamivudin ve interferon ile tedavi edilen hastalar
- 13-Kemoterapi alan meme kanserli hastalar

LABORATUAR TANISI

Son on yıldır duyarlı nükleik asit amplifikasyon tekniklerinin kullanımı OBİ'nin moleküler ve patobiyolojik yönlerinin anlaşılmasına önemli oranda katkı sağlamıştır. Keza önceki yıllarda DNA hibridizasyon teknikleri kullanılarak gerçekleştirilen moleküler biyolojik çalışmalar OBİ pozitif bireylerin karaciğer dokusunda replikasyon aracısı olarak görev yapan pregenomik RNA (RNA intermediate, pgRNA) ile cccDNA'nın tek bir hücredeki kopya sayısının ölçülmesi için yeterli duyarlılığa sahip değillerdi. Son yıllarda kullanılmaya başlayan moleküler biyolojik teknikler ise OBİ ilişkili HSK'lı hastaların hem tümör hemde tümörlü olmayan dokularından HBV cccDNA ile pregenomik ve subgenomik viral transkriptlerin tanımlanmasına imkan sağlayabilmektedir. Henüz OBİ tanısı amacıyla kullanılan laboratuvar yöntemleri için uluslararası bir standart ve validasyon mevcut değildir (78,90). Buna karşın günümüzde OBİ tanısı için önerilen laboratuvar tanı yöntemi, karaciğer dokusundan elde edilen DNA ekstratlarında virüsün tüm genomunu (4 farklı genomik bölge) temsil edecek şekilde tasarlanmış, ideali 4 ya da en az 3 farklı primer seti kullanılarak yüksek duyarlılığa sahip nested veya RT-PCR gibi moleküler biyolojik tanı yöntemleri aracılığı ile yapılan analizlerde en az iki viral genomik bölgeye ait pozitif amplifikasyon varlığının tespitine dayanır. Dolayısıyla kullanılacak PCR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğünün çok yüksek olmasına, primerlerin ise tüm HBV genotiplerini kapsayacak şekilde tasarlanmış olmasına dikkat edilmelidir (9). Karaciğer iğne biyopsisinin rutin olarak uygulanmasının zor olması ve henüz bu amaçla tam olarak standardize olmaması nedeniyle serum ve plazma örnekleri OBİ vakalarının tespit edilmesi amacıyla kullanılabilir. OBİ'li hastalarda zamansal viremik dalgalanmalar nedeniyle viral DNA ekstrasyonu amacıyla test edilecek serum ve plazma örneklerinin ardaşık ve en az 1 ml olması tercih

edilmelidir. NAT testleri oldukça düşük kopyalardaki HBV DNA'nın tanımlanmasında oldukça duyarlı olmalarına karşın kalite kontrol problemleri nedeniyle potansiyel olarak yalancı pozitiflik riskine sahiptirler. HBV prevalansının yüksek endemik olduğu ülkelerde HBV NAT testlerinin kan donörlerinde kullanımı, OBİ tanısı için değerli olmasına karşın yüksek maliyet nedeniyle belirtilen ülkelerde her zaman uygulanamamaktadır. Bu nedenle eğer yüksek duyarlılığa sahip moleküler yöntemlerin kullanımını sınırlı ise özellikle kan, doku ve organ donörleri ile immünsüpresyon tedavisi alanlarda potansiyel OBİ vakalarının tanımlanması için rutin klinik pratikte diğer serolojik belirteçler (HBsAg/Anti-HBs, negatif) ile birlikte anti-HBc antikorları serolojik bir kılavuz olarak kullanılabilir olmasına karşın, tüm anti-HBc pozitif vakaların HBV DNA pozitif olmadığı ve özellikle anti-HBc prevalansının çok yüksek ve düşük olduğu bölgelerde bu testlerin NAT testleri kadar efektif olmadığı, serokonversiyon öncesi dönemde tanısal yeterliliğinin olmaması ve ayrıca enzimatik ve radyolojik temelli (işaretli) serolojik immün testlerin de yalancı pozitifliğe neden olabileceği de mutlaka dikkate alınmalıdır (9,26). Gerek serolojik gerekse HBV DNA tanısında yalancı pozitif ve negatif test sonucunu en aza indirmek ve test sonuçlarını doğrulamak için özellikle HBV'nin endemik olduğu bölgelerde birden fazla klinik örnek ve testin aynı anda çalışılması yararlı olabilir.

SONUÇ: OBİ gelişimine ilişkin moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Buna karşın mevcut bilimsel veriler, OBİ'de viral faktörlerden ziyade konak faktörlerinin kilit rolünü destekler niteliktedir. Dolayısıyla virüs ve konak arasındaki süpresyona yönelik dengenin immünolojik, epigenetik ve diğer çeşitli çevresel faktörler sebebiyle viral transkripsiyon ve replikasyon lehine bozulmasının, OBİ gelişiminde kritik rol alan mekanizmalar olabileceği görüşü ön plandadır. Nihayetinde intrahepatik düzeyde, uzun süreli, replikatif formda HBV persistansı olarak tanımlanan OBİ'nin, direkt ve indirekt onkogenik mekanizmalar aracılığı ile HSK gelişiminde önemli bir risk faktörü olabileceği de öne sürülmektedir. Bu açıdan klinisyenlerin OBİ'nin kontrolü ve yönetimi için OBİ riski yüksek hasta gruplarında, yüksek duyarlılığa sahip moleküler yöntemler aracılığı ile HBV DNA varlığına yönelik tarama testlerini yaptırması önerilebilir. Günümüzde ve yakın gelecekte duyarlılığı yüksek moleküler tanı yöntemlerinin rutin ve araştırmaya yönelik uygulamalarda daha fazla kullanılmaya başlanması ve özellikle doğal enfeksiyonun tüm aşamalarını (viral biyosentez) yansıtabilen yeni deneysel sistemlerin ve tanı araçlarının geliştirilmesi de OBİ'de viral ve konak faktörleri arasındaki dinamik dengenin moleküler mekanizmaları ile klinik önemini aydınlatılmasına dair daha fazla verinin elde edilmesine imkân sağlayacaktır. Ayrıca bu çaba ve verilerin günümüzde, özellikle de yaşadığımız coğrafyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak devam etmekte olan kronik B hepatitinin, fonksiyonel ve nihai kürüne yönelik antiviral hedeflerin ve terapötiklerin keşfine yönelik çalışmalara da ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> erişim 12 Ocak 2015.
2. World Health Organization. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> erişim 12 Ocak 2015.
3. Shi J, Zhu L, Liu S, Xie WF. A Metaanalysis of case-control studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma in China. *Br J Cancer* 2005;92:607-12.
4. Chang MH. Cancer prevention by vaccination against hepatitis B. *Recent Results. Cancer Res* 2009; 181: 85-94.
5. Kew MC. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002; 181-182: 35-8.
6. Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *Lancet* 2003; 62: 2089-94.
7. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004;350: 1118-29.
8. Fatovich G, Giustina G, Sanchez-Tapias J, Quero C, Mas A, et al. Delayed clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B: relation to interferon alpha therapy and disease prognosis. *European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP)*. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 896-900.
9. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2008; 49: 652-7.
10. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2: 479-86.
11. Pollicino T, Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20(20): 5951-61.
12. Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:142-63.
13. Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46:160-70.
14. Fang Y, Shang QL, Liu JY, Li D, Xu WZ, Teng X, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection among hepatopathy patients and healthy people in China. *J Infect* 2009; 58: 383-8.
15. Brechot C, Thiers V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Br_echot P. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* 2001;34: 94-203.
16. Ohba K, Kubo S, Tamori A, Hirohashi K, Tanaka H, Shuto T, et al. Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis B surface antigen negative and anti-hepatitis C negative patients with hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 2004; 34: 842-8.
17. Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1122-32.
18. Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 9-52.
19. Larrubia JR. Occult hepatitis B virus infection: a complex entity with relevant clinical implications. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1529-30.
20. Mrani S, Chemin I, Menouar K, Guillaud O, Pradat P, Borghi G, et al. Occult HBV infection may represent a major risk factor of non-response to antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2007; 79: 1075-81.
21. De Mitri MS, Cassini R, Bernardi M. Hepatitis B virus-related hepatocarcinogenesis: molecular oncogenic potential of clear or occult infections. *Eur J Cancer* 2010; 46: 2178-86.
22. Chemin I, Trepo C. Clinical impact of occult HBV infections. *J Clin Virol* 2005; 34: 15-21.
23. De la Fuente RA, Gutiérrez ML, Garcia-Samaniego J, Fernández-Rodríguez C, Lledó JL, Castellano G. Pathogenesis of occult chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1543-8.
24. Hassan ZK, Hafez MM, Mansor TM, Zekri AR. Occult HBV infection among Egyptian hepatocellular carcinoma patients. *Virol. J* 2011; 8: 90-5.
25. Lalazar G, Rund D, Shouval D. Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol* 2007; 136: 699-712.
26. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion* 2008; 48: 1001-26.
27. Cheung CK, Lo CM, Man K, Lau GK. Occult hepatitis B virus infection of donor and recipient origin after liver transplantation despite nucleoside analogue prophylaxis. *Liver Transpl* 2010; 16: 1314-23.
28. Allain JP, Cox L. Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Curr Opin Hematol* 2011; 18: 461-6.
29. Teresa Pollicino, Giovanni Raimondo. Occult Hepatitis B Infection. *Journal of Hepatology* 2014. 61:688-9.
30. Mason AL, Xu L, Guo L, Kuhns M, Perrillo RP. Molecular basis for persistent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. *Hepatology* 1998; 27: 1736-42.
31. Zoulim F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. *J Hepatol* 2005; 42: 302-8.
32. R. A. A. Pondé Molecular mechanisms underlying HBsAg negativity in occult HBV infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015; 34: 1709-31.
33. Conjeevaram HS, Lok AS. Occult hepatitis B virus infection: a hidden menace? *Hepatology* 2001; 34: 204-6.
34. Minuk GY, Sun DF, Uhanova J, Zhang M, Caouette S, Nicolle LE, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. *J Hepatol* 2005; 42: 480-5.

