

# Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

Medical Journal of Süleyman Demirel University Faculty of Medicine  
SDÜ Tıp Fak Derg / Med J SDU

## Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi

Yılda dört sayı  
(Mart, Haziran, Eylül, Aralık)  
yayınlanan 'peer review'  
yöntemiyle çalışan hakemli dergidir.

Baskı / Press  
SDÜ Basımevi / ISPARTA

### Sahibi / Owner

Süleyman Demirel Üniversitesi Adına  
On Behalf of Suleyman Demirel University  
Prof.Dr. Alim KOŞAR  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı  
Suleyman Demirel University Dean of Faculty of Medicine

### Editör / Editor

Prof. Dr. Alim KOŞAR

### Yardımcı Editör / Associate Editor

Doç. Dr. Rasih YAZKAN  
Dr. Öğr. Üyesi Kanat GÜLLE  
Dr. Öğr. Üyesi Giray KOLCU  
Öğr. Gör. Dilara PALA ÖZTÜRK

### Yayın Yürütme Kurulu / Editorial Board

Prof. Dr. Evrim ERDEMOĞLU  
Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR  
Prof Dr. Mustafa NAZIROĞLU  
Prof. Dr. Mekin SEZİK  
Doç.Dr. Yonca SÖNMEZ  
Doç. Dr. İnci Meltem ATAY  
Doç. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ  
Doç. Dr. Levent DUMAN  
Doç. Dr. Taylan OKSAY  
Doç Dr. Rasih YAZKAN  
Doç. Dr. Hakan KORKMAZ  
Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ  
Dr. Öğr. Üyesi Kanat GÜLLE  
Dr. Öğr. Üyesi Giray KOLCU  
Dr. Öğr. Üyesi Selma KORKMAZ  
Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN  
Dr. Öğr. Üyesi A.Meriç ÜNAL

### Grafik Tasarım / Graphic Design

Öğr. Gör. Serdağ DAĞLI

### Başvuru Adresi / Application Address

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi Sekreterliği  
SDÜ Tıp Fakültesi Dekanlığı / 32260 ISPARTA  
Tel: 0 246 2113714 - 2113230 - Faks: 0 246 2371165  
sdu.tip.dergi@sdu.edu.tr - http://dergipark.gov.tr/sduftd



Danışma Kurulu / Advisory Board  
(Alfabetik sıra ile / In alphabetical order )

---

Prof. Dr. Alim KOŞAR  
Dr. Öğr. Üyesi A. Meriç ÜNAL  
Dr. Öğr. Üyesi A. Gökhan GÜNDOĞDU  
Doç. Dr. Alper ÖZORAK  
Dr. Öğr. Üyesi Bekir SARICIK  
Prof. Dr. Bülent AKDUMAN  
Uzman Burcu BAYRAK  
Doç. Dr. Esra ERCAN  
Prof. Dr. Emine SİPAHİ  
Dr. Öğr. Üyesi Eyüp Sabri ÖZDEN  
Prof. Dr. Evrim ERDEMOĞLU  
Dr. Öğr. Üyesi Fatih KAHRAMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Filiz ALKAYA SOLMAZ  
Dr. Öğr. Üyesi Giray KOLCU  
Doç. Dr. Gökhan CESUR  
Doç. Dr. Hakan KORKMAZ  
Doç. Dr. Hülya TOKER  
Doç. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ  
Doç. Dr. İnci Meltem ATAY  
Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN  
Dr. Öğr. Üyesi Kutalmış BÜYÜK  
Doç. Dr. Kanat GÜLLE  
Doç. Dr. Kemal Kürşat BOZKURT  
Doç. Dr. Levent DUMAN  
Doç. Dr. Levent TÖK  
Doç. Dr. M. Zafer SABUNCUOĞLU  
Prof. Dr. Mekin SEZİK  
Dr. Öğr. Üyesi Melike DOĞAN ÜNLÜ  
Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN  
Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH  
Doç. Dr. Mustafa TUNALI  
Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU  
Uzman Dr. Mukadder İnci BAŞER KOLCU  
Prof. Dr. Nermin KARAHAN  
Doç. Dr. Nilgün GÜRBÜZ  
Doç. Dr. Nilgün ŞENOL  
Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR  
Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR  
Doç. Dr. Rasih YAZKAN  
Dr. Öğr. Üyesi Selma KORKMAZ  
Dr. Şerife Buket BOZKURT  
Doç. Dr. Taylan OKSAY  
Doç. Dr. Vedat Ali YÜREKLİ  
Dr. Öğr. Üyesi Yavuz Savaş KOCA  
Doç. Dr. Yonca SÖNMEZ  
Dr. Öğr. Üyesi Zehra SAFİ ÖZ

---



## Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Yayın Kuralları

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi SDÜ Tıp Fakültesinin yayın organıdır.

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi'nin dili Türkçe ve İngilizcedir.

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi uluslararası (EBSCO) ve ulusal (TrDizin) hakemli dergi statüsündedir. Yazıların değerlendirilmesinde danışman değerlendirmesi (peer review) sistemi uygulanır.

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisine gönderilen ve dergide yayınlanan makalelerden hiçbir ücret talep edilmemektedir. Dergide yayınlanan makaleler için yazarlara telif ücreti ödenmemektedir. Dergimiz yayınlanma ile birlikte açık erişimi sağlama politikasını benimsemiştir.

Yazarların kimlik bilgileri ve e-posta adresleri hiç bir şekilde başka amaçlar için kullanılmamaktadır.

**Yazı Türleri:** SDÜ Tıp Fakültesi Dergisinde Klinik ve deneysel araştırmalar, derlemeler, vaka takdimleri, kısa makale: kısa araştırma makaleleri ve notları, editöre mektuplar, dergimizde yayınlanan yazılarla ilgili görüş, tecrübe ve sorularını içeren yazılar, bilimsel özetler, uluslararası tıp literatüründe yayınlanmış bilimsel çalışmaların 100-150 kelimelik özetleri, yeni yayınlanan kitapları ve bilimsel çalışmalarını özet olarak tanıtan, kritik eden makaleler yayınlanabilir.

**İntihal:** Dergimize gönderilen tüm yazılar ithenticate intihal tespit etme programı ile değerlendirilmektedir. Benzerlik indeksi sınırı %30 ve altı olması önerilmektedir.

**Yazıların Sorumluluğu:** Dergide yayınlanan yazıların tüm sorumluluğu yazarlara aittir. Yazıların revizyon ve süreç takibi yazarın sorumluluğundadır. Dergide yayınlanmak üzere gönderilen yazıların daha önce başka bir yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere gönderilmemiş olduğunu belirten ve makalede adı geçen yazarların tümünün imzaladığı yayın hakları devir formunun imzalanıp eklenmesi gereklidir. Daha önce bir kongrede tebliğ edilmiş ve özeti yayınlanmış çalışmalar yer ve tarih belirtmek şartı ile kabul edilebilir.

Yazıların yayın hakları devir formu, etik kurul onayı, aydınlatılmış onam formları, ham verileri hakemler veya editör tarafından istediğinde yazar tarafından temin edilmek yazarın sorumluluğundadır.

Makale kabul edildiği takdirde kabul yazısı gönderilir. Daha sonra makalenin son çıktısı iki hafta içerisinde geri gönderilmek üzere son kez yazışma adresindeki

yazara gönderilir. Kabul edilen makalenin hangi sayıda basılacağına dergi sahibi ve yayın kurulu karar vermekle yetkilen dirilmiştir.

Yazarlar bu dergide yayınlanan yazılarını kişisel veya kurumsal web sitelerinde, dergiye kütüphanecilik kurallarına uyan bağlantı vererek açık olarak yayınlatabilirler.

**Yazı Geri Çekme:** Gönderilen yazıda gecikme veya diğer bir nedenle başka bir yerde yayınlamak isteyenler yazılı bir başvuru ile yazılarını dergiden çekebilirler.

**Yazı Reddi:** Yayınlanması kabul edilmeyen yazılar, gerekçesi ile geri gönderilir.

**Başlık Sayfası:** Türkçe ve İngilizce olmak üzere yazının kısa ve tanımlayıcı bir başlığı, yazarların isimleri ve akademik unvanları, çalıştıkları kurum, araştırmayı destekleyen kuruluş ismi, yazışmada adresinde kullanılacak isim, adres, telefon e-mail ve faks numarası başlık sayfasında belirtilmelidir. Ayrıca sayfa üst kenarlarında kullanılmak üzere daha kısa bir başlık da yazarlarca bu sayfada önerilmelidir.

**Özet Sayfası:** Yayınların baş kısmında Türkçe ve İngilizce özet yer almalıdır. Yabancı dilde özet makale başlığı İngilizce'ye çevrilmiş olarak bulunmalı ve özet çok zorunlu olmadıkça 300 kelimeyi geçmemelidir. Özet: amaç, gereç ve yöntem, bulgu ve sonuçları içermelidir. Mükerrer kullanım gibi zorunluluk olmadıkça özetinde kısaltma kullanılmamalıdır.

**Anahtar kelimeler:** En az üç adet ve beşten fazla olmayacak şekilde anahtar kelimeler eklenmelidir. Anahtar kelimeler için mümkün olduğu kadar Index Medicus'taki tıbbi konu başlıkları kullanılmalıdır.

**Metin yazımı:** Yazılar bilgisayar ile çift aralıklı olarak 12 punto, Times New Roman karakteri, her sayfanın bütün kenarlarından en az 2.5 cm. boşluk bırakılmalıdır. Araştırma yazıları ve derlemeler 10 sayfayı, olgu sunumları 3 sayfayı geçmemelidir. Metinde yer alacak kısaltmalar orijinal ifadenin ilk geçtiği yerde parantez içinde mutlaka verilmelidir. Kullanılan semboller nomenclatur'de kullanılan standartlar olmalıdır. Yazının düzeni; Türkçe başlık, özet ve anahtar kelimeler. İngilizce başlık, özet ve anahtar kelimeler, giriş, gereç ve yöntem, bulgular, tartışma sonuçları, kaynaklar düzeninde olmalıdır.

**Şekiller:** Fotoğraf, grafik ve şemaların tümü şekil olarak kabul edildiğinden, buna göre birbirini izleyecek şekilde numaralandırılmalıdır. Fotoğraflar orijinal boyutunda, 300 dpi çözünürlükte ve metin dosyasından

faklı bir dosya olarak jpeg formatında gönderilmelidir. Her şeklin altında kısa bir açıklama bulunmalıdır. Şekil numaraları Arabik rakamla (1,2,3....) bildirilmelidir. Metin içinde şekillerin yerleri belirtilmelidir.

**Tablolar:** Arabik rakamlarla (1,2,3...) numaralanmalı ve başlığı olmalıdır. Mümkünse tablolar metin içinde uygun yerde basılı olmalı ancak birer kopyası da ayrı sayfalarda gönderilmelidir. Tablolar metin içinde yer almışsa geçece ği yerler metin içinde işaretlenmelidir.

**Teşekkür:** Araştırmayı destekleyen şahıs ve kuruluşlara sunulacak teşekkürler kaynaklardan önce yer almalıdır.

**Kaynakların Yazılımı:** Kaynakların yazımında Vancouver Style sistemi kullanılmaktadır. Kaynaklar metinde geçiş sırasına göre ve çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Peş peşe ikiden fazla kaynak kullanımında sadece ilk ve son kaynak numaraları belirtilmelidir, (2-6) gibi. Dergi isimleri Index Medicus'ta yer almıyorsa tam olarak yazılmalıdır. Kaynaklardaki yazar sayısı 6 veya daha az ise hepsi yazılmalı,7 veya daha çok ise 6. isimden sonrası "ve ark.", "et al." olarak kısaltılmaktadır.

**Dergi için:** Yazarların Soyadı Adı. Yazının başlığı. Dergi ismi baskı yılı; cilt (sayı): ilk ve son sayfa numaraları şeklinde yazılmalıdır. Dergilerin isimleri kısaltılacaksa Index Medicus'ta geçtiği gibi kısaltılmalıdır. Örneklerdeki noktalama işaretlerinin kullanımına titizlikle uyulmalıdır.

#### **Örnekler;**

Dergi için Neville K, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. Chest 1994;1(4):45-8 Kitap için Mygind N. Nasal Allergy. Oxford, Blackwell Scientific 1979;25770

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

## Medical Journal of Süleyman Demirel University Publication Guidelines

SDU Medical Faculty Scientific Journal SDU Medical Faculty publishing organ.

The language of the SDU Medical Faculty Scientific Journal is Turkish and English.

The Journal of SDU Faculty of Medicine is international (EBSCO) and national (TrDizin) are in the status of a well-known scientific journal.

A peer review system is applied in the evaluation of the manuscripts.

There is no charge for the articles sent to SDU Faculty of Medicine Journal and published in the scientific journal. No copyright fee is paid to the authors for articles published in scientific journals. Our paper has adopted the policy of providing open access with publishing.

Authors' identity information and e-mail addresses are by no means used for other purposes.

**Writing types:** SDU Faculty of Medicine Editorials Scientific studies published in the international medical literature, clinical research articles, compilations, case reports, short articles and short articles, editorial letters, articles containing opinions, experiences and questions related to the articles published in our journal, Critical essays that summarize the 100-150 word abstracts, newly published books and scientific studies can be published.

**Plagiarism:** All articles submitted to our magazine are evaluated by the iHTenticate plagiarism detection program. It is recommended that the similarity index limit is 30% or less.

**Responsibility of the Articles:** All responsibility of the articles published in the magazine belongs to the authors. The writer is responsible for the revision and process of the manuscript. The publication rights transfer form signed by all of the authors mentioned in the article must be signed and attached, stating that the letters sent for publication in the magazine have not been published elsewhere and have not been sent for publication. Work which has been notified in a congress and published in a congress can be accepted with the condition of specifying place and date.

The publishing rights of the publications are the responsibility of the author to be provided by the author, when requested by the referees or editors, the form approval of the ethics committee, the informed consent forms, raw data.

If the article is accepted, the acceptance letter will be sent. The final output of the article is then sent to the correspondent for the last time to be returned within two weeks. The magazine owner and editorial board have been authorized to decide on the number of articles to be accepted.

Authors may publish their published articles on their personal or corporate websites explicitly by linking them to the journal librarian rules.

Retrieval of Text: Those who want to publish it elsewhere due to delayed posting or some other reason may take a written application and make a paperback.

**Text Rejection:** Unacceptable texts are returned by reason.

**Title page:** A short and descriptive title of the article, including the names of the authors and their academic titles, the institution in which they work, the name of the institution that supports the research, the name, address, phone number, e-mail and fax number to be used at the address in writing should be indicated on the title page. In addition, a shorter title for use at the top of the page should also be suggested on this page.

**Abstract Page:** Turkish and English abstract should be included at the beginning of publications. The foreign title must be found in English and must not exceed 300 words unless the summary is very compulsory. Summary: should include purpose, materials and methods, findings and results. Exercise abbreviations should not be used unless duplication is required.

**Keywords:** Key words should be added at least three and not more than five. For the keywords, medical topic headings in Index Medicus should be used as much as possible.

**Text writing:** The text is double spaced 12 pt, Times New Roman character, at least 2.5 cm from all sides of each page. space should be left. Research articles and collections must not exceed 10 pages, case presentations must not exceed 3 pages. Abbreviations to be included in the text must be given in brackets in the place where the original phrase first came. The symbols used should be standards used in nomenclature. The layout of the article; Turkish title, abstract and key words. English title, abstract and key words, introduction, material and method, findings, discussion results, sources should be in order.

**Shapes:** Since photographs, charts and diagrams are all accepted as shapes, they must be numbered accordingly. The photos should be sent in jpeg format as a file with original size, 300 dpi resolution and a

separate text file. A short description should be found under each figure. The figure numbers should be reported with the Arabic number (1,2,3 ...). The place of the figures in the text should be indicated.

**Tables:** Arabic numbers (1,2,3 ...) should be numbered and title. If possible, the tables should be printed in the appropriate place in the text, but one copy should also be sent on separate pages. If the tables are included in the text, the places to be crossed should be marked in the text.

**Acknowledgments:** Thank you for being presented to the individuals and organizations supporting the research.

**Resources Software:** Vancouver Style system is used to write resources. Sources should be written according to the transition order in the text and double spaced. Only the first and last source numbers should be specified in case of using more than one resource, like (2-6). If the journal names are not listed in the Index Medicus, they should be written in full. If the number of authors in the sources is 6 or less, they should all be written, and 7 or more should be abbreviated as "et al.", "Et al.

**For the journal:** Surname of the authors. The title of the article. volume (number): should be written in first and last page numbers. If the names of the journals shorten, they should be shortened as in the case of Index Medicus. The use of punctuation marks in examples should be strictly observed.

**Examples;**

Neville K for the magazine, Bromberg A, Bromberg S, Hanna BA, Rom WN. The third epidemic multidrug resistant tuberculosis. Chest 1994; 1 (4): 45-8 For the book Mygind N. Nasal Allergy. Oxford, Blackwell Scientific 1979; 257-70

Collins P. Embryology and development, Neonatal anatomy and growth. In: Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson



## İçindekiler

### Araştırma Makaleleri

<b>Braket Çevresindeki Mine Demineralizasyonunun Er-YAG Lazer ve Florid Uygulaması Sonrası İn-Vitro Olarak Değerlendirilmesi</b> Rıdvan OKŞAYAN	235
<b>Periimplantal Kemik Defektlerinin Titanyum Tüplerde Hazırlanan Trombositten Zengin Fibrin ile Kemik Rejenerasyonunun Histomorfometrik Değerlendirmesi: Tavşan Tibiasında Deneysel Çalışma</b> Turan Emre KUZU, Hakan ÖZDEMİR	243
<b>15-35 Yaş Arası Güney Türk Popülasyonunda Gömülü Diş Sıklığının Değerlendirilmesi: Epidemiyolojik Çalışma</b> Sevcihan Günen YILMAZ, İbrahim Şevki BAYRAKDAR, Hümeysra Teranlı ALKIŞ, Büşra TANRIKOL	251
<b>Akılcı İlaç Kullanımının Üniversite Öğrencileri Arasında Yaygınlaştırılmasında Akran Grubu Eğitimlerinin Etkisi</b> Fikriye Yasemin ÖZATİK, Ülken Tunga BABAOĞLU, Merve ŞEN, Kübra YURTER, Çağrı AKCAN, Beyza ÇEVİK, İlayda Ceren ÖZTÜRK, Gülşah ALTINTAŞ	256
<b>Tiroid Karsinomu Olgularında İnce İğne Aspirasyonu Bulguları</b> Perihan UDUL, Figen BARUT, Şükrü Oğuz ÖZDAMAR	265
<b>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem-3 Öğrencilerinin Farmakoloji Eğitimine Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi</b> Mehtap SAVRAN, Halil AŞÇI, Mekin SEZİK, Yonca SÖNMEZ	275
<b>Gömülü 3. Molar Dişlerin Operatif Zorluk Skoruna ve Komplikasyonlara Göre Değerlendirilmesi</b> Nesrin SARUHAN	282
<b>Transrektal Prostat İğne Biyopsisinin Erektile Fonksiyon Üzerine Etkisi</b> Osman ERGÜN	287
<b>Travmatik Beyin Yaralanmasında Magnezyum Sülfat Tedavisinin İyileşme Üzerine Etkisinin Araştırılması</b> Çağatay ÖZDÖL	293
<b>Escherichia coli'nin Üriner Sistem Epitelyal Hücrelerinde Mikronükleus Testi ile Genotoksik Etkisinin İncelenmesi</b> Okan SANCER, Muhammet Yusuf TEPEBAŞI, Pınar Aslan KOŞAR	298
<b>Yükselmış Kan Eozinofil Sayısı Canlı Vericili Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Geç Ortaya Çıkan Akut Rejeksiyonun (GOAR) Tahmininde Önemli Bir Belirteç Olabilir mi ?</b> Mücahit ÖZBİLGİN, Tufan EGELİ, Tarkan ÜNEK, Cihan AĞALAR, Alikadir DEĞİRMENÇİ, İbrahim ASTARCIOĞLU, Sevda ÖZKARDEŞLER, Özgül SAĞOL, Hülya ELLİDOKUZ	303
<b>Hemostatik Ajan Olarak Kullanılan Mecsina Hemostopper®, Ankaferd Blood Stopper® ve Traneksamik Asidin İmmunolojik Farklılıklarının Hücre Kültürü Çalışması ile Araştırılması</b> Mehmet Kemal TUMER, Mustafa CİCEK	311
<b>İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarının Koroidal ve Makular Kalınlık Üzerine Etkisi</b> Fahrettin AKAY, Halil GENÇ, Yusuf Çağdaş KUMBUL	317
<b>Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarında Onkogen Mutasyonlarının Araştırılması</b> Metin ÇALIŞKAN, Gökay BOZKURT, Nezihe MEYDAN, İbrahim METEOĞLU, Nur SELVİ GÜNEL	322
<b>Olgu Sunumları</b>	
<b>Nadir Görülen Bir Akut Karın Olgusu: İdiopatik Omental İnfarkt</b> Halil İbrahim TAŞÇI	329
<b>Aşırı Doz Siklopentolat Göz Damlasına Bağlı Gelişen Santral Antikolinerjik Sendrom</b> Mehmet Barış ÜÇER, Hülya Gökmen SOYSAL	333
<b>Derlemeler</b>	
<b>Geriatrik Hastalarda Nöroonkolojik Sorunlar (Geriatrik Nöroonkoloji)</b> Nilgün ŞENOL, Hakan Murat GÖKSEL	336
<b>Lens Proteinleri ve Fizyolojisi</b> Mustafa Suat ALIKMA, Sezin Özdoğan ERKUL, Erkan ÜNSAL	342



---

## Contents

### Clinical Investigations

<b>In Vitro Evaluation Of Enamel Demineralization Around The Brackets After Er-Yag Laser Irradiation And Flouride Application</b> Rıdvan OKŞAYAN	235
<b>Histomorphometric Evaluation of Bone Regeneration in Peri-Implant Osseous Defects Treated With Titanium Prepared Platelet Rich Fibrin: An Experimental Study in a Rabbit Model</b> Turan Emre KUZU, Hakan ÖZDEMİR	243
<b>Evaluation Of The Incidence Of Impacted Tooth In Southern Turkish Population Aged Between 15 And 35 Years: An Epidemiological Study</b> Sevcihan Günen YILMAZ, İbrahim Şevki BAYRAKDAR, Hümeysra Teranlı ALKIŞ, Büşra TANRIKOL	251
<b>Effect Of Peer Group Training On Popularizing of Rational Drug Use Among University Students</b> Fikriye Yasemin ÖZATİK, Ülken Tunga BABAOĞLU, Merve ŞEN, Kübra YURTER, Çağrı AKCAN, Beyza ÇEVİK, İlayda Ceren ÖZTÜRK, Gülşah ALTINTAŞ	256
<b>Fine-Needle Aspiration Findings in Cases of Thyroid Carcinoma</b> Perihan UDUL, Figen BARUT, Şükriye Oğuz ÖZDAMAR	265
<b>Analysis of Factors Affecting Pharmacology Education of Period-3 Students of Suleyman Demirel University Faculty of Medicine</b> Mehtap SAVRAN, Halil AŞÇI, Mekin SEZİK, Yonca SÖNMEZ	275
<b>The Evaluation Of Impacted Third Molars According To The Operative Difficulty Score And Complications</b> Nesrin SARUHAN	282
<b>The Impact of Transrectal Prostate Needle Biopsies on Erectile Functions</b> Osman ERGÜN	287
<b>Investigation of the Effects of Magnesium Sulfate Therapy on Recovery in Traumatic Brain Injury</b> Çağatay ÖZDÖL	293
<b>Investigation of Genotoxic Effect of Escherichia coli in Urinary Tract Epithelial Cells with Micronucleus Assay</b> Okan SANCER, Muhammet Yusuf TEPEBAŞI, Pınar Aslan KOŞAR	298
<b>Can Elevated Serum Eosinophil Count Be Used As A Predictive Marker For Diagnosis Of "Late Acute Rejection" In Living Donor Liver Transplants?</b> Mücahit ÖZBİLGİN, Tufan EGELİ, Tarkan ÜNEK, Cihan AĞALAR, Alikadir DEĞİRMENÇİ, İbrahim ASTARCIOĞLU, Sevda ÖZKARDEŞLER, Özgül SAĞOL, Hülya ELLİDOKUZ	303
<b>Investigation of Immunological Differences in Mecsina Hemostopper®, Ankaferd Blood Stopper® and Tranexamic Acid Used as Haemostatic Agents with Cell Culture Study</b> Mehmet Kemal TUMER, Mustafa CİCEK	311
<b>Effect Of The Inflammatory Bowel Diseases On Choroidal And Macular Thickness</b> Fahrettin AKAY, Halil GENÇ, Yusuf Çağdaş KUMBUL	317
<b>Determination of Oncogene Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer Patients</b> Metin ÇALIŞKAN, Gökay BOZKURT, Nezihe MEYDAN, İbrahim METEOĞLU, Nur SELVİ GÜNEL	322
<b>Case Reports</b>	
<b>A Rare Case of Acute Abdomen: Idiopathic Omental Infarction</b> Halil İbrahim TAŞÇI	329
<b>Central Anticholinergic Syndrome Induced by Overdose Cyclopentolate Eye Drops</b> Mehmet Barış ÜÇER, Hülya Gökmen SOYSAL	333
<b>Reviews</b>	
<b>Neurooncological Problems in Geriatric Patients (Geriatric Neurooncology)</b> Nilgün ŞENOL, Hakan Murat GÖKSEL	336
<b>Lens Proteins and Physiology</b> Mustafa Suat ALIKMA, Sezin Özdoğan ERKUL, Erkan ÜNSAL	342

---



# In Vitro Evaluation Of Enamel Demineralization Around The Brackets After Er-Yag Laser Irradiation And Flouride Application

Braket Çevresindeki Mine Demineralizasyonunun Er- YAG Lazer ve Florid Uygulaması Sonrası İn-Vitro Olarak Değerlendirilmesi

\* Rıdvan Okşayan

\* Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti A.D Eskişehir, Türkiye

## Öz

**Amaç:** Bu in-vitro çalışmanın amacı; birlikte ve ayrı ayrı florür ve farklı dozlarda Er:YAG lazer uygulamalarının, braket çevresindeki mine yüzeyinde oluşan demineralizasyona karşı etkilerini incelemektir. **Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada 80 üst daimi 1. premolar 8 grup olarak ayrılmıştır: G1, kontrol; G2, asidik fosfat florit (AFF); G3, 0.50 W Er:YAG lazer ; G4, 0.50 W Er:YAG lazer + AFF; G5, 0.75 W Er:YAG lazer; G6, 0.75 W Er:YAG lazer + AFF; G7, 1 W Er:YAG lazer; G8, 1 W Er:YAG lazer + AFF. Braketler premolarların bukkal yüzeylerine yapıştırılmıştır. Demineralizasyon değerleri dişin gingival ve braket arasındaki bölgede DIAGNOdent yardımıyla ölçülmüştür. Son ölçümde yüzey düzensizliği Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) ile belirlenmiştir. Yapay çürük lezyonu oluşturmak için tüm gruplar 5 ve 9 günlük pH siklusuna tabi tutulmuştur. Veriler Kruskal-Wallis, Friedman and Duncan istatistik testleri kullanılarak analiz edilmiştir (p<0.05). **Bulgular:** G1 ve G7 gruplarında istatistiksel olarak önemli derecede demineralizasyon görülmüştür (p<0.05). Diğer grupların demineralizasyon değerlerinde istatistiksel olarak önemli değişiklikler görülmemiştir (p>0.05). AFM kayıtlarında en iyi yüzey görüntüsü grup 4'te saptanmıştır. **Sonuç:** Uygun dozlarda Er-YAG lazer uygulamalarının demineralizasyon üzerine pozitif etkileri bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Braket; Demineralizasyon; Er -YAG lazer; Florür

## Abstract

**Objective:** The aim of this in vitro study was to investigate the effects of a fluoridated agent and Er:YAG irradiation with different doses, alone or in combination, on enamel resistance to demineralization. **Materials and Methods:** This study consisted of 80 premolars divided into eight groups: G1, untreated (control); G2, Acidic Phosphate Fluoride (APF) for 4 min; G3, 0.50 W Er:YAG laser; G4, 0.50 W Er:YAG laser + APF; G5, 0.75 W Er:YAG laser; G6, 0.75 W Er:YAG laser + APF; G7, 1 W Er:YAG laser; G8, 1 W Er:YAG laser + APF. Brackets were bonded to the buccal surfaces of premolars, and demineralization values were measured before and after treatment from the gingival aspects of the brackets, with DIAGNOdent. In last timepoint surface roughness was detected with Atomic Force Microscopy (AFM). All groups were subjected to 5 and 9 days of pH-cycling to produce artificial carious lesions. Data were tested using the Kruskal-Wallis, Friedman and Duncan tests (p<0.05). **Results:** G1 and G7 demonstrated significant deminerali-

### Yazışma Adresi:

Rıdvan OKŞAYAN  
Eskişehir Osmangazi University  
Dentistry Faculty Department of  
Orthodontics Eskişehir/TURKEY  
Mail: ridvan.oksayan@hotmail.com  
Phone :+905330279085

zation when compared to the initial measurements to 5th day measurement ( $p < 0.05$ ). The other groups did not reveal significant changes in the demineralization values ( $p > 0.05$ ). The best surface was observed in the AFM records of group 4. **Conclusion:** Optimum Er:YAG laser irradiation with settings has a positive effect on the decrease in demineralization.

**Keywords:** Bracket; Demineralization; Er YAG laser; Flouride

## Introduction

It is known that dental caries are the result of a situation of unbalance between demineralization and remineralization (1). The maintenance of oral hygiene is often difficult with many orthodontic materials (elastics, springs, plastic sleeves), and this causes much easier plaque accumulation in these areas (2,3). The non-uniform surfaces of orthodontic appliances restrict the naturally occurring self-cleaning mechanisms of the oral tissues and saliva.

Clinical studies have shown that there is an increased incidence of carious lesions on the facial and lingual surfaces during treatment with fixed orthodontic appliances (1,4). Initial carious lesions in these regions are defined as white spot lesions (WSLs) in the literature. WSLs are areas of demineralized enamel that usually develop because of prolonged plaque accumulation. WSLs are the earliest indication of carious disease, and have the appearance of a chalky white spots on the surface of the tooth, showing an area of demineralization of enamel, which are widespread in populations with high levels of carious disease (5). An increase in and higher severity of white spots, after fixed orthodontic treatment have been found in treated teeth, around brackets and bands, than in untreated teeth (4,6).

Experiments have revealed that enamel demineralization has two initial stages: surface softening and surface lesion. Therefore, exposing the aspects of demineralization has become important. Many in vitro techniques for diagnosing and detection of enamel demineralization have been used in dentistry: clinical visualization, stereomicroscopy, electron microscopy and light-induced fluorescence (LIF) (7-9). In recent years, LIF has become popular because it is a non-invasive, easy and reliable method that does not require additional equipment (7,10,11).

Several preventive methods are used to reduce the amount of demineralization around the brackets. One of the most common of the widely used methods includes fluoride in toothpastes, gels, varnishes and mouth rinses (12). The mechanism of fluoride reduces decalcification and caries, and has also been shown to increase the resistance of enamel to acids (13).

In recent years, lasers have been widely used in dentistry for the detection of dental caries, root canal disinfection, treatment of dentin hypersensitivity, soft tissue surgery, pain reduction, etching of enamel for bonding, and inhibition of enamel demineralization, particularly when conventional treatments are not effective (14,15). Many researchers have demonstrated that treatment with different lasers, either alone or in combination with topical fluoride treatment, can reduce the rate of enamel demineralization (16-20).

It is known that demineralization causes irregularities in the enamel surface. Atomic force microscopy (AFM) can be used to compare the surface irregularities and get an idea of the demineralization level. AFM uses multiple mechanical scans in high resolution, and is often used for the analysis of surface irregularities (21,22).

The aim of this in vitro study was to investigate the effects of a fluoride agent and Er:YAG irradiation with different doses (alone or in combination) on enamel resistance to demineralization around orthodontic brackets with LIF, and observe these with AFM.

## Material-Method

Eighty sound premolars, which were extracted for orthodontic reasons, were collected, and metal brackets (Master Series, American Orthodontics, Sheboygan, WI, USA) for upper first premolars were bonded to the buccal surfaces of the teeth with adhesive (Transbond XT, 3M Unitek, Monrovia, CA, USA). The study was carried out using the possibilities of Orthodontic Department of Gaziantep University Faculty of Dentistry and the personel resources of the researcher with the permission of head of the department. All of the teeth were divided into eight groups as follows (Table 1):

G1- Untreated (control)

G2- Only acidic phosphate fluoride (APF) applied for 4 min

- G3- Only 0.50 W Er:YAG laser irradiated,  
(0.50 W, 10 Hz, 50 mJ, Energy Density(ED):10 J/cm<sup>2</sup>)  
G4- Er:YAG laser irradiated  
(0.50 W, 10 Hz, 50 mJ, ED:10 J/cm<sup>2</sup>) + APF applied  
G5- Er:YAG laser irradiated  
(0.75 W, 10 Hz, 75 mJ, ED:15 J/cm<sup>2</sup>)  
G6- Er:YAG laser irradiated  
(0.75 W, 10 Hz, 75 mJ, ED:15 J/cm<sup>2</sup>) + APF applied  
G7- Er:YAG laser irradiated  
(1 W, 10 Hz, 100 mJ, ED:20 J/cm<sup>2</sup>)  
G8- Er:YAG laser irradiated  
(1 W, 10 Hz, 100 mJ, ED:20 J/cm<sup>2</sup>) + APF applied

The Er:YAG laser irradiation and fluoride applications were done by the same investigator (R.O.) to the enamel surface between the lower border of the brackets and the gums.

### Laser Application

An Er:YAG laser (Fidelis Plus 3, Fotona, Ljubljana, Slovenia) with a contact handpiece with a diameter of 0.8 mm was used in this study. Each tooth surface was irradiated for 10 seconds at a 1 mm distance from the surface.

### Fluoride Application

The groups including the fluoride application used 1.23% APF topically (Sultan, Topex, NJ). The fluoride gel was applied to the surface with disposable brush tips and left undisturbed for 4 minutes. After the exposure time, the fluoride was removed from the enamel surface with cotton rolls (23).

### Timeframe Of Study Procedure

T1 (0th day): Measurement of demineralization values before the Er:YAG irradiation and fluoride application from the gingival aspects of the brackets with a fluorescence method, which used a tool for the detection of caries (DIAGNOdent, KaVo, Biberach, Germany) (8).

T2 (5th day): 5 days after the Er:YAG irradiation and/or fluoride application.

T3 (9th day): 9 days after the Er:YAG irradiation and/or fluoride application.

All demineralization measurements were done by the

same operator. A single operator is used so that the same regions can be measured with the same precision.

### Ph-Cycling Procedure

The pH-cycling consisted of two solutions which were used to produce artificial carious lesions. Each day, all of the teeth were stored for 6 hours in a demineralizing solution at room temperature, containing 2.0 mmol/L of calcium and 2.0 mmol/L of phosphate in a 75 mmol/L acetate buffer (pH 4.6). After the 6 hours of treatment, all specimens were transferred into a remineralizing solution for 17 hours, and were kept in this remineralizing solution containing

1.5 mmol/L of calcium, 0.9 mmol/L of phosphate, and 150 mmol/L of KCl in a 20 mmol/L cacodylic buffer (pH 7.0). Each group was immersed individually in 50 mL of solution. A two times thirty minutes wash in de-ionized and distilled water was done between the demineralizing and remineralizing phases, and at the end of the process. This procedure continued for 9 days and the demineralization records were taken on the 5th and 9th days (24).

### Atomic Force Microscope (AFM) Procedure

Finally, the AFM study was conducted. AFM is a process to evaluate the surface roughness of the enamel, and all of the teeth were analyzed using this method at the end of the pH-cycle at the T3 timepoint.

All of the values were calculated as the mean  $\pm$  standard deviation (SD) by SPSS software version 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The obtained data were analyzed by using the Kruskal-Wallis, Friedman and Duncan tests for pairwise comparisons among groups ( $p < 0.05$ ).

### Results

Differences among the groups in T1, T2 and T3 The demineralization scores did not show any significant differences among the groups in the base measurements at T1 ( $p > 0.05$ ) (Table 2). There were significant differences among the groups at T2 ( $p > 0.05$ ) (Table 3). The T2 measurements showed that the APF group (G2) had the lowest demineralization scores. The highest demineralization was recorded in the Er:YAG irradiated group (1 Watt) (G7) (Table 3). There were



significant differences among the groups in the 9th day measurements at T3 ( $p < 0.05$ ). The last measurement revealed that the lowest demineralization scores were recorded on the APF + Er:YAG laser (0.50 Watt) irradiated group (G4). The highest demineralization was observed (again) in the Er:YAG laser (1 Watt) irradiated group (G7) (Table 4).

Differences between the groups T1-T2, T1-T3 and T2-T3

T1-T2 (0th day to 5th day); The control group (G1) and Er:YAG laser irradiated (1 W) group (G7) showed statistically significant higher demineralization than other groups (G3, G4, G5, G6 and G8) in this time period (T1-T2) ( $p < 0.05$ ) (Table 5).

T1-T3 (0th day to 9th day); The results showed no statistically significant differences between groups' demineralization score changes at this timepoint (T1-T3) ( $p > 0.05$ ) (Table 5).

T2-T3 (5th day to 9th day); The results showed no differences between the groups at this time period (T1-T3) ( $p > 0.05$ ) (Table 5).

### AFM Results

The lowest surface roughness was obtained in group 4 (Er:YAG laser irradiated (0.50 W, 10 Hz, 50 mJ) + APF) with the AFM method. Group 8 (Er:YAG laser irradiated (1 W, 10 Hz, 100 mJ) + APF) showed the highest surface roughness with the AFM method (Table 6) (Figure 1).

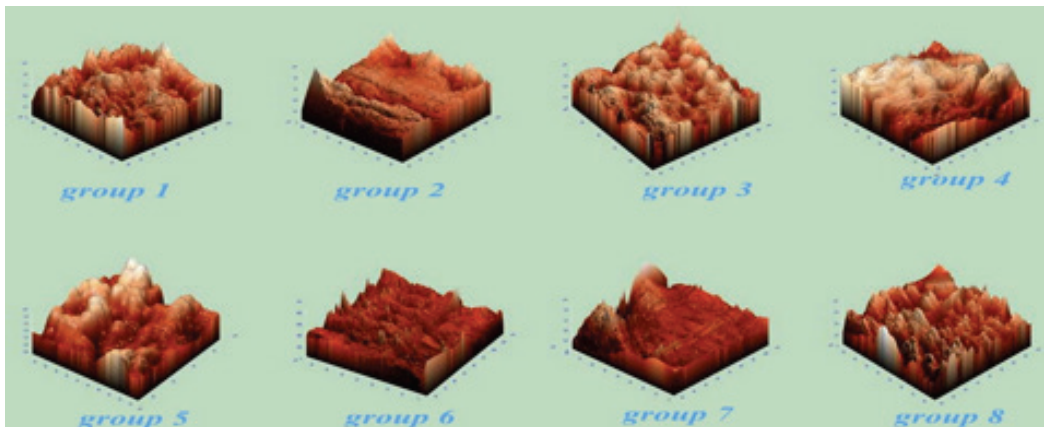


Figure 1. Atomic force microscope (AFM) images of groups at T3 timepoint

Table 1

APF and laser application procedures

Groups	APF Application	Laser Application
Group 1	-	-
Group 2	+	-
Group 3	-	0,50 Watt
Group 4	+	0,50 Watt
Group 5	-	0,75 Watt
Group 6	+	0,75 Watt
Group 7	-	1,00 Watt
Group 8	+	1,00 Watt

Table 2

Comparison of the mean demineralization scores in 8 groups measured with LIF in T1 (0 th day).