35. Kim SM, Lee KS, Park CJ, Lee JY, Kim KH, Park JY, et al. Prevalence of occult HBV infection among subjects with normal serum ALT levels in Korea. *J Infect* 2007; 54: 185–91.
36. Hui CK, Sun J, Au WY, Lie AK, Yueng YH, Zhang HY, et al. Occult hepatitis B virus infection in hematopoietic stem cell donors in a hepatitis B virus endemic area. *J Hepatol* 2005; 42: 813–9.
37. Zhang Z, Zhang L, Dai Y, Jin L, Sun B, Su Q, Li X. Occult hepatitis B virus infection among people with a family history of chronic hepatitis B virus infection *J Med Virol* 2015; 87(11): 1890-8.
38. Raimondo G, Navarra G, Mondello S, Costantino L, Colloredo G, Cucinotta E, et al. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J Hepatol* 2008;48: 743–6.
39. Stramer SL, Wend U, Candotti D, Foster GA, Hollinger FB, Dodd RY, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med* 2011; 364: 236–47.
40. Oluyinka OO, Tong HV, Bui Tien S, Fagbami AH, Adekanle O, Ojurongbe O, et al. Occult Hepatitis B Virus Infection in Nigerian Blood Donors and Hepatitis B Virus Transmission Risks. *PLOS ONE* 2015; 6;10(7):e0131912.
41. Candotti D, Lin CK, Belkhiri D, Sakuldamrongpanich T, Biswas S, Lin S, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East Asia: molecular characterisation and potential mechanisms of occurrence. *Gut* 2012; 61(12): 1744-53.
42. Song EY, Yun YM, Park MH, Seo DH. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in a general adult population in Korea. *Intervirology* 2009; 52: 57–62.
43. Yuen MF, Lee CK, Wong DK, Fung J, Hung I, Hsu A et al. Prevalence of occult hepatitis B infection in a highly endemic area for chronic hepatitis B: a study of a large blood donor population. *Gut* 2010; 59(10): 1389-93.
44. Nna E, Mbamalu C, Ekejindu I (2014) Occult hepatitis B viral infection among blood donors in South- Eastern Nigeria. *Pathog Glob Health* 2014; 108: 223–8
45. Jutavijittum P, Andernach IE, Yousukh A, Samounry B, Samounry K, Thammavong T, et al. Occult hepatitis B infections among blood donors in Lao PDR. *Vox Sang* 2014; 106: 31–37.
46. O'Brien SF, Fearon MA, Yi QL, Fan W, Scalia V, Muntz IR, Vamvakas EC. Hepatitis B virus DNA-positive, hepatitis B surface antigen-negative blood donations intercepted by anti-hepatitis B core antigen testing: the Canadian Blood Services experience. *Transfusion* 2007; 47: 1809-15.
47. Hofer M, Joller-Jemelka HI, Grob PJ, Lüthy R, Opravil M. Frequent chronic hepatitis B virus infection in HIV-infected patients positive for antibody to hepatitis B core antigen only. *Swiss HIV Cohort Study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 6-13.
48. Núñez M, Ríos P, Pérez-Olmeda M, Soriano V. Lack of 'occult' hepatitis B virus infection in HIV-infected patients. *AIDS* 2002; 16: 2099-101.
49. Torbenson M, Kannangai R, Astemborski J, Strathdee SA, Vlahov D, Thomas DL. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004; 39: 51–7.
50. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y, Honda T, Katano Y, Nakano I, et al. Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan. *J Med Virol* 2004; 73: 195–9.
51. Wong DK, Huang FY, Lai CL, Poon RT, Seto WK, Fung J, et al. Occult hepatitis B infection and HBV replicative activity in patients with cryptogenic cause of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 829–36.
52. Raffa G, Maimone S, Cargnel A, Santantonio T, Antonucci G, Massari M, et al. Analysis of occult hepatitis B virus infection in liver tissue of HIV patients with chronic hepatitis C. *AIDS* 2007; 21: 2171–5.
53. Fabrizi F, Messa PG, Lunghi G, Aucella F, Bisegna S, Mangano S, et al. Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: a multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1341–47.
54. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R, Zhang M, Hawkins K, Uhanova J, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40: 1072-77.
55. Chan HL, Tsang SW, Leung NW, Tse CH, Hui Y, Tam JS, et al. Occult HBV infection in cryptogenic liver cirrhosis in an area with high prevalence of HBV infection. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1211-15.
56. Shetty K, Hussain M, Nei L, Reddy KR, Lok AS. Prevalence and significance of occult hepatitis B in a liver transplant population with chronic hepatitis C. *Liver Transpl* 2008; 14: 534–40.
57. Allain JP, Candotti D. Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion. *Blood Transfus* 2009; 7: 174–82.
58. Chemin I, Guillaud O, Queyron PC, Trepo C. Close monitoring of serum HBV DNA levels and liver enzymes levels is most useful in the management of patients with occult HBV infection. *J Hepatol* 2009; 51: 824–5.
59. Allain JP and Laura Cox Challenges in hepatitis B detection among blood donors *Curr Opin Hematol* 2011; 18: 461–6.
60. Komiya Y, Katayama K, Yugi H, Mizui M, Matsukura H, Tomoguri T, et al. Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C. *Transfusion* 2008; 48: 286–94.
61. Allain JP, Belkhiri D, Vermeulen M, Crookes R, Cable R, Amiri A, et al. R) Characterization of occult hepatitis B virus strains in South African blood donors. *Hepatology* 2009; 49: 1868–76.

62. Prati D, Gerosa A, Porretti L. Occult HBV infection and blood transfusion. *Journal of Hepatology* 2006; 44: 818.
63. Cholongitas E, Papatheodoridis GV, Burroughs AK. Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: a systematic review. *J Hepatol* 2010; 52: 272–9.
64. Coffin CS, Mulrooney-Cousins PM, van MG, Roberts JP, Michalak TI, Terrault NA. Hepatitis B virus quasispecies in hepatic and extrahepatic viral reservoirs in liver transplant recipients on prophylactic therapy. *Liver Transpl* 2011; 17: 955–62.
65. Toniutto P, Minisini R, Fabris C, De FT, Marangoni F, Burlone M, et al. Occult hepatitis B virus infection in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C: relationship with donor age and fibrosis progression. *Clin Transplant* 2011; 23: 184–90.
66. Sagnelli E, Pisaturo M, Martini S, Filippini P, Sagnelli C, Coppola N. Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients. *World J Hepatol* 2014; 6: 384-93.
67. Yeo W, Chan TC, Leung NW, Lam WY, Mo FK, Chu MT, et al. Hepatitis B virus reactivation in lymphoma patients with prior resolved hepatitis B undergoing anticancer therapy with or without rituximab. *J Clin Oncol* 2009; 27: 605–11.
68. Pei SN, Chen CH, Lee CM, Wang MC, Ma MC, Hu TH, et al. Reactivation of hepatitis B virus following rituximab-based regimens: a serious complication in both HBsAg-positive and HBsAg-negative patients. *Ann Hematol* 2010; 89: 255–62.
69. Ritchie D, Piekarz RL, Blombery P, Karai LJ, Pittaluga S, Jaffe ES, et al. Reactivation of DNA viruses in association with histone deacetylase inhibitor therapy: a case series report. *Haematologica* 2009; 94: 1618–22.
70. Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K, Kahata K, Chuma M, Mori A, et al. Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation* 2005; 79: 616–9.
71. Vigano M, Vener C, Lampertico P, Annaloro C, Pichoud C, Zoulim F, et al. Risk of hepatitis B surface antigen seroreversion after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46: 125–31.
72. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2012; 57: 167–185.
73. Covolo L, Pollicino T, Raimondo G, Donato F. Occult hepatitis B virus and risk for chronic liver disease: A meta-analysis. *Dig Liv Dis* 2013; 45: 238–44.
74. Shi Y, Wu YH, Wu W, Zhang WJ, Yang J, Chen Z. Association between occult hepatitis B virus infection and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Liver Int* 2012; 32: 231–40.
75. Squadrito G, Spinella R, Raimondo G. The clinical significance of occult HBV infection *Annals of Gastroenterology* 2014; 27: 15-9.
76. Murakami Y, Saigo K, Takashima H, Minami M, Okanoue T, Bréchet C, Paterlini-Bréchet P. Large scaled analysis of hepatitis B virus (HBV) DNA integration in HBV related hepatocellular carcinomas. *Gut* 2005; 54: 1162–8.
77. Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Cacciola I, Raffa G, Craxi A, et al. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology* 2004; 126: 102-10.
78. Wong DK, Yuen MF, Poon RT, Yuen JC, Fung J, Lai CL. Quantification of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2006; 45: 553-9.
79. Sheu JC, Huang GT, Shih LN, Lee WC, Chou HC, Wang JT, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992; 103: 1322-1327.
80. Paterlini P, Driss F, Nalpas B, Pisi E, Franco D, Berthelot P, et al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology* 1993; 17: 20-9.
81. Yu MC, Yuan JM, Ross RK, Govindarajan S. Presence of antibodies to the hepatitis B surface antigen is associated with an excess risk for hepatocellular carcinoma among non-Asians in Los Angeles County, California. *Hepatology* 1997; 25:226-8.
82. Bläckberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 2000; 33: 992-7.
83. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 1172-9.
84. Mulrooney-Cousins PM, Michalak TI. Persistent occult hepatitis B virus infection: experimental findings and clinical implications. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5682-6.
85. Wong D. K.-H., Fung J., Lee C.-K., Seto W.-K., Leung J., Yuen M.-F et al. Intrahepatic hepatitis B virus replication and liver histology in subjects with occult hepatitis B infection. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 290.
86. Kannangai R, Vivekanandan P, Netski D, Mehta S, Kirk GD, Thomas DL, et al. Liver enzyme flares and occult hepatitis B in persons with chronic hepatitis C infection. *J Clin Virol* 2007; 39: 101–5.
87. Raimondo G, Pollicino T, Squadrito G. What is the clinical impact of occult hepatitis B virus infection? *Lancet* 2005; 365: 638-40.
88. Brechot C. Pathogenesis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: old and new paradigms. *Gastroenterology* 2004; 127: 56–61.
89. Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988; 61: 1942-56.
90. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of

- patients with chronic hepatitis C. *J. Clin. Microbiol* 2002; 40: 4068–71.
91. Koike K, Shimotouno K, Okada S, Okamoto H, Hayashi N, Ueda K, et al. Survey of hepatitis B virus coinfection in hepatitis C virus-infected patients suffering from chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma in Japan. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 1270-2.
92. Yotsuyanagi H, Hashidume K, Suzuki M, Maeyama S, Takayama T, Uchikoshi T. Role of hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 2004; 28: 181-5.
93. Chung HT, Lai CL, Wu PC, Lok AS. Synergism of chronic alcoholism and hepatitis B infection in liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1989; 4: 11-6.
94. Lok AS, Everhart JE, Di Bisceglie AM, Kim HY, Hussain M, Morgan TR. Occult and previous hepatitis B virus infection are not associated with hepatocellular carcinoma in United States patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 434-42.
95. Chen YC, Sheen IS, Chu CM, Liaw YF. Prognosis following spontaneous HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients with or without concurrent infection. *Gastroenterology* 2002; 123: 1084-9.
96. Fwu CW, Chien YC, Kirk GD, Nelson KE, You SL, Kuo HS, Feinleib M, Chen CJ. Hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma among parous Taiwanese women: nationwide cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1019-27.
97. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1750-8.
98. Korba BE, Wells FV, Baldwin B, Cote PJ, Tennant BC, Popper H, et al. Hepatocellular carcinoma in woodchuck hepatitis virusinfected woodchucks: presence of viral DNA in tumor tissue from chronic carriers and animals serologically recovered from acute infections. *Hepatology* 1989; 9: 461–70
99. Marion, P.I. In: McLachlan, A. (ed) *Molecular Biology of Hepatitis B Virus*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1991; 39–51.
100. Michalak TI, Pardoe IU, Coffin CS, Churchill ND, Freake DS, Smith P, et al. Occult lifelong persistence of infectious hepadnavirus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* 1999; 29: 928-38.
101. Transy C, Fourel G, Robinson WS, Tiollais P, Marion PL, Buendia MA. Frequent amplification of c-myc in ground squirrel liver tumors associated with past or ongoing infection with a hepadnavirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 3874-8.
102. Tanaka M, Tanaka H, Tsukuma H, Ioka A, Oshima A, Nakahara T. Risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma: a possible role of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 2010; 17: 742–8.
103. Perumal V, Wang J, Thuluvath P, Choti M, Torbenson M. Hepatitis C and hepatitis B nucleic acids are present in intrahepatic cholangiocarcinomas from the United States. *Hum Pathol* 2006; 37: 1211–6.
104. Shafritz DA, Shouval D, Sherman HI, Hadziyannis SJ, Kew MC. Integration of hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Studies in percutaneous liver biopsies and post-mortem tissue specimens. *N Engl J Med* 1981; 305: 1067–73.
105. Gozuacik D, Murakami Y, Saigo K, Chami M, Mugnier C, Lagorce D, et al. Identification of human cancer-related genes by naturally occurring Hepatitis B Virus DNA tagging. *Oncogene* 2001; 20: 6233-40.
106. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2016; 22(39): 8720-87.

PSEUDOANGIOMATOUS STROMAL HYPERPLASIA (PASH) OF THE BREAST IN AN ADOLESCENT: A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

ADOLESAN KIZ ÇOCUĞUNDA PSÖDOANJİYOMATÖZ STROMAL HİPERPLAZİ: OLGU SUNUMU VE LİTERATÜR DERLEMESİ

Hasan Utkan AYDIN*, Salih Onur BASAT*, Burcu ÇELET ÖZDEN*, Ufuk EMEKLİ*, Sıtkı TUZLALI**

ABSTRACT

Pseudoangiomas stromal hyperplasia (PASH) is a benign proliferative lesion of the breast stroma characterized by slit-like pseudovascular spaces lined by endothelial-like spindle cells. It is frequently found as incidental microscopic foci in the female breast and in gynecomastia of the male breast, but it rarely presents as a clinical problem. We report a case of bilateral extreme breast enlargement caused by PASH in an adolescent girl who was treated with subcutaneous mastectomy and reconstruction with breast implants following a recurrence after treatment with free nipple graft breast reduction.

Keywords: Pseudoangiomas stromal hyperplasia; mammoplasty; breast implants.

ÖZET

Psödoanjyomatöz stromal hiperplazi (PASH) meme bağ dokusunun benign proliferatif lezyonlarından birisidir. Endotel benzeri içi hücrelerle döşeli yarık benzeri psödoasküler alanlarla karakterizedir. Meme eksizyonu ve jinekomasti piyeslerinde sıklıkla insidental olarak görülse de nadiren klinik bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu olgu sunumunda PASH nedeniyle aşırı derecede bilateral meme büyümesi ile kliniğimize başvuran adolesan bir kız çocuğunun klinik seyri ve tedavisi bildirilmektedir. Bu hastaya, serbest meme grefti kullanılarak meme küçültme ameliyatı yapıldıktan sonra gelişen nüks nedeniyle subkutan mastektomi yapılmış ve meme implantı yerleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Psödoanjyomatöz stromal hiperplazi; mamoplasti; meme İmplantları.