Groups	T1 (0 <sup>th</sup> day) Mean +/-S.d	p value
Group 1	3.6 +/-0.70	0.203
Group 2	3.3 +/-1.57	
Group 3	4.7 +/-1.49	
Group 4	3.6 +/-0.70	
Group 5	4.3 +/-1.64	
Group 6	4.5 +/-1.58	
Group 7	3.5 +/-0.71	
Group 8	4.2 +/-1.81	



## Discussion

It has been shown that nearly 50% of orthodontic patients exhibit clinically visible WSLs during treatment, which lasts approximately 2 years. Therefore, our research focused on the effects of preventive attempts on demineralization.

Diagnosing the demineralization of teeth becomes important, and DIAGNOdent is a useful, reliable and non-invasive method to detect carious lesions. Bechtold et al. used the LIF method to analyze the effectiveness of enamel sealants around orthodontic brackets (25).

**Table 3**

Comparison of the mean demineralization scores in 8 groups measured with LIF in T2 (5th day).

Groups	T2 (5 <sup>th</sup> day) Mean +/- S.d	Duncan Test	P value
Group 1	4.2+/-1.03	b	0.011*
Group 2	2.8+/-0.63	ab	
Group 3	3.8+/-1.03	c	
Group 4	3.0+/-0.47	a	
Group 5	4.2+/-1.81	c	
Group 6	3.7+/-1.34	ab	
Group 7	5.1+/-2.13	c	
Group 8	3.9+/-1.10	c	

-Groups in the same column with different letters are statistically significantly different

\*p<0.05 is statistically significant.

**Table 4**

Comparison of the mean demineralization scores in 8 groups measured with LIF in T3 (9th day).

Groups	T2 (9 <sup>th</sup> day) Mean +/- S.d	Duncan Test	P value
Group 1	3.7+/-0.82	ab	0.044*
Group 2	3.0+/-0.67	ab	
Group 3	3.7+/-0.95	ab	
Group 4	2.9+/-0.57	a	
Group 5	3.8+/-1.99	ab	
Group 6	4.1+/-0.99	b	
Group 7	4.6+/-1.84	b	
Group 8	4.1+/-1.37	b	

-Groups in the same column with different letters are statistically significantly different

\*p<0.05 is statistically significant.

**Table 5**

Comparison of the mean demineralization score changes in 8 groups measured with LIF between T1-T2 (0th day to 5th day), T1-T3 (0th day to 9th day) and T2-T3 (5th day to 9th day).

Groups	T2 (0 <sup>th</sup> day) Mean +/- S.d	T2 (5 <sup>th</sup> day) Mean +/- S.d	T2 (9 <sup>th</sup> day) Mean +/- S.d	Mean changes T1-T2 (*p=0.013)	Mean changes T1-T3 (p=0.062)	Mean changes T2-T3 (p=0.161)
Group 1	3.6 +/-0.70	4.2+/-1.03	3.7+/-0.82	0.60 a	0.10 c	-0.50 d
Group 2	3.3 +/-1.57	2.8+/-0.63	3.0+/-0.67	-0.50 b	-0.30 c	0.20 d
Group 3	4.7 +/-1.49	3.8+/-1.03	3.7+/-0.95	-0.90 b	-1.00 c	-0.10 d
Group 4	3.6 +/-0.70	3.0+/-0.47	2.9+/-0.57	-0.60 b	-0.70 c	-0.10 d
Group 5	4.3 +/-1.64	4.2+/-1.81	3.8+/-1.99	-0.10 b	-0.50 c	-0.40 d
Group 6	4.5 +/-1.58	3.7+/-1.34	4.1+/-0.99	-0.80 b	-0.40 c	-0.40 d
Group 7	3.5 +/-0.71	5.1+/-2.13	4.6+/-1.84	1.60 a	1.10 c	-0.50 d
Group 8	3.5 +/-0.71	3.9+/-1.10	4.1+/-1.37	-0.30 b	-0.10 c	-0.20 d

-Groups in the same column with different letters are statistically significantly different

\*p<0.05 is statistically significant.

Table 6 The mean AFM values in 8 groups in T3

Groups	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6	Group 7	Group 8
<b>The mean AFM values in 8 groups in T3</b>	162.3	139.9	141.3	114.1	208.6	130.7	207.1	291.9

-Groups in the same column with different letters are statistically significantly different

\*p<0.05 is statistically significant.

The base measurement score of the demineralization was between 3.60 and 4.70. All of the groups showed similar demineralization scores at T1. These results led us to conclude that the initial status of the groups showed similar responses to the demineralization process.

Five days later, the lowest demineralization scores were observed in the APF (only) group. Significant differences were achieved by comparing the base measurement with the 5th day scores. Correspondingly, the control group and Er:YAG laser (1 W) group were significantly different than the other groups, performing the highest in the demineralization scores. The lowest demineralization score was observed in the Er:YAG laser irradiated (0.50 W) group (Table 5). Interestingly, the lowest and the highest scores both belonged to laser irradiated groups. High laser doses may cause microfissured morphology and mineral loss on enamel surface. Due to this, demineralization scores may be increased.

Our study showed that the Er:YAG laser, lower than 1 W average power, has reduced the demineralization scores. It is known that applying the laser can reduce the rate of enamel demineralization, and this can prevent dental caries. The Er:YAG laser is an effective instrument for the ablation of dental hard tissue due to its wavelength of light emission, which coincides with the absorption peak of water and hydroxyapatite. This thermo-mechanical interaction allows the removal of enamel and dentin effectively (26).

In the current study, the results of the Er:YAG laser with 1 W average power increased the demineralization scores dramatically. The Er:YAG laser irradiation

with 1 W average power may injure the dental hard tissue and, therefore, cause high demineralization scores. The highest demineralization scores were observed in the group which used 1 W average power (Table 5). Many researchers also have concerns about enamel irradiation with Er:YAG lasers, which may cause some changes that create carious lesions. Rodrigez-Vilchis et al. showed this by using SEM to observe the changes in the enamel. They observed craters and cracks on the enamel surface, but these structures were not defined by the authors as greater than expected (27).

Rios et al. studied the association between APF application and laser irradiation and found that this method is an alternative preventive measure against dental erosion (20). This increments were parallel to our study, but in this literature researchers was used Nd:YAG laser with high doses.

Many research studies have suggested the use of fluoride to reduce the incidence of decalcification (28). The fluoride deposits in hydroxyapatite are from fluorapatite, which activates the remineralization process. Our results support these findings and, additionally, that the application of only fluoride showed significantly better results than in the control group. Interestingly, applying fluoride not only decreased the decalcification, it reduced the negative effect of the Er:YAG laser. Although applying 1 W average power showed the highest harmful scores, the same value with fluoride did not show high demineralization scores. These results revealed that the Er:YAG laser irradiation plus APF increased the remineralization process. Contradictory to this study findings, the results of another laser study, Er:YAG laser irradiation did not increase

acid resistance of the occlusal enamel surface as expected (27). This dissimilarity may be attributed by the application region of the laser irradiation, the present study we applied the laser irradiation buccal enamel of first premolars but in this study they were used the occlusal surfaces of third molars.

This result led us to think that the average power over 0.50 W may have a negative effect on the enamel of the teeth. Therefore, the low average power of the irradiation of the laser and application with APF has a significantly positive effect on the demineralization process.

The 9th day demineralization scores showed different results from the previous data. The best score was observed in the 0.50 W laser

irradiation with APF group. A comparison of the groups revealed that the change between time points did not show a statistically significant difference. Another study for detecting initial lesions with DIAGNOdent revealed that technique was effective in detecting the first demineralisation on enamel; however, the method did not show any effect in monitoring lesion progression after three cycles of in vitro demineralisation (29).

Because of these results, the initial scores of demineralization are important. The final values are dependent on the previous values. Using laser irradiation or applying fluoride were both settled at the 9th day. In our study, we used AFM to observe the surface roughness of the enamel. According to our study, the greatest roughness was detected in the 1 W average power with APF group. The average power with 0.75 W group had similar results to the 1 W group. Finally, the laser irradiation under 1 W with the fluoride application showed lower scores than the laser only application groups.

Further laser and fluoride application studies are needed to evaluate the demineralization process with new diagnosing and detecting technologies such as; atomic absorption spectrometry and energy dispersive X-ray spectrometry.

## Conclusions

Within the limits of this study, the following conclusions were drawn:

1. Er:YAG laser irradiation with optimum power settings has a positive effect on the decrease in demineralization (as in applying fluoride).
2. The overdose values of applying the laser contrarily increase the demineralization, while applying the overdose laser and fluoride inhibit the increase in the demineralization.
3. Adding the fluoride application to the laser irradiation may prevent the harmful effects of the laser irradiation.

Conflict of interest disclosure: The author declare no conflict of interest related to this study.

## References

1. Ogaard B, Rolla G, Arends J. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 1. Lesion development. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;94(1):68-73.
2. Bounoure GM, Vezin JC. Orthodontic fluoride protection. *J Clin Orthod* 1980;14(5):321-325.
3. Zachrisson BU. Fluoride application procedures in orthodontic practice, current concepts. *Angle Orthod*. 1975;45(1):72-81.
4. Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod* 1982;81(2):93-98.
5. De Sant'anna GR, dos Santos EA, Soares LE, do Espirito Santo AM, Martin AA, Duarte DA, et al. Dental enamel irradiated with infrared diode laser and photoabsorbing cream: Part 1 FT-Raman Study. *Photomed Laser Surg* 2009;27(3):499-507.
6. Mizrahi E. Enamel demineralization following orthodontic treatment. *Am J Orthod* 1982;82(1):62-67.
7. Pretty IA, Pender N, Edgar WM, Higham SM. The in vitro detection of early enamel de- and re-mineralization adjacent to bonded orthodontic cleats using quantitative light-induced fluorescence. *Eur J Orthod* 2003;25(3):217-223.
8. Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: an optical method for caries detection. *J Dent Res* 2004;83:80-83.
9. Dincer B, Hazar S, Sen BH. Scanning electron microscope study of the effects of soft drinks on etched and sealed enamel. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(2):135-141.
10. Kishen A, Shrestha A, Rafique A. Fiber optic backscatter spectroscopic sensor to monitor enamel demineralization and remineralization in vitro. *J Conserv Dent* 2008;11(2):63-70.
11. Rodrigues JA, Hug I, Neuhaus KW, Lussi A. Light-emitting diode and laser fluorescence-based

- devices in detecting occlusal caries. *J Biomed Opt* 2011;16(10):107003.
12. Guzman-Armstrong S, Chalmers J, Warren JJ. Ask us. White spot lesions: prevention and treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;138(6):690-696.
13. Kecik D, Cehreli SB, Sar C, Unver B. Effect of acidulated phosphate fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate application on shear bond strength of orthodontic brackets. *Angle Orthod* 2008;78(1):129-133.
14. Kravitz ND, Kusnoto B. Soft-tissue lasers in orthodontics: an overview. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133(4):110-114.
15. Usumez S, Orhan M, Usumez A. Laser etching of enamel for direct bonding with an Er,Cr:YSGG hydrokinetic laser system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(6):649-656.
16. Yamamoto H, Ooya K. Potential of yttrium- aluminum-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol* 1974;3(1):7-15.
17. Yamamoto H, Sato K. Prevention of dental caries by acousto-optically Q-switched Nd: YAG laser irradiation. *J Dent Res* 1980;59(2):137.
18. Magalhaes AC, Rios D, Machado MA, Da Silva SM, Lizarelli Rde F, Bagnato VS, et al. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. *Photomed Laser Surg* 2008;26(6):559-563.
19. Lodaya SD, Keluskar KM, Naik V. Evaluation of demineralization adjacent to orthodontic bracket and bond strength using fluoride-releasing and conventional bonding agents. *Indian J Dent Res* 2011;22(1):44-49.
20. Rios D, Magalhaes AC, Machado MA, da Silva SM, Lizarelli Rde F, Bagnato VS, et al. In vitro evaluation of enamel erosion after Nd:YAG laser irradiation and fluoride application. *Photomed Laser Surg* 2009;27(5):743-747.
21. Kakaboura A, Fragouli M, Rahiotis C, Silikas N. Evaluation of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18(1):155-163.
22. Karan S, Kircelli BH, Tasdelen B. Enamel surface roughness after debonding. *Angle Orthod* 2010;80(6):1081-1088.
23. Sobral MA, Lachowski KM, de Rossi W, Braga SR, Ramalho KM. Effect of Nd:YAG laser and acidulated phosphate fluoride on bovine and human enamel submitted to erosion/abrasion or erosion only: an in vitro preliminary study. *Photomed Laser Surg* 2009;27(5):709-713.
24. Featherstone JD, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO2 laser inhibitor of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res*. 1998;77(6):1397-1403.
25. Bechtold TE, Sobiegalla A, Markovic M, Berneburg M, Göz GR. In vivo effectiveness of enamel sealants around orthodontic brackets. *Journal of Orofacial Orthopedics* 2013 ;74(6):447- 57
26. Contente MM, de Lima FA, Galo R, Pecora JD, Bachmann L, Palma-Dibb RG, et al. Temperature rise during Er:YAG cavity preparation of primary enamel. *Lasers Med Sci* 2012;27(1):1-5.
27. Rodriguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Sanchez-Flores I, Samano EC. Acid resistance and structural changes of human dental enamel treated with Er:YAG laser. *Photomed Laser Surg* 2010;28 (2):207-11.
28. Sökücü O, Hergüner Ş, Bektaş ÖÖ, Babacan H. Shear bond strength comparison of a conventional and a self-etching fluoride-releasing adhesive following thermocycling. *World J Orthod* 2010; 11(1); 6-10.
29. Rodrigues JA, Sarti CS, Assunção CM, Arthur RA, Lussi A, Diniz MB. Evaluation of laser fluorescence in monitoring non-cavitated caries lesion progression on smooth surfaces in vitro. *Laser Med Sci ePub*; 2017; July 2; 1-8

# Histomorphometric Evaluation of Bone Regeneration in Peri-Implant Osseous Defects Treated With Titanium Prepared Platelet Rich Fibrin: An Experimental Study in a Rabbit Model

Periimplantal Kemik Defektlerinin Titanyum Tüplerde Hazırlanan Trombositten Zengin Fibrin ile Kemik Rejenerasyonunun Histomorfometrik Değerlendirmesi: Tavşan Tibiasında Deneysel Çalışma

\* Turan Emre KUZU  
\*\* Hakan ÖZDEMİR

\* Sivas Ağız ve Diş Sağlığı  
Merkezi, SİVAS

\*\* Eskişehir Osmangazi  
Üniversitesi, Diş Hekimliği  
Fakültesi, Periodontoloji  
A.D., Eskişehir

## Öz

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı titanyum tüplerde hazırlanan trombositten zengin fibrinin (T-PRF) deneysel olarak hazırlanmış periimplantal kemik defektlerindeki rejenerasyonu incelemektir. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 12 adet erkek wistar rat kullanılmış olup her bir tavşanın sağ ve sol tibiasına trephan frez ile 7 mm genişliğinde 4 mm derinliğinde defektler oluşturulmuştur. Daha sonra 3,3X8 mm lik implantlar tibialara yerleştirilmiş olup periimplantal defektler sırasıyla Otojen greft, T-PRF, Bifazik Kalsiyum Fosfat greft (BCP) ile restore edilmiştir. Kontrol grubu boş bırakılıp spontan iyileşmeye bırakılmıştır. 4 hafta sonra tüm tavşanlarötenazi ile öldürülerek implant ile beraber etrafındaki kemik alındı. Kemik-implant kontağı toludin mavisi ile boyanan kesitlerin histomorfometrik incelenmesi ile değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Otojen grupta ( $5267,50 \pm 228,95$ ) kemik implant kontağı değeri en yüksek çıkmıştır. Ancak otojen grup ile T-PRF grubu ( $3932,50 \pm 275,50$ ) arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. BCP grubu ile kontrol grubunda en düşük BIC değerleri gözlenmiştir. **Sonuçlar:** Peri-implantal defektlerin rejenerasyonunda T-PRF grubunda neredeyse otojen grup kadar BIC değerleri bulunmuştur. Bu yüzden T-PRF gelecekte yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda otojen matriksfonksiyonu görevi görebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Titanyum Trombositten zengin fibrin,periimplantal defekt, kemik-implant kontağı

## Abstract

**Aim:** The present study aims to investigate the healing of artificially created peri-implant osseous defects using Titanium-Platelet Rich Fibrin **Material and Method:** Bone defects (9-mm diameter, 4-mm depth) were created and implant beds (3-mm diameter, 6-mm depth) were prepared in the middle of them in rabbit tibias (24 rabbits) used as the experimental model. Afterwards, dental implants were installed into the left and right tibia (diameter 3.0 mm, length 8 mm). In the experimental groups, the peri-implant defect was filled with Autogenous grafts (AG), Titanium-Platelet Rich Fibrin (T-PRF), Biphasic Calcium Phosphate grafts (BCP). The control group did not receive any filling. The bone-to-implant contact (BIC) was obtained by histomorphometrically

## Yazışma Adresi:

Ydr. Doç.Dr. Hakan ÖZDEMİR  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi,  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
Periodontoloji ABD, Meşelik  
Kampüsü, Odunpazarı, Eskişehir  
Tel: 05327870641  
Eposta: hozdemir52@hotmail.com



examining the sections taken from the study groups. **Results:** AG group was resulted in a high degree of BIC. No difference of statistical significance was found for the BIC as far as autogenous graft and PRF groups are concerned. **Conclusion:** Peri-implant defects in regeneration of T-PRF were found to be nearly as affective as the autogenous bone graft. We, therefore, conclude that T-PRF can be used for guided bone regeneration in the function of autogenic matrix in the future.

**Keywords:** Titanium-prepared-Platelet-Rich-Fibrin, Periimplant defect, Bone-to-implant contact.

## Introduction

Dental implants are generally consider as both effective and popular methods used in restoring missing teeth. Despite highly desirable outcomes and the long-term survival rate, between 5 and 11 percent of dental implants end up with failure.<sup>1,2</sup> Peri-implant bone defects should heal for optimal function and aesthetics. A large number of researches have been carried out with a view towards treating such defects, in search of an optimal material and/or technique. However, no consensus has been reached upon the best one yet.

Various graft materials have been used in restoring the peri-implant bone defects.<sup>3,4</sup> It is autogenous grafts that are considered the gold standard because they are not only osteogenic but osteoinductive and osteoconductive as well. The advantage of autogenous bone is that it maintains bone structures such as minerals and collagen, as well as viable osteoblasts and bone-morphogenic proteins. Notwithstanding the potential osteogenic characteristics that Autogenous Bone Grafts (AG) possess, irregular resorption and morbidity that occur where the graft has been harvested hinders the absolute success of this procedure.<sup>5</sup> Bone-grafting materials like alloplasts, allografts and xenografts are used in instead of autogenous bone. The disadvantage of alloplasts is that they are unpredictable in allowing bone formation<sup>9</sup>; therefore, particles can be encountered within the grafted site when the clinician returns for implant placement. The alloplasts are known as artificial bone replacement material. The advantage of alloplasts is that they do not communicate diseases like HIV and hepatitis, and low cost and unlimited volume of the materials.<sup>6</sup>

Platelet-based preparations from patient's own blood provide an inexpensive alternative to commercially available bioactive materials. Choukroun Leucocyte-Platelet Rich Fibrin (L-PRF) consists of a fibrin matrix with platelets and leukocytes.<sup>7</sup> L-PRF has been reported to include a large number of cytokines and many growth factors that have an impact upon how the soft tissue is finally regenerated and how it matures, plus platelet-based growth factor AB (PDGF-AB), transforming growth factor-1 (TGF-1), Insulin-like Growth Factor (IGF), and vascular endothelial growth factor (VEGF). By fostering angiogenesis, mitosis, chemotaxis and proliferation of stem cells, these help increase bone regeneration in the beginning.<sup>8</sup> Platelet concentrates split into 4 groups based upon how many leukocytes and fibrins they contain: P-PRP (pure platelet-rich plasma, without leukocytes), L-PRP (PRP with leukocytes included), P-PRF (unmixed platelet-rich fibrin) and L-PRF (leucocytes-containing PRF)<sup>9</sup>. Unlike other platelet-rich products, L-PRF not requiring any biochemical modification through anticoagulants or bovine thrombin.<sup>7</sup> PRF can continually release growth factors from at least 7 days to 28 days at the most.<sup>8,10,11</sup> An application of L-PRF upon the titanium implant surfaces showed that growth factors covered the implants forming a fibrin layer for platelets to adhere<sup>3,12-14</sup>. Recently studies have shown L-PRF to promote a gradual release of autologous growth factors, resulting in better and more lasting impacts upon how rat osteoblasts grow and differ.<sup>11,12</sup>

Tunalı et al. report that platelet aggregation due to titanium and the clot observed in the titanium tubes did not clinically differ much when compared with glass tubes.<sup>15</sup> They also report that the fibrin carpet created by titanium showed a better network structure<sup>15</sup>, plus the period during which the tissue was reabsorbed was a much longer one<sup>16</sup>. One reason why Titanium-Platelet Rich Fibrin (T-PRF) is preferred is to prevent short-term and/or long-term negative impacts dry glass tubes, as well as removing the concerns over silica<sup>17</sup>. Interestingly enough, T-PRF has not yet been reported to be effective in bone healing. Furthermore, none of the studies conducted so far has attempted to achieve a clear assessment of bone healing. The present study seeks to assess how bone gets regenerated in artificially-induced peri-implant osseous defects that were treated with T-PRF.

## Material And Methods

Experimental protocols were approved by Animal

Ethics Committee of Faculty of Medicine, Cumhuriyet University (B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/77). The study animals were put in separate cages in a room (with 12 h day/night cycles) with a temperature of 21°C. They were provided with both libitum water and a pellet diet suitable for laboratory conditions. To adapt to the laboratory, the rabbits were placed in their cages for two weeks prior to the onset of the experiment.

### Study Design

12 adult white, 6-month old male rabbits from New Zealand were used for this study (right and left tibia bone), each weighing 3.0 kg. Four separate groups were formed according to the study design. The rabbits were placed in these groups indiscriminately. 1-AG group (n=6): receiving graft with Autogenous graft; 2-T-PRF group (n=6): receiving only T-PRF; 3- BCP group (n=6): receiving only Biphasic Calcium Phosphate graft (4Bone™ MIS Israel) group; 4-Control group (n=6): receiving no bone graft. A collagen membrane was placed over all rabbits prior to suturing. Their periosteum and skin were closed by means of a 4-0 suture (Vicryl, Ethicon, (ABD).

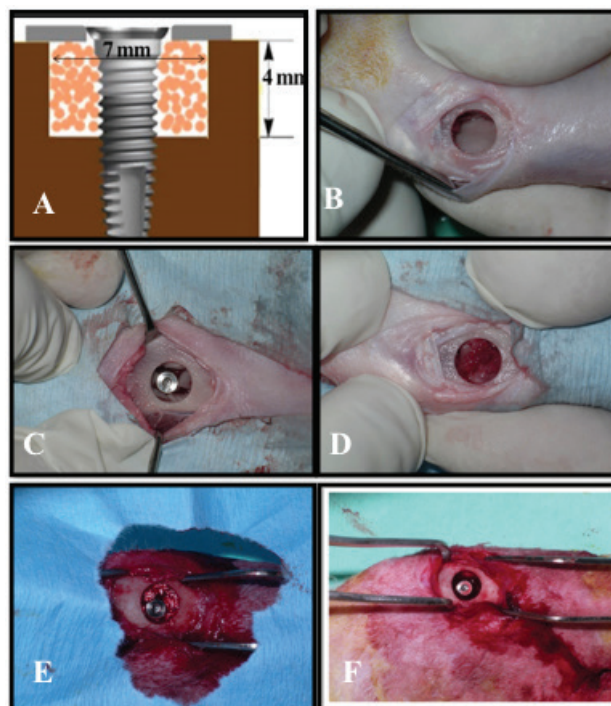
### T-PRF Preparation Method

T-PRF was prepared prior to the surgery for the experimental animals. First, we took 5 mL of blood from the animals through their central auricular artery under anaesthesia in a blood collection titanium tube, which was centrifuged soon afterwards (3,500 rpm, 15 minutes)<sup>16</sup>. The centrifugation resulted in a fibrin clot that was extracted from the tube using forceps under sterile conditions. This T-PRF clot was then cut into small pieces.

### Surgical Procedure

All operations were completed with the rabbits under general anaesthesia with 2% of xylazine (Rompun 2%; Bayer, Istanbul, Turkey) and 1% ketamine (Ketalar; Eczacıbaşı-Warner Lambert, Istanbul, Turkey). The site to be experimented with was first shaved and then cleaned using povidone-iodine. Once these sites had been incised, the right and left tibia bones were exposed with subperiosteal dissection. We obtained bony defects with a 7-mm diameter and a 4-mm depth with the help of a trephine drill under saline solution irrigation (Fig 1A,1B). The implant beds with a 3-mm diameter and a 6-mm depth were obtained in the

middle of each defect in line with the manual of the implant system.<sup>18</sup>



**Figure 1:** Clinical photographs of surgical procedures. A: Schematic view of defect;13 B: Empty defect; C: Autogenous Graft; D: T-PRF; E: BCP; F: Control

The implant beds were rinsed with saline solution in the aftermath of drilling. The implants (3.3X8 mm AL-Technology dental implants Shark implants, Germany) were inserted in the defects with primary stability (6 mm depth). As for the upper part, it was left free. Afterwards, healing caps were screwed tightly on the implants. A peri-implant defect grafted with AG, T-PRF, BCP and Unfilled are shown in (Fig 1C-1F). The tissues also being tightly sutured in 2 layers via degradable sutures (Pegelak, poly [glycolide-co-lactide]; Dogsan, Trabzon, Turkey).

Postoperatively, the rabbits each were intramuscularly given 50 mg/kg of ceftriaxone (Rocephin; Deva, Istanbul, Turkey), and carprofen, 4 mg/kg (Rimadyl; Pfizer, New York) in one dose for three consecutive days.

The animals were sacrificed 8 weeks after the implantation process. Finally, all signs of unusual healing were documented with the bones dissected along with the implants.

### Specimen Preparation

The bone, along with the implants, was totally removed and exposed to four percent of neutral buffered formaldehyde before histological assessment could be made. Dehydration with rising percentages of ethanol was observed after it was embedded in a methyl methacrylate-based resin (Technovit 7200 VLC; Kulzer & Co, Wehrheim, Germany). method Using the method developed by Donath and Breuner, undecalcified ground sections were harvested from not only the implants but also from the surrounding bone.<sup>19</sup> Sections were derived from every single implant with the same longitudinal plane and reduced to a thickness of 50  $\mu$ m with diamond grinding. By the end of this procedure, four sections had been derived from the specimens and stained with toluidine blue. Histomorphometric analysis

The sections obtained were meant to be used for histomorphometric evaluations. We captured images through a light microscope (Olympus BX50; Olympus Optical, Tokyo, Japan) with the aid of an attached digital camera (Olympus DP70) at X4 magnification. All images were then downloaded to a personal computer. Before performing image analysis, a specific region of interest had been determined. Relevant evaluations were made with Bioquant Osteo II image analysis software (Bioquant Image Analysis, Nashville, TN). We measured the length of bone-to-implant contact (BIC) ( $\mu$ m) from implant shoulder to end of the gap (4 mm).

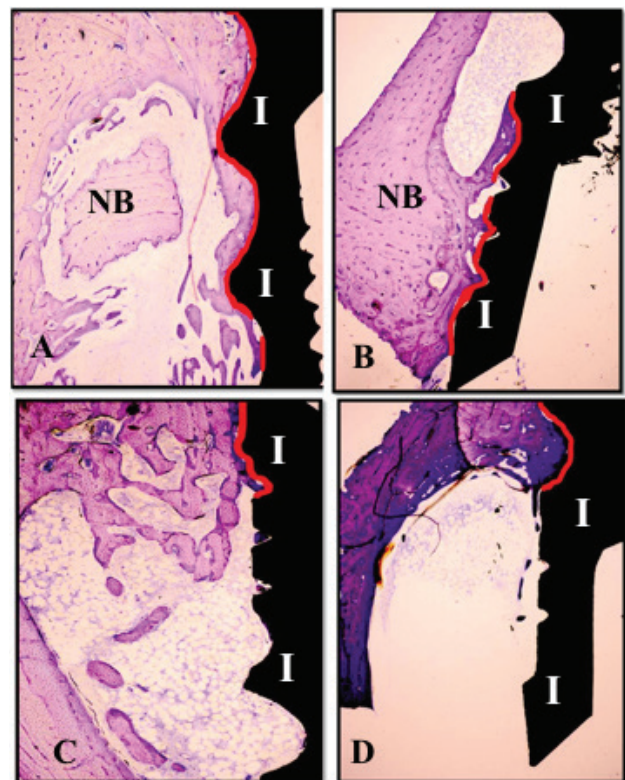
### Statistical analysis

Statistical analyses were made, using the SPSS software (version 16.0 for Windows; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). The implants were incorporated as independent values for analysis. Also, we determined mean values and standard deviations for every single group and variable factor. The disparity between the groups was assessed using the variance analysis and Tukey test. The disparity within the groups was assessed through the Student t-test. The disparities determined were accepted to be statistically significant ( $p < 0.05$ ).

### Results

We did not observe any complications in the course of surgical operation. The rabbits showed no post-operative infections and made a quick recovery. However, four of them died due to general anaesthesia, which had to be replaced with another four rabbits. The implants were observed to be still in situ when the animals were euthanized. At the very end of the experiment, osseo-integration was clinically achieved for all the groups.

The histomorphometric measurements of the defects showed satisfactory levels of implant osseointegration. The bone tissue surrounding all implants indicated healing (Fig 2A-2D). The newly formed bone showed



**Figure 2:** Photographs of the histological sections seen by light microscopy at 8th weeks view of the image in all groups. Length of bone to implant contact in all groups was shown. Sections were stained with toluidine blue. Original magnification, 4x. A: AG group; B: T-PRF group; C: BCP group; D: Control group; NB: New Bone



a direct connection with the implant surface in the groups. BIC, notably in AG and T-PRF groups, resulted in a high degree of BIC.

Comparison of the groups revealed that morphometric measurements of BIC were of statistical significance. There was a rapid increase in not only new bone formation but also in the BIC of the test group (Table 1). AG (5267,50±228,95) and T-PRF (3992,50±275,50) group were resulted in a high degree of BIC. The difference between the AG group with the BCP (2904,50±312,82) and Control (1925,16±294,79) was of statistical significance ( $p < 0,05$ ) but no difference of statistical significance was found for the BIC as far as AG and T-PRF groups are concerned ( $p > 0,05$ ). There was no evidence for fibrotic tissue layer formation in any groups.

## Discussion

The present study seeks to determine the potential impacts of T-PRF upon periimplantal bone defects healing. Histomorphometric results showed BIC were enhanced in the T-PRF treated peri-implant bone defect in comparison with the AG, BCP and, control groups after the implant placement.

Bone fill in the opening between implant and peripheral bone is important to provide an osseointegrated fixture. Although periimplant bone defect healing can be obtained in gaps less than 2 mm by maintenance of a blood clot, dimensional contraction of the alveolar bone and accompanying resorption of buccal bone after bone defects can lead to esthetic problems. Thus it has been suggested that periimplant bone defects should be grafted in periimplantal bone defect cases to enhance osseointegration.<sup>20</sup>

Many studies have assessed reconstruction of peri-implant bone defects with graft materials. These study found enhanced BIC values in peri-implant defects that were fixed with autogenous bone<sup>21,22</sup>. In a dog study by Kim et al<sup>23</sup>, it was reported the effects of biphasic calcium phosphates upon how peri-implant bone defects heal and concluded that biphasic calcium phosphate bone substitute helped with defect resolution.

In our study mean BIC in the 8th weeks was the AG group (5267,50±228,95) and T-PRF group (3992,50±275,50). The findings of this study agree

Table 1 Length (µm) of BIC at all groups.

GROUPS	BIC (X±S)
AG (n=6)	5267,50±228,95a
T-PRF (n=6)	3992,50±275,50b
BCP (n=6)	2904,50±312,82
C (n=6)	1925,16±294,79
P value	p=0,001

Data are presented as mean (Standard deviation).

Abbreviations: BIC, bone-to-implant contact; AG, Autogenous Graft; T-PRF, Titanium-prepared Platelet Rich fibrin; BCP, Biphasic Calcium Phosphate grafts; Control; Unfilled defect

a Statistically significant difference ( $p < .05$ ) between AG versus BCP and Control

b Statistically significant difference ( $p < .05$ ) between T-PRF versus BCP and Control

with those of Anitua et al<sup>13</sup>. Another investigation by these authors<sup>14</sup> showed that a 51% BIC occurs as long as implants are coated with Platelet-Derived Growth factor compared to the 22% BIC observed in the control group following eight weeks of healing. Our results also confirm the data presented by Lee et al<sup>24</sup>, who have reported that the mean BIC was 39% in experimental group and 17% in the control one following eight weeks of healing. Using a similar approach, our results support the findings by Fontana et al<sup>25</sup>. Fuerst et al<sup>26</sup>, reported a 55% BIC after the implants had been coated with PRGF unlike 39% of control group following four 4 weeks of healing. Wu et al. described, histomorphometric results showed that four weeks after healing, integration of the titanium mini-screws and of the bones was remarkably better. The authors stated that four weeks is a vital time point for the integration of titanium mini-screws and of the bones<sup>27</sup>. Şimşek et al<sup>28</sup>, reported the DFDBA plus L-PRF group showed significantly greater increases in BIC and compared with DFDBA plus saline solution. Thus, adding L-PRF to DFDBA may enhance how bone is formed in peri-implant bone defects because of its enhanced osteoinductive properties.

In a study by Simonpieri et al<sup>13</sup>, it was revealed that new bone formation was 29.30% in the experimental group and 11.06% in the control group. As to the study

group, BIC was 17.11% in the control and 39.43% in the study group. In this study, L-PRF applications not increased not only new bone formation but also BIC in significant levels.

There are known to be studies that have used only L-PRF and others that have used L-PRF combination with other graft materials. Studies, which use L-PRF as the only filling material while sinus is being augmented and the implant installed simultaneously, have reported that the implant stabilizes with a high amount of regenerated bone at 6 month after the operation.<sup>29</sup> While the sinus floor is being augmented, a freeze-dried bone allograft (FDBA) and a L-PRF are used, which reduces the time in which healing occurs from six months to nearly four.<sup>30</sup>

T-PRF is acknowledged to be a new platelet concentrate. Its preparation is based upon the assumption that titanium tubes could be more successful in activating platelets than the glass tubes preferred for the Chouckroun's method. This stuff is meant to prevent possible side-effects of dry glass as well as glass-coated plastic tubes. It is also meant to remove speculations as regards silica in the short or long terms, or both.<sup>20,21</sup>

In a recent study by Tunalı et al., which investigated the impacts of T-PRF upon connective tissue recovery in rabbits, it was found that T-PRF was still present on the 10th day but was reabsorbed on the 15th day. T-PRF was found to have very good regenerative potentials for both bone and connective tissues. Also, it is the powerful fibrin architecture of the T-PRF that permits an intense slow release. This release is further reinforced by the fact that new growth factors are produced by the leukocytes present in T-PRF membrane. When T-PRF applied to the periimplantal bone defect, regeneration potential of T-PRF may stimulate implant healing over the surrounding bone with the platelet rich layer.

In obtaining T-PRF, the most suitable centrifugation for rabbit experiments was found to be 3500 rpm 15 min<sup>22</sup>. We also followed this protocol for our study. The same study by Tunalı et al. showed the re-absorption period of T-PRF in tissue to be long. It also reported that T-PRF might cause much longer impacts for rabbits with a faster metabolism than PRF. PRF is reputed to possess a re-absorption time that varies from seven to eleven days in mankind.<sup>16</sup> Furthermore,

osteoconductive property of T-PRF was good, and T-PRF membrane remains were observed in the first month controls when used as a membrane alone.

Tunalı et al. centrifuged venous blood of 18 ml cultivated from humans and transferred half of this blood into a Grade IV titanium tube of 9 ml and the other half into a glass tube of 9 ml. It was observed that T-PRF cultivated in the Grade IV titanium tube was better than that in the glass one in terms of having a better cellular structure and a fibrin network with a better organization, tight-knit, and narrower intervals.<sup>15</sup>

How bone regeneration gets stimulated is crucial, and superficial applied growth factors can increase bone formation. However, growth factors obtained are expensive and involve several steps. In this study, T-PRF upregulated the growth factors necessary for enhancing bone formation.

## Conclusion

Considering the limitations of our study, we assume that T-PRF application during peri-implant bone defects healing may increase the rate and especially in sites where peri-implant bone defects healing may be required. Furthermore, these results support the hypothesis that grafting peri-implant bone defects of T-PRF may enhance bone formation, thus promoting BIC. Clinical studies are needed to demonstrate efficacy in humans.

## Additional Information Funding

This research study was supported by the Scientific Research Project Fund of Cumhuriyet University (Project Diş-132).