INTRODUCTION

Pseudoangiomas stromal hyperplasia (PASH) is a benign proliferative lesion of the breast stroma which was first described by Vuitch et al in 1986 (1). It is characterized by slit-like pseudovascular spaces lined by endothelial-like spindle cells. The term “pseudoangiomas” describes the histological pattern which resembles an angiomas proliferation. It is believed to originate from mammary myofibroblasts and, for that reason, Leon et al. proposed the term nodular myofibroblastic hyperplasia of the mammary stroma to denote its true histogenesis (2).

It is frequently found as incidental microscopic foci in the female breast and in gynecomastia of the male breast (3-4), but it rarely presents as a clinical problem. Although some case series regarding PASH are published previously, literature on PASH consists primarily of case reports (5-7). PASH has two primary clinical presentations- either distinct nodular growth or diffuse enlargement of the breast.

We report a case of bilateral extreme breast enlargement caused by PASH in an adolescent girl who was treated with subcutaneous mastectomy and reconstruction with breast implants following a recurrence after treatment with free nipple graft breast reduction.

Date received/Dergiye geldiği tarih: 13.04.2017.– Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 29.05.2017

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, * Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, ** Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: utkana@hotmail.com)

İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi Cilt / Volume: 80 • Sayı / Number: 2 • Yıl/Year: 2017

CASE

A 13 years old girl presented with a 12 month history of extreme bilateral breast enlargement which started with menarche (Fig. 1).



Figure 1: Preoperative photographs of the patient. Her nipple to midclavicle distance was measured as 43 cm on the right side, and 50 cm on the left side.

She was referred to our clinic from the department of pediatrics with a preliminary diagnosis of virginal breast hypertrophy. At the time of presentation, her nipple to midclavicle distance was measured as 43 cm on the right side, and 50 cm on the left side. Breast enlargement was diffuse and homogenous with an absence of any solitary tumours. Multiple cutaneous ulcerations were present on both of her breast. Both breasts were extremely edematous and many dilated venous vessels were visible. There were no lymphadenopathies present.

Hormone levels were found to be normal. Her past medical history was unremarkable. She did not have a family history of breast disease. She was not on any medication and she recently started menarche. Her breast ultrasonography revealed ectatic retroareolar ductal structures and an expanded fibroglandular breast paranchime.

The patient underwent bilateral breast amputation with a free nipple areolar graft using a Wise pattern resection. Breast projection was preserved using a bipediced dermoglandular flaps (8). Total weight of the resected tissue was approximately 9000 g (Fig. 2). Histologic examination of the resected breast tissue revealed that breast enlargement was caused by the diffuse form of PASH. Immunohistochemical study of the specimen revealed positive immunoreactivity for CD34 and negative immunoreactivity for CD31.



Figure 2: A 4 x 5 cm large skin flap necrosis at the midline on right breast during the early postoperative course which was treated by excision and primary repair

There was a 4 x 5 cm large skin flap necrosis at the midline on the patient's right breast during the early

postoperative course, which was treated by debridement and primary repair. No other problems were reported until the end of first year, when the parents noticed a homogenous growth of both breasts. The available treatment options were discussed with the patient and her parents and a subcutaneous mastectomy and immediate reconstruction with anatomic implants was performed. The 600 ml implants were placed under the pectoral muscle on both sides. The patient was followed-up for 30 months after the second operation. There were no problems related to skin flaps, and the nipple areolar complex which was previously transferred as a graft was viable, although both breasts have markedly lost their projections (Fig. 3). Due to changes in patients stature in the years following reconstruction with implants, the patient is scheduled for a replacement of implants with larger implants.



Figure 3: Patients photographs in the third postoperative year. Nipple areolar complex which was previously transferred as a graft was viable, although both breasts have markedly lost their projections.

DISCUSSION

Rapid breast enlargement shortly after the beginning of puberty is termed as juvenile gigantomastia (9). Extreme cases requiring as far as 20 kg of breast tissue resection has been reported in the literature (10). Differential diagnosis of juvenile gigantomastia includes fibroadenomas, cystosarcoma phylloides, gravid hypertrophy of the breast, breast hypertrophy secondary to endocrine disorders, pseudogigantomastia associated with obesity, and malignant tumors such as lymphomas and sarcomas (11). To our knowledge, PASH of the breast was not seen associated with juvenile gigantomastia previously.

Pseudoangiomatous stromal hyperplasia was first reported by Vuitch et al. in 1986 as a benign breast disease characterized by a dense, collagenous proliferation of mammary stroma, forming inter-anastomosing capillary-like spaces lined by slender spindle cells (1). Empty spaces bordered with myofibroblasts were observed within the lesions, instead of true vessels covered with endothelial cells. In a study of 200 consecutive breast specimens evaluated for the presence of PASH, Ibrahim et al. reported that these changes could be detected microscopically in 23% of all routine breast biopsy specimens (12).

One of the largest series from a single institution was reported by Bowman et al. in 2012, consisting of 24 cases with PASH lesions (13). The reported size of tumors in this series ranged from 0.3 cm to 7.0 cm. All women in the series were premenopausal or

perimenopausal at diagnosis except two cases. A hormonal basis for the development of PASH was suggested by the authors due to the positive staining of the specimens for hormonal receptors. Our case, however, is presented with a substantially different profile from the cases presented in this series, both in terms of age and size of the lesions. Due to extreme enlargement of the breasts and young age of the patient, we preferred to perform a breast reduction first, considering that it might be a safer and predictable alternative to bilateral subcutaneous mastectomy and reconstruction, which can be done at a later stage.

The exact etiology of PASH is debated but a hormonal component is suggested, based on observations that it appears most commonly in young premenopausal women or in elderly women receiving hormone-replacement therapy (12). Although this hypothesis is supported by the fact that similar histologic findings are seen in normal mammary stroma during the luteal phase of the menstrual cycle, the lesion is also seen in men and in women not taking hormone therapy.(14) Interestingly, some studies reported that only a small percentage of PASH cases are found to be positive for estrogen receptors or for progesterone receptors (15-16) Preoperative diagnosis with fine needle aspiration or core needle biopsies may be misleading due to the low cellularity of lesions. PASH has to be differentiated from a low-grade angiosarcoma, benign myofibroblastoma and mammary hamartoma. In the case of PASH, there are no blood cells in the slit-like spaces, and the nuclei of the spindle cells in the lesions are attenuated, lack atypia and do not exhibit mitotic activity. Immunohistochemical studies of the specimens may show positive immunoreactivity for CD34 and negative immunoreactivity for CD31 and desmin. Microscopically, PASH is composed of an almost normal duct and lobular structure, and an increased amount of fibrous stroma. A complex pattern of anastomosing empty spaces in the dense collagenous stroma is also seen.

Medical and surgical treatment options have been proposed with varying success. Some authors have recommended local excision.(17) Nevertheless, PASH may recur after an excision. Powel et al. reported a case in which a bilateral mastectomy was performed for recurrences. A case report by Pruthi et al. describes relief from symptomatic, biopsy-proven PASH with the administration of tamoxifen, with persistence of the lesion and subsequent recurrence of breast pain and engorgement upon discontinuation of the drug caused by adverse effects.(16) Resuming administration of the antagonist was, however, followed again by improvement of symptoms. This may be an indirect additional support of the hypothesis regarding the hormonal etiology of PASH.

There have been no cases in which PASH undergoes malignant transformation. The prognosis for patients with PASH is good, and there have been no reports of distant metastasis or death related to PASH. In a study of 9065 biopsies by Degnim et al., PASH was identified in 579 (6.4%) cases (18). Breast cancers occurred in 34 women with PASH (5.9%) and 789 without (8.8%). The

study concluded that women with PASH do not have an increased future risk of breast cancer. Ferreira et al. suggested that PASH tumors diagnosed by biopsy but not subsequently excised remained stable and therefore, offering the option of close clinical surveillance instead of surgery may be a viable strategy.(19)

As our case has demonstrated, an extreme bilateral breast enlargement should raise clinical suspicion of PASH along with other more common conditions. The risk of recurrence should be noted. In cases where a diffuse enlargement of the breast is present, a two stage approach with subcutaneous mastectomy following a free nipple graft breast reduction can be safely performed.