## References

1. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol* 2002; 29 Suppl 3: 197-212; discussion 232-233.
2. O'Mahony A, Spencer P. Osseointegrated implant failures. *J Ir Dent Assoc* 1999; 45(2): 44-51.
3. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary

- results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14(4): 529-535.
4. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol*; 2001; 72(2): 152-159.
5. Oh KC, Cha JK, Kim CS, Choi SH, Chai JK, Jung UW. The influence of perforating the autogenous block bone and the recipient bed in dogs. Part I: a radiographic analysis. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22(11): 1298-1302.
6. Knapp CI, Feuille V, Cochran D, Melloning JT. Clinical and histological evaluation of bone replacement grafts in the treatment of localized alveolar ridge defects. Part 2: bioactive glass particulates. *Int J Periodontics Rest Dent*. 2003;23(2):129-37.
7. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(3): e37-44.
8. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009; 27(1): 63-69.
9. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009; 27(3): 158-67.
10. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, et al. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1145-1152
11. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108:707-13.
12. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13:1231-56.
13. Anitua EA. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. *J Oral Implantol*. 2006;32:72-76.
14. Anitua E, Orive G, Pla R, Roman P, Serrano V, Andia I. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium implant osseointegration in goats: a histologic and histomorphometric study. *J Biomed Mater Res A*. 2009;91:158-165.
15. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Yaprak E, Toker H, Fıratlı E. A novel platelet concentrate: titanium-prepared platelet-rich fibrin. *Biomed Res Int* 2014; 2014:209548.
16. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013; 51(5): 438-443.
17. O'Connell SM Safety issues associated with platelet rich fibrin method. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2007; 103:587-93
18. Sung-Won Kim and In-Ho Cho. On the osseointegration of zirconia and titanium implants installed at defect site filled with xenograft material. *J Korean Acad Prosthodont*. 2014 Jan;52(1):9-17.
19. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982; 11(4): 318-26.
20. Chen ST, Buser D. Esthetic outcomes following immediate and early implant placement in the anterior maxilla--a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29 Suppl:186-215.
21. Al-Sulaimani AF, Mokeem SA, Anil S. Peri-implant defect augmentation with autogenous bone: a study in beagle dogs. *J Oral Implantol* 2013; 39(1): 30-36.
22. Schuler RF, Janakievski J, Hacker BM, O'Neal RB, Roberts FA. Effect of implant surface and grafting on implants placed into simulated extraction sockets: a histologic study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2010; 25(5): 893-900.
23. Kim S, Jung UW, Lee YK, Choi SH. Effects of biphasic calcium phosphate bone substitute on circumferential bone defects around dental implants in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2011; 26(2): 265-273.
24. Lee JW, Kim SG, Kim JY, Lee YC, Choi JY, Dragos R, Rotaru H. Restoration of a peri-implant defect by

- platelet-rich fibrin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*; 2012; 113(4): 459-463.
25. Fontana S, Olmedo DG, Linares JA, Guglielmotti MB, Crosa ME. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. *Implant Dent*. 2004;13:73-8
26. Fuerst G, Gruber R, Tangl S, Sanroman F, Watzek G. Enhanced bone-to-implant contact by platelet-released growth factors in mandibular cortical bone: a histomorphometric study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18:685-90.
27. Wu J, Bai YX, Wang BK. Biomechanical and histomorphometric characterizations of osseointegration during mini-screw healing in rabbit tibiae. *Angle Orthod*. 2009;79:558-63
28. Şimşek S, Özeç İ, Kürkçü M, Benlidayı E. Histomorphometric Evaluation of Bone Formation in Peri-Implant Defects Treated With Different Regeneration Techniques: An Experimental Study in a Rabbit Model. *J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Sep;74(9):1757-64.
29. Magremanne M, Baeyens W, Awada S, Vervaeet C. Solitary bone cyst of the mandible and platelet rich fibrin (PRF). *Rev Stomatol Chir Maxillofac*, 2009; 110(2): 105-108.
30. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(3): 299-303.
31. Xuan F, Lee CU, Son JS, Jeong SM, Choi BH. A comparative study of the regenerative effect of sinus bone grafting with platelet-rich fibrin-mixed Bio-Oss and commercial fibrin-mixed Bio-Oss: an experimental study. *J Craniomaxillofac Surg* 2014; 42(4): e47-50.

# Evaluation Of The Incidence Of Impacted Tooth In Southern Turkish Population Aged Between 15 And 35 Years: An Epidemiological Study

## 15-35 Yaş Arası Güney Türk Popülasyonunda Gömülü Diş Sıklığının Değerlendirilmesi: Epidemiyolojik Çalışma

\* Sevcihan Günen YILMAZ  
\*\* İbrahim Şevki BAYRAKDAR  
\*\*\* Hümevra Tercanlı ALKIŞ  
\*\*\*\*Büşra TANRIKOL

\* PhD, Department of Oral Diagnosis and Radiology, Faculty of Dentistry, Akdeniz University, Antalya, Turkey  
\*\* Assistant Professor, Department of Oral Diagnosis and Radiology, Faculty of Dentistry, Eskişehir Osmangazi University, Eskişehir, Turkey  
\*\*\* Research Assistant, Department of Oral Diagnosis and Radiology, Faculty of Dentistry, Akdeniz University, Antalya, Turkey  
\*\*\*\*PhD, Department of Oral Diagnosis and Radiology, Faculty of Dentistry, Akdeniz University, Antalya, Turkey

### Yazışma Adresi:

Sevcihan Günen Yılmaz, PhD

Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Faculty of Dentistry, Akdeniz University, Dumlupınar Bulvarı, Konyaaltı, 07058, Antalya, Turkey  
e-mail: dentistsevcihan@hotmail.com  
Facsimile numbers: + 90 242 310 69 67

### Öz

**Amaç:** Bu retrospektif çalışmada üçüncü molar dişler hariç diğer dişlerin gömülü kalma sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmaya 2674 erişkin birey (Erkek/Kadın:1146/1528) (% 42.8/ %57.2) dahil edildi. Hastaların panoramik radyogramları gömülü dişlerin varlığı açısından üç oral ve maksillofasiyal radyoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Gömülü dişlerin; cinsiyet ve çenelerdeki dağılımlarını karşılaştırmak için ki-kare testi kullanıldı. P <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. **Bulgular:** 135 hastada toplam 167 gömülü diş saptandı. Bunların 74'ü kadınlarda, 61'i erkeklerde idi. Gömülü dişlerin büyük kısmı maksiller kaninlerden oluşmaktaydı. **Sonuç:** Bu epidemiyolojik çalışma önceki çalışmalarla büyük benzerlikler göstermektedir ve aynı toplumda daha fazla sayıda birey üzerinde incelenmesi uygundur.

**Anahtar Kelimeler :** Gömülü dişler, Radyogram, Zahiri hipodonti

### Abstract

**Objective:** The objective of this study was to investigate the incidence of teeth other than the third molar teeth to remain impacted. **Material & Methods:** A total of 2674 adult persons (Male/Female: 1146/1528; 42.8%/57.2%) were included in this study. Panoramic radiograms of the patients were evaluated by three oral and maxillofacial radiology specialists for the presence of implanted teeth. Chi-square test was used to compared the distribution of the impacted teeth to genders and localization in the maxilla and mandible. P <0.05 values were considered statistically significant. **Results:** A total of 167 impacted teeth were found in 135 patients. Of these, 74 were in females and 61 in males. Majority of the impacted teeth consisted of maxillary canines. **Conclusion:** This epidemiological study showed close similarities with the previous studies, and we recommend examination on a larger number of individuals in the same population.

**Keywords:** Impacted teeth, Radiogram, Apparent hypodontia



## Introduction

Impacted teeth are defined as the teeth that could not take their places in the dental arch during the expected normal eruption period due to various reasons, causing clinically important outcomes (1,2). Numerous systemic factors such as the local reasons including pressure applied by the adjacent teeth, increased density in the bone and soft tissue, chronic infections in the surrounding soft tissues, insufficient mandibular growth, lack of space in the maxilla, and persistence of the deciduous teeth, and some endocrinological (hypothyroidism) and metabolic disorders (mucopolysaccharidosis), anemia, systemic reasons such as vitamin D deficiency (rickets), Down's syndrome, syndromes like cleidocranial dysplasia, and achondroplasia, and systemic infections (tuberculosis, congenital syphilis), developmental disorders such as cleft palate and lip cause the teeth to remain impacted (2).

Transmigration is defined as the migration of an unerupted tooth to the opposite side by passing the middle line in the alveolar bone. Impacted teeth may remain asymptomatic in the alveolar bone without causing any symptom and pathology for a long time, as well as they may lead to root resorption in the neighboring teeth, temporomandibular joint disorders, neuralgiform pain, local infections, cystic and neoplastic pathologies (3). Impaction of the teeth may be restricted to a single tooth as well as may affect all teeth. Both permanent and deciduous teeth may remain impacted. Impacted teeth are more infrequently seen in the primary dentition period, and the differential diagnosis should be made in order to distinguish from ankylosis induced secondary retention cysts(2).

The most common impacted teeth among the permanent teeth are the third molar (4,5) followed by maxillary canine, maxillary and mandibular premolar, and maxillary lateral. The reason for the third molar teeth to remain impacted has been shown as lack of sufficient place in the maxilla due to being the last erupted teeth. There are many studies evaluating the incidence of impacted third molar teeth (6-8). This is the case also for the maxillary canine teeth that may often remain impacted. Because they erupt after the maxillary lateral and maxillary first premolar and can not found a sufficient place.

There are different results in terms of the incidence of impacted teeth in the mandible and maxilla, with some were more common in the mandible, and the others in the maxilla (6,9,10). In contrary to the studies reporting no difference between the genders in terms of the incidence of impacted teeth (7,11), there are also studies stating more common impacted teeth in women than in men (12).

The objective of this study was to determine the incidence, localization, and gender distribution of the impacted teeth seen on permanent dentition other than the third molar teeth in Southern Turkish population aged between 15 and 35 years.

## Material & Methods

This study was designed as a retrospective study to evaluate panoramic radiograms of the patients who presented to the Akdeniz University, Faculty of Dentistry, Department of Dental and Maxillofacial Radiology for routine examination between January 2015 and June 2016. A total of health 2674 adult persons (Male/Female: 1146/1528; 42.8%/57.2%) who had no systemic and/or congenital disease and no history of orthodontic treatment were included in the study. The gender and age distributions of the subjects are presented in Table 1. All permanent teeth except the third molar were evaluated with a high quality panoramic radiograph (PR). As the study was conducted to retrospectively evaluated panoramic radiograms of the patients, no ethical committee approval was received.

Panoramic radiograms of the persons with missing teeth and those with impacted teeth which at least 75% of the development had not been completed were excluded from the study (Figure 1). The demographic patient data were accessed through electronic patient files.

Panoramic radiograms of all patients were taken in the Akdeniz University, Faculty of Dentistry, Department of Dental and Maxillofacial Radiology by the same persons with PLANMECA, OY 00880 (Helsinki, Finland) device in a patient standing on vertical position using an appropriate radiation dose. All panoramic radiograms were evaluated by three oral and maxillofacial radiology specialists. The teeth recognized as impacted by all three specialists and the information about the gender and localization (mandible-maxilla) were recorded. Interobserver

reliability was found as 98%.

### Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS (Statistical Package for Social Sciences; 21.0, SPSS Company, Illinois, USA) for Windows (21.0, SPSS Company, Illinois, USA) software. Comparison of the incidence of impacted teeth between the groups and genders was made using Chi-square test. A P value <0.05 considered statistically significant.

### Results

Of the 2674 persons included in the study, 1528 were females (57.2%) and 1146 males (42.8%). The mean age was found as  $24.08 \pm 6.57$  years in females,  $26.36 \pm 4.59$  years in males and  $25.05 \pm 5.68$  years in entire group. Age difference was not statistically significant between the genders ( $P > 0.05$ ). Impacted teeth were found in a total of 135 persons (5.04%). Of the 135 persons (mean age:  $24.44 \pm 5.72$  years) with impacted teeth, 74 were females (mean age:  $23.96 \pm 6.03$  years) and 61 males (mean age:  $25.04 \pm 5.14$  years). No statistically significant difference was found between the mean age of entire group, female

and male persons with and without impacted teeth with P values found as  $P = 0.07$ ,  $P = 0.4$  and  $P = 0.23$ ; respectively (Table 1).

Impacted teeth were detected in 4.84% of the female individuals and 5.32% of the male individuals. There was no statistically significant difference between the genders in terms of the incidence of impacted teeth ( $P = 0.54$ ). A total of 167 impacted teeth were found in 135 persons. Only one tooth in 104 persons (3.88%), two teeth in 30 persons (1.12%), and three teeth in only one person (0.03%) were evaluated as impacted teeth (Table 2).

**Table 2** Distribution of impacted teeth

Impacted teeth number	Patient number	Total Impacted teeth (%)
1	104	104 (62.2%)
2	30	60 (35.9%)
3	1	3 (1.7%)
<b>Total</b>	<b>135</b>	<b>167 (100%)</b>

**Table 1** Distribution of gender and mean age in the study population

	Impacted teeth (+)	Impacted teeth (-)	All group	P value +
<b>Patient number</b>	135	2539	2674	
All group				
% within	100%	100%	100%	< 0.05
Female				
% within	74	1454	1528	<0.05
	54%	57.3%	57.2%	
Male				
%within	61	1085	1146	<0.05
	46%	42.7%	42.8%	
<b>Age</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	<b>Mean <math>\pm</math> SD</b>	
All group	$24.44 \pm 5.72$	$24.65 \pm 5.61$	$25.05 \pm 5.68$	0.07
Female	$23.96 \pm 6.03$	$24.22 \pm 6.94$	$24.08 \pm 6.57$	0.4
Male	$25.04 \pm 5.14$	$27.29 \pm 4.34$	$26.36 \pm 4.59$	0.23

SD: Standard deviation, + Chi-square test

The most common impacted teeth were found in the maxillary canine teeth (62.8%) followed by the secondary premolar teeth (14%). Of the total 167 impacted teeth, 126 (75.4%) were localized in the maxilla and 41 (24.6%) in the mandible (Table 3).

When localization of the teeth impacted in the right and left sides was examined; no statistically significant difference was found between the two sides in the maxilla ( $P = 0.08$ ), but a statistically significant difference was observed between the right and left sides in terms of the incidence of impacted teeth ( $P = 0.007$ ). Number and percent distribution of the right- and left-sided impacted teeth in the maxilla and mandible are shown in Table 3.

## Discussion

In this study, impacted teeth were found in 135 of 2674 persons (5.04%). In their studies, Ezoddini et al. (13) found the incidence of impacted teeth as 8.3% in 480 patients, and Chu et al. (8) as 28.3% in 7486 patients. However, the third molar teeth were included in both studies. Since the third molar teeth are the most commonly impacted teeth, the incidence of impacted teeth might be found high in the studies including these teeth.

In the present study, the third molar teeth were not included, and the most common impacted teeth were found as maxillary canine teeth (62.8%) (105 teeth, 101 patients). Evaluating these patients, a single maxillary canine teeth were found to be impacted in 97 persons and both maxillary canines in 4 patients.

The prevalence of impacted teeth was found as 3.9% in the maxillary canine teeth. Chu et al. (8) found the incidence of impacted maxillary canine teeth as 0.8%. One impacted maxillary canine tooth was found in 14 patients with a prevalence of 0.5%. The incidence of mandibular impacted teeth was similar with the literature. Impacted mandibular impacted teeth was found as 1.29% by Yavuz et al. (14), 0.22% by Grover and Lorton (15), and 1.36% by Sanu et al. (16). Fibrous dysplasia should be kept in mind in the differential diagnosis of impacted mandibular teeth. In the present study, maxillary canine teeth remained more commonly impacted by seven folds of the mandibular canine teeth. This is consistently with the results of other studies in the literature (8).

The most common impacted teeth following the third molar teeth were respectively maxillary canines, mandibular canines, mandibular and maxillary premolars, and maxillary middle incisors, consistently with the previous studies (8, 12). In our study, the incidence of impacted teeth in the maxilla was higher by about three times than the mandible (Table 3). This result was similar to the results of the studies by Shah et al. (9), and Brown et al. (6). Whereas similar rate of impacted teeth was found in the maxilla, impacted canine teeth were more common in the right side in the mandible.

In this study, no statistically significant difference was found between female and male persons in terms of the prevalence of impacted teeth ( $P = 0.54$ ). Whereas Kramer et al. (11) and Schersten et al. (7) found no difference between the genders in terms of the

**Table 3** Distribution of impacted teeth in the upper and lower jaws in the right and left regions

	Santral 1 incisor	Lateral incisor	Canin	1.premolar	2.premolar	1. molar	2.molar	All group
<b>Right</b>	3	-	53	-	5	1	1	63
<b>Left</b>	1	-	52	-	7	-	3	63
<b>Maxilla</b>	2.3%		62.8%		7.18%	0.59%	2.3%	126 75.4%
<b>Right</b>	-	1	12	3	5	-	7	28
<b>Left</b>	-	-	2	-	7	-	4	13
<b>Mandible</b>	-	0.59%	8.38%	1.7%	7.18%	-	6.58%	41 24.5%
<b>All group</b>	4 2.4%	1 0.59%	119 71%	3 1.7%	24 14.3%	1 0.59%	15 8.98%	167 100%



prevalence of impacted teeth; Rozsa et al. (12) and Dural et al. (17) reported higher incidence of impacted teeth in female persons.

Impacted teeth are frequently asymptomatic, while pain, swelling, chronic infection, and fistulization may be observed based on the localization (14). In addition, cystic lesions may accompany in the teeth impacted in the maxilla and mandible. Recommendation for the impacted teeth include radiological follow-up at certain intervals, surgical extraction, and bringing to the normal localization with orthodontic therapy (14). The impacted canine teeth can be followed-up in case of asymptomatic conditions, advanced age, clinical conditions that are not eligible for surgical treatment, and rejection of the surgical operation by the patient. Whereas the previous studies included the third molar teeth, in this study we did not include these teeth. Therefore, 62.8% of the teeth considered as impacted were determined as the maxillary canine teeth. The rate of impaction was found as 8.38% in the mandibular canine teeth. After the maxillary and mandibular canine teeth, maxillary and mandibular second molar teeth were observed by 7.18%. Unlike the other studies, the second premolar teeth were followed by the mandibular second molar teeth by 6.58%. No impacted tooth was detected among the mandibular lateral incisors and first premolar teeth, and maxillary central incisors and first molar teeth (Table 3).

## Conclusion

The third molar teeth were not included in this study, and maxillary canine teeth were found as the most common impacted teeth. The incidence of impacted teeth was higher by about 3 times in the maxilla than in the mandible. No difference was found between male and female persons in terms of the incidence of the impacted teeth.

## References

- 1.Rasmussen P, Kotsaki A: Inherited primary failure of eruption in the primary dentitions report. *J of Dent for Child* 1997;64:43-47.
- 2.Alling CC, Catone GA. Management of impacted teeth. *J Oral Maxillofac Surg* 1993;51:3-6.
- 3.Maaita J, Alwrikat A. Is the mandibular third molar a risk factor for mandibular angle fracture? *Oral Surg Oral Med*

- Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;89: 143-6.
- 4.Singh H, Lee K, Ayoub AF. Management of Asymptomatic Impacted Wisdom Teeth: A Multicenter Comparison. *Br J Oral and Maxillofac Surg* 1996;34:389-93.
- 5.Lima CJ, Silva LC, Melo MR, Santos JA, Santos TS. Evaluation of the agreement by examiners according to classifications of third molars. *Med Oral Patol Oral CirBucal* 2012;17:281-6.
- 6.Brown LH, Berkman S, Cohen D, Kaplan AL, Rosenberg M. A radiological study of the frequency and distribution of impacted teeth. *J DentAssoc S Afr* 1982;37:627-30.
- 7.Schersten E, Lysell L, Rohlin M. Prevalence of impacted third molars in dental students. *Swed Dent J* 1989;13:7-13.
- 8.Chu FC, Li TK, Lui VK, Newsome PR, Chow RL, Cheung LK. Prevalence of impacted teeth and associated pathologies-a radiographic study of the Hong Kong Chinese population. *Hong Kong Med J* 2003;9:158-63.
- 9.Shah RM, Boyd MA, Vakil TF. Studies of permanent tooth anomalies in 7,886 Canadian individuals I: impacted teeth. *Dent J* 1978;44:262-4.
- 10.Stanley HR, Alattar M, Collett WK, Stringfellow HR Jr, Spiegel EH. Pathological sequelae of "neglected" impacted third molars. *J Oral Pathol* 1988;17:113-7.
- 11.Kramer RM, Williams AC. The incidence of impacted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970;237-41.
- 12.Rozsa N, Fabian G, Szadeczky B, Kaan M, Gabris K, Tarján I. Prevalence of impacted permanent upper canine and its treatment in 11-18-year-old orthodontic patients. *Fogorv Sz* 2003;96:65-9.
- 13.Ezoddini AF, Sheikha MH, Ahmadi H. Prevalence of dental developmental anomalies: a radiographic study. *Community Dent Health* 2007;24:140-4.
- 14.Yavuz MS, Aras MH, Büyükkurt MC, Tozoglu S. Impacted mandibular canines. *J Contemp Dent Pract* 2007;8:78-85.
- 15.Grover PS, Lorton L. The incidence of unerupted permanent teeth and related clinical cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985;59:420-5.
- 16.Sanu OO,TA,MC. Incidence ofmandibularand associated pathologies in an orthodontic patient population in Lagos, Nigeria. *Nig Q J Hosp Med*;22(4):291-5.
- 17.Dural S, Avcı N, Karabıyıköğlü T. Gömük dişlerin görülme sıklığı, çenelere göre dağılımları ve gömülü kalma nedenleri. *Sağ Bil Arş Derg* 1996;7:127-33.

# Effect Of Peer Group Training On Popularizing of Rational Drug Use Among University Students

## Akılcı İlaç Kullanımının Üniversite Öğrencileri Arasında Yaygınlaştırılmasında Akran Grubu Eğitimlerinin Etkisi

- \* Fikriye Yasemin Özatik  
\*\* Ülken Tunga Babaoğlu  
\*\*\* Merve Şen  
\*\*\* Kübra Yurter  
\*\*\* Çağrı Akcan  
\*\*\* Beyza Çevik  
\*\*\* İlayda Ceren Öztürk  
\*\*\* Gülşah Altıntaş
- \* Dumlupınar Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Tıbbi  
Farmakoloji AD./ KÜTAHYA
- \*\* Ahi Evran Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı  
AD./KIRŞEHİR
- \*\*\* Ahi Evran Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Öğrencisi  
KIRŞEHİR

### Yazışma Adresi:

Fikriye Yasemin Özatik  
Dumlupınar University,  
Faculty of Medicine,  
Department of Pharmacology,  
Kutahya/TURKEY

Address: Dumlupınar Üniversitesi,  
Evliya Çelebi Yerleşkesi, Tavşanlı  
Yolu, 10. Km. Kütahya/TURKEY  
GSM: +90 5058097954  
Email: fyozatik@hotmail.com

### Öz

**Amaç:** Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre akılcı ilaç kullanımı (AİK) "kişilerin klinik bulgularına ve bireysel özelliklerine göre uygun ilacı, uygun süre ve dozda en düşük fiyatta ve kolayca sağlayabilmeleri" olarak tanımlanmıştır. Üniversite öğrencileri AİK hakkında doğru tutum ve davranışı geliştirebilmeleri için eğitim almaları gerekir. Araştırmanın amacı öğrencilerin AİK konusunda bilgi sahibi olmalarını sağlamak ve edinmiş oldukları bilgiyi diğer tıp fakültesi öğrencileri ve farklı fakülte öğrencileri ile paylaşmak ve bu konuda bilgi ve tutum değişikliği oluşturmalarını sağlamaktır. **Metod:** Literatür taraması sonucu geliştirilen bir anket formu seçilen AİK Araştırma Grubu öğrencileri tarafından Ahi Evran Üniversitesi Tıp fakültesi ve Fen Edebiyat Fakültesi öğrencilerine yüz yüze görüşme yöntemi ile uygulandı. İlk anket uygulandıktan sonra 5 hafta süre ile AİK Araştırma Grubu tarafından anket uygulanan öğrencilere sunum, poster sunumu, broşür dağıtımı ve eğitici oyunlar gibi etkinlikler aracılığı ile AİK hakkında eğitici bilgiler verildi. Eğitimlerden sonra aynı anket, uygulanan kişilere bir kez daha uygulandı. Çalışmanın istatistik verileri SPSS 20.0 programı kullanılarak değerlendirildi. **Bulgular:** Çalışmaya 300 kişi dahil edilmiştir. Katılımcıların %34.8'i sıklıkla ilaç kullandıklarını belirtmişlerdir. Çalışmaya katılanların eğitim öncesi AİK hakkındaki puan ortalaması  $9,86 \pm 2,72$  iken eğitim sonrasındaki puan ortalaması  $12,98 \pm 2,08$  olarak tespit edildi. Öğrencilerin, eğitim öncesi ve sonrasında AİK ile bilgi düzeyi değerlendirilmeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). **Sonuç:** Tüm bu bulgularla ilaçların akılcı kullanımının üniversite öğrencileri arasında yaygınlaştırılmasında akran eğitiminin oldukça önemli olduğu sonucuna varılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** İlaç, Öğrenci, Eğitim

### Abstract

**Objective:** According to the definition by the WHO, rational drug use (RDU) is defined as that patients receive medications appropriate to their clinical needs, in doses that meet their own individual requirements, for an adequate period of time, and at the lowest cost to them. In this study, the aim was to teach the research group students the stages of scientific research, to ensure they gained knowledge about RDU and shared this knowledge

with other students in the medicine and in a different faculty, ensure changes in knowledge and attitudes about this topic. **Method:** A survey form developed after a literature search was applied by Ahi Evran University Faculty of Medicine RDU research group students to students in the Faculty of Medicine and Science and Literature during face-to-face interviews. After the first survey was applied, the students who answered the survey were informed about RDU by the Faculty of Medicine RDU Research Group through activities like presentations and educational games. The same survey was applied to the students again. The statistical data in the study was assessed using SPSS20.0 program. **Results:** The study included 300 individuals. Of the participants 34.8% stated they frequently used medicines. The mean points for RDU before training were  $9.86 \pm 2.72$ , while after training the mean points were identified as  $12.98 \pm 2.08$ . There was a statistically significant difference between the information levels about RDU before and after training ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** From these results it may be concluded that peer education is very important in popularizing rational use of medicines among students.

**Keywords:** Drug, Students, Education

## Introduction

Rational drug use (RDU) is a process involving a combination of many correct procedures related to the use of medicine. This process is a systematic approach encompassing elements like correct diagnosis of the patient, determination of treatment aims, choice of correct medicine that is appropriate for treatment and has proven efficacy, writing an accurate prescription for the patient, beginning treatment and informing the patient, and continuation, monitoring and assessment of treatment (1). According to the World Health Organization (WHO) definition, RDU is that "patients receive medications appropriate to their clinical needs, in doses that meet their own individual requirements, for an adequate period of time, and at the lowest cost to them and their community". As understood from this definition, among the aims of the RDU approach are preventing excessive and erroneous medicine use, preventing loss to the economy of the country that may result, preventing harm to the individual due to misuse of medicines and reducing antimicrobial resistance rates during treatment with medicines (1; 2).

One of the most significant problems in irrational use of medicine is lack of education. However, it is clear there are many reasons apart from this due to socio-cultural, administrative, economic and regulatory mechanisms (3). In Turkey it appears university students consume medicines ignorantly and mistakenly. There are many reasons for this. The main reasons for the lack of rational use of medicines may be listed as economic insufficiency, limited university opportunities, not applying to health organizations, time problems in applying to health organizations, being far from family, stress and psychological problems (4; 5). It appears that globally spending on medicine has a value close to 900 billion US dollars. This value reveals the size of the financial dimension of irrational use of medicine (6). Medicine errors are perhaps the most important of the mistakes affecting the safety of patients. Due to the lack of education on this topic for young doctors, the percentage of these errors increases every year. A range of data has shown that information-based errors can be reduced by training in the period before and after graduation (7). The WHO presented some recommendations with the aim of popularizing RDU (8). Training before and after graduation was among these recommendations. Similar recommendations were mentioned at a workshop at Refik Saydam Hygiene Center (9). RDU training has special importance to ensure that all health workers providing medicines in society have the correct attitudes and behavior. The majority of medicine errors in hospitals and in the field are made by newly graduated doctors which emphasizes the necessity to include training with the aim of increasing awareness of RDU in the early period of education for doctor candidates studying in medical faculties (10).

In light of this information, a research group was created under the auspices of the Research Group Lesson in the 1st year syllabus of the Faculty of Medicine at Ahi Evran University and a research group of 6 students were requested to complete research related to "Rational Drug Use". Accompanied by a supervising professor, these students planned a study related to "Rational Drug Use". This planned study was completed with the aim of increasing awareness about RDU among medical faculty students and to measure the information and attitudes about RDU among medical faculty and other faculty students through peer training about this topic and to ensure a change in the mistaken information and attitudes.

## Material and Method

The population of this descriptive type study comprised 300 students studying at Ahi Evran University Faculty of Medicine and Ahi Evran University Faculty of Science and Literature.

Data were collected within the scope of the Research Group lesson in the 1st year of Ahi Evran University Faculty of Medicine syllabus in the spring and fall semesters of the 2016- 2017 educational year. A survey form was created after a literature search by the 6 students in the Rational Drug Use research group (5; 11). Written permission was obtained from the relevant organizations and Ahi Evran University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee to collect data and complete the research. The survey form included the sociodemographic characteristics of students and a range of questions about their behavior related to RDU. Before the survey form was applied, the aims were explained to students participating in the research and consent granted; privacy of the students was respected. The survey forms were distributed and collected during the students' breaks. The survey forms were completed during face-to-face interviews. After the first survey was applied, the

Rational Drug Use research group students provided peer education through a range of educational activities like presentations, posters, brochures and brainstorming sessions about RDU. Later the survey was administered again to the same people. It took 10 minutes to complete the survey form.

## Statistical Assessment

Data collected were uploaded to the SPSS 20.0 program. Descriptive data are given as percentage, number and mean. A value of  $p < 0.05$  was accepted as significant.

## Results

The study included 300 students. When the sociodemographic characteristics of the participating students are assessed, mean age was  $20.86 \pm 2.58$  years (min: 17, max:42). Of participating students, 97.7% (n: 284) were students of the science and literature faculty. Of participants, 59.7% were female. The question of whether medicine was used frequently was answered "yes" by 34.8% of students (Table 1). While 88.7% of students answered the question of "on whose advice do you take medicine?" asked to assess RDU with

**Table 1** Correlation of the choroidal and macular thickness between groups

Questions	Survey 1		Survey 1		
Age	Interval 17-42 years				
	Number	Percentage	Number	Percentage	
Faculty	Faculty of Medicine	16	5.3	16	5.3
	Faculty of Science and Literature	284	94.7	284	94.7
Sex	Female	179	59.7	179	59.7
	Male	121	40.3	121	40.3
Do you use medicine frequently?	Yes	104	34.8	104	34.8
	No	196	65.2	196	65.2

“doctor” on the first test, in the second survey this rate rose to 94.3%. While 43% of students answered “yes” to the question “do you advise others about medicine?” on the first test, on the second test the rate answering this question positively fell to 13.3%. The answer “no” was given by 68% to the question “do you take medicine based on the advice of others?” on the first survey, while this rose to 88% on the second survey (Figure 1).

The question “what do you do with medicines left after treatment finishes?” was answered with the response “I give to a health organization” by 9% in the first survey, while this rate rose to 44% on the second survey. On the first survey 45% of participants answered the question “when you want to use medicine found at home, who do you ask?” with “doctor” and this rate was 61% on the second survey. On the first test 48.3% of participants marked “appropriateness for illness” in answer to the question of what to pay attention to when using medicines found at home, while this rate was 69% on the second survey (Figure 2).

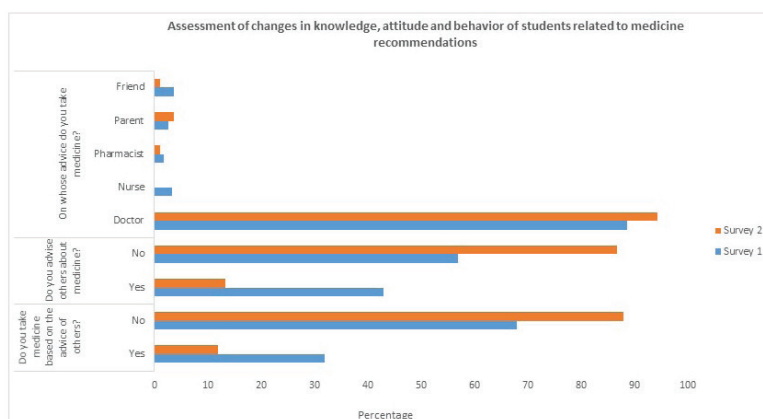
The students answered “I consult a doctor” to the question of “what do you do if you are sick?” 60% of the time on the first survey, and 72.3% of the time on the second survey. The question “do you pay attention to using medicines at the right time and appropriate doses?” assessing compliance with RDU was answered with “yes” by 71.7% of the students on the first survey, while this rate rose to 88.7% on the second survey.

Again the rate of students answering “what way do you use medicines given by a doctor?” with “I use for as long as advised by the doctor or pharmacist” rose from 23% on the first survey to 42.7% on the second survey. The question “when you need any medicine how do you obtain it?” was answered with “from a pharmacy with a prescription” by 49.7%, while on the second survey this response was given by 70.3% (Table 2). In answer to the question of “if you have any food or medicine allergies, do you inform the doctor or relevant health worker?”, 65.7% answered “yes” on the first survey while on the second survey this rate rose to 85% (Table 2).

The question assessing knowledge of rational antibiotic use of “do you use antibiotics without an examination?” was answered “no” by 40.3% on the first survey, while this rate rose to 79% on the second survey (Figure 3).

The final question of “do you use medicine without a doctor’s examination?” was answered “no” by 63.7% on the first survey and by 75% on the second survey (Figure 4).

The mean points for RDU before training were  $9.86 \pm 2.72$  (min:1, max:15), while after training the mean points were identified as  $12.98 \pm 2.08$  (min:6, max:17). There was a statistically significant difference identified in the assessments of students’ knowledge of RDU before and after training (Figure 5).

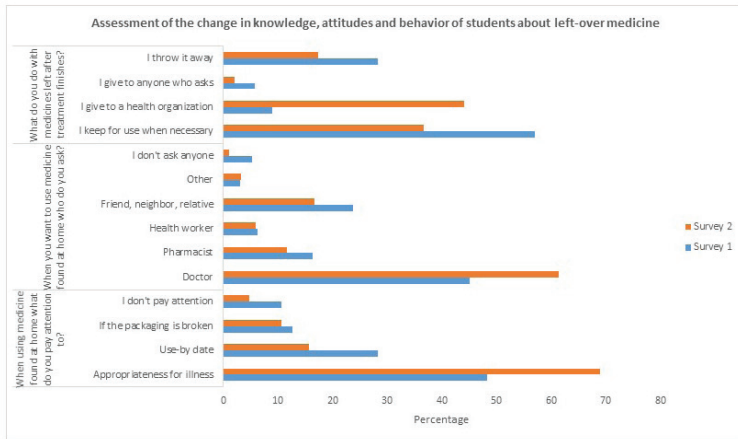


**Figure 1:** Assessment of changes in knowledge, attitude and behavior of students related to medicine recommendations

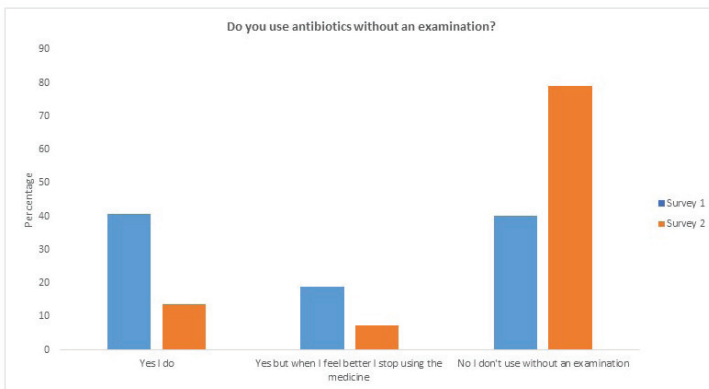


Table 2 Correlation of the choroidal and macular thickness between groups

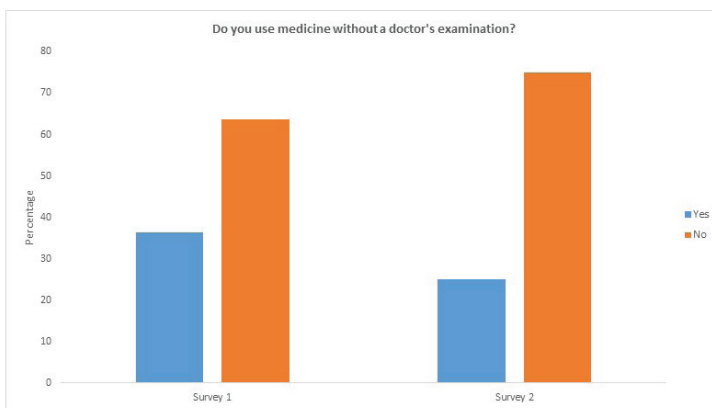
Questions	Responses	Survey 1		Survey 2	
		Number	Percentage	Number	Percentage
What do you do if you are sick?	I consult a doctor	18	60	217	72.3
	I consult a pharmacist	12	4	0	0
	I consult a health worker	19	6.3	11	3.7
	I consult known neighbors and relatives	6	2	0	0
	I try herbal treatment methods	45	15	40	13.3
	I use medicines found at home	25	8.3	21	7
	Other	13	4.3	11	3.7
Do you pay attention to using medicines at the right time and appropriate doses?	Yes	215	71.7	266	88.7
	No	85	28.3	34	11.3
What way do you use medicines given by a doctor?	I use until the medicine is finished	66	22	32	10.7
	I use until my complaint resolves	153	51	133	44.3
	I use for as long as advised by the doctor or pharmacist	69	23	128	42.7
	Other	12	4	7	2.3
What do you do if you encounter side effects of medicine?	I apply to a doctor	211	70.3	222	74
	I apply to a pharmacist	32	10.7	28	9.3
	I apply to assistant health workers	18	6	23	7.7
	I find my own solution	25	8.3	26	8.7
	I don't do anything	14	4.7	1	3
When you need any medicine how do you obtain it?	From a pharmacy with a prescription	149	49.7	211	70.3
	From a pharmacy without a prescription	65	21.7	31	10.3
	I use ones at home	30	10	58	19.3
If you have any food or medicine allergies, do you inform the doctor or relevant health worker?	Yes	197	65.7	255	85
	No	53	17.7	5	1.7
	I inform them if they ask	50	16.7	40	13.3



**Figure 2:** Assessment of the change in knowledge, attitudes and behavior of students about left-over medicine



**Figure 3:** Use of antibiotics without an examination



**Figure 4:** Medicine use without doctor examination

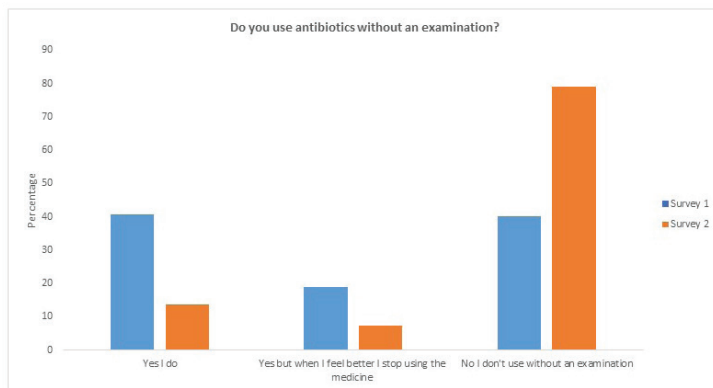


Figure 5: Mean points, (\*) =  $p < 0.05$

## Discussion

Of students participating in the study, 88.7% stated they took medication on the advice of doctors (Figure 1). This rate is similar to the one found in the study by Karakurt et al. of 80% (5). However, after peer education in our study, this rate increased to 94.3%. This increase shows that peer training is very effective for RDU. Peer education is based on the fact that young people interact and identify better with their peers and is an education activity developed based on the social learning concept (11). It is a very effective educational method. This educational method has been used for young people in previous studies for topics like violence, family planning and substance abuse; however there was no study encountered on the use of peer education for RDU. As a result, our study is very valuable as an example for education about RDU. In our study 43% of students stated they gave advice about medicines, while after training this rate fell to 13%. Again, while students took medicine based on the advice of others before training, after training the rate of those who would not take such medicine increased to 88% (Figure 1). Another study found 17% of participants used medicine based on advice from those around them, while 25.3% recommended medicine that worked for them to others (12). In our study, these values are similar. However, we see there is a reduction in those taking medicine on the advice of others after training.