REFERENCES

1. Vuitch MF, Rosen PP, Erlandson RA. Pseudoangiomatous hyperplasia of mammary stroma. *Hum Pathol* 1986;17(2):185-91.
2. Leon ME, Leon MA, Ahuja J, Garcia FU. Nodular myofibroblastic stromal hyperplasia of the mammary gland as an accurate name for pseudoangiomatous stromal hyperplasia of the mammary gland. *Breast J* 2002;8(5):290-3.
3. Badve S, Sloane JP. Pseudoangiomatous hyperplasia of male breast. *Histopathology* 1995;26(5):463-6
4. Haj M, Loberant N, Cohen I. Pseudoangiomatous hyperplasia of mammary stroma in a male breast presenting as a discrete nodule. *Breast J* 2005;11(6):472-3.
5. Wieman SM, Landercasper J, Johnson JM, Ellis RL, Wester SM, Lambert PJ, Ross LA. Tumoral pseudoangiomatous stromal hyperplasia of the breast. *Am Surg* 2008;74(12):1211-4.
6. Drinka EK, Bargaje A, Ersahin CH, Patel P, Salhadar A, Sinacore J, Rajan P. Pseudoangiomatous Stromal Hyperplasia (PASH) of the Breast: A Clinicopathological Study of 79 Cases. *Int J Surg Pathol* 2011;20(1):54-8.
7. Ozturk S, Yavuz E, Dursun M, Asoglu O, Ilhan R, Tuzlali S, Iplikci A. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia of the breast (morphological and immunohistochemical analysis of 14 cases). *Turk J Pathol* 2005;21(3-4): 54-7.
8. Guven E, Aydin H, Basaran K, Aydin U, Kuvat SV. Reduction mammoplasty using bipedicle dermoglandular flaps and free-nipple transplantation. *Aesthetic Plast Surg* 2010;34(6):738-44.
9. Dancey A, Khan M, Dawson J, Peart F. Gigantomastia--a classification and review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008;61(5):493-502.
10. Schumacher O, Ashkar W, Dabernig J, Nenadic I, Ingianni G. Juvenile gigantomastia of extreme magnitude: a case report. *Ann Plast Surg* 2009;63(4):369-72.
11. Baker SB, Burkey BA, Thornton P, LaRossa D. Juvenile gigantomastia: presentation of four cases and review of the literature. *Ann Plast Surg* 2001;46(5):517-25.

12. Ibrahim RE, Sciotto CG, Weidner N. Pseudoangiomatous hyperplasia of mammary stroma. Some observations regarding its clinicopathologic spectrum. *Cancer* 1989;63(6):1154-60.
13. Bowman E, Oprea G, Okoli J, Gundry K, Rizzo M, Gabram-Mendola S, Manne U, Smith G, Pambuccian S, Bumpers HL. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia (PASH) of the breast: a series of 24 patients. *Breast J* 2012; 18(3):242-7.
14. Guray M, Sahin AA. Benign breast diseases: classification, diagnosis, and management. *Oncologist* 2006;11(5):435-49.
15. Castro CY, Whitman GJ, Sahin AA. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia of the breast. *Am J Clin Oncol* 2002;25(2):213-6
16. Pruthi S, Reynolds C, Johnson RE, Gisvold JJ. Tamoxifen in the management of pseudoangiomatous stromal hyperplasia. *Breast J* 2001;7(6):434-9.
17. Powell CM, Cranor ML, Rosen PP. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia (PASH). A mammary stromal tumor with myofibroblastic differentiation. *Am J Surg Pathol* 1995; 19(3):270-7
18. Dagnim AC, Frost MH, Radisky DC, Anderson SS, Vierkant RA, Boughey JC, Pankratz VS, Ghosh K, Hartmann LC, Visscher DW. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia and breast cancer risk. *Ann Surg Oncol* 2010;17(12):3269-77.
19. Ferreira M, Albarracin CT, Resetskova E. Pseudoangiomatous stromal hyperplasia tumor: a clinical, radiologic and pathologic study of 26 cases. *Mod Pathol* 2008;21(2):201-7.

PERİASETABULER EWİNG SARKOMU OLGU SUNUMU: CERRAHİ TEKNİK VE LUMIC ASETABULAR İMPLANT İLE REKONSTRÜKSİYON

PERIACETABULAR EWING'S SARCOMA: A CASE REPORT OF SURGICAL TECHNIQUE AND RECONSTRUCTION WITH LUMIC ACETABULAR IMPLANT

Ahmet SALDUZ*, Mehmet DEMİREL*, Koray ŞAHİN*, Levent ERALP*

ÖZET

Pelvik tümörlerin rezeksiyonu sonrası meydana gelen periasetabuler defektlerin rekonstrüksiyonu ortopedik onkolojik cerrahide oldukça zorlu bir durumdur. Geleneksel rekonstrüksiyon yöntemleri mekanik ve fonksiyonel açıdan yetersiz kalabilmektedir. LUMIC® (Implantcast, Buxtehude, Germany) *asetabuler implant*, pelvik rezeksiyon sonrası rekonstrüksiyonda iyi sonuçların elde edildiği bir implant olarak kullanılmaktadır. Bu olgu sunumunda, 28 yaşında periasetabuler Ewing sarkomu sebebiyle tip-II pelvik rezeksiyon ve *Lumic asetabular implant* ile rekonstrüksiyon uygulanmış bir kadın hastanın klinik ve fonksiyonel sonuçları sunulmaya çalışıldı. Bu olgunun diğer bir özelliği ise tip 2 asetabuler rezeksiyonun trokanterik osteotomi yapılmadan gerçekleştirilmiş olmasıdır. Bu sebeple erken postop dönemde ve takiplerinde (2. yıl) aktif kalça abduksiyonu korunabildi ve Musculoskeletal Tumor Society fonksiyonel değerlendirme skalasına göre iyi kalça fonksiyonu elde edilebildi. Sonuç olarak LUMIC® *asetabuler implant* ile memnun edici klinik ve radyolojik sonuçlar elde etmek mümkündür. Tip 2 asetabuler rezeksiyon vakadan vakaya değişebilmekle birlikte trokanterik osteotomi yapmadan uygulanabilir olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ewing sarkomu; periasetabuler rekonstrüksiyon; kalça; Lumic.

ABSTRACT

Reconstruction of periacetabular defects following pelvic tumor resection is a demanding procedure in orthopaedic surgical oncology. Conventional reconstruction procedures may have dissatisfying mechanical and functional results. More recently developed, Lumic acetabular implant (Implantcast, Buxtehude, Germany) has been used for acetabular reconstruction after type 2 pelvic resection. We aimed to present a 28-year-old female patient who underwent a reconstruction surgery with a Lumic acetabular implant following a type-II pelvic resection due to periacetabular Ewing's sarcoma. Another important feature of the patient is that the surgery was performed without trochanteric osteotomy. Therefore in the early postoperative period and the second postoperative year, the patient was capable for active hip abduction with a good functional score according to Musculoskeletal Tumor Society Rating Scale. In conclusion, satisfactory functional and radiological results can be obtained with Lumic® acetabular implant. It is also shown that type 2 resection can be achieved without trochanteric osteotomy.

Keywords: Ewing sarcoma; periacetabular reconstruction; hip; Lumic.

GİRİŞ

Pelvik tümörlerin cerrahi tedavisi ortopedik onkoloji ile uğraşan hekimler için çözülmesi zor komplikasyonlar oluşturabilmektedir. Bu tümörlerin geleneksel cerrahi tedavisi eksternal hemipelvektomi olmakla beraber hem fonksiyonel hem de kozmetik açıdan tatmin edici olmayan sonuçları sebebiyle günümüz hekimleri çoğunlukla ekstremita koruyucu internal

hemipelvektomi yöntemini seçmektedir (1). Ancak pelvik tümörlerin sıklıkla tanı öncesi büyük boyutlara ulaşmış olması hekimleri gerek cerrahi sınır güvenliliği gerekse uzamış operasyon süresine bağlı artmış komplikasyon riski ile yüz yüze bırakmaktadır (2).