In the assessment of the knowledge, attitude and behavior of students to left over medicine, 9% answered that they gave left-over medicine to "health organizations" while after training this rate increased to 44%. On

the subject of medicine found at home, on the second survey 61% of students stated they got their information from doctors (Figure 2). Another study found students used medicine without prescriptions due to lack of time for 37.6%, due to the intensity of lessons for 12.4% and due to the intensity of lessons for 6.4% (13). The use of unprescribed medicine is a very serious problem in RDU. Medicines prescribed but not used and left at home is another serious problem. In fact, antibiotics are mainly found among half-finished medicine at home. Not complying with the duration of use of antibiotics leads to half-finished antibiotic packets left at home. When people get sick again, they go to the doctor for examination but rather than getting prescription medicine they use the half-finished antibiotics at home. Hence in our study in answer to the question "do you use antibiotics without examination?", the majority of students answered "yes" on the first survey (Figure 3). A study in Izmir identified that 83% of participants used non-prescription antibiotics (14). However, after peer training in our study the majority of students stated they would not use antibiotics without a doctor's examination. This result shows that peer training is very effective at changing knowledge, attitudes and behavior about RDU. On the first survey 63.7% of students answered "no" to the question "would you use medicine without a doctor's examination?" while on the second survey this rate increased to 75% (Figure 4). A study by Kiran et al. identified that non-diagnosis medicine consumption was most common for groups like pain killers, multivitamin preparations and stomach medicines (15).

There was a serious increase in the percentage of responses to the question assessing compliance of



patient medicine use with RDU between the first and second survey (Table 2). Compliance is the patient's compliance with the treatment regime and active role in this process. Lack of compliance during treatment causes deficiencies and inconsistency during the treatment process (16). As a result treatment compliance is a very important topic in RDU. Before RDU peer training, 49.7% of students stated they obtained medicine from pharmacies with prescriptions. This rate increased to 70.3% after training (Table 2). A study in Ankara found that 72.8% of people with medicines at home had the medicines prescribed by a doctor and bought at a pharmacy (17). A study by Bilgili et al. (18) found that 33.8% of participants in the study had bought medicines without a prescription from pharmacies. In our study, the rate buying medicines from pharmacies without prescriptions was 21.7%, while after training this regressed to 10.3%. On the first survey, 65.7% of students stated they would inform doctors or relevant health personnel about any food or medicine allergies. On the second survey after training, this rate rose to 85% (Table 2). A study by Vural et al. (19) showed the majority of participants paid attention to situations like asking about allergies.

In our study we saw the mean points about RDU were  $9.86 \pm 2.72$  (min: 1, max: 15) on the first survey. However after training the mean points were identified as  $12.98 \pm 2.08$  (min: 6, max: 17). A statistically significant difference was identified between the knowledge levels of RDU before and after training ( $p < 0.05$ ) (Figure 5). This result show how effective our peer training related to RDU was in changing the behavior of participating students related to RDU.

### Conclusion And Recommendations

RDU is a very important topic related to preserving and increasing the health of society. Research in OECD countries in recent years have shown that Turkey was in 1st place with very high rates of 42.2% irrational use of antibiotics indicating that more importance should be given to RDU in our country. University students comprise an important section of society and are a group most open to learning. Medical faculty students comprise the doctors of the future. Peer group training is education completed in a friendly environment among students. Groups trained in this way have been proven to display permanent behavior changes. In light of this knowledge, to increase the knowledge related to RDU and create permanent

behavior changes, peer groups of medical faculty students especially should be created in universities and training should be planned for their friends and students from different faculties. Our study proves that planning this type of training is very effective in relation to RDU.

### References

1. İskit AB. Rational Drug Therapy. *Sted* 2006; 15: 4-5.
2. Vancelik S, Calıkoglu O, Güraksın A, Beyhun E. The basic factors that impact the prescribing and the status of consideration of the rational drug usage criterias of general practitioners. *Eurasian Journal of Medicine* 2006; 38: 7-12.
3. Akıcı A, Uğurlu MÜ, Gönüllü N, Oktay Ş, Kalaça S. Pratisyen hekimlerin akılcı ilaç kullanımını konusunda bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi. *Sted* 2002; 11: 253-257.
4. İpteş S, Khorshid L. Üniversite öğrencilerinin ilaç kullanım durumlarının incelenmesi. *Ege Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Dergisi*. 2004; 20: 97-106.
5. Karakurt P, Hacıhasanoğlu R, Yıldırım A, Sağlam S. Medication Use among University Students. *TAF Prev Med Bull* 2010; 9: 505-512.
6. Aydın B, Gelal A. <http://www.tfd.org.tr>. Türk Farmakoloji Derneği 2011. [http://www.tfd.org.tr/kfcd/ebul-ten/56\\_2\\_AyşeGelal\\_BurcAydın.pdf](http://www.tfd.org.tr/kfcd/ebul-ten/56_2_AyşeGelal_BurcAydın.pdf).
7. Likic R, Maxwell SR. Prevention of medication errors: teaching and training. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2009; 67: 656-661.
8. Promoting rational use of medicines: core components. WHO Policy perspectives on medicines Sep 2002; World Health Organization, Geneva, Switzerland.
9. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü. Sonuç raporu. Akılcı ilaç kullanımı çalıştayı Ankara, 22-23 Aralık 2006,
10. Heaton A, Webb DJ, Maxwell SR. Undergraduate preparation for prescribing: the views of 2413 UK medical students and recent graduates. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2008; 66: 128-134.
11. Ozyigit F, Arıkan İ. University Students' Attitudes and Behaviors on Rational Drug use Knowledge, in Kütahya province. *Bozok Med J* 2015; 10: 47-52.
12. Yapıcı G, Balıkçı S, Uğur Ö. Attitudes and behavior of drug usage in applicants to primary health care center. *Dicle Medical Journal* 2011; 38: 458-465.
13. İpteş S, Khorshid L. Üniversite öğrencilerinin ilaç

- kullanım durumlarının incelenmesi. Ege Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Dergisi 2004; 20: 97-106.
- 14.Çalışkan S, Esen A. Toplum antibiyotik ve antibiyotik kullanımını ne kadar biliyor? Nasıl davranıyor? IX. Halk Sağlığı Kongresi. 3-6 Kasım 2014-Ankara, <http://halksagligi.org/halkmed/index.php?id=2585>(Erişim Tarihi: 29.07.2009).
- 15.Kıran S, Uçku R. Sağlık çalışanlarında tanı almış hastalıklar ve ilaç kullanımı.9. Halk Sağlığı Günleri. 28 Eylül- 1 Ekim 2005, Ankara <http://halksagligi.org/halkmed/index.php?id=3318>(Erişim Tarihi:29.07.2009).
- 16.Toklu HZ, Akıcı A, Uysal MK, Ayanoğlu Dülger G. Akılcı İlaç Kullanımı Sürecinde Hasta Uyuncuna Hekim ve Eczacının Katkısı. Türk Aile Hek Derg 2010; 14: 139-145.
- 17.Göçgeldi E, Uçar M, Açıkkel CH, Türker T, Hasde M, Ataç A. Investigation of Frequency of Leftover Drugs at Home and Related Factors. TAF Preventive Medicine Bulletin 2009; 8: 113-118.
- 18.Bilgili N, Karatay G. Determination of Some Practices About Drug Consumption of Individuals Living In Sait Yazici Health Center Area. Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi 2005; 12: 39-48.
- 19.Vural F, Çiftçi S, Vural B. Sık karşılaşılan ilaç uygulama hataları ve ilaç güvenliği. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2014; 5: 271- 75.

## Tiroid Karsinomu Olgularında İnce İğne Aspirasyonu Bulguları

### Fine-Needle Aspiration Findings in Cases of Thyroid Carcinoma

#### Öz

\* Perihan UDUL  
\*\* Figen BARUT  
\*\* Şükrü Oğuz ÖZDAMAR

\* Isparta Şehir Hastahanesi,  
Isparta, TÜRKİYE

\*\* Bülent Ecevit Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji  
Anabilim Dalı, Zonguldak,  
TÜRKİYE

**Amaç:** Preoperatif dönemde ince iğne aspirasyon sitolojisi uygulanmış 93 tiroid karsinom olgusuna ait sitopatoloji preparatlarının Bethesda Sistemine göre yeniden değerlendirilmesi ve bulguların klinikopatolojik veriler ile olan ilişkisi incelendi. **Gereç ve Yöntem:** 93 olgunun sitopatoloji raporlarındaki tanımlar gözlemci tarafından Bethesda Sistemi'ne göre kategorize edildi (grup 1) ve önceki tanıları bilinmeksizin sitopatoloji preparatları yeniden tarandı; Bethesda Sistemi'ne göre tanı verildi (grup 2). Her iki tanı grubu arasındaki fark ve/veya uyumsuzluk sorgulandı. Folliküler patern gösteren karsinomların sitopatoloji tanıları arasındaki fark ve/veya uyumsuzluk da araştırıldı. Yaş, cinsiyet, tümör tipi, tümörün boyutu, tümör odak sayısı, karsinoma eşlik eden komponent ve ilk rezeksiyon tipi olarak değerlendirme kapsamına alınan klinikopatolojik veriler incelendi. **Bulgular:** Çalışmamızda iki tanı grubu arasındaki fark ( $p=0.522$ ) anlamlı bulunmazken, gruplar arasında orta derecede uyum saptandı ( $kappa=0.493$ ). Folliküler patern gösteren karsinom olgularında ise iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ( $p=0.560$ ); orta derecede uyum gözlemlendi ( $kappa=0.555$ ). Her iki tanı grubunun tümör tipi, tümör odak sayısı ve eşlik eden komponent ile olan ilişkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, grup 1'in tümör boyutu ile ilişkisi anlamlı bulundu. **Sonuçlar:** Çalışmamızdaki olguların tamamı histopatolojik olarak karsinom tanısı almış ise de sitopatolojik olarak hepsi 'Malign' grupta kategorize edilememiştir. Bethesda Sistemi'ne göre her tanı kategorisinde az da olsa malignite riski olduğundan ince iğne aspirasyon sitolojisine ek olarak klinik ve radyolojik özelliklerin dikkatli olarak değerlendirilmesi tiroid karsinomu olgularının gözden kaçırılmamasını sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Bethesda Sistemi, İnce iğne aspirasyon sitolojisi, Tiroid karsinomu

#### Abstract

**Objective:** The re-evaluation of 93 cytopathology preparations belonging to thyroid carcinoma cases that underwent fine needle aspiration cytology in the preoperative period according to the Bethesda System and the examination of the relationship between findings and clinicopathological data. **Material and Method:** Cytopathology reports in 93 cases were categorized by observers that have been diagnosed according to the Bethesda System (group 1) and cytopathology preparations were scanned again without knowing the previous diagnosis; was diagnosed according to the Bethesda System (group

#### Yazışma Adresi:

Dr. Perihan UDUL  
Isparta Şehir Hastahanesi,  
ISPARTA, TÜRKİYE.

Telefon : (505) 904 39 91  
Faks: (246) 218 40 22  
E-posta: dr.perihan@hotmail.com

2). The difference and/or non-compliance between the two diagnostic groups have been questioned. The difference and/or non-compliance between carcinomas showing follicular patterns through cytopathology diagnosis were also investigated. Clinicopathological data which included the first resection as age, gender, tumor type, tumor size, number of tumor foci, concomitant carcinoma component and the type of evaluation were analyzed. **Results:** In our study, the difference between the two diagnostic groups was not significant ( $p=0.522$ ) but compliance between the groups was moderate ( $kappa=0.493$ ). There was no statistically significant difference between the two groups showing the pattern of follicular carcinomas ( $p=0.560$ ); compliance was observed moderate ( $kappa=0.555$ ). There was no statistically significant relationship between each of the two diagnostic groups, tumor type, number of tumor foci and accompanying components; on the other hand, the correlation between tumor size and group 1 was significant. **Conclusion:** Even all the patients in our study have a diagnosis of carcinoma histopathologically; cytologically they could not be categorized as 'malignant'. According to the Bethesda System, in each diagnostic category there is a slight risk of malignancy and in addition to the fine needle aspiration cytology, a careful evaluation of clinical and radiological features will ensure the situation of patients with thyroid carcinoma not being overlooked.

**Keywords:** Bethesda System, Fine needle aspiration cytology, Thyroid carcinoma

## Giriş

Tiroid kanserleri dünya genelinde yıllık 122.000 olgu sayısı ile tüm malignitelerin yaklaşık %1'ini oluşturur. Tiroid kanserleri, benign tümörlere göre daha seyrek, ancak en yaygın endokrin maligniteyi temsil eder. Epitelial tümörler arasında follikül hücre kökenli kanserler, C hücre kökenlilerden sayıca daha fazladır. Follikül hücre kökenli kanserlerin büyük çoğunluğu, 10 yıllık yaşam süresinde %90'ın üzerinde sağkalım ile birlikte olan yavaş seyirli malignitelerdir. Tiroid kanserlerinin insidansı zamanla artarken, erken tanı ve tedavideki yenilikler ile mortalite oranı azalmaktadır (1).

İnce iğne aspirasyon sitoloji (İİAS); uygulaması kolay, hastaya acı vermeyen, çok seyrek olarak hematoma, ödem ve enfeksiyon dışında komplikasyon oluşturma-

yan, kısa sürede teşhise imkân sağlayan ucuz ve non-travmatik bir yöntemdir (2,5-7). İİAS'nin tiroid nodüllerinin değerlendirilmesindeki en büyük önemi ise kanser tanısı verebilmesi ve yapılacak ameliyatın genişliğini önceden planlamaya olanak sağlamasıdır. Endokrinoloji kliniklerinde rutin hale gelmesi ile birçok hastayı da gereksiz cerrahi uygulamadan kurtarmakta ve tedavi türünün seçilmesine yardımcı olmaktadır (2, 8-11).

Tiroid nodülü olan hastalarda İİAS gereksiz cerrahi uygulamayı azaltırken, malign nodülü olan hastalara klinik yaklaşım için hızlı ve doğru bir triyajı sağlar. Bu nedenle, sitopatoloğun İİAS yorumunu klinisyene açık, net ve klinik olarak kullanışlı terimler ile ilemesi çok önemlidir (12). Tiroid sitopatolojisindeki karışıklıklara son vermek için Ekim 2007'de bir grup klinisyen ve patolog Bethesda, Maryland, ABD'deki Ulusal Kanser Enstitüsü'nde tiroid sitopatolojisi raporlamasında Bethesda Sistemi'ni tanımladı (13). İletişimin anlaşılır olması için tiroid sitopatolojisi raporlamasında Bethesda Sistemi, her tiroid İİAS raporunun genel bir tanı kategorisi ile başlamasını önermektedir (12, 14).

Bu çalışmada tiroid karsinomu olgularında, sitopatoloji preparatlarının Bethesda Sistemi'ne göre yeniden değerlendirilmesi ve bulguların klinikopatolojik veriler ile olan ilişkisini incelemeyi amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2000-2013 yılları arasında tiroid karsinomu tanısı almış 142 olgudan preoperatif dönemde İİAS uygulanmış 93 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olguların klinik verileri hasta dosyalarından, sitopatolojik ve histopatolojik verileri ise patoloji raporlarından derlenmiştir. Olguların yaşı, cinsiyeti, sitopatoloji tanıları, tümör tipi, tümörün boyutu, odak sayısı, karsinoma eşlik eden komponent ve ilk rezeksiyon tipi değerlendirme kapsamına aldığımız klinikopatolojik verilerdir.

Olgulardaki tümör boyutu, odak sayısı, karsinoma eşlik eden komponent hematoxilen&eosin (H&E) kesitlerinden ve patoloji raporlarından; olguların yaşı, cinsiyeti ve ilk rezeksiyon tipi ise hasta dosyalarından elde edilmiştir. Olgulara ait ilk tiroid rezeksiyon materyalinin H&E kesitleri tekrar incelenerek histopatolojik tanımlar doğrulanmıştır. Tanılarda değişiklik olmamıştır.

Olguya ait birden fazla İİAS varsa en son yapılan

sitopatoloji materyali çalışmaya dahil edilmiştir. Sitopatoloji raporlarındaki tanıları gözlemci tarafından Bethesda Sistemi'ne göre 'Non-diyagnostik/Yetersiz', 'Benign', 'Önemi Belirsiz Atipi veya Önemi Belirsiz Folliküler Lezyon (AUS)', 'Folliküler Neoplazi veya Folliküler Neoplazi Şüphesi (FN/FNŞ)', 'Malignite Şüphesi (MŞ)' ve 'Malign' olarak kategorize edilmiştir (grup 1). Sitopatoloji preparatları önceki tanıları bilinmeksizin aynı gözlemci tarafından yeniden taranarak Bethesda Sistemi'ne göre tekrar altı grupta sınıflandırılmıştır (grup 2). Grupların tümör boyutu, tümör odak sayısı, tümörün histopatolojik tipi ve karsinoma eşlik eden komponent ile olan ilişkileri sorgulanmıştır. Grup 1 ve grup 2 arasındaki fark ve/veya uyumsuzluk incelenmiştir. Folliküler patern gösteren karsinomların aspirasyon materyalleri arasındaki tanıların farklılığı ve/veya uyumsuzluğu da araştırılmıştır.

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalaması±standart sapma, kategorik yapıdaki veriler ise sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik yapıdaki değişkenler bakımından gruplar arasındaki farklılıklar ve değişkenler arasındaki ilişkiler 'Ki-kare' testi ile incelendi. Sitopatoloji raporlarından elde edilen tanı grupları ile gözlemci tarafından verilen sitopatoloji tanı grupları arasındaki farklılık, 'Genelleştirilmiş Tahmin Eşitlikleri (GEE)' yöntemi ile bu tanıları arasındaki uyum ise 'Kappa' analizi ile değerlendirildi ve  $p < 0.05$  değerleri anlamlı kabul edildi.

## Sonuçlar

2000-2013 yılları arasında tiroid karsinomu tanısı almış 142 olgunun 93'üne (%65.5) peoperatif dönemde İİAS uygulanmıştır. Bu çalışmadaki 93 olgunun yaş ortalaması  $45.8 \pm 12.6$  olup, minimum yaş 21 ve maksimum yaş 81'dir. Bu olguların 13'ü (%14.0) erkek ve 80'ü (%86.0) kadındır. Histopatolojik tanılarına göre bu karsinomların dağılımları; 11 adet (% 11.8) iyi diferansiye karsinom (spesifiye edilemeyen), 71 adet (%76.3) papiller karsinom (PK), 4 adet (%4.3) folliküler karsinom (FK), 2 adet (%2.2) az diferansiye karsinom, 3 adet (% 3.2) medüller karsinom (MK) ve 2 adet (%2.2) diğer tip karsinomlardır. Karsinom tiplerine göre yaş ortalamaları ise PK için  $44.1 \pm 11.6$ , FK için  $51.2 \pm 17.3$ , az diferansiye karsinom için  $59.0 \pm 2.8$  ve MK için  $49.0 \pm 2.0$ 'dir.

PK tanısı almış 71 olgunun 22'si (%31.0) klasik tip

iken; 31'i (%43.7) mikrokarsinom, 1'i (%1.4) enkapsüle varyant, 14'ü (%19.7) folliküler varyant, 3'ü (%4.2) ise onkositik varyanttır.

Olguların tümör boyutları; 18 adeti (%19.4) 1-5 mm, 19 adeti (%20.4) 6-10 mm, 28 adeti (% 30.1) 11-20 mm, 22 adeti (%23.7) 21-40 mm ve 6 adeti (%6.5) de 40 mm'den büyüktür. Tiroid dokusunda karsinoma eşlik eden komponent olarak 48'inde (%51.6) nodüller hiperplazi, 14'ünde (%15.1) Hashimoto tiroiditi, 13'ünde (%14.0) nonspesifik lenfositik tiroidit, 9'unda (%9.7) benign tiroid dokusu, 5'inde (%5.4) folliküler adenom ve 4'ünde (% 4.3) tiroide ait diğer lezyonlar gözlenmiştir.

İİAS yapılmış olguların 75'ine total tiroidektomi, 10'una lobektomi ve 8'ine de farklı yöntemler uygulanmıştır. İlk rezeksiyon tiplerinin sitopatoloji tanılarına göre dağılımları; 'Yetersiz' olarak raporlanan 14 olgunun 8'ine total tiroidektomi; 'Benign' olarak raporlanan 27 olgunun 22'sine total tiroidektomi ve 4'üne lobektomi; 'AUS' olarak raporlanan 9 olgunun 8'ine total tiroidektomi ve 1'ine lobektomi; 'FN/FNŞ' olarak raporlanan 30 olgunun 24'üne total tiroidektomi ve 4'üne de lobektomi; 'MŞ' ve 'Malign' olarak tanı almış 13 olgunun tamamına total tiroidektomi uygulanmıştır.

Grup 1'deki tanı grupları ile tümör boyutu, tümörün histopatolojik tipi, tümör odak sayısı ve karsinoma eşlik eden komponent ile olan ilişkileri araştırılmıştır (Tablo I). Sitopatoloji tanı gruplarının tümör boyutu ile ilişkisi ( $p=0.061$ ), tümörün histopatolojik tipi ile olan ilişkisi ( $p=0.275$ ), tümör odak sayısı ile ilişkisi ( $p=0.601$ ) ve karsinoma eşlik eden komponent ile olan ilişkisi ( $p=0.170$ ) anlamlı bulunmamıştır.

Grup 2'deki tanı grupları ile tümör boyutu, tümörün histopatolojik tipi, tümörün odak sayısı ve karsinoma eşlik eden komponent ile olan ilişkisi de incelenmiştir (Tablo II). Tanı grupları ile tümör boyutu ilişkisi ( $p < 0.001$ ) anlamlı bulunmuştur; ancak tümör histopatolojik tipi ile ilişki ( $p=0.122$ ), tümör odak sayısı ile ilişki ( $p=0.168$ ) ve karsinoma eşlik eden komponent ile olan ilişki ( $p=0.527$ ) anlamlı bulunmamıştır.

Grup 1 ile grup 2 tanıları arasındaki fark ( $p=0.522$ ) anlamlı bulunmadı; orta derecede uyum gözlemlendi (kappa=0.493) (Şekil 1). 'MŞ', 'grup 1'de olguların 6'sında (%6.5) tanımlanırken grup 2'de ise 9'unda (%9.7) tanımlanmıştır. 'Malign' tanısı her iki grupta da eşittir (%7.5) (Resim 1-3).



Tablo 1 Raporlardan elde edilen parametreler ile 'grup 1'deki tanı gruplarının ilişkisi

	Yetersiz n (%)	Benign n (%)	AUS n (%)	FN/FNŞ n (%)	MŞ n (%)	Malign n (%)
<b>Tümör boyutu</b>						
1-10 mm	5 (35.7)	16 (59.3)	4 (44.4)	10 (33.3)	2 (33.3)	0 (0.0)
11-40 mm	7 (50.0)	10 (37.0)	5 (55.6)	19 (63.3)	4 (67.3)	5 (71.4)
>40 mm	2 (14.3)	1 (3.7)	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)	2 (28.6)
Toplam	14 (100.0)	27 (100.0)	9 (100.0)	30 (100.0)	6 (100.0)	7 (100.0)
p	0.061					
<b>Tümör tipi</b>						
İyi diferansiye	1 (7.1)	4 (14.8)	1 (11.1)	5 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
Papiller	10 (71.4)	22 (81.5)	8 (88.9)	21 (70.0)	6 (100.0)	4 (57.1)
Foliküler	2 (14.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (6.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
Medüller	0 (0.0)	1 (3.7)	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)	1 (14.3)
Diğer	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)	2 (28.6)
Toplam	14 (100.0)	27 (100.0)	9 (100.0)	30 (100.0)	6 (100.0)	7 (100.0)
p	0.275					
<b>Odak Sayısı</b>						
1	7 (50.0)	22 (81.5)	6 (66.7)	24 (80.0)	4 (66.7)	4 (57.1)
2	4 (28.6)	4 (14.8)	1 (11.1)	4 (13.3)	1 (16.7)	2 (28.6)
≥3 veya belirsiz	3 (21.4)	1 (3.7)	2 (22.2)	2 (6.7)	1 (16.7)	1 (14.3)
Toplam	14 (100.0)	27 (100.0)	9 (100.0)	30 (100.0)	6 (100.0)	7 (100.0)
p	0.061					
<b>Eşlik eden</b>						
Benign tiroid	1 (7.1)	4 (14.8)	0 (0.0)	2 (6.7)	0 (0.0)	2 (28.6)
Nodüler	7 (50.0)	19 (70.4)	5 (55.6)	12 (40.0)	2 (33.3)	3 (42.9)
Lenfositik t.	2 (14.3)	1 (3.7)	1 (11.1)	8 (26.7)	0 (0.0)	1 (14.3)
Hashimoto t.	3 (21.4)	1 (3.7)	2 (22.2)	5 (16.7)	3 (50.0)	0 (0.0)
Adenom	0 (0.0)	1 (3.7)	1 (11.1)	2 (6.7)	1 (16.7)	0 (0.0)
Diğer	1 (7.1)	1 (3.7)	0 (0.0)	1 (3.3)	0 (0.0)	1 (14.3)
Toplam	14 (100.0)	27 (100.0)	9 (100.0)	30 (100.0)	6 (100.0)	7 (100.0)
p	0.170					

Çalışmada folliküler patern gösteren karsinom tanılı 29 olguda (11'i iyi diferansiye karsinom, 14'ü PK folliküler varyant, 4'ü FK) 'grup 1' ile 'grup 2' tanı grupları arasındaki fark ( $p=0.560$ ) anlamlı bulunmamış; orta derecede uyum gözlenmiştir ( $kappa=0.555$ ) (Şekil 2).

## Tartışma

Tiroid karsinomları esas olarak genç ve orta yaş erişkinlerde gelişirken çocuklarda seyreklerdir. Kadınlarda erkeklere göre 2-4 kat daha fazla oranda görülmek-

## Tiroid Karsinomu Olgularında İnce İğne Aspirasyonu Bulguları

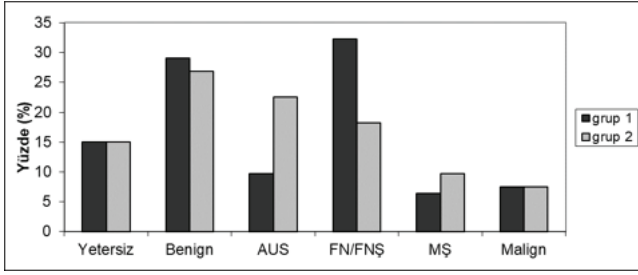
**Tablo 2** Raporlardan elde edilen parametreler ile 'grup 2'deki tanı gruplarının ilişkisi

	Yetersiz n (%)	Benign n (%)	AUS n (%)	FN/FNŞ n (%)	M.Ş n (%)	Malign n (%)
<b>Tümör boyutu</b>						
1-10 mm	4 (28.6)	18 (72.0)	8 (38.1)	7 (41.2)	0 (0.0)	0 (0.0)
11-40 mm	8 (57.1)	6 (24.0)	12 (57.1)	10 (58.8)	9 (100.0)	5 (71.4)
>40 mm	2 (14.3)	1 (4.0)	1 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (28.6)
Toplam	14(100.0)	25 (100.0)	21 (100.0)	17 (100.0)	9 (100.0)	7 (100.0)
p	<0.001					
<b>Tümör tipi</b>						
İyi diferansiye	1 (7.1)	3 (12.0)	3 (14.3)	3 (17.6)	1 (11.1)	0 (0.0)
Papiller	9 (64.3)	22 (88.0)	17 (81.0)	11 (64.7)	8 (88.9)	4 (57.1)
Foliküler	2 (14.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (11.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
Medüller	1 (7.1)	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (14.3)
Diğer	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)	2 (28.6)
Toplam	14 (100.0)	25 (100.0)	21 (100.0)	17 (100.0)	9 (100.0)	7 (100.0)
p	0.122					
<b>Odak sayısı</b>						
1	7 (50.0)	22 (88.0)	16 (76.2)	13 (76.5)	4 (44.4)	5 (71.4)
2	4 (28.6)	1 (4.0)	4 (19.0)	2 (11.8)	3 (33.3)	2 (28.6)
≥3 veya belirsiz	3 (21.4)	2 (8.0)	1 (4.8)	2 (11.8)	2(22.2)	0 (0.0)
Toplam	14 (100.0)	25 (100.0)	21 (100.0)	17 (100.0)	9 (100.0)	7 (100.0)
p	0.168					
<b>Eşlik eden</b>						
Benign tiroid	2 (14.3)	2 (8.0)	1(4.8)	1 (5.9)	1 (11.1)	2 (28.6)
Nodüler	7 (50.0)	16 (64.0)	10 (47.6)	7 (41.2)	5 (55.6)	3 (42.9)
Lenfositik t.	2 (14.3)	1 (4.0)	4 (19.0)	4 (23.5)	1 (11.1)	1 (14.3)
Hashimoto t.	2 (14.3)	5 (20.0)	3 (14.3)	2 (11.8)	2 (22.2)	0 (0.0)
Adenom	0 (0.0)	1 (4.0)	1 (4.8)	3 (17.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Diğer	1 (7.1)	0 (0.0)	2 (9.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (14.3)
Toplam	14 (100.0)	25 (100.0)	21 (100.0)	17 (100.0)	9 (100.0)	7 (100.0)
p	0.527					

te, fakat bu cinsiyet farklılığı çocuklarda ve yaşlılarda daha az belirgindir (1). Olgularımızda minimum yaş 21, maksimum yaş 81 ve yaş ortalaması 45.8±12.6'dır.

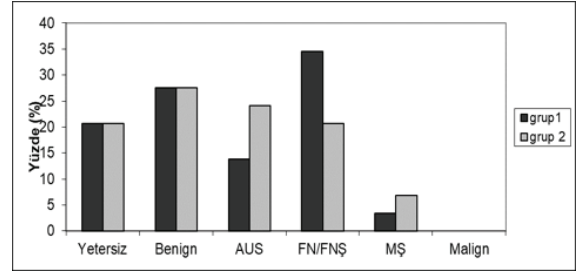
Bu olguların 13'ü (%14.0) erkek ve 80'ı (% 86.0) kadın olup literatürdekine benzer oran saptanmıştır.

Tiroid karsinomlarının büyük çoğunluğu (%95) folliküler hücrelerden kaynaklanmaktadır (15). Tiroid karsinomlarının yaklaşık %70-80'ini PK, %10-15'ini FK, %7-10'unu MK, %5-10'unu anaplastik karsinom oluşturmaktadır (16). Diğer karsinom tiplerinin görülme sıklığı daha azdır (1). Olgularımızın histopatolojik



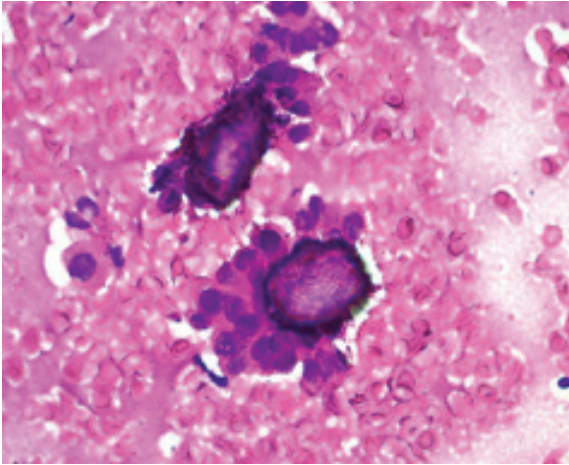
Kappa uyum katsayısı: <0.20= yetersiz, 0.00-0.20= çok zayıf, 0.21-0.40= zayıf, 0.41-0.60= orta, 0.61-0.80= iyi, >0.80= çok iyi

**Şekil 1:** Grup 1 ile grup 2 tanıların karşılaştırılması

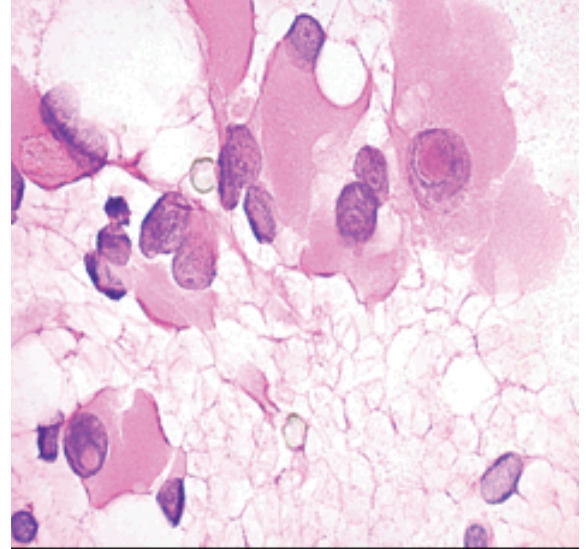


Kappa uyum katsayısı: <0.20= yetersiz, 0.00-0.20= çok zayıf, 0.21-0.40= zayıf, 0.41-0.60= orta, 0.61-0.80= iyi, >0.80= çok iyi

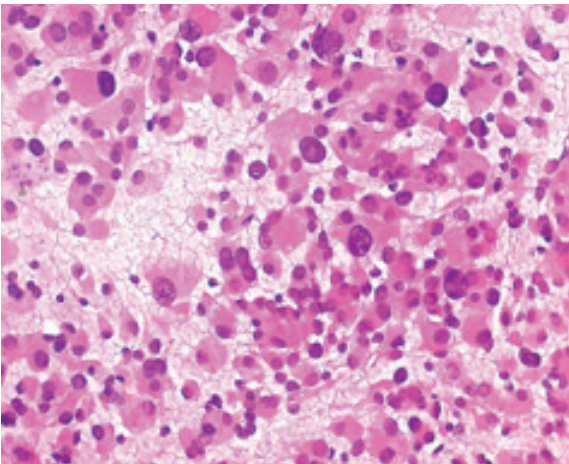
**Şekil 2:** Folliküler patern gösteren karsinom olgularında 'grup 1' ile 'grup 2'nin tanı gruplarının karşılaştırılması



**Resim 1:** Konsantrik halkalara sahip psammom cisimcikleri etrafında atipik epitel hücre kümeleri ('Malign' yayma) (H&E) (Olgu 90).



**Resim 2:** Nükleer irileşme ve nükleer inklüzyon içeren atipik hücreler ('Malign' yayma) (H&E) (Olgu 83).



**Resim 3:** Non-koheziv atipik epitelyal hücrelerin yaygın olarak izlendiği selüler yayma ('Malign' yayma) (H&E) (Olgu 16).



tanılarına göre dağılımları; özellikle PK'un dağılımı literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Tiroidde İİAS endikasyonu konusunda tam bir görüş birliği olmasa da 10-15 mm'den büyük nodül varlığında yöntemin uygulanması önerilir (17). İİAS 5 mm'nin altına genel olarak uygulanmazken; eğer şüpheli ultrasonografik değişiklikler mevcut ise 5 mm'nin altındaki nodüllere de uygulanabilir (18). Mikrokarsinomların çoğu tiroid otopsilerinde insidental bulunmakta veya klinik olarak benign takip edilen nodüllerle birlikte göstermektedir (19). Muzafferi ve ark. göre küçük tiroid nodüllerinde özellikle de 5 mm altındaki nodüllerde İİAS'nin yüksek oranda non-diagnostik çıktığını savunmaktadır (20). Pinchot ve ark. ise  $\geq 40$  mm büyük nodüllerde İİAS'de yanlış-negatiflik oranı artacağından bunlara cerrahi uygulama önermekte ve mikrokarsinomlar için yanlış negatifliğin %8 olduğunu belirtmişlerdir (21). Çalışmamızda 1- 10 mm boyutunda tespit edilen 37 olgunun 5'i sitopatoloji raporlarında 'Non-diagnostik' ve 16'sı 'Benign' olarak tanı almıştır. Ayrıca 40 mm üzerinde 6 olgunun 1'i 'Non-diagnostik' ve 2'si de 'Benign' olarak kategorize edilmiştir. Tümör boyutu  $\leq 10$  mm ve  $\geq 40$  mm olan olgularımızda yanlış negatif tanı grubunun bu boyutlardan dolayı arttığı düşüncesindeyiz. Bununla beraber özellikle 5 mm'nin altındaki 18 olgunun ise rastlantısal olarak tanı aldığı kanısındayız.

PK'nın en yaygın varyantı mikrokarsinomlardır (1,22). Literatür ile uyumlu olarak PK olgularımızda en çok mikrokarsinom varyantı saptanmıştır (%43.7).

Tiroid hastalık öyküsü (nodüler hiperplazi, Hashimoto tiroiditi, Graves gibi) karsinom etiolojisinde rol alır (1,22). Olgularımızın 48'inde (%51.6) nodüler hiperplazi, 14'ünde (%15.1) Hashimoto tiroiditi, 13'ünde (%14.0) nonspesifik lenfositik tiroidit, 5'inde (%5.4) folliküler adenom ve 4'ünde (%4.3) tiroide ait diğer lezyonlar izlenmiş olup, karsinoma eşlik etmektedir.

İİAS, yapılacak ameliyatın genişliğini önceden planlama olanağı sağlamaktadır. Rutin hale gelmesi ile birçok hastayı gereksiz cerrahi uygulamadan kurtarmakta ve tedavi türünün seçilmesine yardımcı olmaktadır (2,8-11). Olgularımıza sitopatoloji tanılarından sonra 75'ine total tiroidektomi, 10'una lobektomi ve 8'ine de farklı rezeksiyon yöntemleri uygulanmıştır. 'Yetersiz' olarak raporlanan 14 olgunun 8'ine ve 'Benign' olarak raporlanan 27 olgunun 22'sine total tiroidektomi uygulanmıştır. Bu da diğer başka klinik verilerin hastadaki nodülün malign olma olasılığını klinisyene düşündür-

düğünü akla getirmektedir. 'AUS' olarak raporlanan 9 olgunun 8'ine total tiroidektomi ve 1'ine lobektomi; 'FN/FNŞ' olarak raporlanan 30 olgunun 24'üne total tiroidektomi ve 4'üne de lobektomi uygulanmıştır. Bethesda Sistemi'ne göre 'AUS' tanısı alanlara İİAS tekrarı ve 'FN/ FNŞ' tanısı alanlara da lobektomi uygulanması önerilmektedir (12). Klinisyen bu tanılarından sonra daha çok total tiroidektomi uygulamıştır; bu yaklaşımı başka klinik parametreleri gözönünde bulundurarak gerçekleştirmiş olabileceği düşüncesindeyiz.