Günümüzde internal pelvik rezeksiyon sonrası özellikle kalça eklemine de içine alan tip 2 pelvik rezeksiyon sonrası rekonstrüksiyon için çeşitli

Date received/Dergiye geldiği tarih: 14.01.2017– Date accepted/Dergiye kabul edildiği tarih: 01.04.2017

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: ahmetsalduz@gmail.com)

yöntemler geliştirilmiştir. Ancak bu rekonstrüksiyon yöntemleri, pelvisin kompleks anatomisi sebebiyle gerek tekrarlayan çökük, aseptik gevşeme, protez ve protez çevresi kırık gibi mekanik gerekse infeksiyon, kaynamama gibi biyolojik komplikasyonlara yol açarak tedavi eden hekimleri zorlamaktadır (3,4). Modüler asetabuler rekonstrüksiyon implantı LUMIC® protezi de son yıllarda asetabular rekonstrüksiyon amacıyla kullanılan yeni bir yöntem olmakla birlikte literatürde bu yeni yöntemin sonuçlarına değinen az sayıda çalışma yer almaktadır (4,5).

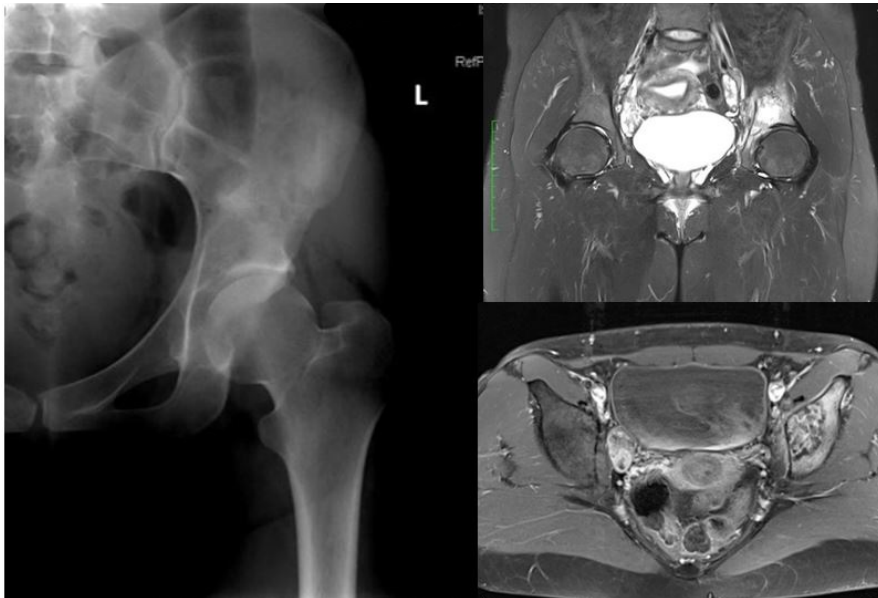
Bu olgu sunumunun amacı tedavisinde, tip2 pelvik rezeksiyon ve modüler asetabuler rekonstrüksiyon implantı LUMIC® ile rekonstrüksiyon uygulanan periasetabuler Ewing sarkomu olgusundaki cerrahi tekniği ve kısa dönem tatmin edici mekanik ve fonksiyonel sonuçlarını sizlerle paylaşmaktır.

OLGUSUNUMU

28 yaşında kadın hasta; ateş, sol kalçasında ele gelen kitle ve ağrı şikayetleri ile kliniğimize başvurdu. Hastanın anamnezinden sol kalçasında 2 ay önce başlayan, istirahatte dahi mevcut olan sol kalça ağrısını takiben 1 hafta önce sol kalçasında kitle farkettiği öğrenildi. Aynı zamanda son 1 haftadır aralıklı olarak 38.5 dereceye varan ateş şikayeti de mevcuttu. Hastanın eşlik eden sistemik hastalığı ve travma öyküsü yoktu. Fizik muayenede palpasyon ile sol kalçada yaklaşık 5*5 cm büyüklüğünde, sınırları düzensiz, sert, solid kitle lezyon saptandı. Sol kalça hareketlerinin özellikle abduksiyon ve fleksiyonda belirgin olmak üzere her yönde ağrılı ve kısıtlı olduğu tespit edildi. Pelvis anteroposterior direkt grafide, sol asetabulum ve çevresinde periost reaksiyonuna neden olan litik lezyon görüldü. Bunun üzerine ileri tetkik için sol kalçaya

yönelik magnetik rezonans görüntüleme (MRI) planlandı. MRI da sol asetabuler çatı düzeyinden iliak kanada doğru uzanım gösteren düzensiz, lobule, posterior kesimlerinde daha belirgin olmak üzere iç yapısı büyük oranda nekrotik ve kontrast tutulumu heterojen olan kitle lezyon saptandı (Resim 1). Bu bulgular ışığında olası tanı Ewing sarkomu olarak düşünüldü. İleri tetkik amaçlı istenilen tüm vücut kemik sintigrafisinde de sol asetabulumda artmış tutulum izlendi. Sonrasında patolojik tanı için yapılan osteocut ile kemik biyopsisinden elde edilen materyalin immünohistokimyasal incelenmesinde CD 45, EMA, Tdt, S-100, Pan-CK, Myogenin tümör markerları negatif gelirken Ewing sarkomu için spesifik olan Vimentin ve CD99 pozitif olarak saptandı. Mikroskopik inceleme sonucunda da lezyonun küçük yuvarlak mavi hücreli tümör grubuna ait olduğu anlaşıldı.

Yukarıda belirtilen bulgular göz önüne alınarak sol periasetabuler yerleşimli Ewing sarkomu tanısı konulan hastaya 6 kür neoadjuvan kemoterapi uygulanmasını takiben çekilen kontrol MRI da kitle boyutlarında küçülme saptandı. Bunun üzerine hastaya tip2 parsiyel pelvik rezeksiyon ve modüler asetabular implant (LUMIC®) ile rekonstrüksiyon ameliyatı uygulama kararı verildi. Ameliyattan 1 saat önce cerrahi profilaksi için 2gr intravenöz sefazolin uygulaması yapıldı. Hasta sağ lateral dekübit pozisyonunda genel anestezi altında hazırlandı. İliak krest posteriora doğru takip eden ilioinguinal ve lateral insizyonların kombinasyonu olan bir insizyon yapıldı. Ardından gluteus maksimus kasının büyük bir kısmı korunarak sadece ameliyat öncesi biyopsisi yapılan kısım rezeksiyon edildi. Gluteus medius kası korunarak kasın anterior ve posteriorundan iliak kemiğe ulaşıldı. Bu işlemler sırasında siyatik sinir ve femoral damar-sinir paketi



Resim 1: Ameliyat öncesi direkt grafi ve MR görüntüleri.

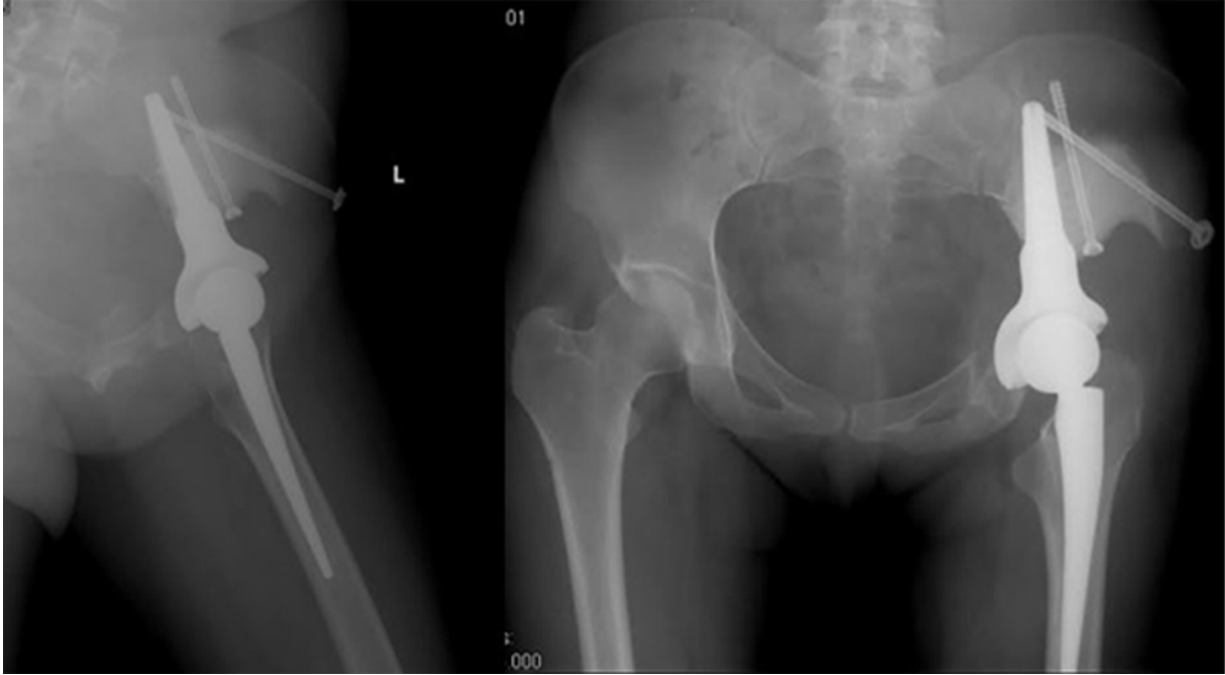
korundu. Gluteus medius ve insersiyosu korunarak iliak osteotomiler yapıldı. Tümör tutulumu dikkate alınarak sırasıyla iskion, ramus pubis superior ve iliak kanat osteotomileri (tip 2 pelvik rezeksiyon) yapıldı.