Geride bırakılan dokuda multisentrik tümöral odaklar bulunma olasılığı, tamamlayıcı tiroidektominin önemini ortaya çıkarmaktadır. İİAS'de 'MŞ' ve 'Malign' tanısı almış 13 olgumuzun tamamına total tiroidektomi uygulanmış olup, böylece hastaların cerrahi yöntemle tek aşamada tedavisi tamamlanmıştır. Tiroid karsinomlarının primer tedavisinde uygulanan cerrahi girişimler günümüzde halen tartışmalı olmakla beraber, cerrahi yöntem olarak hangi teknik kullanılırsa kullanılsın, amaç geride malign alan bırakmamaktır (23). "American Association of Clinical Endocrinologist (AAACE)" boyuttan bağımsız olarak malignite olasılığı olan tüm nodüllere İİAS yapılmasını önerirken, son çalışmalar ve "American Thyroid Association (ATA)" kılavuzu ise öncelikle olumsuz sonografik özellikler taşıyan nodüllere ve 10-15 mm'den büyük nodüllerin çoğuna İİAS yapılması önermektedir (27-27). Frates ve ark., 10 mm'den büyük ve olumsuz sonografik özellik taşıyan nodüllerde malignitenin anlamlı olarak yüksek olduğunu ve bunlara yapılacak İİAS ile malignitenin saptanabileceğini belirtmişlerdir (26). 10 mm'den büyük nodül tespit edilen multi-nodüler guatrli hastalarda dört nodüle kadar ve/veya olumsuz sonografik özelliği olanlara İİAS yapılmasını önermektedir. Grup 1'deki tanımlar ile tümör boyutu arasındaki ilişki ( $p=0.061$ ) anlamlı bulunmazken, grup 2'deki tanımlar arasındaki ilişki ( $p<0.001$ ) anlamlı bulunmuştur. Farkın tümör boyutu 1-10 mm olan olgulardan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Tümör boyutu 1-10 mm olan olgular çıkarıldığında ise istatistiksel ilişkinin olmadığı gözlenmiştir. Bu durumun mikrokarsinom olgularımızın sayıca çokluğundan ve tek gözlemcinin deneyiminden kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Tiroid karsinomlarının farklı histolojik tipleri mevcut olup, bunların çoğunu follikül hücre kökenliler oluşturmaktadır (1,22). Patoloji raporlarındaki histopatolojik tanı ile grup 1'in ( $p=0.275$ ) ve grup 2'nin ( $p=0.122$ )

ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Tiroid karsinomlarının en yaygın tipi PK olup (1), gerek nükleer değişiklikleri gerekse yapısal özellikleri ile yeterli bir aspirasyon örneğinde tanısı nispeten kesin olarak verilebilmektedir (12). Çalışmamızda özellikle sayıca fazla olan PK'nın özellikle 'MŞ' ve 'Malign' grubuyla ve FK'ların da 'FN/FNŞ' grubuyla ilişkisinin anlamlı olmasını beklerdik. Her iki grupta da ilişki saptanmasının nedeni olarak aspirasyon materyalinin teknik olarak verimliliğini azaltan durumlar, yetersiz örnekleme, örnek fiksasyon farklılıkları gibi hem klinik, hem de sitopatolojik faktörlerin varlığı sayılabilir.

Tiroid glandında bilindiği üzere soliter tek nodülün neoplastik olma olasılığı, çok sayıda nodül varlığına göre daha yüksektir (28). PK'nın multifokal veya soliter nodül (29), FK'nın ise soliter nodül (31) şeklinde oldukları bilinmektedir. MK sporadik olanlarda unilaterale, familial olanlarda ise multisentrik ve bilateraldir (1). Arısoy ve ark., 142 kanser hastasının 93'ünde (%65.5) soliter lezyon olduğunu, 49'unda (%34.5) ise birden fazla odağın bulunduğunu belirtmişlerdir (24). Çalışmamızda ilk rezeksiyon şekillerine göre malignitelerin 16'sı iki odak şeklinde ve 10 tanesi ise odak veya belirsiz olarak nitelenmiştir. Olgularımızdaki tümör odak sayısı ile grup 1'in ( $p=0.601$ ) ve grup 2'nin ( $p=0.168$ ) ilişkileri anlamlı değildir.

Çalışmamızda karsinom olgularımızın 57'si (% 61.3) soliterdir. Ancak soliter karsinom grubunun 'MŞ' ve 'Malign' kategorisiyle istatistiksel yönden yakın ilişkisi olmasını beklerdik. Beklentimizin gerçekleşmemesine insidental mikrokarsinom olgularımızın neden olmuş olabileceği akla gelmektedir.

İyi diferansiye tiroid karsinomlarına yakalanma riski, Hashimoto tiroiditi olan hastalarda olmayanlara göre üç kat daha fazladır (30). Non-spesifik lenfositik tiroiditlerdeki follikül ve Hurthle hücreleri bazen fokal reaktif değişiklikler yanı sıra nükleer irileşme, yarıklanma ile kromatin berraklaşması gibi hafif sitolojik atipi içerebilir ve malignite açısından şüphe uyandırabilir (12,30). Selüler bir benign folliküler nodül örnekleme 'FN/ FNŞ'yi akla getirebileceği gibi Hashimoto tiroiditindeki onkositik ve inflamasyona bağlı nükleer değişiklikler 'MŞ' tanısını düşündürülebilir. Bunun tam tersi de mümkündür; lenfositik tiroiditlerdeki nükleer değişiklikler benign olarak da değerlendirilebilir (12). Çalışmamızda patoloji raporlarımızdan elde edilen karsinoma eşlik eden komponentler ile grup 1'in ( $p=0.170$ ) ve grup 2'nin ( $p=0.527$ ) ilişkileri anlamlı bulunmamış-

tır. Çevre tiroid dokusunda Hashimoto tiroiditi tespit edilen olgularımızın 'MŞ' ve 'Malign' kategorileri ile anlamlı bir istatistiksel ilişkisi olmasını beklerdik. Bu durumun Hashimoto tanısı alan olgularımızın sayıca az olmasından kaynaklandığı kanısındayız.

Olgularımızda karsinoma eşlik eden komponent olarak en fazla nodüler hiperplazi gözlenmiştir. Nodüler hiperplazi olgularında, orta derecede selüler sitoloji preparatları, benign folliküler nodül yerine 'FN/FNŞ' olarak tanı alabilir (12). Karsinoma eşlik eden nodüler hiperplazi olgularımızda yanlış negatif tanıların İİAS'nin lezyon çevresi tiroid dokusundan veya farklı nodüler alanlardan aspire edilmiş olmasından kaynaklandığı akla gelmektedir.

Bethesda Sistemi'ndeki terminoloji, kurumsal ve bireysel farklılıklar göstermektedir (31). Çalışmamızda grup 1 ve grup 2 arasında anlamlı fark gözlenmezken ( $p=0.522$ ), iki grup arasında orta derecede uyum ( $kappa=0.493$ ) saptanmıştır.

İİAS tercihan tek bir preparatta, her biri en az 10 hücre içeren ve net gözlemlenebilen en az altı folliküler hücre grubundan oluşuyorsa yeterli kabul edilmektedir (12). Çalışmamızda her iki grupta da 'Yetersiz' olarak raporlanan 14 olgu (%15.1) mevcuttur. Bu eşitlik, çalışmamızda 'Yeterlilik' kriterinin iyi yorumlandığını düşündürmüştür.

Grup 1'de olguların 27'si (%29.0) ve grup 2'de olguların 25'i (%26.9) 'Benign' olarak kategorize edilmiştir. 'Benign' kabul edilen olgular arasındaki oran birbirine yakındır. Tüm olgularımız karsinom tanısı aldığı için İİAS'lerinin benign olması beklediğimiz bir durum değildir. Grup 1 ile grup 2'nin benign grupları arasındaki uyum, doğru nodülden aspirasyon yapılmaması, çevre dokudan aspirasyon yapılması, nodül boyutunun küçük olması, nodülün büyük ve nodülün heterojen olması gibi nedenlerden kaynaklanmış olabileceğini akla getirmektedir.

'AUS' kategorisini tanımlamaya ve spesifik kriterleri oluşturmaya yönelik tüm çabalara rağmen, bu kategorinin kullanılması patoloğlar arasında değişkenlik göstermektedir. 'AUS' tanısı tüm tiroid İİAS tanılarının %7'si civarında olmalıdır; bu oran laboratuvarların 'AUS' tanımlamalarındaki kendi deneyimlerini yayımlamalarıyla değişebilir (12). Paul ve ark., 'AUS' tanısı alan malignitelerin çoğunun PK (86/96 [%90]) olduğunu ve bunların çoğunun da folliküler varyant

olduğunu belirtmişlerdir (32). Grup 1'de olguların 9'u (%9.7) ve grup 2'de ise olguların 21'i (%22.6) 'AUS' tanısı almıştır. Grup 1'de 'AUS' tanısı alan 9 olgunun 8'i 'PK', 1'i ise iyi diferansiye karsinomdur. Grup 2'de ise 'AUS' tanısı alan 21 olgunun 17'si 'PK', 3'ü iyi diferansiye karsinom ve 1'i 'MK'dır. Grup 1' ve grup 2'deki AUS tanılarının daha çok PK olguları olması, Paul ve ark.'nın bulgularını desteklemektedir. 'AUS' tanısındaki oransal farklılık, patoloğlar arasındaki AUS için kesin kategorizasyon yapmaya engel olan durumların varlığı ile açıklanabilir.

Foliküler patern gösteren lezyonlar, birbirleriyle örtüşen ve tek başına İİAS ile kesin olarak ayırt edilemeyen sitomorfolojik özellikler taşımaktadır (12). 'FN/ FNŞ' tanısını; grup 1'de olguların 30'unu (%32.2) ve grup 2'de ise 17'sini (%18.3) oluşturmaktadır. 'FN/ FNŞ' grupları arasındaki bu farklılık, 'AUS' olarak tanı alanlara göre daha fazla malignite riski taşımalarından kaynaklanabilir.

'MŞ', grup 1'de olguların 6'sında (%6.5) tanımlanırken grup 2'de ise 9'unda (%9.7) tanımlanmıştır. 'Malign' tanısı her iki grupta da eşittir (%7.5). 'Yetersiz' ve 'Malign' denilen olguların eşit oranda olması, yeterlilik ve malignite kriterlerinin patoloğlar tarafından tam olarak anlaşıldığı anlamına gelebilir.

Her iki grup arasında orta derecede uyum gözlenmesine ( $\kappa=0.493$ ) rağmen; 'FN/ FNŞ' ve 'AUS' grupları arasında olgu sayılarındaki fark dikkat çekmektedir. Grup 2'de 'AUS' ve 'MŞ' kategorileri daha çok kullanılmışken, grup 1'de ise 'FN/ FNŞ' tanısı tercih edilmiştir. 'AUS', 'FN/ FNŞ' ve 'MŞ' tanıları arasındaki oransal farklılığın patoloğların hücrel atipik özellikleri, nükleer değişiklikleri ve yapısal dizilimleri farklı yorumlamasına ya da deneyimlerine göre ve taşıdıkları risk açısından bu üç grubu farklı kategorize etmelerine bağlanabilir.

Literatürde sitopatolojik-histopatolojik uyumsuzluk oranı foliküler lezyonlar söz konusu olduğunda %30'a ulaşmaktadır (31,33,34). Hiperselüler, adenomatoid nodül, foliküler adenom, iyi diferansiye FK ve PK'nın foliküler varyantının benzer sitolojik özellikler taşıması nedeniyle bu lezyonların İİAS ile ayrımı zordur (35). Yapılan çalışmalarda İİAS verimini azaltan en önemli faktörler arasında yetersiz materyal, patoloğun deneyimsizliği ve foliküler lezyonların ayırımındaki güçlük sayılabilir (32). Foliküler patern gösteren karsinom tanısı almış 29 olgumuzda grup 1 ile grup 2 arasında

orta derecede uyum gözlenmiştir ( $\kappa=0.555$ ). Bu olgulara İİAS ile her iki grupta da literatür ile uyumlu olarak 'Malign' sitopatolojik tanısı verilememiştir, bu da foliküler paterndeki karsinomların ancak histopatolojik yaklaşım ile tanı alınmasıyla yorumlanabilir.

Karsinom olgularının İİAS özelliklerinin incelendiği çalışmamıza benzer nitelikte spesifik bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamızın amacı karsinom olgularımızın daha çok hangi risk kategorisinde değerlendirildiğine dikkat çekmektir. Ancak tiroid karsinomu olgularında yanlış negatif sonuçların olması endişe kaynağı oluşturmuştur. Unutulmamalıdır ki, Bethesda Sistemi'ne göre her grupta az da olsa malignite riski vardır. Bu nedenle İİAS'ye ek olarak klinik ve radyolojik özelliklerin dikkatli olarak değerlendirilmesi tiroid karsinomu olgularının gözden kaçırılmamasını sağlayabilir. Her ne kadar çalışmamızdaki olguların tamamı histopatolojik olarak karsinom tanısı almışsa da sitopatolojik olarak hepsi 'Malign' grupta kategorize edilememiştir. Ancak İİAS'nin ucuz ve kolay uygulanabilir olması ayrıca İİAS ile az da olsa doğrudan 'Malign' tanısı verilebilmesi nedeniyle tiroid lezyonlarında ilk girişimsel adım olarak kullanılmaya devam edeceği görüşündeyiz.

### Kaynaklar

1. DeLellis RA, Williams ED. Tumours of the thyroid and parathyroid. Ed: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. World Health Organization of Tumours, Pathology&Genetics, Tumours of Endocrine Organs. pp. 49-124, Lyon, France, 2004.
2. Sarı A, Çetin R, Sarı M, Çandır Ö. Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisinin yeri. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi 5(4):139-145, 1998.
3. Crochord PM, Bain GO. Fine needle aspiration biopsy of the thyroid. Can Med Assoc J 110:1029- 32, 1974.
4. Ljung BM. Fine needle aspiration of the thyroid nodule. Ann Int Med 96:223-6, 1982.
5. Blum M, Rothschild M. Improved nonoperative diagnosis of the solitary cold thyroid nodules. Surgical selection based on risk factors and three months suppression. JAMA 243:242-4, 1980.
6. Esselstyn CB, Crile G. Needle aspiration and needle biopsy of the thyroid. World J Surg 2:321-7, 1978.
7. Friedman M, Schimaoka K, Getaz P. Needle aspiration of 310 thyroid lesions. Acta Cytol 23 (3):19-24, 1979.
8. Acar H. Tiroid nodüllerinin tanısında ince iğne aspirasyon biyopsisi ve histopatolojik sonuçlarının karşılaştırılması. Ankara Tıp Mecmuası 36:497-9, 1983.

9. Van Herle AJ, Rich P, Ljung BE, Ashcraft MW, Solomon DH, Keeler EB. The thyroid nodule. *Ann Int Med* 96(2): 221-32, 1983.
10. Asp AA. Fine needle aspiration of the thyroid. Use in an average health care facility. *Amer J Med* 83:489-93, 1987.
11. Crile G. Treatment of the thyroid cysts by aspiration. *Surgery* 59:210-2, 1966.
12. Ali SZ, Cibas ES. *Tiroid Sitopatolojisi Raporlamasında Bethesda Sistemi*. (Çev.Ed: Önder S) s.1-167, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2012.
13. Schinstine M. A Brief Description of the Bethesda System for Reporting Thyroid Fine Needle Aspirates. *Hawaii Med J* 69(7):176-8, 2010.
14. Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: A Meta-Analysis. *Acta Cytol* 56:333-339, 2012.
15. Arslan MS, Delibaşı T, Şahin M. Tiroid kanserleri. İç hastalıkları dergisi 18:41-8, 2011.
16. Busnardo B, De Vivo D. The epidemiology and etiology of differentiated thyroid carcinoma. *Biomed&Pharmacother* 54:322-6, 2000.
17. Rezanko TA. Tiroid İİAS ve papiller lezyonlar dışındaki İİAS bulguları. *Ege Patoloji Derneği, Kurs 3:Tiroid patolojileri*, 26 Mart 2011.
18. Gürsoy A, Erdoğan MF. A'dan Z'ye Klinik Tiroidoloji. s:45-72, İstanbul, 2012.
19. LiVolsi VA. Well Differentiated Thyroid Carcinoma. *Clin Oncol* 8(5):281-8, 1996.
20. Mazzaferri EL and Sipos J. Should all patients with subcentimeter thyroid nodules undergo fine-needle aspiration biopsy and preoperative neck ultrasonography to define the extent of tumor invasion? *Thyroid* 18: 597-602, 2008.
21. Pinchot SN, Al-Wagih H, Schaefer S, Sippel R, Chen H. Accuracy of fine-needle aspiration biopsy for predicting neoplasm or carcinoma in thyroid nodules 4 cm or larger. *Arch Surg* 144: 649-55, 2009.
22. Rosai J, Tallini G. *Thyroid Gland*. Ed: Rosai J. Rosai and Acherman's Surgical Pathology. pp: 487- 565, Mosby Company, China, 2011.
23. Kılıç AY, Sayek İ. Diferansiye Tiroit Karsinomlarının Tedavisinde Tamamlayıcı Tiroidektominin Yeri. Ed: İşgör A. *Tiroit hastalıkları ve Cerrahisi*. s.405-9, Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul, 2000.
24. Arısoy K, Köksoy FN, Gönüllü D, İğdem AA, Kuru B. Nodüler guatr nedeniyle total tiroidektomi yapılmış ve tiroid kanseri saptanmış hastalarda kanserin dominant nodül ile ilişkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 28(4):182-5, 2012.
25. Gharib H, Papini E, Paschke R, Duick DS, Valcavi R, Hegedüs L, Vitti P. American Association of Clinical Endocrinologist, Associazione Medici Endocrinologi, and European Thyroid Association medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules: executive summary of recommendations. *J Endocrinol Invest* 33(5 suppl):51-6, 2010.
26. Frates MC, Benson CB, Charboneau JW, Cibas ES, Clark OH, Coleman BG, Cronan JJ, Doubilet PM, Evans DB, Goellner JR, Hay ID, Hertzberg BS, Intenzo CM, Jeffrey RB, Langer JE, Larsen PR, Mandel SJ, Middleton WD, Reading CC, Sherman SI, Tessler FN. Management of thyroid nodules detected at US: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement. *Radiology* 237(3):794-800, 2005.
27. American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, Mazzaferri EL, McIver B, Pacini F, Schlumberger M, Sherman SI, Steward DL, Tuttle RM. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 19(11):1167- 214, 2009.
28. Akpolat İ. Tiroit hastalıklarında patolojik değerlendirme. *J Exp Clin Med* 29:337-348, 2012.
29. Erdoğan N. Tiroid Bezi Malign Neoplazilerinde Radyolojik Yaklaşım. Ed: Başak M. *Klinik gelişim*. ss.53-56, İstanbul, 2010.
30. Cipolla C, Sandonato L, Graceffa C, Fricano S, Torcivia A, Vieni S, Latteri S, Latteri MA. Hashimoto thyroiditis coexistent with papillary thyroid carcinoma. *Am Surg* 71(10):874-8, 2005.
31. Block MA, Dailey GE, Robb JA. Thyroid nodules indeterminate by needle biopsy. *Am J Surg* 146(1):72-6, 1983.
32. VanderLaan PA, Marqusee E, Krane JF. Usefulness of Diagnostic Qualifiers for Thyroid Fine-Needle Aspirations With Atypia of Undetermined Significance. *Am J Clin Pathol* 136 (4):572-7, 2011.
33. Löwhagen T, Granberg P, Lundell G, Skinnari P, Sunblad R, Williams JS. Aspiration biopsy cytology (ABC) in nodules of the thyroid gland suspected to be malignant. *Surg Clin North Am* 59 (1):3-18, 1979.
34. Karataş A, Giray S, Peker Ö, Aydın Ö, İnce U, Alagöl F, Düren M, Azizerli HD. Tiroid nodüllerinin değerlendirilmesinde Bethesda 2007 sınıflamasının klinik sonuçları. *Ulusal Cerrahi dergisi* 25(3):92-6, 2009.
35. İnan G, Sert S, Bircan S, Karahan N, Çiriş İM, Başpınar Ş, Kapucuoğlu N. Tiroid lezyonlarında tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi ve histopatolojik sonuçlarının karşılaştırılması. *SDÜ Tıp Fak Dergisi* 13(4)



# Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem-3 Öğrencilerinin Farmakoloji Eğitimine Etki Eden Faktörlerin İncelenmesi

## Analysis of Factors Affecting Pharmacology Education of Period-3 Students of Suleyman Demirel University Faculty of Medicine

- \* Mehtap Savran  
\* Halil Aşçı  
\*\* Mekin Sezik  
\*\*\* Yonca Sönmez
- \* Süleyman Demirel  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı,  
Isparta, Türkiye
- \*\* Süleyman Demirel  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları ve  
Doğum Anabilim Dalı,  
Isparta, Türkiye
- \*\*\* Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Halk Sağlığı  
Anabilim Dalı, Antalya,  
Türkiye

### Öz

**Giriş:** Teorik bilgi yükü nedeniyle öğrenilmesi zor olarak kabul edilen farmakoloji dersi, günümüzde klinik pratiğe geçiş dersi olarak da algılanmakta ve bu nedenle farmakoloji eğitiminde entegratif stratejiler üzerinde çalışılmaktadır. **Amaç:** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin farmakoloji eğitimlerini etkileyen faktörlerin niteliksel bir çalışma ile incelenmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda 6 araştırmacı ile bir araştırma ekibi oluşturuldu ve ekip tarafından farmakoloji eğitimi ile ilgili 5 açık uçlu soru hazırlandı. Tıp fakültesi dönem 3 öğrencilerinden 121'i (%47) çalışmaya katıldı. **Bulgular:** Farmakoloji dersi ile ilgili olarak teorik bilgi yükü fazlalığı ve ezberleme ihtiyacı gibi dersin doğası ile ilgili görüşler ön plandaydı. Öğrenciler, çalışma stratejileriyle ilgili olarak derse katılmanın önemini net bir şekilde ifade etti. Farmakoloji dersinin günlük hayata etkisiyle ilgili soruda, büyük çoğunluk ilaç kutusu ve prospektüs okuma davranışı tarifledi. Dersin işleyişi ile ilgili soruda kliniğe yönelik ders anlatımı ve pratik uygulama ihtiyacı ortaya kondu. **Tartışma:** Farmakoloji dersi gibi öğrenilmesi zor olarak algılanan dersler, öğretim üyelerinin aktif çabasıyla öğrencide olumlu izlenim bırakabilmektedir. Dersin verimliliğinin artırılması ve derse aktif katılımın sağlanması amacıyla prospektüs okuma ve reçete yazma beceri uygulamaları, küçük gruplarda vakaların tartışıldığı oturumlar veya özel çalışma modülleri planlanabilir. Bu tür uygulamaların klinik eğitim döneminde de tekrarlanması teorik farmakoloji bilgisinin klinik bilgiyle entegrasyonunun sağlanması ve teorik yükün azaltılması açısından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Farmakoloji, tıp eğitimi, klinik entegrasyon

### Abstract

**Introduction:** Pharmacology course which is accepted as difficult to learn due to theoretical knowledge is now being perceived as a transition course to clinical practice and therefore, integrated strategies are being studied in pharmacology education. **Objective:** The aim of this study was to investigate the factors affecting pharmacology education of Süleyman Demirel University Faculty of Medicine students with a qualitative study. **Materials and Methods:** A research team included 6 researchers was formed and 5 open-ended questions about pharmacology education were prepared by the team. 121 (47%) of the period-3 students in the medical faculty participated in the study. **Findings:** Opinions about the nature of the course, such as the theoretical burden of knowledge and the need for memorization related to pharmacology, were at

### Yazışma Adresi:

İletişim (Corresponding Author):  
Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD,  
Isparta, Türkiye

0 505 740 88 99  
drmehtap@hotmail.com

the forefront. Students clearly stated the importance of participating in the course in relation to their study strategies. In the question about daily life effect of pharmacology course, majority stated drug box and prospectus reading behavior. In the question about the functioning of the lesson, the need for lectures and practical application for the clinic was revealed.

**Discussion:** Lessons that are perceived to be hard to learn like pharmacology can actively make a positive impression on the student. In order to increase the productivity of the lesson and active participation of the lesson, prospectus reading and prescribing skill applications, small group discussion sessions or special study modules can be planned. Repetition of such applications in the clinical education period is important in order to integrate the theoretical pharmacology knowledge with clinical knowledge and to reduce the theoretical burden.

**Keywords:** Pharmacology, medical education, clinical integration

## Giriş

Farmakoloji dersi mezuniyet öncesi tıp eğitim programı içerisinde teorik bilgi yükünün yoğunluğu nedeni ile öğrenilmesi zor dersler arasında kabul edilmektedir (1). Geçmişte farmakoloji eğitimi klinik öncesi ders döneminde içerik odaklı, disiplin temelli dersler aracılığı ile öğretilmekteydi. Geleneksel farmakoloji eğitiminde, konular çoğunlukla etken maddelerin etki mekanizmaları, endikasyonları, yan etkileri, kontraendikasyonları ve ilaç kategorizasyonları üzerinden anlatılmasına karşın, günümüzde bu anlatım şekli hakkındaki görüşler değişmektedir (2,3). Çünkü terapötik amaçlı klinik karar verme, kanıta dayalı tıp uygulamaları, sürekli tıp eğitimi, klinik uygulama rehberleri gibi kavramlar göz önüne alındığında farmakoloji bilgisinin eğitim kavramlarının bünyesinde yeniden değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde farmakoloji klinik pratiğe geçiş dersi olarak algılanmaktadır. Bu nedenle farmakoloji eğitiminde entegratif stratejiler üzerine çalışılmaktadır (4).

Geçerlik ve güvenilirlik, tüm bilimsel araştırmaların kritik unsurlarından birisi olup çalışmanın bilimsel değerlendirilmesine olumlu katkıda bulunur (5). Niteliksel çalışmalarda veri değerlendirilmesi sürecinde araştırmacının sübjektivitesinin araştırmaya etkisi bilimsel alanda şüphe ile karşılanmaktadır (6). Niteliksel çalışmalarda, nicelikselerde olduğu gibi geçerlilik ka-

nıtlarını güçlendirebilecek istatistiksel analizler yoktur. Fakat değerlendirme süreci ayrıntılı şekilde tanımlanarak bu bilimsel şüphe azaltılabilir.

Bu bilgiler doğrultusunda planladığımız bu çalışmamızda, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin farmakoloji eğitimlerini etkileyen faktörleri, niteliksel bir çalışma ile incelemeyi amaçladık.

## Yöntem

Çalışmamızda öğretim üyelerinin ortak kararı doğrultusunda hem fakültemiz eğitimi sürecinde 3 yıllık deneyimlerinin olması, hem de klinik öncesi dönem ile ilgili durumun tespiti için dönem 3 öğrencileri ile çalışmanın uygun olacağına karar verildi. Araştırma evrenimiz fakültemizdeki tüm dönem 3 öğrencileri (n=256) olarak belirlendi.

Çalışma için 11.12.2017 tarih ve 220448 sayı ile Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Çalışmamızda Tıbbi Farmakoloji, Tıp Eğitimi, Halk Sağlığı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dallarından 5 araştırmacı ile bir araştırma ekibi kuruldu. Tüm süreç bu öğretim üyelerinin fikir birliği ile yürütüldü. Fikir birliği sağlanamayan durumlarda fikir birliği sağlanana kadar konu tartışıldı.

Araştırma ekibi tarafından eğitim deneyiminin çeşitli yönlerini değerlendirmeyi amaçlayan sorular hazırlandı. Bu sorular için uzman görüşü alındı. Sorular yeniden değerlendirilerek farmakoloji eğitimi ile ilgili deneyimleri hakkında fikir verebilecek, aşağıda belirtilen 5 adet açık uçlu soru belirlendi (Tablo 1).

Veri toplama işlemi, öğrenci katılımının yüksek olduğu bir ders sonrasında planlandı. Öğrenci görüşlerinin etkilenmemesi için veri toplama sürecine farmakoloji anabilim dalı öğretim üyeleri katılmadı. Öğrencilere, uygulama öncesinde araştırmanın içeriği ile ilgili bir sunum yapıldı.

Çalışmamızın veri analizinde Miles ve Huberman Modeli uygulandı (8). Aşkın gerçekçilik olarak isimlendirilen bu yaklaşımın 3 bileşeni bulunmaktadır. Bunlar verilerin azaltılması, verilerin sunulması ve sonuçların biçimlendirilmesi/doğrulanmasıdır. Çalışmamızda bu bileşenlerden yararlandı.



Tablo 1 Anket değerlendirmesi için kullanılan açık uçlu sorular

Soru 1	Farmakoloji dersinin içeriği hakkındaki olumlu/olumsuz fikirleriniz nelerdir?
Soru 2	Farmakoloji dersi ile ilgili çalışma stratejileriniz nelerdir?
Soru 3	Farmakoloji dersi günlük hayatta ilaçlara bakışınızı nasıl etkiledi?
Soru 4	Farmakoloji dersine olan ilginizde ve öğrenme başarınızda dersi veren öğretim üyesinin etkisini değerlendiriniz
Soru 5	Farmakoloji dersinin işleniş şekli ile ilgili önerileriniz nelerdir?

Veriler değerlendirilirken, öncelikle cevaplar olumlu ve olumsuz olarak gruplandırıldı. Verilerin azaltılması için araştırma ekibi tarafından gruplardan betimleyici kodlama amacıyla çekirdek ifadeler elde edildi. Örnektü kodları için ise çekirdek ifadeler 'faktörler' olarak yeniden gruplandırıldı. Eş zamanlı olarak not alma işlemi yapıldı. Kodlama yapılırken çalışma ekibinde oluşan kanaatler aşağıda örneklendirilmiştir.

*"dersi anlatan öğretim üyesinin anlatım tarzı ve iletişimi öğrencilerin en sık değindiği noktalardan",*

*"dersin zorluğu ile ilgili genel bir kabullenme var"*

*"dersin klinik ile uyumu isteniyor"*

Verilerin sunulması aşamasında faktörler öğrencilerin verdikleri cevap yoğunluklarına göre sıralandı. Bu sıralamanın eğitime etkilerine göre uygun olduğu konusunda araştırma ekibinde de fikir birliği sağlandı. Aynı zamanda farmakoloji öğretim üyelerinin de farmakoloji eğitimi ile ilgili görüşleri için rapor düzenlemeleri istendi. Bu raporlar da değerlendirme sürecine dahil edildi. Sonuçların biçimlendirilmesi ve tartışılması için raporlama sürecine geçildi.

## Bulgular

Tüm tıp fakültesi dönem 3 öğrencilerinden (n=256) 121'i (%47) çalışmaya katıldı. Katılımcıların yaş ortalaması 21,14±1,35 (yaş aralığı: 20-33) idi. Katılımcıların

rın cinsiyet dağılımları ise %30,6 kadın (n=37), %69,4 erkek (n=84) şeklindeydi.

Farmakoloji dersi ile ilgili genel görüşleri soran bir numaralı soruda katılımcıların çoğunun bu dersi olumlu olarak algıladığı belirlendi. Bu algının oluşmasında, öğretim üyesinin anlatım tarzı (%43,6) ile ilgili yorumlar ön planda yer aldı. Öğretim üyesinin eğlenceli ve olumlu yaklaşımı (%14), öğrenci katılımını sağlaması ve onlarla iletişimi öğrenci tarafından olumlu algılanan davranışlar arasındaydı. Öğrenciler için daha az önemle fakat yine de olumlu olarak ifade edilen görüşler arasında kaliteli ders materyali ve eğitim ortamı da yer almakta idi (%2.4). Olumlu faktörler arasında ikinci sırada klinik vaka örneklerin verilmesi yer aldı (%14). Öğretim üyesinin klinik vaka örnekleri üzerinden ders planlamasının konuyu daha anlaşılır kıldığı görüldü.

Olumsuz olarak algılanan özellikler arasında dersin doğası ön planda yer aldı (%25.6). Dersin doğası açısından, öğrenciler arasında konuların teorik içeriğinin fazla olması, ifade özellikleri nedeni ile ayrıntılı olarak algılanması, öğrenilebilirlik için tek yolun "ezberleme" olduğu kanaati yaygındı. Öğrencilerin, farmakoloji dersi ile ilgili diğer olumsuz fikirleri, ders sürelerinin uzunluğu ve ders saatinin gün içindeki dağılımıydı (Tablo 2).

Öğrencilerin çalışma stratejileri ile ilgili görüşlerinin değerlendirildiği iki numaralı soruda öğrencilerin der-

Tablo 2

“Farmakoloji dersinin içeriği hakkındaki olumlu/olumsuz fikirleriniz nelerdir?” sorusuna verilen cevaplar ve çıkarımlar

	Çıkarım	Verilen Cevaplar
<b>OLUMLU</b>	Öğretim üyesinin anlatım tarzı (%43,6) - Öğretim üyesinin eğlenceli ve olumlu yaklaşımı (%14) - Kaliteli ders materyali ve eğitim ortamı (%2.4)	“Ders anlatışınız ve örnek vererek anlatımınız güzel.” “Ders notlarında gereksiz içerik ve uzun cümlelerin olmaması, hocanın notu okumak yerine kendi cümleleri ile anlatması, bizim için çok faydalı.” “Akılda kalıcı hareketlerle, ses tonuyla güzel bir ders” “Farmakoloji derslerimizin çok interaktif bir hava içinde geçmesi çok güzel olmakta”
	Klinik vaka örneklerin verilmesi (%14)	“Hocanın anlatım tarzı çok iyi, ders anlatırken bol örneklerle anlatması, kendi başına gelen olaylardan konuyu örneklemesi daha kalıcı oluyor.”
<b>OLUMSUZ</b>	Ezbere dayalı teorik içeriğin fazla olması (%25.6)	“Farmakoloji biraz ezbere dayalı bir ders olması sebebiyle dersler bazen sadece ezberlenecek şeylerle geçiyor.”
	Ders sürelerinin uzunluğu ve ders saatinin gün içindeki dağılımı	“... ancak uzun ders saatleri yüzünden dersin sonunun verimsiz geçmesi” “Derslerin tek ve gün sonlarında olması yerine tüm sabah olması daha güzel olurdu dersin sabahları işlenmesini tercih ediyorum.”

Tablo 3

“Farmakoloji dersi ile ilgili çalışma stratejileriniz nelerdir?” sorusuna verilen cevaplar ve çıkarımlar

Çıkarım	Verilen Cevaplar
Derse katılım, not tutma, özet çıkarma, yazarak çalışma (%47,9)	“Derse katılım, hocayı dinledikten sonra mantığını anlamış olurum...”
Kodlamalar, tablolar ve şemaların kolaylaştırıcı etkisi (%23) ve düzenli tekrar (%37.1)	“Küçük küçük notlar çıkarıp bol bol okuyorum.” “Kısa kodlamalarla akılda tutmaya çalışma” “Bol tekrar ve ezberlemek için dipnotlar” “Büyük bir resim defterine, ilaçları kategorilere ayırıp gruplayarak, altlarına spot bilgileri yazıyorum.”

se katılmanın önemini net olarak ifade ettiği görüldü. Derse katılıma ilave olarak farmakoloji dersi çalışma stratejileri arasında not tutma, özet çıkarma, yazarak çalışma gibi aktiviteler ön planda idi (%47,9). Bu aşamada birçok öğrenci kodlamalar, tablolar ve şemalar ile bilgileri düzenlemenin öğrenmeyi kolaylaştırdığından bahsetmekte idi (%23). Öğrenciler bu sürecin tekrar ile pekiştirildiğini ifade etti (%37.1) (Tablo 3).

Farmakoloji dersinin günlük hayata etkisi ile ilgili üç numaralı soruda öğrencilerin büyük çoğunluğu ilaç kutusu ve prospektüs okuma davranışı tarif etti (%42.9). Kendilerinin ve çevrelerindeki kişilerin kullandıkları ilaçların etken maddelerini ve prospektüslerini okuyarak, ilaçlar konusuna farkındalık düzeylerini arttırmış, çevresinden ilgi görmüş (mutlu, yeterli hissetme), hekim kimliğine alışmaya başlamış oldukları görüldü

Tablo 4

“Farmakoloji dersi günlük hayatta ilaçlara bakışınızı nasıl etkiledi?” sorusuna verilen cevaplar ve çıkarımlar

Çıkarım	Verilen Cevaplar
İlaç kutusu ve prospektüs okuma davranışı	“Kendimin ve çevremdeki insanların kullandığı ilaçların içeriklerini ve işlevlerini okumaya başladım. prospektüslerle haşır neşir oldum.” “Ailemin kullandığı ilaçları inceliyorum.”
Hekim kimliğine alışma	“Artık ilaçların içeriğine bakınca anlıyorum, hastalandığımızda şunları falan kullan diyebiliyorum.” “Evdeki ilaçlar hakkında akrabalara atıp tutabiliyorum.” “Çevremdekileri yanlış ilaç kullanımı hakkında uyarabiliyorum.” “Mesela eczaneye gittiğimde hatırladığım ilaçlar hemen gözüme çarpıyor.” “Daha doktor hissettim tabi ki...”
Akılcı ilaç kullanımı farkındalığı	“... alınan her ilacın karaciğer ve böbreği yorduğunu öğrendim. Gereksiz ilaç alınmaması gerekiyor.”

Tablo 5

“Farmakoloji dersine olan ilginizde ve öğrenme başarınızda dersi veren öğretim üyesinin etkisini değerlendiriniz” sorusuna verilen cevaplar ve çıkarımlar

Çıkarım	Verilen Cevaplar
Öğretim üyesinin; -Mesleki deneyimlerini paylaşması -Yüksek etkinlik	“Klinik, doktorluk anılarıyla birleştirilmiş teorik dersler daha yararlı oluyor.” “... bundan sonra derslere girecek hocalarımıza da bu şekilde eğitimi öneriyorum.” “Farmakolojiyi ...hoca ile sevdim.” “İlgimi ve başarıyı öğretene borçluyum.” “Daha ilgili bir dinleyici olmamı sağlıyor.” “... hocanın bize bir şeyler öğretme çabasını seviyorum. Yani o çabayı hissediyorum....” “...bu dersi bize sevdirebildi.” “...hocanın dersimize girmesi büyük şans” “...hoca muhteşem bir hoca. Keşke öğrencilik hayatımda hep dersime girebilse.”
Öğrencinin aktif katılım gereksinimi	“Açıkcası farmakoloji öğretilenilecek değil, öğrenilebilecek bir ders bence....” “Aslında bizim biraz daha aktif olmamız gerek.”

(%33.8). Verilen cevaplardan, farmakoloji dersinin temel hedeflerinden birisi olan akılcı ilaç kullanımı konusunda, öğrenciler üzerinde bir farkındalık oluşturmaya başladığı da gözlemlendi (Tablo 4).

Dört numaralı soruda öğrencilerin ders başarısına öğretim üyesinin etkisi ile ilgili görüşler alındı. Öğretim üyesinin ders anlatımında mesleki deneyimlerini paylaşması en canlı ifadeleri oluşturdu. Hatta öğrencilerin bir kısmı dersi eğiticinin paylaştığı deneyimleri üzerinden hatırladığını ifade etti (Tablo 5).

Tablo 6

“Farmakoloji dersinin işleniş şekli ile ilgili önerileriniz nelerdir?” sorusuna verilen cevaplar ve çıkarımlar

Çıkarım	Verilen Cevaplar
Ders süresi Kliniğe yönelik anlatım Pratik uygulamalar Kurul sonrası toplu tekrar	“Dersin sonunda soru-cevap şeklinde tekrar yapılabilir.” “İnternette yer alan ilaçların “action mechanism” konulu animasyon videoları ile slaytlar zenginleştirilmelidir.” “İlaçları sınıfa getirsek daha iyi olur.” “Daha çok resim, reçete, ilaç kutusu, klinik anlatım” “Piyasa isimleri verilebilir.”