Asetabulum abdükör mekanizma korunarak sakrospinöz bağ posterior yaklaşımla el yardımı ile hissedilerek kesildikten sonra çıkarıldı. Lumic® tipi protez rezeksiyon sonrası kalan iliak kemiğe uygun

pozisyonda yerleştirildi. Kemik temas sağlanamayan protez kısımları ise 2 vida ve sement uygulanarak güçlendirildi. Son olarak sementsiz femoral komponent yerleştirildikten sonra kalça eklemi redükte edilip yara yeri uygun olarak kapatıldı.

Ameliyat sonrası ilk vizitte, femoral ve siyatik sinirin çalıştığı görülen hastada yara yerinde hafif ağrı dışında herhangi bir nörovasküler komplikasyon ile karşılaşmadı. Ameliyat sonrası derin ven trombozunu engellemek için düşük molekül ağırlıklı heparin profilaktik dozda (0.4 cc 1*1) 1 ay boyunca verildi. Takiplerin 3. gününde sol ayağı üzerine yük vererek 2 adet koltuk değneği ile yürütülen hasta, 6.haftaya kadar çift koltuk değneği, 6.haftadan 3. aya kadar tek koltuk

değneği ile yürütmesine izin verilerek 3. aydan sonra koltuk değneği kullanımına son verildi. Ameliyat sonrası 1. ayda, sol kalçada hafif abduksiyon kısıtlılığı ve 4/5 kas kuvveti dışında, normale yakın hareket arki mevcuttu. 1 aylık kontrollerle 1 yıl boyunca her vizitte pelvis anteroposterior ve lateral radyografileri, 3 ayda bir MRI ile takip edildi. Hastanın 6. ayın sonunda ağrısız ve normale yakın sol kalça fonksiyonu ile günlük sosyal aktivitelerine döndüğü öğrenildi. Ameliyat sonrası 2. yıl kontrolünde aktif kalça abduksiyonu ile birlikte aktif ve pasif kalça hareketlerinin normale yakın olduğu saptanırken radyografisinde aseptik gevşemeye ait bulgu saptanmadı (Resim 2).



Resim 2: Ameliyat sonrası 2. yıl kontrol AP ve lateral radyografileri.

TARTIŞMA

Pelvisin kompleks anatomisi nedeniyle pelvik tümörlerin rezeksiyonu sonrası rekonstrüksiyonu için, çeşitli prosedürler geliştirilmiştir. Literatürde bu konuda tanımlanmış biyolojik, mekanik ve kombine teknikler mevcuttur. İliofemoral ve iskiyofemoral artrodez, protez ve sement, rezeke edilen kemiğin otoklav veya radyasyon sonrası tekrar implante edilmesi, proksimal femoral otograft, pelvik allograft gibi rekonstrüksiyon yöntemleri örnek olarak verilebilir (6). Ancak bu konvansiyonel pelvik rekonstrüksiyon seçenekleri hem kalça hareketlerinde ciddi kısıtlılığa yol açması hem de yürüme cihazı olmadan mobilizasyona izin vermemesi sebebiyle fonksiyonel açıdan tatmin edici değildir. Ayrıca allograft kullanılan biyolojik rekonstrüksiyon tekniklerinin artmış enfeksiyon riski kaynamama ve greft rezorpsiyonu gibi dezavantajlara sahip olması da diğer önemli bir sorundur. Belirtilen konvansiyonel yöntemlerin dışında birde son yıllarda kullanıma giren *Pedestal cupTM* protezi (Zimmer, Freiburg, Germany) ve *saddle* protezi gibi pelvik rekonstrüksiyon için kullanılan endoprostetik rekonstrüksiyon implantları bulunmaktadır. Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı

çoğu yazar pelvik tümörlerin internal rezeksiyonu sonrası rekonstrüksiyonunda kozmetik ve fonksiyonel açıdan konvansiyonel yöntemlere göre daha iyi sonuçları olduğu savunulan endoprostetik replasman implantlarını daha iyi bir seçenek olarak görürken (7-9); diğer taraftan, literatürde, *Pedestal cupTM* protezi ve *saddle* protezi ile rekonstrüksiyon sonrası tekrarlayan çıkık, aseptik gevşeme, heterotopik ossifikasyon, protez çevresi ve protez kırıkları gibi mekanik komplikasyonlar sebebiyle yüz güldürücü olmayan uzun dönem sonuçlara işaret eden klinik çalışmalar da mevcuttur. (3,6,10)

Yeni bir endoprotez rekonstrüksiyon implantı olan LUMIC® ise modüler bir cihaz olup ayrı bir sap ve ayrı bir asetabuler *cup* dan oluşmaktadır. Hidroksiapatit kaplı sementsiz veya sementli sapları bulunurken enfeksiyon riskini azaltmak için gümüş kaplı sap ve *cup* seçenekleri de mevcuttur. Sap kısmında bulunan testere dişlerine benzer yapıların rotasyonel stabiliteyi arttırdığı düşünülmektedir (4). Literatürde, LUMIC® in farklı dizaynı sayesinde hem *Pedestal cupTM* protezi ve *saddle* protezi hem de konvansiyonel rekonstrüksiyon yöntemlerine oranla daha az enfeksiyon, daha az

kozmetik problem ve daha az aseptik gevşeme ve tekrarlayan çıkık gibi mekanik komplikasyonlara yol açtığından bahsedilmektedir (4,11). Ancak mevcut çalışma kısa dönem sonuçları sunmakta ve güncel literatürde LUMIC® uzun dönem sonuçları ile ilişkili çalışma bulunmamaktadır. Literatürle uyumlu olarak periasetabuler Ewing sarkomu nedeni ile tip 2 pelvik rezeksiyon ve sementsiz LUMIC® modüler asetabuler implant ile rekonstrüksiyon uyguladığımız hastamızın 2 yıllık takibi sonucunda dislokasyon, aseptik gevşeme gibi mekanik komplikasyonlara ve enfeksiyona rastlamadık. Aynı zamanda Musculoskeletal Tumor Society Değerlendirme Skalasına (12) göre 28 puan alan hastada aktif kalça abduksiyonu ile birlikte, iyi kalça fonksiyonları mevcuttu.