Fakültemiz öğrencilerinin büyük çoğunluğu öğreten merkezli öğrencinin pasif alıcı konumunda olduğu eğitim sistemlerinden geldikleri için, öğrencilerin büyük çoğunluğunun, öğretim üyesinin derse etkisini çok yüksek değerler ile ifade ettiği görüldü. Sadece az sayıda öğrenci kendilerinin aktif katılımcı olması gerektiği yönünde görüş bildirdi.

Dersin işleyişi ile ilgili görüşlerin sorulduğu beş numaralı soruda öğrenciler ders süresi ile ilgili sıkıntılardan bahsederken (%4.3) bazıları da kliniğe yönelik anlatım, pratik uygulamalar (%1.6) ve kurul sonrasında toplu tekrar (%4.1) gibi ihtiyaçlarında bahsetti (Tablo 6).

## Tartışma

Çalışmamız bir amfi dersi sonrasında yapılmış ve anket formu dağıtılan tüm öğrenciler çalışmaya katılmıştır. Derste bulunmayan öğrencilerin görüşleri alınamamıştır ve çalışmamıza görece düşük katılım (n=121, %47) olması bu duruma bağlanmıştır.

Farmakoloji dersi gibi öğrenilmesi zor olarak algılanan dersler, öğretim üyelerinin aktif çabası ile öğrencide olumlu bir izlenim bırakabilmektedir. Bizim çalışmamızda da, öğretim üyesinin anlatım tarzı olumlu eğitim ortamı oluşturması açısından etkin faktör olarak kendini göstermekteydi. Dersin zor olarak kabullenilmesine rağmen öğretim üyelerinin anlatım tarzı öğrencilerin farmakoloji dersi ile ilgili ön yargılarının kırılması ve derse ilgilerinin canlı tutulmasında oldukça önemlidir (1).

Bu çalışmada da ortaya çıkan derslerin sunumu sırasında öğretim üyesi deneyimlerinin aktarılması ve ders içeriği ile uyumlu örnekler kullanılması olumlu öğrenme ortamı yaratmaktadır. Deneyimlerin paylaşı-

mı ve örneklerin kullanılması akılda kalıcılığı arttırmaya, eğitimde gereksinim belirleme ve gereksinime uygun eğitim programı hazırlama yönünden değerlidir.

Öğrencilerin çalışma davranışları ve öğrenme stillerinde çeşitli farklılıklar olabilmektedir (7). Fakültemizde yapılan ve 2016 tarihinde yayınlanan farmakoloji dersi ile ilgili bir çalışmada, dinleyerek ve not alarak ders çalışan öğrencilerin, farmakoloji sınavından yüksek notlar aldıkları gösterilmiştir (8). Bu çalışmada da benzer olarak, öğrencilerin farmakoloji dersi çalışma stratejileri arasında not tutma, özet çıkarma, yazarak çalışma gibi aktivitelerin ön planda olduğu görülmüştür. Farmakoloji dersi veren öğretim üyelerinin de görüşleri değerlendirildiğinde farmakoloji öğreniminde öğrencilerin derse aktif katılımı ve not alma ile ders başarısının artırılabilirliği düşünülmektedir. Öğretim üyeleri, ilaç etki mekanizmalarının vakalar üzerinden küçük gruplarda tartışılmasının akılda kalıcılığı artıracağı, klinik akıl yürütme ve karar verme sürecine olumlu katkı sağlayacağı görüşündedir. Bu görüşe paralel olarak derse aktif katılımın sağlanması amacıyla küçük gruplarda vakaların tartışıldığı oturumlar veya özel çalışma modülleri planlanabilir. Bu tür uygulamaların klinik eğitim döneminde de tekrarlanması teorik farmakoloji bilgisinin klinik bilgi ile entegrasyonunun sağlanması açısından önemlidir (9).

Öğrencilerin önemli bir kısmı dersle ilgili olumlu görüş bildirmekle birlikte dersin doğasına dair önyargı ve çekinceleri mevcuttu. Bunlar arasında, farmakoloji konularının “ezbere dayalı” olduğu önyargısı oldukça yaygındı. Ön yargının nedeni dersin teorik yük fazlalığına bağlı dersin anlatımındaki yoğunluk olabilir (2). Bu nedenle öğrencilerin dersi öğrenmelerinde ezberlemeye yönelmelerinin önüne geçmek ve bilgileri kolay hatırlamalarını sağlamak için çeşitli yöntemler geliş-

tirilmiştir (1). Bu amaçla eğitim programlarında değişiklikler, öğrenci merkezli probleme dayalı öğrenme yaklaşımları, hafıza kartları (flashcards), kodlamalara yardımcı akıllı telefon uygulamaları, farmakoloji atlasları ve kavram haritaları oluşturma gibi hafızada kalıcılığı artırıcı eğitim araçları önerilmektedir (1). Aynı zamanda öğrencilerin tekrar edilen notların, hocanın ders için kullandığı eğitim materyali ve öğrencilerin ders sırasında aldığı notlar olması, okunan materyalin konu ile ilgili kitap olmaması dikkat çekicidir. Bu noktada, hocalar tarafından kullanılan eğitim materyalinin zenginleştirilmesi ve kitap önerisinin hoca tarafından vurgulanması önerilebilir.

Farmakoloji dersinin günlük hayata etkisinin değerlendirildiği soruya verilen cevaplarda ise öğrencilerin çoğunluğu farmakoloji dersinde edindiği teorik bilgilerle, prospektüs okuma davranışı geliştirerek hekim rolüne geçiş sürecini tarif etmiştir. Çıkan bu sonuç doğrultusunda, prospektüs okuma becerisi adı altında klinik uygulamalar planlanarak öğrencilerin hekim kimliğini içselleştirmelerine katkıda bulunulabileceği düşünülmektedir. Bu anlamda farmakoloji dersi, klinik öncesi dönemdeki öğrencilerin klinik döneme geçişi açısından önem taşımaktadır.

Fakültemizde öğreten merkezli öğrencinin pasif alıcı konumunda olduğu bir yaklaşımın hakim olduğu tespit edilmiştir. Öyle ki öğrenen artık o dersi başka bir eğitimcisi dahi anlatmasına tahammül edememektedir. Öğrencinin gözünde ders ile öğretim üyesi özdeşleşmiş ve öğreten merkezli eğitim sistemi pekişmiştir. Fakültemizde öğreten merkezli bağımlı öğrenenden öğrenen merkezli bağımsız öğrenme ilkelerini benimsemeye yönelik bir eğitim reformu içerisinde yer almaktadır. Bu amaçla vaka tartışmaları için küçük grup eğitimleri, probleme dayalı eğitim yaklaşımları önerilmektedir (1). Fakültemizde de farmakoloji eğitiminde öğrenci merkezli yaklaşımlar dahilinde küçük gruplarda vaka tartışmaları, özel çalışma modülleri planlanmaktadır.

Öğrencilere dersin işlenişi ile ilgili görüşleri değerlendirildiğinde öğrencilerin farmakoloji eğitimlerinde pratik uygulamaları önerdikleri görülmüştür. Bu eğitim etkinliği için dönem 3 öğrencilerine "Reçete uygulama pratik uygulaması" yapılmıştır. Bu uygulama kapsamında öğrencilere reçete yazma becerisi kazandırılması amaçlanmıştır. Tam öğrenme yaklaşımı ile uygulanan bu beceri eğitiminin geribildirimlerinde yüksek memnuniyet olduğu görülmüştür.

## Öneriler

- 1-Farmakoloji dersi anlatılırken eğitim yöntemleri çeşitlendirilmelidir.
- 2-Farmakoloji dersi için öğrencilere öğrenme kaynakları içerisinde ders kitabı önerisinde bulunulmalıdır.
- 3-Farmakoloji dersi için bir çalışma rehberi hazırlanmalıdır.
- 4-Farmakoloji teorik eğitiminden klinik pratiğe geçiş için prospektüs okuma gibi mesleki beceri uygulamaları planlanmalıdır.
- 5-Öğreten merkezli eğitim sisteminden öğrenen merkezli eğitimi sistemine geçiş olmalıdır.
- 6-Eğitim materyalleri çeşitlendirilebilir
- 7-Öğrencilerin ilgi ve dikkatlerini toplayabilmeleri açısından, teorik içeriği fazla olan farmakoloji gibi derslerin mümkün olduğunca sabah saatlerine, pratik uygulamaların öğleden sonraya programlanması düşünülebilir.

## Kaynaklar

- 1.Achike FI, Ogle CW. Information overload in the teaching of pharmacology. *J Clin Pharmacol* 2000; 40(2): 177-83.
- 2.Richard J Epstein. Learning from the problems of problem-based learning Richard. *Acad Med* 2000; 75(10): 1025-8.
- 3.Michel MC, Bischoff A, Jakobs KH. Comparison of problem-and lecture-based pharmacology teaching. *Trends Pharmacol Sci.* 2002 Apr; 23(4): 168-70.
- 4.British Pharmacological Society. Undergraduate Pharmacology core curriculum. 2015;[ <https://www.bps.ac.uk/BPSMemberPortal/media/BPSWebsite/Assets/Curriculum-2016-A4.pdf>] adresinden 03.01.2018 tarihinde erişilmiştir.
- 5.Brink HI. Validity and reliability in qualitative research. *Curationis.* 1993; Jun;16(2):35
- 6.Baltacı A. Nitel veri analizinde Miles-Huberman modeli. *Ahi Evran Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* 2017; 3(1): 1-15
- 7.Grasha AF. Teaching with Style: A Practical Guide to Enhancing Learning by Understanding Teaching and Learning Styles. 2nd ed. San Barnadino: Alliance Publishers; 2002; 167-74
- 8.Asci H, Kulac E, Sezik M, Cankara FN, Cicek E. The effect of learning styles and study behavior on success of preclinical students in pharmacology. *Indian J Pharmacol* 2016; 48(1):15-20.
- 9.Vidic B, Weitlauf HM. Horizontal and vertical integration of academic disciplines in the medical school curriculum. *Clin Anat.* 2002;15(3):233-5

## Gömülü 3. Molar Dişlerin Operatif Zorluk Skoruna ve Komplikasyonlara Göre Değerlendirilmesi

### The Evaluation Of Impacted Third Molars According To The Operative Difficulty Score And Complications

\* Nesrin Saruhan

\* Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD, Eskişehir

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, gömülü 3. molar dişlerinin (M3) operatif zorluk skoruna (OZS) ve çekimini takiben görülen komplikasyonlara göre değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Araştırmamıza, 99'u alt 21'i üst M3'e sahip 73'ü kadın 47'si erkek toplam 120 hasta dâhil edildi. Ameliyat öncesi klinik ve radyolojik olarak M3'lerde OZS belirlendi ve görülen komplikasyonlar değerlendirildi. **Bulgu:** M3'ler OZS'ye göre değerlendirildiğinde; 27'sinin (%22,5) OZS 3, 29'unun (%24,2) OZS 4, 53'ünün (%44,2) OZS 5, 11'inin ise (%9,1) OZS 6 olduğu görüldü. Postoperatif olarak hastaların 3'ünde (%2,5) alveolar osteitis, 1'inde (%0,8) cerrahi alan enfeksiyonu, 2'sinde ise (%1,6) geçici parestezi olduğu görüldü. **Sonuç:** Alt çenede üst çeneye göre M3'lerde cerrahi çekimlerinde daha sık komplikasyon görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Gömülü 3. molar, Komplikasyon, Operasyon zorluk skoru

**Abstract:** Purpose: In this study, it was aimed to evaluate the impacted third molars (M3) according to operative difficulty score (ODS) and complications following the surgical removal. **Methods:** A total of 120 patients were included in the study, of which 73 were female and 47 were male, of which 99 were lower 21 were the upper M3. Before surgical extraction the (ODS) of the impacted third molars were determined and the complications were evaluated clinically and radiologically. **Results:** When M3 was evaluated according to ODS, 27 (22,5%) ODS 3, 29 (24,2%) ODS 4, 53 (44,2%) ODS 5 and 11 (9,1%) ODS 6 were found. Alveolar osteitis was found in 3 patients (2.5%), surgical site infection was found in 1 patient (0.8%) and temporary paresthesia was found in 2 patients (1.6%) postoperatively. **Conclusion:** The complications of surgical removal of the M3 are seen more frequently in the lower jaw than the upper jaw.

**Keywords:** Impacted third molar, Complication, Operative difficulty score.

#### Yazışma Adresi:

Dr. Öğretim Üyesi  
Nesrin SARUHAN  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
Ağız Diş ve Çene Cerrahisi  
Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.  
E posta: dt\_nesrin@yahoo.com  
Tel.: +90 222 239 37 50- 1446  
Fax: 0222 239 12 73



## Giriş

Gömülü yirmi yaş dişlerinin (M3) cerrahi çekimi oral ve maksillofasiyal cerrahide en sık uygulanan cerrahi operasyonlardan biridir(1). Ameliyat sırasında veya ameliyat sonrasında komplikasyon görülme oranı %4,6 ile %30,9 arasında değişmektedir(2-5). Hastanın yaşı, cinsiyeti, sistemik durumu, perikoronitisin varlığı, ağız hijyeninin durumu, sigara kullanımı, hastanın doğum kontrol hapı kullanması ve gömülü olduğu derecesi ve zorluğu M3 cerrahisinde komplikasyonların gelişmesinde etkili önemli faktörlerdir(3). Ayrıca, kullanılan cerrahi teknik, ameliyatın süresi, çekim kavitesinde yapılan yıkamalar, anestezi tekniği gibi hekimin gerçekleştirdiği birçok faktör de komplikasyon gelişmesinde etkilidir(3-5). Bu çalışmada, M3'lerin açılanmalarına, operatif zorluk skoruna (OZS) ve cerrahi çekimlerinde görülen komplikasyonlara göre değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda, Eylül 2016 ile Ağustos 2017 tarihleri arasında M3 şikayeti ile kliniğimize başvuran 120 hastanın retrospektif verileri kullanıldı. Operasyon öncesi hastalardan panoramik radyografi alındı. M3'ler, açılanmalarına göre; vertikal, mesioangular, distoangular, horizontal, bukko-lingual veya bukko-palatinal olacak şekilde gruplandırıldı. Ayrıca M3'ler OZS'ye göre de sınıflandırıldı. Bu amaçla; tek bir cerrah tarafından ameliyat öncesi hastaların hem klinik hem de radyolojik olarak muayeneleri yapılarak M3'lerin operasyonu için; 0'dan 6'ya kadar olan değerlerde OZS oluşturuldu. OZS skorları; 0: çekimi gerekmeyen, 1: cerrahisiz sürmüş, 2: cerrahi olarak sürdürülmüş, 3: yumuşak dokuda gömülü, 4: kemikte kısmi gömülü, 5: kemikte tam gömülü, 6: kemikte tam gömülü ancak ulaşılması zor pozisyonda (komplike veya zor) olacak şekilde belirlendi. Her bir M3 için, OZS değeri 1'den (M3'ün cerrahisiz sürmüş) 6'ya kadar (kemikte tam gömülü M3'ün zor çekimi) olacak şekilde belirlendi.

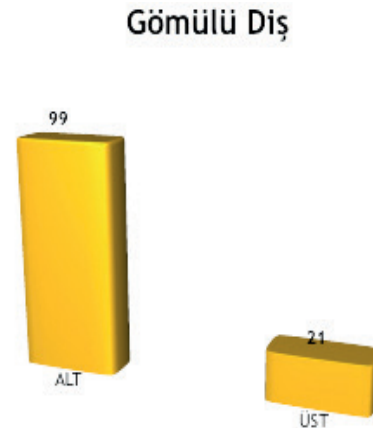
M3 bulunan hastalar tek bir cerrah tarafından 2 cc. %2,5'lik 1:100.000 adrenalin ilaveli articaine HCl (Ultracain D-S Forte ampul, Aventis, İstanbul, Türkiye) lokal anestetik solüsyonu ile opere edildi. Alt M3 cerrahisi yapılacak olan hastalara nervus mandibularis inferiorun rejonel anestezisi ile birlikte bukkal infiltrasyon anestezisi, üst M3 cerrahisi yapılacak olan hastalara ise tüber anestezi ile birlikte palatinal infiltrasyon anestezisi uygulandı. Lokal anestezi

sonrası ikinci molar diş hizasından vertikal insizyon atılarak tam kalınlıklı flep kaldırıldı. Kemik açığa çıkarıldıktan sonra M3'e ulaşmak amacıyla çevresindeki kemik doku tur ve frez yardımıyla kaldırıldı. M3'ün çekiminden sonra çekim soketi bol serum fizyolojikle yıkandı. Kanama kontrol altına alındıktan sonra yara yerleri 3-0 ipek sütür ile primer olarak kapatıldı. Tüm hastalarda aynı cerrahi protokol uygulandı. Ameliyat sonrası hastalara uygun antibiyotik (amoksisilin 1000 mg günde 2 defa), ağrı kesici (deksketoprofen 25 mg günde 3 defa) ve gargara (%2 klorheksidin glukonat günde 3 defa) reçete edildi. Postoperatif 7. günde sürtular alındı.

Postoperatif dönemde cerrahi alan enfeksiyonun teşhisi, uygun postoperatif bakımın sağlanmasına rağmen pürülan akıntı varlığı, beklenmedik ağrı ve/veya ödem gibi bulgular göz önüne alınarak yapıldı. Alveoller osteitinin teşhisi ise, yeni başlayan ağrı veya operasyondan 36 saat sonra artan ağrı ve kan pıhtısının kaybı sonucu ekspoze kemiğin klinik olarak görülmesi ile yapıldı.

## Bulgular

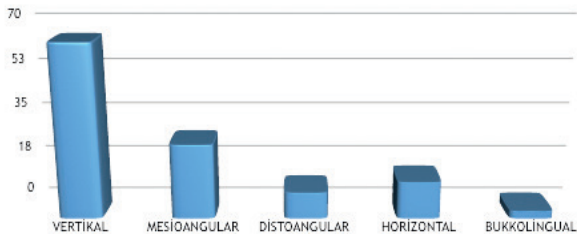
Araştırma kapsamındaki 120 hastanın 73'ü (%60,8) kadın, 47'si (39,2) erkekti. Hastaların yaş aralıkları 13 ile 62 arasında olup, yaş ortalaması 25,09±8,3'tür. Kadınların yaşları minimum 14 maksimum 51 (ortalama 23,68±6,4), erkeklerin yaşları minimum 13 maksimum 62 (ortalama 27,28±10,3), araştırmaya 99 alt (%82,5) ve 21 üst (%17,5) olmak üzere toplam 120 yirmi M3 dahil edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1: M3'lerin çenelere göre dağılımı

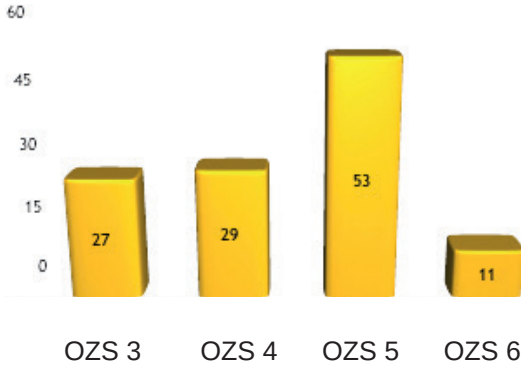
Çalışmamızda; M3'ler açılanmalarına göre değerlendirildiğinde, vertikal pozisyonda 65 (%54,2), mesioangular pozisyonda 28 (%23,3), distoangular pozisyonda 10 (%8,3), horizontal pozisyonda 14 (%11,7), bukkolingual-palatinal pozisyonda 3 (%2,5) gömülü diş olduğu görüldü (Şekil 2).

Gömülü Diş Pozisyonları



Şekil 2: M3'lerin açılanmalarına göre dağılımı

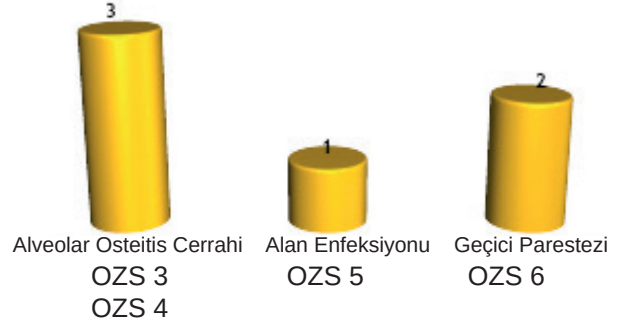
Çalışmaya dahil olan M3'lerin OZS'ye göre 27'sinin (%22,5) OZS 3, 29'unun (%24,2) OZS 4, 53'ünün (%44,2) OZS 5, 11'inin ise (%9,1) OZS 6 olduğu görüldü (Şekil 3).



Şekil 3: M3'lerin OZS'ye göre dağılımı

Çalışmamızda M3 cerrahisi sonrası görülen komplikasyonlar değerlendirildiğinde; 120 vakanın 3'ünde (%2,5) alveolar osteitis, 1'inde (%0,8) cerrahi alan enfeksiyonu, 2'sinde (%1,6) geçici parestezi olduğu görüldü (Şekil 4). Alveolar osteitisin görüldüğü üç vakanın ikisi OZS 3 biri OZS 4, cerrahi alan enfeksiyonunun görüldüğü vaka OZS 5, geçici parestezinin görüldüğü iki vaka da OZS 6 grubundaydı.

## Görülen Komplikasyonlar



Şekil 4: M3'lerin cerrahisinde karşılaşılan komplikasyonların dağılımı

## Tartışma

Günümüzde oral ve maksillofasiyal cerrahide M3'lerin cerrahi çekimi en sık uygulanan minor cerrahi işlemlerdir. Bunun nedeni, M3'lerin tekrarlayan perikoronitis, komşu dişte çürük oluşması, fonksiyonsuzluk, nedeni belirlenemeyen yüz ağrısı, periodontal, protetik ve ortodontik nedenler ile kist, tümör gibi patolojiler meydana getirebilme potansiyelleridir(2-6).

M3'lerin cerrahi çekimi sonrası görülen komplikasyon oranları nispeten düşüktür (genellikle <5%) ve çoğu komplikasyon minör ve geçicidir(7). Alveolar osteitis ve cerrahi alan enfeksiyonu, M3 çekiminden sonra ortaya çıkan en sık görülen postoperatif komplikasyonlardır(8).

Alveolar osteitis, M3 çekimini takiben postoperatif en sık görülen komplikasyondur ve çoğu çalışmada %20'den daha düşük olmak üzere %0 ile %68 arasında oldukça değişken oranlarda bildirilmiştir(8-10). Bizim çalışmamızda, 120 vakanın sadece 3'ünde alveolar osteitis görüldü (%2,5) ve her üç vaka da alt çenedeydi. Bu üç vakanın 2'sinde OZS 3, 1'inde ise OZS 4'tü. OZS 5 ve OZS 6'da alveolar osteitis görülmedi. Köşger ve ark. yaptıkları çalışmalarında, alveolar osteitis sıklığının alt azı bölgesinde arttığını ve yaş ile alveolar osteitis görülme insidansı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir(11). Bizim çalışmamızda ise, alveolar osteitis görülen hastaların yaşları 19, 31 ve 51 idi. Veri sayımız yeterli olmadığı için hastaların yaşı ile alveolar osteitis arasındaki ilişki değerlendirilemedi.

Cerrahi alan enfeksiyonu, M3 çekimi ardından en sık görülen ikinci komplikasyondur. Çoğu çalışmada, M3'ün çıkarılmasını takiben görülen cerrahi alan enfeksiyonu oranı %5'in altında bildirmiştir; bununla birlikte, %1.2 ile %27 arasında değişen oranların da bildirildiği çalışmalar bulunmaktadır(10,12-14). Bu çalışmadaki cerrahi alan enfeksiyonu 120 hastanın sadece 1 tanesinde OZS 5 grubunda (%0,8) görüldü. Blondeau ve Daniel'in alt M3 çekim komplikasyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, M3'lerin çekimi sonrasında %0,4 ile %8,4 oranında parestезinin görüldüğünü ve dişin gömülü olduğu yerin derinliğinin artması ile parestezi riskinin arttığını bildirmişlerdir (15). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak postoperatif olarak görülen parestezi vakasının (%1,6) her ikisi de OZS 6 idi.

Meydana gelen komplikasyonlarda dişlerin gömülülük sınıflaması ve dişlerin pozisyonları da etkili olabilmektedir(2-5, 11, 15, 16). Bizim çalışmamızda alveoler osteitis görülen üç vakanın 2'sinde M3 vertikal, 1'inde ise M3 mesioangular pozisyondaydı. Cerrahi alan enfeksiyonu görülen 1 vakada ise M3 distoangular pozisyondaydı. Parestezi görülen 2 vakanın 1'inde M3 horizontal pozisyondayken 1'inde ise mesioangular pozisyondaydı.

Lang ve ark. alt-üst ve sağ-sol olmak üzere her bir hastada 4 M3 olacak şekilde M3'leri OZS'ye göre sınıflandırdıkları çalışmalarında, OZS değerini 0-6 arası değerlendirip her bir hasta için 4\*6 olacak şekilde 0-24 arası OZS değeri belirlemişler(17). Bizim yaptığımız çalışmada farklı olarak her bir diş için 0-6 arası olacak şekilde OZS değeri belirlendi.

## Sonuç

M3'lerin operasyon zorluk skorlarını, cerrahi çekimleri sonrası görülen komplikasyonlarını, açılanmalarını ve bunların birbirleriyle olan ilişkilerini değerlendiren, veri sayısının daha fazla olduğu çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Böylelikle; operasyon zorluk skorları, açılanmalar, yaş, cinsiyet ve çeneler birbirlerine göre karşılaştırılmalı olarak değerlendirilebilecektir.

## Teşekkür

Çalışmalarımıza verdikleri klinik desteklerinden dolayı Dt. Mehmet Elbirlik'e teşekkür ederim.

## Kaynaklar

1. Garcia Garcia A, Gude Sampedro F, Gandara Rey J, Gallas Torreira M. Trismus and pain after removal of impacted lower third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Nov;55(11):1223-6.
2. Jerjes W, El-Maaytah M, Swinson B, Banu B, Upile T, D'Sa S, et al. Experience versus complication rate in third molar surgery. *Head Face Med.* 2006 May 25;2:14.
3. Sisk AL, Hammer WB, Shelton DW, Joy ED, Jr. Complications following removal of impacted third molars: the role of the experience of the surgeon. *J Oral Maxillofac Surg.* 1986 Nov;44(11):855-9.
4. Contar CM, de Oliveira P, Kanegusuku K, Berticelli RD, Azevedo-Alanis LR, Machado MA. Complications in third molar removal: a retrospective study of 588 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 Jan 01;15(1):e74-8.
5. Archer W. H. *Oral and maxillofacial Surgery.* Fifth Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1975.
6. Chaparro-Avendano AV, Perez-Garcia S, Valmaseda-Castellon E, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Morbidity of third molar extraction in patients between 12 and 18 years of age. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005 Nov-Dec;10(5):422-31.
7. Bui CH, Seldin EB, Dodson TB. Types, frequencies, and risk factors for complications after third molar extraction. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003 Dec;61(12):1379-89.
8. Fridrich KL, Olson RA. Alveolar osteitis following surgical removal of mandibular third molars. *Anesth Prog.* 1990 Jan-Feb;37(1):32-41.
9. Blum IR. Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, aetiopathogenesis and management: a critical review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Jun;31(3):309-17.
10. Halpern LR, Dodson TB. Does prophylactic administration of systemic antibiotics prevent postoperative inflammatory complications after third molar surgery? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2007;65(2):177-85.
11. Köşger HH AS, Polat S, Ozan F, Yeler H. . Alveolit görülme sıklığı. *Cumhuriyet Üniv Diş hekimliği Fak Derg.* 2002;5:71-4.
12. Poeschl PW, Eckel D, Poeschl E. Postoperative prophylactic antibiotic treatment in third molar surgery--a necessity? *J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jan;62(1):3-8.
13. Lacasa JM, Jimenez JA, Ferras V, Bossom M, Sola-Morales O, Garcia-Rey C, et al. Prophylaxis versus

pre-emptive treatment for infective and inflammatory complications of surgical third molar removal: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial with sustained release amoxicillin/clavulanic acid (1000/62.5 mg). *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Apr;36(4):321-7.

14.Loukota RA. The effect of pre-operative perioral skin preparation with aqueous povidone-iodine on the incidence of infection after third molar removal. *Br J Oral Maxillofac* 1991 Oct;29(5):336-7.

15.Blondeau F, Daniel NG. Extraction of impacted mandibular third molars: postoperative complications and their risk factors. *J Can Dent Assoc.* 2007 May;73(4):325.

16.Chiapasco M, De Cicco L, Marrone G. Side effects and complications associated with third molar surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993 Oct;76(4):412-20.

17.Lang MS, Gonzalez ML, Dodson TB. Do Antibiotics Decrease the Risk of Inflammatory Complications After Third Molar Removal in Community Practices? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2017;75(2):249-55.

## Transrektal Prostat İğne Biyopsisinin Eretil Fonksiyon Üzerine Etkisi

### The Impact of Transrectal Prostate Needle Biopsies on Erectile Functions

#### Öz

\* Dr. Osman Ergün

\* Süleyman Demirel  
Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Üroloji Anabilim Dalı,  
Isparta, TÜRKİYE

**Amaç:** Transrektal ultrasonografi eşliğinde prostat biyopsi işleminin, hastaların cinsel fonksiyonu üzerine olan etkilerini, işlem öncesinde ve sonrasında farklı zaman aralıkları ile değerlendirmek. **Hastalar ve yöntem:** Çalışmaya işlem öncesi Uluslararası Prostat Semptom Skoru (IPSS) ve Uluslararası Eretil İşlev Formu (IIEF-5) doldurtulan ve işlem sonrası bu formlar tekrar 1. ve 3. aylarda doldurtulmuş olan ve biyopsi sonucu prostat kanseri ile uyumlu gelmeyen 80 hasta alındı. IIEF-5'e göre hastaların eretil fonksiyonları 5 kategoriye ayrıldı; 5-7: ağır eretil disfonksiyon (ED), 8-11: orta ED, 12-16: hafif-orta ED, 17-21: hafif ED, 22-25: ED olmayan. **Bulgular:** Hastaların %45'i (36/80) üç günden fazla süren rektal kanama şikayeti bildirdiler. Üç günden uzun süren hematospermi ve/veya hematurisi şikayeti hastaların %78,8'inde (63/80) gözlemlendi. Biyopsi öncesi IIEF skor ortalaması 24.3±8.4 idi. Biyopsi sonrası 1. ve 3. aylardaki IIEF skor ortalamaları sırası ile 20.3±9,6 ve 22.4±8.9 idi (p<0,05). Biyopsi öncesi ED' u olmayan hasta grubunda biyopsi sonrası 1. ayda ED görülme oranı %31.6 (18/57) idi. Bu oranın 3. ayda %5.3'e (3/57) gerilediği tespit edildi. Başlangıçta ED' u olmayan hasta grubunda biyopsi sonrası görülen ED'un şiddeti, IIEF-5'e göre 17-21 arası olup hafif ED sınıflamasına girmekte idi. **Sonuç:** Biyopsi ilişkili cinsel disfonksiyon ihtimali, prostat biyopsisi geçiren tüm hastalarda olasıdır. Fakat çalışmamıza dayanarak denebilir ki; biyopsi sonrası seksüel disfonksiyon, özellikle de eretil disfonksiyon çoğu zaman geçici bir durumdur.

**Anahtar Kelimeler:** Eretil disfonksiyon, impotans, prostat biyopsisi, uluslararası eretil işlev formu

#### Abstract

**Object:** To evaluate the effects of transrectal ultrasound guided biopsies of the prostate on patients' sexual function at different time intervals (before and after the procedure). **Material and methods:** Eighty prostate cancer free patients were included the study, those were completed the International Prostate Symptom Score (IPSS) and International Index of Erectile Function (IIEF-5) before, and 1 and 3 months after biopsy. We classified erectile function into five categories according to IIEF-5 scores: severe (5–7), moderate (8–11), mild-moderate (12–16), mild (17-21) and no ED (22–25). **Results:** 45% (36/80) of the patients notified rectal bleeding complaints continuing for over three days. Hematospermia and /or hematuria complaints that prolonged over three days were observed at 78.8% (63/80) of patients . The mean

#### Yazışma Adresi:

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Doğu Yerleşkesi  
Çünür / Isparta - TURKEY  
PK: 32260  
Tel: +90-246 211 20 00  
Fax: +90-246 211 2830 - 2832  
E-mail: osmanergun77@mynet.com



IIEF score before biopsy was  $24.3 \pm 8.4$ . The mean IIEF score at the first and third months after biopsy was  $20.3 \pm 9.6$  and  $22.4 \pm 8.9$ , respectively ( $p < 0.05$ ). In the previously potent patient group, the rate of ED at 1 month after biopsy was 31.6% (18/57). This rate decreased to 5.3% (3/57) at 3 months after biopsy. In the previously potent patient group, post biopsy ED severity was between 17-21 according to IIEF-5 and was entering the mild ED classification. **Conclusion:** The biopsy-related sexual dysfunction may be potentially emerged in all patients undergoing prostate biopsy. But based on this study; Post-biopsy sexual dysfunction, especially erectile dysfunction, is often a temporary condition.

**Keywords:** Erectile dysfunction, impotence, international index of erectile function, prostate biopsy

## Giriş

Transrektal ultrasonografi (TRUS) eşliğinde yapılan prostat biyopsisi günümüzde prostat kanserinin erken tanısını etkin bir şekilde koymakta kullanılan standart tanı yöntemidir. İlk prostat biyopsisi 1930'lu yıllarda tanımlandı, 1950'lerde prostat ultrasonografik olarak transrektal yolla görüntülendi ve 1970'lerin başında TRUS eşliğinde biyopsi popülerize oldu. Ancak TRUS eşliğinde prostat biyopsilerinin yaygınlaşması ve parmak klavuzluğunda alınan biyopsilerin yerini alması, serum prostat spesifik antijen (PSA) düzeyi ölçümünün kliniklerde yaygın olarak kullanılmaya başladığı 1980'lerin sonunu bulmuştur.

Tahmini olarak, Avrupa ve Amerika' da, yılda 2 milyon üzerinde prostat biyopsisi girişimi yapılmakta (1,2). Prostat biyopsisi genellikle hastalar tarafından iyi tolere edilse de, yine de bu işlem belli oranda ağrı ve rahatsızlığa neden olabilmektedir. Dikkatli bir hasta hazırlığı ve uygun profilaktik önlemler alınarak yapıldığı takdirde TRUS prostat biyopsisi komplikasyonları genellikle minör komplikasyonlardır. Uygun antibiyotik profilaksisi ile septik komplikasyon oranı % 0,01' in altına düşmüştür ve periprostatik anestezi uygulaması da işleme bağlı ağrı hissini azaltmaktadır (3). TRUS prostat biyopsisine bağlı olarak en sık gözlemlenen komplikasyonlar: Hematüri, hematospermi, ağrı, dizüri ve idrar yolu enfeksiyonudur. TRUS biyopsisi sonrası erektil disfonksiyon (ED) görülebilmektedir. Ancak literatür değerlendirildiğinde görülme yüzdesi, tanımı, nedensel ilişkileri, kalıcı veya geçici olduğu konusunda çelişkiler olduğu gözlemlenmektedir. Biz bu ça-

lışmamızda TRUS eşliğinde prostat biyopsi işleminin, hastaların cinsel fonksiyonu üzerine olan etkilerini, işlem öncesinde ve sonrasında farklı zaman aralıkları ile değerlendirdik.

## Hastalar ve Yöntem

Kliniğimizde prostat muayenesinde asimetri ve sert nodül gibi şekilsel anomaliler, artmış serum total PSA değeri ( $>4\text{ng/ml}$ ) ve/veya anormal PSA derivelinin varlığı nedeniyle ilk defa TRUS eşliğinde prostat biyopsisi yapılan hastalar retrospektif olarak tarandı. Kliniğimizde rutin olarak 12 odaktan TRUS eşliğinde prostat biyopsisi alınmaktadır. Tüm hastalara işlem öncesi profilaktik antibiyotik uygulaması yapıldı. Anti-koagulan tedavisi alan hastaların tedavisi işlemden 7 gün önce kesildi. Çalışmaya işlem öncesi Uluslararası Prostat Semptom Skoru (IPSS) ve Uluslararası Erektile İşlev Formu (IIEF) doldurtulan ve işlem sonrası bu formlar tekrar 1. ve 3. aylarda doldurtulmuş olan ve biyopsi sonucu prostat kanseri ile uyumlu gelmeyen 80 hasta alındı. IPSS skoru 0-7 olanlar hafif, 8-19 olanlar orta ve 20-25 olanlar şiddetli semptomatik olarak üç gruba ayrıldı. IIEF-5'e göre hastaların ED'ları 5 kategoriye ayrıldı; 5-7: ağır ED, 8-11: orta ED, 12-16: hafif-orta ED, 17-21: hafif ED, 22-25: ED olmayan. Hastalara işlem öncesi ve işlem sonrası 1. ve 3. aylarda Beck depresyon ölçeği doldurtuldu. Veriler Statistical Package for the Social Sciences version 11.5.2.1 (SPSS Inc, Chicago, USA) kullanılarak analiz edildi.

## Bulgular

Hastaların demografik verileri Tablo 1' de özetlendi. Hastaların ortalama yaşı 61.4 (46-82) idi. Biyopsi öncesi PSA ortalamaları  $11.7 \pm 8.5$  ng/mL idi. Ortalama prostat ağırlığı  $52.4 \pm 36.8$  olarak ölçüldü. Biyopsi sonrası 2 hastada semptomatik üriner sistem enfeksiyonu gelişti ve bu hastalardan alınan kültürde florokino- lon rezistan Escherichia coli üredi. Hastaların %45'i (36/80) üç günden fazla süren rektal kanama şikayeti bildirdiler. Üç günden uzun süren hematospermi ve/veya hematüri şikayeti hastaların %78,8' inde (63/80) gözlemlendi. Hastaların 6'sında (%7,5) Diyabetes mellitus, 8'inde koroner arter hastalığı (%10), 24'ünde (%30) Hipertansiyon gibi ED' un patofizyolojisinde rol alabilecek ek hastalıklar eşlik ediyor idi.

Biyopsi öncesi IIEF skor ortalaması  $24.3 \pm 8.4$  idi (Tablo 2). Biyopsi sonrası 1. ve 3. aylardaki IIEF skor ortalamaları sırası ile  $20.3 \pm 9.6$  ve  $22.4 \pm 8.9$  idi. Biyopsi



Tablo 1 Hastaların demografik özellikleri

n:80	
Yaş (ort.)	61,4 (46-82)
PSA (ort.)	11,7±8,5
Prostat ağırlığı (ort.)	52,4±36,8
DM	%75 (6/80)
KAH	%10 (8/80)
HT	%30 (24/80)
Enfeksiyon	%2,5 (2/80)
Rektal kanama	%45 (36/80)
Hematospermi / Hematüri	%78,8 (63/80)

Ort.: Ortalama

öncesi IIEF ile 1. ve 3. aylardaki IIEF arasında istatistik olarak anlamlı fark vardı ( $p<0,05$ ).Biyopsi sonrası IIEF-5 skorlarında gözlemlenen değişim ile hastaların yaşı, serum PSA değerleri ve prostat ağırlıkları arasında istatistik olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0,05$ ).

Biyopsi öncesi yapılan değerlendirme ve IIEF' ye göre 57 (%67,9) hastanın ED'u yoktu (Tablo 2). ED'u olan hasta sayısı ise 23 (%27,4) idi. Biyopsi öncesi ED'u olmayan hastalar Grup 1, olan hastalar Grup 2 olarak adlandırıldılar. ED' u olmayan Grup 1 deki hastalarda biyopsi sonrası 1. ayda ED görülme oranı %31,6 (18/57) idi. Bu oranın 3. ayda %5,3'e (3/57) gerilediği tespit edildi. Başlangıçta ED'u olmayan hasta grubunda biyopsi sonrası görülen ED'un şiddeti, IIEF-5'e

göre 17-21 arası olup hafif ED sınıflamasına girmekte idi. Öncesinde ED si olmayıp biyopsi sonrası 3. ayda ED'u devam eden 3 hastadan birinde diyabet, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı, birinde hipertansiyon eşlik etmekte idi. Son üçüncüsünde ise eşlik eden bir hastalık mevcut değil idi. Hastaların biyopsi sonrası 1. Aydaki ve 3. Aydaki ortalama BECK depresyon skorları sırası ile  $19,7\pm 9,1$  ve  $12,7\pm 8,2$  idi ve aradaki fark istatistik olarak anlamlı idi ( $p<0,05$ ).

## Tartışma

TRUS eşliğinde prostat biyopsisi sonrası en sık gözlemlenen komplikasyonlardan biri enfeksiyondur. Asemptomatik bakteriüri şeklinde ortaya çıkabileceği gibi, ateşli üriner sistem enfeksiyonu, akut bakteriyel prostatit, orşit, epididimit ve üriner sepsis şeklinde de ortaya çıkabilir (4,5). Prostat biyopsisi öncesinde profilaktik olarak en sık kullanılan antibiyotik grubu florokinolonlardır. Literatürde prostat biyopsisi sonrası bildirilen enfeksiyöz komplikasyonların oranı %0,1 ile 7 arasındadır. Biyopsi öncesi rektumdan kültür alınan hastalarda florokinolon dirençli bakteri kolonizasyon oranı %10-22 arasında bildirilmiştir (6,7). Bizim çalışmamızda da hastaların %2,5'inde (2/80) semptomatik üriner sistem enfeksiyonu gelişti. Prostat biyopsisi sonrası hematüri %2-84 arasında, hematokezya %1,3-45 arasında ve hematospermi %1,1-92,6 arasında bildirilmiştir (1,8-11). Çalışmamızda üç günden uzun süren hematokezya hastaların %45' inde, hematospermi ve/veya hematüri şikayeti hastaların %78,8' inde gözlemlendi.

Tablo 2 Tüm hastaların ve grup 1'deki hastaların farklı zaman aralıklarındaki IIEF karşılaştırmaları

Prebiyopsi IIEF	Postbiyopsi 1. ay	Postbiyopsi 3. ay	p
24,3±8,4	20,3±9,6	22,4±8,9	<0,05
Grup 1 (Prebiyopsi ED yok)	Grup 1 birinci ay ED	Grup 1 ikinci ay ED	p
24,4±6,2	19,7±4,1*	23,8±0,90	<0,05*
%67,9 (57/80)	%31,7 (18/57)	%5,3 (3/57)	>0,050

\*: Prebiyopsi IIEF - 1. ay IIEF  
0: Prebiyopsi IIEF - 1. ay IIEF

ED kişinin seksüel ilişki için yeterli penis ereksiyonunu sağlayamaması veya sürdürememesidir. Yaşamı tehdit eden hastalıklarla uğraşıldığı zaman elde edilen veriler genellikle doğrudur. Çünkü, bu hastalıklardan yakınan kişiler tavsiye ve tedavileri araştırırlar. Yaşamı tehdit etmeyen bir disfonksiyon ile uğraşıldığı zaman senaryo oldukça farklıdır ve ED için tedavi edilen kişiler etkilenen popülasyonun sadece bir kısmını gösterebilir. Erkek seksüel disfonksiyonu sadece yaşamı tehdit etmeyen bir rahatsızlık olmakla kalmayıp, aynı zamanda kültürel, dini ve legal konularla da bağlı olduğu için daha karmaşık kompleksler bütünüdür. 20. Yüzyılın ortalarına kadar seks, özel ve paylaşılmaz bir konu olarak görülmüş ve hastaların büyük bir kısmı, öneri ve yardım istemedikleri için ED'dan etkilenen popülasyonu doğru olarak tanımlamak imkansız hale gelmiştir (12). Günümüzde sağlıklı cinsel fonksiyon, yaşam kalitesinin önemli bir parçası olmuş ve yaşam beklentisi arttıkça, daha fazla sayıda erkek bu sorunu önemser ve doktora başvurur hale gelmiştir. Dolayısı ile hastalara yapılan tedaviler ve girişimsel işlemler sonrası ereksiyon fonksiyonu üzerinde negatif etki oluşturacak durumlar hem hastalar hem de sağlık çalışanları tarafından daha çok dikkate alınmaya başlanmıştır. Prostat biyopsisi sonrası ED gelişimi ile ilgili olarak; biyopsiye bağlı nörovasküler demet hasarından biyopsiye bağlı anksiyete veya prostat kanseri teşhisinin psikolojik etkileri gibi birçok etken öne sürülmüştür. Prostat kanserli hasta popülasyonu incelendiğinde, ED'nin bu grupta normal popülasyondan daha fazla gözlemlenmediği bildirilmiştir (13).

ED multifaktöryel bir etyolojiye sahiptir. Geniş bir hastalık spektrumu ED'a neden olmaktadır. Diyabetes mellitus, periferik vasküler hastalıklar, kardiyak problemler, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi kronik hastalıklar ve yaşlanma ve sigara ED gelişimi için major risk faktörleridir (14). Dolayısı ile ED'un bu etyolojik özelliklerinden dolayı, aynı değişkenler veya ilişkiler bireyde aynı anda etki edebileceğinden, ED'un etyolojik nedenini tespit etmek zor olabilmektedir. Bundan dolayı biz çalışmamızda transrektal iğne biyopsisinin ereksiyon fonksiyonu üzerindeki etkisini değerlendiren hastalara biyopsi öncesi IIEF-5 formu doldurttuk. Hastaları bu sorgulama formuna göre 5 kategoriye ayırdık ve biyopsinin primer olarak erektil fonksiyon üzerine olan etkisini değerlendirmek için ise erektil fonksiyonu normal olan grubu primer grup olarak analiz ettik.

ED'un psikojenik komponenti veya insan psikolojisi

üzerindeki etkileri de önemlidir. Ereksiyon fonksiyonunda oluşan yetersizlik kişide tatmin edici olmayan seksüel girişim ile sonuçlanır. Bu başarısız girişimler kişi üzerinde psikolojik yıkım ve korkuyu daha da artırır. Aynı şekilde yapılan çalışmalarda psikojenik rahatsızlığı olanlarda ED olabileceği ortaya konmuştur. Klinik çalışmalar, tüm deprese bireylerin %50-90'ında seksüel aktivitede azalma olduğunu ortaya koymuştur (15). Massachusetts Male Ageing çalışmasında depresyon, düşük seviyede dominans, dıştan veya içten ifade edilen öfke durumları gibi psikolojik faktörler kuvvetli bir şekilde ED ile bağlantılı bulunmuştur (14). Bu çalışmada öfkenin baskılanması veya açığa vurulmasının maksimum seviyelerini gösterenlerde, orta ED'un yaşa ayarlı olasılığı %35 bildirilmiştir. Maksimum seviyede depresyonda ise orta ve tam ED'un yaşa ayarlı olasılığı %90 civarında belirtilmiştir. Prostat kanseri şüphesi ile alınan prostat biyopsisinin kişide işleme bağlı veya patoloji sonucu beklentisine bağlı olarak biyopsi sonrasında depresyonel ve anksiyotik psikolojik mod değişikliklerine neden olabilmektedir. Bu mod değişikliklerinin şiddeti özellikle patoloji sonuç verme süresi uzadıkça artabilmektedir. Bizde bu amaçla depresyon ve biyopsi sonrası ED ilişkisini ortaya koyabilmek için Beck depresyon ölçeği kullandık. Çalışmamızda hastaların biyopsi öncesi IIEF skor ortalaması 24.3±8.4 idi. Biyopsi sonrası 1. ve 3. aylardaki IIEF skor ortalamaları sırası ile 20.3±9,6 ve 22.4±8.9 idi. Hastaların IIEF değerleri, ortalama birinci ayda belli olan patoloji sonucu belli olana kadarki dönemde maksimum düşmekte idi. Bu düşüş üçüncü ayda yaptığımız değerlendirmede düzelmekte ve hemen hemen biyopsi öncesi değerlere yükselmekte idi. Bu durumun hastaların patoloji sonucunu beklerken yaşadıkları depresif moda bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü aynı şekilde hastaların beck depresyon analizi değerlendirildiğinde bu tezimiz destekler sonuçlar elde ettik. Hastaların biyopsi sonrası 1. aydaki ve 3. aydaki ortalama BECK depresyon skorları sırası ile 19.7±9.1 ve 12,7±8.2 idi. Aradaki fark istatistik olarak anlamlı idi. Prostat biyopsisi sonucunu beklemenin ED üzerine negatif etkilerinin olduğu Zisman ve ark tarafından ortaya konmuştur (16). Fujita ve ark prostat kanseri teşhisi koyup aktif izlem protokolüne aldıkları 152 erkek hastayı ED yönünden takip etmişlerdir (17). Hastaların ortalama yaşı 68,7 olup takip süresince ortalama 2,3 defa prostat biyopsisi olmuşlardır. Hastaları en fazla 2 defa ve en az 3 defa biyopsi olanlar şeklinde karşılaştırdıklarında. En az 3 defa biyopsi geçirenlerde ereksiyon fonksiyonunda daha fazla bozulma tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmanın kı-

sıtlayıcı tarafı değerlendirmeye aldıkları 152 erkekten 86'sının (%57) zaten başlangıçta değişik derecelerde ED'a sahip olmalarıdır. Hilton ve ark ise artan biyopsi sayısı ile ereksiyon fonksiyonunda azalma arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki tespit etmemişlerdir (18). Yazarlar 2003 ile 2010 yılları arasında aktif izlem protokolüne aldıkları 427 hastayı değerlendirmişlerdir. Van der Bergh ve ark ise çalışmalarında aktif izlem alan grupla radikal işlem uygulananları karşılaştırmışlardır (19). Radikal tedavi alanlara göre aktif izlem grubunda daha az ED ve ereksiyonu devam ettirme ile ilgili sıkıntı tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmanın amacı radikal prosedürle aktif izlemi ereksiyon fonksiyonu yönünden karşılaştırmaktır.

ED'a multifaktöryel nedenler sebep olabilmektedir. Yapılan çalışmalar ve bu çalışmalardaki kısıtlılıkları da değerlendirdiğimizde biz biyopsinin erekil fonksiyon üzerine olan etkilerini daha iyi ortaya koymak için biyopsi öncesi potent olan hastaların analiz edilmesinin daha iyi olacağını düşünmekteyiz. Chrisofos ve ark yaptıkları çalışmada biyopsi öncesi potent olan hastaların % 8,69'unda biyopsi sonrası 3. ayda bile düzelmeyen ED tespit etmişlerdir (20). Ancak arada istatistiki olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır. Murray ve ark çalışmalarında tüm erkeklerde, özellikle daha önce prostat biyopsisi yapılmamış, kanser teşhisi konmuş ve 60 yaşın üzerinde olanlarda biyopsiden 3 ay sonrasına kadar IIEF skorundaki azalmanın devam ettiğini bildirmişlerdir (21). Çalışmamızda biyopsi öncesi yapılan değerlendirme ve IIEF' ye göre 57 (%67,9) hastanın ED'u yoktu. ED'u olmayan bu hasta grubunda biyopsi sonrası 1. ayda ED görülme oranı %31.6 (18/57) idi. Bu oranın 3. ayda %5.3'e (3/57) gerilediği tespit edildi. Başlangıçta ED'u olmayan hasta grubunda, biyopsi sonrası görülen ED'un şiddeti; IIEF-5'e göre 17-21 arası olup hafif ED sınıflamasına girmekte idi. Öncesinde ED'u olmayıp biyopsi sonrası 3. ayda, ED'u devam eden 3 hastadan birinde diyabet, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı, birinde hipertansiyon eşlik etmekte idi. Son üçüncüsünde ise eşlik eden bir hastalık mevcut değil idi.

## Sonuç

Biyopsi ilişkili cinsel disfonksiyon ihtimali, prostat biyopsisi geçiren tüm hastalarda olasıdır. Fakat çalışmamıza dayanarak denebilir ki; biyopsi sonrası seküel disfonksiyon, özellikle de ED çoğu zaman geçici bir durumdur. Bu durum, prosedürü uygulayan tüm klinisyenler tarafından hasta ile paylaşılmalıdır. Özel-

likle de hastalar için en can sıkıcı problem olan ED'un biyopsi sonrası erken dönemde ortaya çıkabilmesine rağmen uzun dönemde düzelebildiği ifade edilmelidir.

## Kaynaklar

1. Loeb S, Vellekoop A, Ahmed HU, Catto J, Emberton M, Nam R et al. Systematic review of complications of prostate biopsy. *Eur Urol* 2013;64:876–92.
2. Loeb S, Carter HB, Berndt SI, Ricker W, Schaeffer EM. Complications after prostate biopsy: data from SEER-Medicare. *J Urol* 2011;186:1830–4.
3. Djavan B, Waldert M, Zlotta A, Dobronski P, Seitz C, Remzi M et al. Safety and morbidity of first and repeat transrectal ultrasound guided prostate needle biopsies: results of a prospective European prostate cancer detection study. *J Urol*. 2001 Sep;166(3):856-60.
4. Lundström KJ, Drevin L, Carlsson S, Garmo H, Loeb S, Stattin P et al. Nationwide population based study of infections after transrectal ultrasound guided prostate biopsy. *J Urol* 2014;192:1116–22.
5. Bruyere F, Malavaud S, Bertrand P, Decock A, Carriou G, Doublet JD et al. Prostatitis: a multicenter, prospective analysis of infectious complications after prostate biopsy. *J Urol* 2015;193:145–50.
6. Liss MA, Taylor SA, Batura D, Steensels D, Chayakulkeeree M, Soenens C et al. Fluoroquinolone resistant rectal colonization predicts risk of infectious complications after transrectal prostate biopsy. *J Urol* 2014;192:1673-8.
7. Roberts MJ, Williamson DA, Hadway P, Doi SA, Gardiner RA, Paterson DL. Baseline prevalence of antimicrobial resistance and subsequent infection following prostate biopsy using empirical or altered prophylaxis: A bias-adjusted meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2014;43:301-9.
8. Raaijmakers R, Kirkels WJ, Roobol MJ, Wildhagen MF, Schröder FH. Complication rates and risk factors of 5802 transrectal ultrasound-guided sextant biopsies of the prostate within a population-based screening program. *Urology* 2002;60:826–30.
9. Berger AP, Gozzi C, Steiner H, Frauscher F, Varkakis J, Rogatsch H et al. Complication rate of transrectal ultrasound guided prostate biopsy: a comparison among 3 protocols with 6, 10 and 15 cores. *J Urol* 2004;171:1478–80.
10. Namekawa T, Fukasawa S, Komaru A, Kobayashi M, Imamura Y, Ohzeki T et al. Prospective evaluation of the safety of transrectal ultrasound-guided transperineal prostate biopsy based on adverse events. *Int J Clin Oncol* 2015;20:1185–91.

11. Manoharan M, Ayyathurai R, Nieder AM, Soloway MS. Hemospermia following transrectal ultrasound-guided prostate biopsy: a prospective study. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2007;10:283–7.
12. Benet AE, Melman A. The epidemiology of erectile dysfunction. *Urol Clin NA* 1995;22:699-709.
13. Sairam K, Kulinskaya E, Boustead GB, Hanbury DC, McNicholas TA. Prevalence of undiagnosed prostate cancer in men with erectile dysfunction. *BJU Int* 2002; 89: 261-3.
14. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou D, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychological correlates: Results of the Massachusetts Male Ageing Study. *J Urol* 1994;151:54-61.
15. Verrier RL, Dickerson LW. Autonomic nervous system and coronary blood flow changes related to emotional activation and sleep. *Circulation* 1991;83:1181-1189.
16. Zisman A, Leibovici D, Kleinmann J, Siegel YI, Lindner A. The impact of prostate biopsy on patient well-being: a prospective study of pain, anxiety and erectile dysfunction. *J Urol* 2001;165(2):445-54.
17. Fujita K, Landis P, McNeil BK, Pavlovich CP. Serial prostate biopsies are associated with an increased risk of erectile dysfunction in men with prostate cancer on active surveillance. *J Urol* 2009; 182: 2664-9.
18. Hilton JF, Blaschko SD, Whitson JM, Cowan JE, Carroll PR. The impact of serial prostate biopsies on sexual function in men on active surveillance for prostate cancer. *J Urol* 2012;188:1252-8.
19. van den Bergh RC, Korfage IJ, Roobol MJ, Bangma CH, de Koning HJ, Steyerberg EW, et al. Sexual function with localized prostate cancer: active surveillance vs radical therapy. *BJU Int* 2012;110:1032-9.
20. Chrisofos M, Papatsoris AG, Dellis A, Varkarakis IM, Skolarikos A, Deliveliotis C. Can prostate biopsies affect erectile function? *Andrologia* 2006;38:79–83.
21. Murray KS, Bailey J, Zuk K, Lopez-Corona E, Thrasher JB. A prospective study of erectile function after transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy. *BJU Int.* 2015 Aug;116(2):190-5.

# Travmatik Beyin Yaralanmasında Magnezyum Sülfat Tedavisinin İyileşme Üzerine Etkisinin Araştırılması

## Investigation of the Effects of Magnesium Sulfate Therapy on Recovery in Traumatic Brain Injury

\* Çağatay ÖZDÖL

\* Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahi Kliniği, Antalya, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Travmatik beyin yaralanmalarına bağlı sakat kalma ve ölüm oranı yüksektir. Ancak bu yaralanmaların zararlı sonuçlarına karşı koruma sağlamak için kesin olarak kanıtlanmış farmakolojik tedaviler bulunmamaktadır. Magnezyum travmatik beyin yaralanmasının patofizyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır. Bu yaralanmalarda magnezyum sülfat seviyelerinde düşme olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada travmatik beyin yaralanmalarında Magnezyum Sülfat tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Yöntem ve Gereçler:** Kasım 2008 ve Kasım 2016 arasında Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitesine kabul edilen travmatik beyin yaralanması olan 18 yaş ve üzeri 60 hasta geriye dönük olarak incelendi. **Bulgular:** Çalışmaya 60 hasta alındı (ortalama yaş  $35.6 \pm 17.6$ , 53 erkek, 7 kadın). Glasgow koma skorları Magnezyum Sülfat grubu ve kontrol grubunun her ikisinde başvuruda 5, taburculuk sırasında 7, iki ayın sonunda Magnezyum Sülfat grubunda 12, kontrol grubunda 9 tespit edildi ( $P < 0.05$ ). Hastaların yoğun bakımda kalış süreleri her iki grupta da ortalama 7 gün tespit edildi. Magnezyum Sülfat verilen 6 hastaya (%20), kontrol grubunda ise 8 hastaya (%26,6) cerrahi olarak dekompresyon yapıldı ( $p = 0.512$ ). Magnezyum sülfat verilen hastalarda 2 ay sonunda iyileşme üzerine anlamlı etki saptandı ( $p < 0.05$ ). Magnezyum Sülfat alan 1 (%3.33) hastanın ve kontrol grubu olan 3 (%10) hastanın taburcu olduktan sonra takipleri sırasında öldüğü tespit edildi ( $p < 0.05$ ). **Tartışma ve Sonuç:** Travmatik beyin yaralanmasını takiben 12 saat içerisinde Magnezyum Sülfat başlanmasının, nöroprotektif etki oluşturduğu görüşüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Magnezyum Sülfat; Travmatik Beyin Yaralanması; Tedavi

### Abstract

**Object:** The frequency of disability and mortality in traumatic brain injuries is high. However there are no proven pharmacologic therapies to prevent these injuries negative outcome. Magnesium plays central pathophysiological role in trumatic brain injuries. It has been shown that low magnesium levels were associated with these injuries. In this study, we investigate the effects of magnesium sulphate in traumatic brain injuries. Material and Methods: 60 patients, aged over 18, with traumatic brain injury that were admitted to intensive care unit in Antalya Education and Research Hospital between November 2008

Yazışma Adresi:

Çağatay ÖZDÖL  
Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahi Kliniği,  
Antalya, Türkiye  
Telefon: +90-242-2494400  
Faks: +90-242-2494462  
e-mail: drcagatayozdol@gmail.com



and November 2016 were retrospectively analyzed. Results: 60 patients were included in this study (mean age 35.6±17.6 years, 53 male, 7 female). GCS scores were 5 at admission, 7 at the time of discharge in Magnesium Sulphate and control groups, and at the end of two months; it was 12 in Magnesium Sulphate group and 9 in control group (P<0.05). Duration of intensive care unit stay was 7 days in both groups. Surgical decompression was performed in 6 (20%) of the Magnesium Sulfate and in 8 of the control group (26.6%) (p=0.512). After 2 months patients treated with Magnesium, recovery was significantly better (p<0.05). Mortality after discharge within 1 month was 1 patient (3.33%) in Magnesium Sulfate group and 3 (10%) patients with control group (p<0.05). Conclusion: We think that administration of magnesium sulphate within 12 hours of traumatic brain injury may have neuroprotective effects.

**Keywords:** Magnesium sulfate; Traumatic brain injury; Treatment

## Giriş

Travmatik beyin yaralanmaları (TBY) ani bir travmanın beyinde hasara neden olduğu durumlarda ortaya çıkar ve sık rastlanır. Bu yaralanmalara bağlı sakat kalma ve ölüm oranı yüksektir (1, 2). TBY'nin patofizyolojisi iki evrede ortaya çıkar. Birincil evre sırasında, biyomekanik hasarın doğrudan bir sonucu olarak etki bölgesinde lokalize veya yaygın nöronal ölüm vardır. Bu aşamada, beyin kan akışında bir azalma olur. Hipoksi ve beyin oksidatif metabolizma artışı ile iskemi görülür. Birincil evre, uzun vadeli etkiler ile bir sonraki ve geri çevrilemez ikincil evreyi harekete geçirir. Bu ikincil evre sırasında, biyokimyasal homeostatik yollar ve faktörlerdeki çeşitli dengesizlikler, geri dönüşü olmayan nöronal dejenerasyon ve ölümle sonuçlanan olayların artmasına katkıda bulunur. Birincil evre, tedavi edilemezken, ikincil evre teorik olarak tedaviye uygundur (2). Bununla birlikte TBY'nin zararlı sonuçlarına karşı koruma sağlamak için kesin olarak kanıtlanmış farmakolojik tedaviler bulunmamaktadır. Magnezyum TBY patofizyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır (3, 4). Magnezyum nöronları iskemik hasardan koruyabilir ve TBY sonrasında presinaptik eksitator nörotransmitterlerin salınımının inhibisyonu, N-Metil-D-Aspartat (NMDA) kanallarının ve voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının bloklanması, presinaptik adozin potansiyasyonu ve kortikal yayılan depres-

yonun baskılanması dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar aracılığıyla nöronal sağ kalımı destekleyebilir (5). Buna ilave olarak, magnezyum vasküler düz kasın gevşemesine neden olmakta ve dolayısıyla potansiyel olarak serebral kan akışını artırmaktadır (5). Çalışmamızda TBY'de Magnezyum Sülfat tedavisinin iyileşme üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (19/11/2015 tarihli ve 68/3 sayılı karar). Kasım 2008 ve Kasım 2016 arasında Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitesine kabul edilen TBY olan 18 yaş ve üzeri 60 hasta geriye dönük olarak değerlendirildi. Travmayı takiben 12 saat içerisinde magnezyum sülfat verilmiş ve 5 gün süreyle tedaviye devam edilebilmiş hastalar çalışmaya dahil edildi. Dosyaların incelenmesinde 30 hastaya Magnezyum Sülfat'ın (Magnezyum Sülfat %15 Ampül, Biyofarma, İstanbul/Türkiye) literatür ile uyumlu olarak 50mg/kg bolus ve 8mg/kg/saat infüzyon dozunda devam ettirildiği görüldü (6). Magnezyum Sülfat tedavisi verilmemiş 30 hasta ise kontrol grubu olarak seçildi. Hastaların dosyalarının incelenmesinde Ocak 2013 tarihinden itibaren Magnezyum Sülfat tedavisinin tüm TBY olgularında rutin olarak kullanıldığı ve ayrıca Magnezyum Sülfat verilen gruptaki hastaların veya yakınlarının sözlü onayı alındığı tespit edildi. 18 yaşın altındakiler, spinal travma hastaları, travmayı takiben 12 saat içerisinde Magnezyum Sülfat alamayanlar, serum kreatin konsantrasyonları 1,25 mg/dl'den daha fazla olanlar, gebeler, erken dönemde ölenler çalışmaya dahil edilmedi. Hastalar hastaneye kabulde yaş, cinsiyet, Glasgow koma skoru (GKS), mevcut travmaları, cerrahi yapıp yapılmadığı, yoğun bakımda kalış süreleri hasta dosyaları, epikriz bilgileri, radyolojik görüntü ve raporları incelenerek kaydedildi. Veri doğruluğunu sağlamak için elde edilen bilgiler tek bir kişi tarafından kaydedildi. Sonuçlar, TBY'nin 2 ay sonrasında dosyasındaki mortalite ve Glasgow sonuç skoru (GSS) ile değerlendirildi.

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 yazılım paketi (SPSS Inc, Chicago, Illinois, ABD) kullanılarak yapıldı. Değerlendirmeler Mann-Whitney U testi ve Ki-kare yöntemiyle gerçekleştirildi. P<0.05 anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Toplam 60 olgunun 53'ü erkek (%88), 7' si kadın (%12), ortalama yaş 35,6±17,6 (dağılım 2-80; ortanca 23) bulundu. Magnezyum Sülfat verilen grupta, 50mg/kg bolus ve 8mg/kg/saat infüzyon sonrasında serum magnezyum düzeylerinin 5mgr/gL (n= 1.8-2.6 mgr/dL) ve üzerinde olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda ise serum magnezyum düzeylerinin 1.8 mgr/dL' den düşük olduğu izlendi.

GKS 5-15 aralığında değişmekteydi. Ortalama GKS 12±4 (ortanca 14) olarak bulundu. Elde ettiğimiz sonuçlar iki grupta başlangıçta ve taburculuk sırasında alınan GKS kayıtlarının yükselen bir paterne sahip olduğunu, ancak Magnezyum Sülfat grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gösterdi (P> 0.05). Fakat 2. ay sonunda Magnezyum Sülfat verilen grupta GKS değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P <0.05) (Tablo 1).

Tablo 1 Hastaların GKS' na göre dağılımı

GKS	MgSo4 Verilen Grup	MgSo4 Verilmeyen Grup
Başlangıç	5	5
Taburcu	7	7
60. gün	12	9

Diffüz aksonal yaralanma 25 (%42,3), travmatik subaraknoid kanama (SAK) 15 (%25,5), kontüzyon 20 (%32,2) olguda izlendi. Hastaların yoğun bakımda kalış süresi ortalama 7 gün tespit edildi. Magnezyum Sülfat alan hastaların 6' sının (%20), kontrol grubu hastaların ise 8'inin (%26,6) cerrahi olarak dekompresyon yapıldığı görüldü (p=0.512). Magnezyum Sülfat alan 30 hastanın 20' sinde (%66,6), kontrol grubundaki 30 hastanın ise 12' sinde (%40) 2. ayda iyileşme veya orta derecede bağımlı GSS sonuçları tespit edildi (p<0.05). (Tablo 2).

Magnezyum Sülfat alan 1 (%3.33) hastanın ve kontrol grubu olan 3 (%10) hastanın taburcu olduktan sonra takipleri sırasında öldüğü tespit edildi (p<0.05).

Tablo 2 Hastaların GSS'ye göre dağılımı

GSS	MgSo4 Verilen Grup	MgSo4 Verilmeyen Grup
İyileşme (5) Orta derecede bağımlı (4) İleri derecede bağımlı (3)	20	12
Yüksek kortikal fonksiyonlar yok (2) Ölüm (1)	1	3

## Tartışma

Magnezyum normal fizyolojik süreçte, NMDA reseptörlerinin inhibitörüdür ve böylece kalsiyum akışını düzenler (7, 8). TBY' yi takip eden olaylar zincirinde, magnezyumun azalmasına bağlı NMDA reseptörlerinin homeostatik kontrolü kaybolur. Bu durum kalsiyum akışı, nöronal dejenerasyon ve hücre ölümü ile sonuçlanır (4). Yapılan bir çalışmada Magnezyum eksikliği, sıçanlarda plazma antioksidanlarında azalma, artmış lipid peroksidasyonu ve artmış oksidatif stres ile ilişkili bulunmuştur (9). Başka bir çalışmada ise koroner oklüzyon sırasında köpeklere magnezyum verilmesi reperfüzyon sırasında serbest radikallerin artışını azalttığı gösterilmiştir (9). Bu bulgular TBY sonrasında Magnezyum uygulamasının oksidatif stresi azalttığını doğrulamıştır (10).

TBY' de nörolojik hasarın azaltılmasında magnezyumun etkinliği konusunda moleküler mekanizmalar üzerinde çalışılmıştır. Tümör baskılayıcı gen TP53 (diğer adı p53), nöronal apoptozun bir düzenleyicisidir. Sıçanlarda beyin hasarından sonra korteks, talamus ve hipokampusta TP53 mRNA' sının yukarı regülasyonu gözlenmiştir (11). Magnezyum ile tedavi, beyin hasarı olan sıçanlarda TP53 geninin ve apoptozisin yukarı regülasyonunu azaltmıştır (12).

Memelilerin beyin astrositlerinde bulunan bir membran proteini olan Aquaporin-4, hücre su homeostazında önemli bir role sahiptir. Beyin hasarında Aquaporin-4

miktarı artar ve beyin ödemeine neden olur. Yapılan bir çalışmada beyin hasarı olan sıçanlarda, magnezyumun, Aquaporin-4 seviyesini düşürdüğü ve böylelikle beyin ödemeini azalttığı gösterilmiştir (13, 14).

İnsanlarda meydana gelen TBY' den sonra, total serum ve iyonize magnezyum konsantrasyonları azalmaktadır (15). Vink ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışma, akut TBY sonucu hem beyin hem de serbest magnezyum konsantrasyonundaki azalmayı bildiren ilk çalışmalardır (16, 17). Bu yazarlar, serbest magnezyum konsantrasyonundaki azalmanın beyindeki hücresel hasarın bir göstergesi olduğunu ve önemli fonksiyonel sonuçlarla ilişkili olduğunu göstermiştir. TBY sonrasında birçok çalışmada beyindeki düşük magnezyum seviyeleri dünya çapında çok sayıda araştırmacı tarafından kapsamlı bir şekilde rapor edilmiştir (18-21). Magnezyum düşüşünün türlere veya yaralanma modeline bakılmaksızın gözlenmesi, magnezyum düşüşünün akut beyin hasarının evrensel bir özelliği olduğunu düşündürmektedir. Heath ve arkadaşları, sıçanlarda yaptıkları deneylerde yaralanmadan 24 saat sonrasına kadar magnezyum uygulandığında motor gelişimi önemli ölçüde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir (22). Ayrıca travmadan 30 dakika sonra Magnezyum Sülfat uygulanması ile, 8 ve 12 saat sonra Magnezyum Sülfat uygulanması arasında istatistiksel olarak fark olmadığı, TBY sonrasında ilk 24 saatte Magnezyum Sülfat tedavisinin başlatılması için gereken kritik zaman aralığı olduğu sonucuna varmışlardır (22). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak TBY takiben ilk 12 saatte Magnezyum Sülfat verilmeye başlandığı ve 5. güne kadar devam edildiği görülmektedir.

Sen ve arkadaşları TBY' de mannitol ve Magnezyum Sülfat' ın beraber kullanımının nöroprotektif etkili olabileceğini bildirmişlerdir (23). Salehpour ve arkadaşları ağır diffüz aksonal yaralanma sonrası Magnezyum Sülfat uygulamasının nöroprotektif rolü olabileceğini göstermişlerdir (6). Dhandapani ve arkadaşları TBY' lerde parenteral Magnezyum Sülfat' ın belirgin bir yan etki olmaksızın mortalite ve intraoperatif beyin şişmesi üzerinde bazı olumlu etkileri olduğunu ifade etmişlerdir (24). Zhang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada TBY' li hastalara verilen Magnezyum Sülfat' ın nöroprotektif bir ajan olarak hareket edebileceği ve bu hastaların sonuçlarını iyileştirme eğilimi olduğunu bildirmişlerdir (25). Canavero ve arkadaşları, parenteral Magnezyum Sülfat uygulanan 32 şiddetli kafa travmalı hasta üzerinde yapılan kontrollü olmayan bir

çalışmada 6. ayda daha düşük mortalite fark etmişlerdir (26). Li ve arkadaşları yaptıkları bir meta-analizde, TBY sonrası Magnezyum Sülfat tedavisini umut verici olarak değerlendirmişlerdir (2).

Ancak Temkin ve arkadaşları orta veya şiddetli TBY' de verilen Magnezyum Sülfat' ın nöroprotektif olmadığını hatta olumsuz bir etkiye sahip olabileceğini söylemişlerdir (5).

Bu çalışma sonuçları, literatürde yayımlanan bulgular ile uyumludur. Çalışmamızda TBY' si sonrasında magnezyum sülfat verilmiş hastalarda GKS sonuçlarının 2. ayın sonunda kontrol grubu hastalara göre daha yüksek olduğunu bulduk. Magnezyum sülfat almış hastaların %66' sında iyileşme veya orta derecede bağımlı GSS sonuçları, kontrol grubunda ise %40'ında iyileşme saptadık. Hastaların yoğun bakımda kalış süreleri ve cerrahi dekompresyon ihtiyaçlarını benzer bulduk. Taburcu olduktan sonra takiplerde kontrol grubu hastaların %10'unun öldüğü, magnezyum sülfat verilen hastaların ise sadece %3'ünün öldüğünü saptadık. Sonuçlarımız, nörolojik olarak iyileşmenin TBY sonrası 12 saat içinde Magnezyum Sülfat uygulanmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Çalışmanın birtakım kısıtlamaları mevcuttur. Öncelikli olarak çalışmanın retrospektif yapılmış olması, elde edilen bilgilerin kısıtlılığı, hastaların homojenize olmaması yazının bilimsel değerini düşürmekle beraber TBY' li hastaları takip etme açısından yol gösterici bir yöntem olarak kullanılabilir.

## Sonuç

TBY sonrasında verilen Magnezyum sülfat iyileşme üzerine olumlu etkiler gösterip morbidite ve mortaliteyi azaltır.

## Kaynaklar

1. Kızılıçık N, Çelikoğlu E, Keleştemur T, Köner Ö, İş M, Bilgen S, et al. Comparing effects of intraventricular hypertonic saline and magnesium sulfate application on diffuse brain injury in rats. J Turk Soc Intens Care 2017;15:34-8.
2. Li W, Bai Y, Li Y, Liu K, Wang M, Xu G, et al. Magnesium sulfate for acute traumatic brain injury. J Craniofac Surg 2015;26(2):393-8.

3. McIntosh TK. Novel pharmacologic therapies in the treatment of experimental traumatic brain injury: a review. *J Neurotrauma*. 1993;10(3):215-61.
4. van den Heuvel C, Vink R. The role of magnesium in traumatic brain injury. *Clin Calcium*. 2004;14(8):9-14.
5. Temkin N, Anderson G, Winn H, Ellenbogen R, Britz G, Schuster J, et al. Magnesium sulfate for neuroprotection after traumatic brain injury: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 2007;6(1):29-38.
6. Salehpour F, Shakeri M, Ahmadvand A, Vafae R, Jafari R, Safaiyan A. Magnesium sulfate effect on the clinical course and GCS of patients with a severe diffuse axonal injury. *J Paramed Sci* 2012;3(4):2-6.
7. Altura B, Altura B. Magnesium ions and contraction of vascular smooth muscles: relationship to some vascular diseases. *Fed Proc*. 1981;40:2672-9.
8. Garfinkel L, Garfinkel D. Magnesium regulation of the glycolytic pathway and the enzymes involved. *Magnesium*. 1985;4(2-3):60-72.
9. Garcia LA, Dejong SC, Martin SM, Smith RS, Buettner GR, Kerber RE. Magnesium reduces free radicals in an in vivo coronary occlusion-reperfusion model. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(2):536-9.
10. Cernak I, Savic VJ, Kotur J, Prokic V, Veljovic M, Grbovic D. Characterization of plasma magnesium concentration and oxidative stress following graded traumatic brain injury in humans. *J Neurotrauma*. 2000;17(1):53-68.
11. Napieralski JA, Raghupathi R, McIntosh TK. The tumor-suppressor gene, p53, is induced in injured brain regions following experimental traumatic brain injury. *Brain Res Mol Brain Res* 1999;71:78-86.
12. Lee JS, Han YM, Yoo DS, Choi SJ, Choi BH, Kim JH, et al. A molecular basis for the efficacy of magnesium treatment following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*. 2004;21(5):549-61.
13. Ghabriel MN, Thomas A, Vink R. Magnesium restores altered aquaporin-4 immunoreactivity following traumatic brain injury to a pre-injury state. *Acta Neurochir Suppl*. 2006;96:402-6.
14. Okiyama K, Smith DH, Gennarelli TA, Simon RP, Leach M, McIntosh TK. The sodium channel blocker and glutamate release inhibitor BW1003C87 and magnesium attenuate regional cerebral edema following experimental brain injury in the rat. *J Neurochem*. 1995;64(2):802-9.
15. Memon Z, Altura B, Benjamin J, Cracco R, Altura B. Predictive value of serum ionized but not total magnesium levels in head injuries. *Scand J Clin Lab Invest*. 1995;55:671-7.
16. Vink R, McIntosh TK, Demediuk P, Weiner MW, Faden A. Decline in intracellular free Mg<sup>2+</sup> is associated with irreversible tissue injury after brain trauma. *J Biol Chem*. 1988;263(2):757-61.
17. Vink R, McIntosh TK, Demediuk P, Faden A. Decrease in total and free magnesium concentration following traumatic brain injury in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;149:594-9.
18. Cernak I, Radosevic P, Malicevic Z, Savic J. Experimental magnesium depletion in adult rabbits caused by blast overpressure. *Magnes Res*. 1995;8(3):249-59.
19. Heath DL, Vink R. Traumatic brain axonal injury produces sustained decline in intracellular free magnesium concentration. *Brain Res*. 1996;738(1):150-3.
20. Smith DA, Connick JH, Stone TW. Effect of changing extracellular levels of magnesium on spontaneous activity and glutamate release in the mouse neocortical slice. *Br J Pharmacol*. 1989;97(2):475-82.
21. Suzuki M, Nishina M, Endo M, Matsushita K, Tetsuka M, Shima K, et al. Decrease in cerebral free magnesium concentration following closed head injury and effects of VA-045 in rats. *Gen Pharmacol*. 1997;28(1):119-21.
22. Heath DL, Vink R. Delayed therapy with magnesium upto 24h following traumatic brain injury improves motor outcome. *J Neurosurg* 1999;90(3):504-9.
23. Sen AP, Gulati A. Use of magnesium in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010;7(1):91-9.
24. SS Dhandapani AG, S Vivekanandhan, BS Sharma, AK Mahapatra. Randomized controlled trial of magnesium sulphate in severe closed traumatic brain injury. *Indian J Neurotrauma*. 2008;5(1):27-33.
25. Zhang S, Li J, Zhi D. A study of the effect of extrinsic ionized magnesium treatment in the patients with severe traumatic brain injury. *Chin J Neurosurg* 2006;2:76-9.
26. Canavero S, Bonicalzi V, Narcisi P. Safety of magnesium-lidocaine combination for severe head injury: the Turin lidomag pilot study. *Surg Neurol*. 2003;60(2):165-9.