SONUÇ

LUMIC® modüler asetabuler rekonstrüksiyon implantı tümör sebebiyle pelvik rezeksiyon yapılan hastalarda düşük mekanik ve enfeksiyon komplikasyonları ile kullanışlı bir yöntem olarak görünmektedir. Ancak hem bizim vakamız hem de literatür bilgisi kısa dönem takip sonuçlarına dayanmaktadır. Bu nedenle daha anlamlı sonuçlar için daha çok vaka sayısına ve daha uzun takip süresine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Grimer R, et al., Hindquarter amputation. Bone Joint J 2013;95(1):127-31.
2. Angelini A, et al., Infection after surgical resection for pelvic bone tumors: an analysis of 270 patients from one institution. Clin Orthop Relat Res 2014;472(1):349-59.
3. Bus M, et al., Clinical outcome of pedestal cup endoprosthetic reconstruction after resection of a peri-acetabular tumour. Bone Joint J 2014;96(12):1706-12.
4. Bus MP, et al., LUMIC® Endoprosthetic reconstruction after periacetabular tumor resection: Short-term results. Clin Orthop Relat Res 2017;475(3):686-95.
5. Guzik G, The use of LUMIC prosthesis for the treatment of periacetabular metastases. Ortopedia, traumatologia, rehabilitacja 2015;17(6): 593-602.
6. Dominikus M, Darwish E, Funovics P, Reconstruction of the pelvis after resection of malignant bone tumours in children and adolescents. In: Treatment of Bone and Soft Tissue Sarcomas, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2009; 85-111. DOI: 10.1007/978-3-540-77960-5
7. Bell RS, et al., Allograft reconstruction of the acetabulum after resection of stage-IIB sarcoma. Intermediate-term results. J Bone Joint Surg Am 1997;79(11): 1663-74.
8. Menendez LR, et al., Periacetabular reconstruction with a new endoprosthesis. Clin Orthop Relat Res 2009; 467(11): 2831-7.
9. Witte D, et al., Limb-salvage reconstruction with MUTARS® hemipelvic endoprosthesis: a prospective multicenter study. Eur J Surg Oncol 2009; 35(12): 1318-25.

10. Jaiswal P, et al., Peri-acetabular resection and endoprosthetic reconstruction for tumours of the acetabulum. Bone Joint J 2008;90(9): 1222-7.
11. Fisher N, et al., Ice-cream cone reconstruction of the pelvis: a new type of pelvic replacement. J Bone Joint Surg Br 2011;93(5): 684-8.
12. Van Dam MS, et al., Measuring physical activity in patients after surgery for a malignant tumour in the leg. Bone Joint J 2001;83(7):1015-9

KONSÜLTASYONDA AKILLI TELEFONLAR VE WHATSAPP: YENİ BİR GÜNDEM MESELESİ OLARAK HASTA MAHREMİYETİNİN İHLALİ

SMARTPHONES AND WHATSAPP IN CONSULTATION: “BREACH OF CONFIDENTIALITY” AS A TOPICAL ISSUE

Deniz ÖZCEKER* , Yasin YILMAZ, Zeynep TAMAY*, Nermin GÜLER***

Anahtar kelimeler: Klinik etik; hasta mahremiyeti; tıbbi uygulamada akıllı telefonlar; halk sağlığı etiği; teknoloji ve riskleri.

Keywords: Clinical ethics; confidentiality; smartphones in medical practice; public health ethics; technology and risks.

DEĞERLİ EDİTÖR

Teknolojinin tıp dünyası üzerindeki kaçınılmaz etkisi, tıbbi uygulama rutinlerini farklı bir alana doğru çekmektedir: WhatsApp aracılığıyla sanal konsültasyon yeni bir başlangıç olarak gözükmektedir.

Akıllı telefonların tıp dünyasında diğer meslek gruplarına göre daha yararlı amaçlara hizmet ettiği görülmektedir (1). Akıllı telefonlar için oluşturulan uygulamalar tıp camiasında (MedScape, PubMed, Science Direct, WebMD etc.) kabul görmüş durumdadır ve bunlardan WhatsApp, hekimler arasında en bilinen iletişim uygulamasıdır. Kullanıcılar konum bilgisi, fotoğraf, video, müzik dosyası ve yazılı mesaj alıp ücretsiz olarak gönderebilirler.

Akıllı telefonların cerrahların günlük kullanımına girmesiyle travma ve fraktürlerin acil polikliniklerinde ve rutin klinik uygulamalarında değerlendirilmesi ve tedavi edilmesi gibi konularda önemli ilerlemeler sağlanmıştır (2-4). Ayrıca tıpta uzmanlık eğitiminde de WhatsApp uygulaması son zamanlarda sık kullanılır olmuştur (5).

WhatsApp uygulaması çocuk sağlığı hekimleri arasında da güncellik kazanmıştır. Klinik uygulamalarda, gece nöbetlerinde ve bilhassa yan dal uzman hekimin bulunmadığı durumlarda bu uygulama aracılığıyla yapılan iletişim önemli işlevler sağlamıştır. Cilt döküntülerinin ve periferik yayma preparatlarının fotoğrafları, akciğer direkt grafisi, toraks ve kranial bilgisayarlı tomografi görüntüleri, şüpheli nöbet benzeri hareketlerin videosu gibi görüntülemelerin uzman hekimle WhatsApp aracılığıyla anında paylaşılmasıyla erken tanı ve uygun tedavi daha kolay hale gelmiştir.

“WhatsApp Konsültasyonu” fenomeninin en pratik faydalarından birisi de evde bilgisayar karşısında olma zorunluluğunun ortadan kalkmasıdır. Bu uygulamaların tıp öğrencileri, asistanlar ve yan dal uzmanları için eğitim kolaylığı sağlamanın yanında sağlık hizmetlerinin kalitesini de arttırdığı söylenebilir.

WhatsApp uygulaması hasta ve doktor arasındaki iletişimde önemli rol oynamaktadır. Özellikle gıda ve venom gibi ciddi alerjisi olan hasta gruplarında iletişimi kolaylaştırırsa da, hastalar ve hasta yakınları tarafından sık olarak kullanılması durumunda hekimlerin çalışma kalitesine olumsuz etkileri görülebilir (6).

Sanal dünyada hastaların bilgilerinin paylaşılması meselesi uzun zamandır mevcut olan bir konuydu (7) ve bu konu WhatsApp aracılığıyla daha aşikar hale gelmiştir. Hastaların izni ve onamı olmadan bilgilerinin akıllı telefonlarda uygulamalar aracılığıyla paylaşılması, telefonlara kaydedilmesi, üçüncü şahıslar tarafından kolayca ulaşılmaya neden olabilmekte ve tıbbi etikte mahremiyete saygı ilkesine aykırı düşmektedir.

Hastalar, bilgilerinin ve fotoğraflarının WhatsApp gibi uygulamalar aracılığıyla üçüncü bir şahısa ve belki daha fazla kişiye iletilmesinden ve hatta uygulamalar aracılığıyla yapılan online konsültasyondan gelecek “ikinci-el bilgi” ile yetinilmesinden de rahatsızlık duyabilirler. Online konsültasyondaki tıbbi yanlış algılamalar da eksik ve uygun olmayan tedavilere neden olabilir.

Sonuç olarak, acil durumlarda ve özellikle yan dal uzmanının yokluğunda hastaları ve tanımlarını değerlendirmek için dijital görüntü ve videoların WhatsApp aracılığıyla paylaşılması kolay ve hızlı bir

Date received/ Dergiye geldiği tarih: 30.05.2017– Date accepted/ Dergiye kabul edildiği tarih: 14.06.2017

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, ** Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, * Çocuk Allerjisi Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

(Corresponding author/İletişim kurulacak yazar: denizozceker@gmail.com)

yol olarak gözükmektedir. Bu durum, günümüz tıp dünyasında hastaların en iyi şekilde tedavi edilmesi amacıyla yapılıyor olabilir. Ancak, hekimlerin her zaman ve her durumda hasta mahremiyetini dikkate almaları ve hastanın izin ve onamı ile üçüncü şahıslarla bilgi paylaşımında bulunmaları gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Mohan AT, Branford OA. Guide to plastic surgery: iPhone apps, the plastic surgeon and the health care environment. *Aesthet Surg J.* 2012; 32:653-8.
2. Al-Hadithy N, Ghosh S. Smartphones and the plastic surgeon. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013; 66:155-61.
3. Franko OI. Smartphone apps for orthopaedic surgeons. *Clin Orthop Relat Res.* 2011; 469:2042-48.
4. Kelahmetoglu O, Firinciogullari R, Yagmur C. Efficient utility of WhatsApp: From computer screen to the surgeon's hand to determine maxillofacial traumas. *J Craniofac Surg.* 2015; 26(4):1437.
5. Goyal A, Tanveer N, Sharma P. WhatsApp for teaching pathology postgraduates: A pilot study. *J Pathol Inform.* 2017;8:6.
6. Inmaculada SM, Paloma PD, Ruperto GP, Victor M. Experience in the use of social media (whatsapp, e-Mail, facebook, website) by patients, AAAAI Annual Meeting; 2015 Feb 20-24;Houston, USA. p435
7. Braunack-Mayer AJ, Mulligan EC. Sharing patient information between professionals: Confidentiality and ethics. *Med J A* 2003;178: 277-79.