# Investigation of Genotoxic Effect of Escherichia coli in Urinary Tract Epithelial Cells with Micronucleus Assay

## Escherichia coli'nin Üriner Sistem Epitelyal Hücrelerinde Mikronükleus Testi ile Genotoksik Etkisinin İncelenmesi

- \* Okan Sancer
- \* Muhammet Yusuf Tepebaşı
- \* Pınar Aslan Koşar
- \* Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Süleyman Demirel University, Isparta, Turkey

### Öz

**Amaç:** E. coli, kadınlarda idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan bir bakteri türüdür. Bu çalışmada kadınların idrar yolu epitel hücrelerinde, enfeksiyona bağlı DNA hasar etkilerinin araştırılması amaçlandı. **Metot:** 40 E. coli enfeksiyonu olan ve 40 enfeksiyon olmayan kadınların idrar yolu epitel hücreleri toplandı ve mikronükleus analizine tabi tutuldu. Her iki grupta mikronükleus ve binükleus parametreleri genom stabilitesinin değerlendirilmesi için kullanıldı. Tüm idrar örneklerinin pH, lökosit, lökosit esteraz, nitrit değerleri H-800 ve FUS-200 tam otomatik idrar cihazı ile analiz edildi. **Bulgular:** E. coli enfeksiyonu olan ve enfeksiyon olmayan grupların sonuçları istatistiksel olarak Mann-Whitney U ve Independent Sample T testi ile değerlendirildi. Mikronükleus, binükleus, idrar, lökosit, lökosit esteraz ve nitrit parametreleri için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). pH sonuçları ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** İdrar yolu epitel hücrelerinde bulunan E. coli' nin, DNA hasarını indüklediği görülmüştür. Antibiyotik tedavisinin hastalarda erken kullanımı ve uygun dozda kullanımı ile DNA hasar seviyesini azaltmaya yardımcı olabileceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikronükleus, İdrar yolu, DNA hasarı, Escherichia coli

### Abstract

**Object:** E. coli is a type of bacterium that causes urinary tract infections in women. The aim of the work was to investigate the possible use of epithelial cells from the urinary tract in identifying infections-related DNA damage effects in women. **Methods:** Epithelial cells from urinary tract were collected from 40 E. coli infection and 40 control (non-infection) women and subjected to micronucleus assay. Number of cells with micronucleated, binucleated cells were counted in two groups as parameters for the evaluation of genome stability. All of urine samples pH, leukocyte, leukocyte esterase, nitrite results measured with H-800 urine analyzer and FUS-200 urine sediment analyzer. **Result:** E. coli infection and non-infection groups test results were statistically evaluated with Mann-Whitney U and Independent Sample T test. A p-value of  $<0.05$  was found statistically significant for micronucleus, binucleus, and urine, leukocyte, leukocyte esterase and nitrite parameters. pH results was not found statistically significant ( $p>0,05$ ). **Conclusion:** The detection of E. coli in urinary tract epithelial cells showed that induce DNA damage. It can

### Yazışma Adresi:

PhD. Okan SANCER  
Department of Medical Biology,  
Faculty of Medicine,  
Süleyman Demirel University,  
Isparta, Turkey.

E mail: okansancer@hotmail.com  
Tel: 0 246 211 9451



be said that patients with early antibiotics and doses, early treatment may help to reduce the level of DNA damage.

**Keywords:** Micronucleus, Urinary tract, DNA damage, Escherichia coli

## Introduction

Urinary tract infections (UTIs) include upper and lower urinary tract infections in which urothelial infections occur by the proliferation of pathogens. Urinary tract infections are the most common extraintestinal diseases among women in the world, and they cause diseases such as urethritis, cystitis and acute/chronic pyelonephritis [1,2]. Women are at the risk of UTIs because of they have urine retention, sexual activity and spermicides as well as short urethra [3]. Commonly *E. coli* strains, found in the intestine, have symptoms of urinary tract infections when they enter the urinary tract [4]. *E. coli* strains synthesize another genotoxin, colibactin which natural products produced. The colibactin (clb) -like metabolites are encoded by a hybrid polyketide synthase (pks), non-ribosomal peptide synthetase (nrps) gene cluster termed clb or pks. The *E. coli* strains are divided into the main groups A, B1, B2, D, and E. The B2 phylogroup has mainly the pks genomic island. pks+ *E. coli* strains induce DNA damage in eukaryotic cells [5,6].

In the present study, We investigated the genotoxic effect of *E. coli* by micronucleus assay in women with urinary tract infection.

## Materials and Methods

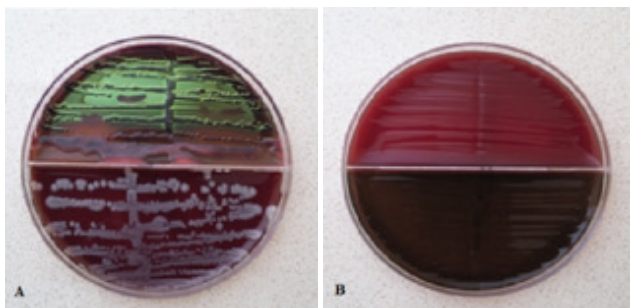
We selected 2 group with *E. coli* infection and control (non-infection) female at Süleyman Demirel University Hospital (Isparta, Turkey) between August 2017 and October 2017.

A total of 80 individuals consisting of 40 *E. coli* infection, and 40 control female patients were monitored for DNA damage in urinary tract epithelial cells by Micronucleus assay. The age of women participating in the study varies between 19 and 75 years. All of the 80 urine samples were analysis with dipstick for pH, nitrites, leukocyte esterase. Leukocyte count detected with automatic urine sediment analyzer.

After evaluating the urine microscope, samples of detected epithelial cells were cultured in bacterial cultu-

re bloody and Eosin Methylene Blue (EMB) agar. If bacterial culture include to *E. coli*, the samples were evaluated as patient group. If bacterial culture not included to *E. coli*, the samples were evaluated control group (Figure 1).

Epithelial cells were isolated from urine samples by centrifugation and slides prepared according the method previously described by Lehucher-Michel et al. [7]. In order to minimize degenerative cell changes, urine samples were collected in sterile plastic bottles and stored at 4°C. Epithelial cells from the urinary bladder and ureter were concentrated by 10 min centrifugation (400X g). Urine was removed and fixed in 5 ml of fresh fixative solution (methanol/acetic acid, (3 : 1). Following a 20 min storage period at 4°C cells were submitted to a second 10 min centrifugation (400 X g). The fixative solution was not completely removed and the pellet was resuspended and dropped onto pre-cleaned microscope slides and dried for 24 h at room temperature. The samples were collected by asking age, antibiotic, pathological information, exposure to radiation and chemical agents. The Ethical Committee of Süleyman Demirel University approved this study (Ethics committee No:122).



**Figure 1.** *E. coli* colonies (green metallic sheen) on EMB agar (A). Not colonize *E. coli* (B).

## Collection of Urine Samples and Personal Information

Only women patient samples were taken from each patient using sterile urine container. The patients were asked if they have any chronic and hereditary disease, antibiotic use at least 1 month and exposure to radiation/chemical agents.

### Evaluation of Micronucleus Assay and Urine Dipstick

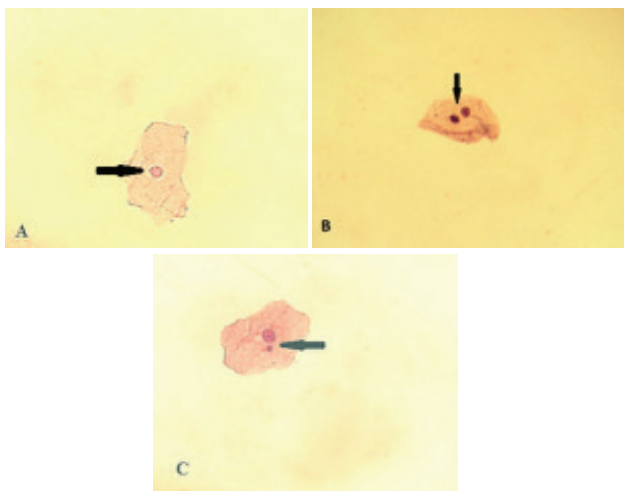
All of urine samples pH, leukocyte, leukocyte esterase, nitrite results measured with H-800 urine analyzer and FUS-200 urine sediment analyzer. Urinary tract epithelial cells was stained according to the method of Papanicolaou 1963 [8] with some modifications. Micronucleus (MN), binucleus (BN) parameters have been evaluated with 400X magnification of the light microscope. For each slides, 1000 cells were examined.

### Statistical Analysis

IBM SPSS 24 program was used for statistical evaluation. Mann-Whitney U test was performed to compare the number of cells micronucleus, binucleus, urine pH, leukocyte and nitrite parameters. Independent sample t test was performed to compare the leukocyte esterase. Mean with SD's for each groups were calculated.

### Results

In our study, DNA damage in urinary tract epithelial cells in 40 patients and 40 control group was investigated by micronucleus assay. Normal epithelial cell, micronucleated and binucleated cells displayed Figure 2.

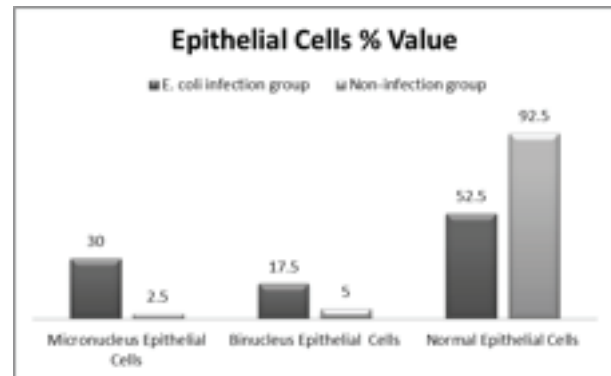


**Figure 2.** Normal urinary tract epithelial cell with Papanicolaou stain demonstrated (A), binucleus (B), micronucleus (C). Magnification: 400X.

We found 17,5% binucleus, 30% micronucleus and 52,5% normal epithelial cells in infection group, respectively. However, non-infection group we found 5% binucleus, 2,5% micronucleus and 92,5% normal, respectively (Figure 3). Micronucleus, binucleus regarded as statistically significant ( $p < 0.05$ ) (Table 1).

**Table 1** Micronucleus, binucleus statistical results

Mean $\pm$ Std. Error	P
<b>E. coli infection group</b>	
Micronucleus	0.28 $\pm$ 0.124 <0.05
Binucleus	0.20 $\pm$ 0.064 <0.05
<b>Non-infection group</b>	
Micronucleus	0.03 $\pm$ 0.025 <0.05
Binucleus	0.05 $\pm$ 0.035 <0.05



**Figure 3.** Epithelial cells % value

As a result of chemical analysis performed in control and patient group, leukocyte leukocyte esterase and nitrite results were found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ). Only urine pH result not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Urine analyze pH, leukocyte leukocyte esterase, nitrite results shown in Table 2.

Table 2 Comparison of urine analyze test results

Urine Analyze	pH	Leukocyte	Leukocyte Esterase		Nitrite	
	(Mean/Std.Error)	(Mean/Std.Error)	Pos	Neg	Pos	Neg
<b>E. coli infection</b>	6,03±0,08	137,4±41,73	32	8	15	25
<b>(n=40)</b>			(%80)	(%20)	(%37,5)	(%62,5)
<b>Non-infection</b>	5,85±0,12	30,87±56,36	23	17	0	40
<b>(n=40)</b>			(%57,5)	(%42,5)		(%100)

## Discussion

The aim of this study was to evaluate DNA damage in urinary tract epithelial cells with Micronucleus Assay. *E. coli* plays an important role in the diagnosis of urinary tract infection, affecting 150 million people each year worldwide [9]. Recurrent urinary tract infections (UTIs) are among the most common bacterial infections, especially in the women.

Khan et al [10] studied urinary tract infection and associated risk factors in post-menopausal women. They found the prevalence of UTIs was found to be 15.7% and common clinical condition affecting the ageing women. Testing for the presence of micro-organisms in the urinary tract, in order to diagnose asymptomatic bacteriuria or symptomatic urinary tract infections (UTI), is very common at all levels of health care [11].

Several rapid screening tests are used commonly to make a presumptive diagnosis of UTI, including dipstick biochemical analysis of urine for pH, nitrites, leukocyte esterase. The leukocyte esterase dipstick a widely used to identify patients with pyuria associated with infection [12-13]. Devillé et al [11] studied with the urine dipstick test to rule out infections. Overall, their research demonstrates that the urine dipstick test alone seems to be useful in all populations to exclude the presence of infection if the results of both nitrites and leukocyte-esterase are negative. Urinary system infections support with urine pH of 7.5 and above a study by Özer et al [14] of 575 patients with leukocyte esterase, leukocyte, nitrites results was

found significantly related with urine culture results but urinary tract infections reported was not statistically significant between urine pH and UTIs. Thornton et al [15] studied to determine the effect of different pH and urine concentrations on *E. coli* growth in vitro. The lowest log CFU/mL were observed in alkaline concentrated urine. According the present study *E. coli* infection and non-infection cases leukocyte esterase, leukocyte and nitrites results was found statistically significant ( $p < 0.05$ ) but pH was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

*E. coli* is the most common cause of infections by Gram-negative bacilli and induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells [16]. In assessing chromosomal damage, the MN test is used as a marker of genomic instability in the standard genotoxicity system [17]. Cuevas-Ramos et al [18]. show that a single, short exposure of cultured mammalian epithelial cells to live pks+ *E. coli* at low infectious doses induced a transient DNA damage response followed by cell division with signs of incomplete DNA repair, leading to anaphase bridges and chromosome aberrations. Micronuclei, aneuploidy, ring chromosomes, and anaphase bridges persisted in dividing cells up to 21 d after infection, indicating occurrence of breakage–fusion–bridge cycles and chromosomal instability. In this study *E. coli* infection and non-infection cases MN and BN results was found statistically significant ( $p < 0.05$ ).

The application of the micronucleus test to epithelial cells of various human tissues will provide evidence of exposure to carcinogens and clastogens. The de-

tection of E. coli in urine, early antibiotics and doses, early treatment may help to reduce the level of DNA damage.

### Disclosure Statement

The authors of this study have no relevant financial interests to report.

### References

- 1-Dielubanza JE, Schaeffer JA: Urinary Tract Infections in Women. Medical Clinics of North America. 2011;95:27–41.
- 2- Kunin MK: Urinary Tract Infections in Females. Clinical Infectious Diseases.1994;18:1-12.
- 3- Hotchandani R, Aggarwal KK: Urinary Tract Infections in Women. Indian Journal of Clinical Practice. 2012;23(4):187-192.
- 4- Edén SC, Jodal U, Hanson LA, Lindberg U, Åkerlund SA. Variable adherence to normal human urinary-tract epithelial cells of Escherichia coli strains associated with various forms of urinary-tract infection. The Lancet. 1976;308(7984):490-492.
- 5- Taieb F, Petit C, Nougayrède PJ, Oswald E. The Enterobacterial Genotoxins: Cytolethal Distending Toxin and Colibactin. ASMScience.org/EcoSalPlus DOI:10.1128/ ecosalplus.ESP-0008-2016.
- 6- Healy RA, Nikolayevskiy H, Patel RJ, Crawford MJ, Herzon BS. A Mechanistic Model for Colibactin-Induced Genotoxicity. J. Am. Chem. Soc. 2016;138:15563–15570.
- 7- Lehucher-Michel MP, Amara-Mokrane YA, Devictor B, Catilina P, Botta A. Micronuclei kinetics of exfoliated urothelial cells. 1995;354:1-7.
- 8-Papanicolaou GN. Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge, Published for the Commonwealth Fund by Harvard University Press, 1963.
- 9- Flores-Mireles LA, Walker NJ, Caparon M, Hultgren JS. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat. Rev. Microbiol. 2015;13(5): 269–284.
- 10- Khan S, Athar Ansari M, Vasenwala SM and Mohsin Z. Urinary Tract Infection and Associated Risk Factors in Post-Menopausal Women. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 2015 ;1: 230-235.
- 11- Devillé WLJM, Yzermans JC, Duijn NP, Bezemer PD, Windt DAWM and Bouter LM. The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. BMC Urology 2004; 4:4
- 12-Yıldırım M, Şahin İ, Küçükbayar A, Öksüz Ş, Acar S, Yavuz TM. The Validity of the Rapidly Diagnostic Test for Early Detection of Urinary Tract Infection. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2008;3:39-42.
- 13-Stamm EW, Hooton MT. Management of Urinary Tract Infections in Adults. N Engl J Med. 1993; 329:1328-1334.
- 14- Özer B, Söğüt S, Duran N, Özer C, Kuvandık G, Çetin M. The diagnostic value of laboratory tests in urinary tract infections. Turkish Microbiological Society. 2007;37(3):152-156.
- 15- Thornton LA, Burchell RK, Burton, SE, Lopez-Villalobos N, Pereira D, MacEwan I, Fang C, Hatmodjo AC, Nelson MA, Grinberg A, Velathanthiri N, Gal A. The Effect of Urine Concentration and pH on the Growth of Escherichia Coli in Canine Urine In Vitro. J Vet Intern Med, 2018;00:00–00 DOI: 10.1111/jvim.15045
- 16- Nougayrède JP, Homburg S, Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, Buchrieser C, Hacker J, Dobrindt U, Oswald E. Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. Science. 2006;313(5788):848-51.
- 17- Şekeroğlu V, Atlı-Şekeroğlu Z. Micronucleus test for determining genotoxic damage. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2011; 68(4): 241 – 252
- 18-Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E and Nougayrède JP. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. PNAS 2010, 107 (25) 11537-11542.

# Yükselmiş Kan Eozinofil Sayısı Canlı Vericili Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Geç Ortaya Çıkan Akut Rejeksiyonun (GOAR) Tahmininde Önemli Bir Belirteç Olabilir mi ?

## Can Elevated Serum Eosinophil Count Be Used As A Predictive Marker For Diagnosis Of “Late Acute Rejection” In Living Donor Liver Transplants?

- \* Mücahit Özbilgin  
\* Tufan Egeli  
\* Tarkan Ünek  
\* Cihan Ağalar  
\* Alikadir Değirmenci  
\* İbrahim Astarciöğlü  
\*\* Sevda Özkardeşler  
\*\*\* Özgül Sağol  
\*\*\*\*Hülya Ellidokuz
- \* Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of General Surgery, İzmir, Turkey
- \*\* Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Anaesthesiology and Reanimation, İzmir, Turkey
- \*\*\* Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Pathology, İzmir, Turkey
- \*\*\*\*Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Medical Statistics, İzmir, Turkey

### Öz

**Amaç:** Canlı vericili karaciğer nakillerinde(CVKN) 6.aydan sonra ortaya çıkan rejeksiyonlar “geç akut rejeksiyon” (GOAR) olarak tanımlanmaktadır. Geç akut rejeksiyonun tanısında karaciğer biyopsisi hala altın standarttır. Ancak karaciğer biyopsisinin komplikasyonları ve morbiditesi düşünüldüğünde, karaciğer biyopsisi yerine daha az noninvaziv bir yöntem olan artmış kan eozinofil sayısı prediktif bir biomarker olarak kullanılabilir mi? **Yöntem ve Metod:** Araştırmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Karaciğer Nakli Biriminde Haziran 2000- 2017 yıllarında CVKN yapılan, 18 yaşından büyük ve en az 6 ay sağkalımı olan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. GOAR gelişen hastaların; demografik verileri, soğuk iskemi süreleri, Child ve MELD skorları, GOAR gelişmeden önceki immünsüpresif ajanların dozları, kan düzeyleri ve komorbiditeleri incelendi. GOAR'dan şüphelenilen olguların biyopsi sonuçları ve biyopsi öncesi kan laboratuvar değerleri retrospektif olarak tarandı. Yükselmiş kan eozinofil düzeylerinin GOAR gelişimi üzerine etkileri araştırıldı. **Bulgular:** Çalışmada CVKN uygulanmış 240 hastadan, izlem süresince karaciğer enzimlerinde yükselme nedeniyle karaciğer biyopsisi yapılan 65(%27) hasta incelendi. Olguların 28(%43)'inde GOAR tespit edilirken, 37(%57)'sinde herhangi bir rejeksiyona rastlanmadı. Biyopsi sonuçları Banff patoloji skorlamasına göre; 10(%35.7)'u hafif,13(%46.4)'ü orta ve 5(%17.9)'i şiddetli rejeksiyonlardı. Hastaların 21(75%)'i erkek, 7(25%)'si kadındı. Ortalama izlem süresi 3056(184-4877) gündü. Biyopsi yapılma zamanı ortalama postoperatif 660'ıncı(180-4354) gündü. Yükselmiş kan eozinofil değeri ile GOAR gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p<0.001). **Sonuç:** Canlı vericili karaciğer nakillerinin izleminde gelişebilen GOAR'un tanısında; karaciğer biyopsisine göre daha non-invaziv bir yöntem olan yükselmiş kan eozinofil değeri prediktif bir belirteç olarak kullanılabilir.

### Yazışma Adresi:

Dr..Öğr.Üyesi Mücahit Özbilgin  
Dokuz Eylül University  
School of Medicine, Department of  
General Surgery, İzmir, Turkey  
mucahitozobilgin@gmail.com

### Anahtar Kelimeler

Yükselmiş Serum Eozinofil değeri, Geç ortaya çıkan akut rejeksiyon

### Abstract

**Object:** Rejections observed in live donor liver transplants (LDLT) after the 6th month are defined as “late acute rejection” (LAR). Liver biopsy is still the gold standard for diagnosis of these cases. However, considering the morbidity and complications caused by this biopsy, can the non-invasive elevated serum eosinophil count be used as a predictive biomarker for LAR? **Materials and Methods:** Our research included patients with LDLT performed from



June 2000 to June 2017 at Dokuz Eylül University Faculty of Medicine General Surgery Liver Transplant Unit, aged over 18 years and surviving at least 6 months. Patients developing late acute rejection were investigated in terms of demographic data, necessary graft weight/graft weight present ratio, cold ischemia duration, Child and MELD scores, doses of immunosuppressive agents before rejection, serum therapeutic levels and comorbidities. Our study retrospectively screened blood laboratory samples before biopsy and pathologic results of liver biopsies performed on patients with suspected LAR. Elevated serum eosinophil values were investigated and their effective role in diagnosis of LAR was researched. **Results:** Of 240 liver transplant cases included in the study, 65 (26.9%) had liver biopsy performed due to consideration of rejection linked to elevated liver function tests during follow-up. Of the biopsy transplant cases, 28 (43%) had LAR identified, while 37 (57%) had no finding of rejection encountered. The distribution of rejection in cases with rejection diagnosis was 10 (35.7%) mild, 13 (46.4%) moderate and 5 (17.9%) severe according to Banff pathology scoring. Of patients 21 (75%) were male and 7 (25%) were female. The mean follow-up duration was 3056 days (184-4877). The mean time of liver biopsy was the postoperative 660th day (180-4354). There was a statistically significant correlation identified between elevated eosinophil count found in blood laboratory values before biopsy with LAR ( $p<0.001$ ). **Discussion and Conclusion:** For diagnosis of LAR which may occur during follow-up of LDLT, the non-invasive method compared to liver biopsy of elevated serum eosinophil values may be used as a predictive marker.

### Keywords

Elevated Serum Eosinophil Count, Late Acute Rejection

### Giriş

Geç dönem ortaya çıkan akut rejeksiyon (GOAR), canlı vericili karaciğer transplantasyonun (CVKT) 6. ayından sonra görülen ve akut rejeksiyondan farklı histopatolojik özellikler gösteren, morbidite ve mortalitesi yüksek bir klinik tablodur (1,2,3,4). Tüm dünyada farklı nedenlerden dolayı kadavra donör azlığı, CVKT'lerinin artmasına neden olmuştur. Bu artış hastalarda, GOAR ile ilgili sorunları da beraberinde getirmiştir.

GOAR, karaciğer transplantasyonu sonrası rutin kontrollerin düzenli olmaması nedeniyle akut rejeksiyonlara göre tanı süreci geciken ve tedavisi daha zor olan bir klinik durumdur. CVKT'ları sonrası ortaya çıkan rejeksiyonların tanısında en değerli yöntem halen karaciğer biyopsisidir. Ancak GOAR'u tahmin etmede biyopsinin yol açtığı komplikasyonlar göz önüne alındığında, mümkünse invaziv olmayan yeni tanı yöntemleri için arayışlar her geçen gün artmaktadır.

Eozinofil granüllerinde bulunan inflamatuvar mediatörler ve katyonik proteinler, eozinofil salınımını sağlayarak bronşial astım gibi allerjik hastalıkların patogenezinde rol oynarlar (5). GOAR gelişen olgularda greftte ortaya çıkan eozinofiliyi takiben kan eozinofil sayısında da artma tespit edilmiştir (6).

Literatürde; periferik kanda yükselmiş eozinofil sayısının, CVKT olgularının takibinde geç dönemde ortaya çıkan rejeksiyonları tahmin etmede kullanılan bağımsız bir belirteç olarak tanımlandığı çok az sayıda yayın mevcuttur (6,7). Günümüzde de halen GOAR'u tahmin etmede bir belirteç olarak kan eozinofil sayısındaki yükselmenin önemi henüz tam olarak bilinmemektedir (8).

Bu çalışmada; CVKT da görülen GOAR'u tahmin etmede, karaciğer biyopsisine göre; maliyeti daha düşük, uygulanabilirliği daha kolay ve noninvaziv bir yöntem olan kan eozinofil sayısındaki yükselmenin önemi araştırıldı.

### Metod

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Hepatopankreatobilier Cerrahi ve Karaciğer Transplantasyonu Birimi'nde Haziran 2000-Haziran 2017 tarihleri arasında 580 karaciğer nakli yapıldı. Çalışmaya; CVKT yapılan, 18 yaşından büyük ve transplantasyon sonrası en az 6 ay sağlıklı olan hastalar dahil edildi. Hastaların kayıtları prospektif olarak toplandı ve retrospektif olarak değerlendirildi. Transplant olgularında; yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), altta yatan karaciğer hastalığı, Child-Pugh-Turcot (CTP) ve Model for End-stage Liver Disease (MELD) skorları, greft ağırlığı/standart karaciğer volümü oranı, sıcak ve soğuk iskemi süreleri, Citomegalovirus (CMV) enfeksiyon durumu, transplantasyon öncesi biyokimyasal parametrelerden serum kreatinin, sodyum, total bilirübin, INR ve albümin değerleri, GOAR ortaya çıkış zamanı, hastaların kullandığı im-

münsüpresif ilaçlar ve bunların GOAR öncesi son 3 aydaki kan terapötik düzeylerine bakıldı.

Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan 240 nakil hastasının, ameliyat sonrası takiplerinde klinik ve biyokimyasal olarak GOAR şüphesiyle 65(%27)'ine tru-cut karaciğer biyopsisi yapıldı. Karaciğer biyopsilerinin histopatolojik incelenmesi sonucu GOAR tanısı konuldu. Rejeksiyonun histopatolojik tanısına, parafin bloklardan elde edilen ve hematoksilen-eozin ile boyalı allograft karaciğer dokularında üç temel morfolojik bulgu olan; safra yolu hasarı, portal alan inflamasyonu ve venüler endotelial inflamasyondan (santral perivenülit ve endotelitis) en az ikisinin izlenmesi gerekir. Dokuların en az 5 portal alan içermesi yeterli değerlendirme için minimal kriter olarak kabul edildi. GOAR biyopsilerinde, erken dönem akut rejeksiyondan farklı olarak, lenfositler baskın portal infiltrat, safra yolları ve venüllerde daha hafif inflamasyon ya da daha belirgin interfaz hepatiti ve lobuler hepatit gibi bulgular gözlemlenebileceğinden değerlendirmede bu özellikler de dikkate alındı. Akut allograft rejeksiyonunun derecelendirilmesinde, 3 temel morfolojik özelliğin, 0-3 arasında puanlandırılarak rejeksiyon aktivite indeksinin hesaplandığı Banff skorlama sistemi kullanıldı (9). Buna göre toplam rejeksiyon aktivite indeks skoru 1 ve 2 olan olgular akut rejeksiyon açısından belirsiz, skoru 3 ve 4 olan olgular hafif şiddette rejeksiyon, skoru 5 ve 6 olan olgular orta şiddette rejeksiyon, skoru 7-9 olan olgular ise şiddetli rejeksiyon olarak kabul edildi. İzole santral perivenülit ile karakterli geç akut rejeksiyon olgularının derecelendirilmesinde yine Banff çalışma grubu tarafından önerilen kriterler kullanıldı. İnflamasyon santral venlerin oranı ve perivenüler nekrozun yaygınlığına dayanan bu sistemde rejeksiyon yine belirsiz, hafif, orta ve şiddetli olarak derecelendirildi.(9). GOAR şüphesiyle karaciğer tru-cut biyopsisi yapılan hastaların histopatolojik sonuçları GOAR gelişen ve gelişmeyen olmak üzere iki ayrı grup şeklinde değerlendirildi.

Karaciğer biyopsisi yapılan olguların lenfosit, nötrofil ve eozinofil sayıları: kan hemogram panelindeki beyaz küre değerinin 100'de birine karşılık gelen değeri; hemogram panelinde lenfosit, nötrofil ve eozinofille denk gelen yüzdelik değerleri ile çarpılarak elde edildi.

CVKT olgularında ortaya çıkan GOAR'larda uyguladığımız tedavi protokolümüz; hasta izole odada olacak şekilde hastaneye yatırıldıktan sonra ilk iki gün pul-

se metilprednizolon (15mg/kg/gün steroid) verildikten sonra, 3.gün 100 mg/gün metilprednizolon başlandı ve bu doz her gün 10 mg azaltılarak rejeksiyon tedavi süreci tamamlandı.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz, SPSS 22.0 Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların ölçümsel değişkenle belirlenen özellikleri verilerin dağılımına göre, medyan, minimum-maximum, ortalama, standart sapma verileri ile sunuldu. Sayımla belirtilen değişkenler Ki Kare Testi ile, ölçümle belirtilen değişkenler normal dağılıma uygunsuzsa t testi, normal dağılıma uygun değilse Mann-Whitney U Testi ile analiz edildi. İleri analizde lojistik regresyon modeli oluşturuldu. Anlamlılık düzeyi p<0.05 kabul edildi.

### Sonuçlar

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Hepatopankreatobilier Cerrahi ve Karaciğer Transplantasyonu Birimi'nde Haziran 2000-Haziran 2017 tarihleri arasında 580 karaciğer nakli yapıldı. CVKT yapılan ve çalışmanın dahil olma kriterlerine uyan 240 hastanın verileri (169E % 70.4, 71K % 29.6) değerlendirmeye alındı. Klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri sonrası geç akut rejeksiyon şüphesi ile 65 (%27.1) hastaya tru-cut karaciğer biyopsisi yapıldı. Bu hastaların karaciğer biyopsisi yapılma zamanı ortalama 660(180-4354)'ıncı gündü. Karaciğer biyopsilerinin histopatolojik incelenmesi sonucu 28 (%43) hastaya GOAR tanısı konuldu. Klinik ve laboratuvar değerlendirme sonuçlarına göre karaciğer biyopsisi sonrası GOAR (+) ve GOAR (-) olan hastaların demografik, klinik, biyokimyasal ve histopatolojik verileri Tablo: 1'de özetlenmiştir.

GOAR gelişen 28 hastanın karaciğer transplantasyon endikasyonları; 5 hasta Hepatit B virüsü (HBV)+ Hepatit D virüsü (HDV), 3 hasta Hepatit C virüsü (HCV), 3 hasta alkole bağlı karaciğer sirozu, 5 hasta HBV, 4 hasta HBV + Hepatosellüler karsinom (HCC), 1 hasta toksik hepatit, 2 hasta HBV+HDV+HCC, 2 hasta primer sklerozan kolanjit (PSK) ve 2 hasta HBV+alkole bağlı karaciğer sirozu ve 1 hasta Budd-Chiari sendromu nedeniyle oluşmuş karaciğer yetmezlik hastalarıydı.

GOAR gelişen hastaların; ortalama yaşı 49.5(27-62), ortalama vücut kitle indeksi 24 (15.8-38.9), ortalama

Tablo 1 Hastaların Demografik Bulguları

	GOAR (+) n=28(%43)	GOAR(-) n=37(%57)	P
Yaş (Ortalama±SD)	48.42±9.50	45.38±12.25	0.234
<b>Cinsiyet</b>			
Erkek n(%)	21(%41.1)	30(%58.9)	0.385
Kadın n(%)	7(%50)	7(%50)	
Eozinofil (Ortalama±SD)	0.33±0.34	0.03±0.02	< 0.001
Lenfosit (Ortalama±SD)	1.44±1.16	1.19±0.76	0.201
Nötrofil (Ortalama±SD)	3.15±1.35	4.15±2.45	0.047
GOAR zamanı (Ortalama±SD)	859.25±74.44	933.24±93.67	0.529
Greft ağırlığı (gram) (Ortalama±SD)	799.07±117.42	789.05±168.17	0.601
Vücut kitle indeksi (Ortalama±SD)	24.73 ±4.71	24.30±3.69	0.781
<b>Etiyoloji n(%)</b>			
Hepatit B	5(%50)	5(%50)	
Hepatit B + Hepatit D	5(%45.4)	6(%54.6)	
Hepatit C	3(%30)	7(%70)	
Hepatit B +Hepatit D+Hepatosellular Karsinom	2(%66.6)	1(%33.4)	
Hepatit B + Hepatosellular Karsinom	4(%57.1)	3(%42.9)	
Hepatit C + Hepatosellular Karsinom	0(%)	3(%100)	
Hepatit C + Primer sklerozan kolnjit	0(%)	1(%100)	
Kriptojenik	0(%)	3(%100)	
Alkol kullanımı	3(%50)	3(%50)	
Otoimmün hepatit	0(%)	2(%100)	
Primer sklerozan kolanjit	2(%66.6)	1(%33.4)	
Fulminan hepatit	1(%50)	1(%50)	
Hepatit B + Alkol kullanımı	2(%66.6)	1(%33.4)	
Budd-Chiari Sendromu	1(%100)	0(%)	
<b>Child-Pugh-Turcotte skor n(%)</b>			
A	4(%66.6)	2(%33.4)	0.182
B	10(%30.3)	23(%69.7)	
C	14(%53.8)	12(%46.2)	
<b>MELD skor (Ortalama±SD)</b>	<b>16.25±6.51</b>	<b>14.99±6.25</b>	<b>0.233</b>
<b>Asit n(%)</b>			
Yok	9(%56.2)	7(%43.8)	0.095
Medikal tedavi ile kontrollü	8(%30.7)	18(%69.2)	
Var	11(%47.8)	12(%52.2)	
<b>Preoperative laboratuvar değerleri</b>			
Kreatin (Ortalama±SD)	1.01±0.54	0.89±0.17	0.347
Total Bilirubin (Ortalama±SD)	3.05±2.46	2.04±0.86	0.057
INR (Ortalama±SD)	1.67±0.54	1.79±0.90	0.760
Sodyum (Ortalama±SD)	135.08±5.15	136.67±4.40	0.197
Albümin (Ortalama±SD)	3.02±0.59	2.89±0.64	0.600
<b>Organ koruma solüsyonu n(%)</b>			
UW	0(%)	5(%100)	0.377
HTK	28(%46.6)	32(%53.4)	
<b>İmmünosüpressif tedavi n(%)</b>			
Siklosporin	11(%47.8)	12(%52.2)	0.377
Takrolimus	17(%40.5)	25(%59.5)	

**UW:** University of Wisconsin Solution **HTK:** Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate  
**MELD:** Model for End stage Liver Disease **INR:** International Normalized Ratio



greft ağırlığı 796 (552-1040) gram, ortalama soğuk iskemi süresi 80 (42-202) dakika ve ortalama izlem süreleri 3056 (184-4877) gündü.

GOAR'un histopatolojik sınıflaması Banff skorlamasına göre; 10 (%35.7)'ü hafif, 13 (%46.4)'ü orta ve 5 (%17.9)'i şiddetli rejeksiyonlar şeklindeydi. Bu hastaların parafin bloklarından elde edilen ve hematoksilen-eozin ile boyalı allograft karaciğer dokularında üç temel morfolojik bulgu olan; safra yolu hasarı (Resim-1), portal alan inflamasyonu ve venüler endotelial inflamasyondan (Resim-2) (santral perivenülit ve endotelitis) en az ikisi saptandı. GOAR gelişen 28 hastanın ortalama rejeksiyon görülme zamanı 365 (180-2393)'inci gündü.

GOAR gelişen nakil hastaları immünoşüpresyon olarak; 17 (%60.7)'si Takrolimus+MMF (Mikofenolat Mofetil) ve 11 (%39.3)'i Siklosporin+MMF kullanmaktaydı. Sadece bir nakil hastasında CMV antijen pozitifliği mevcuttu.

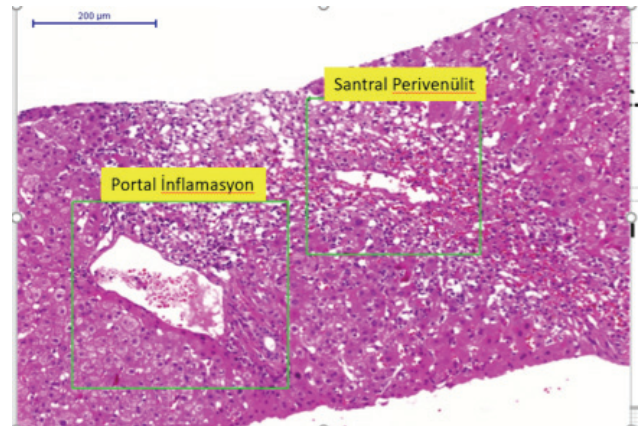
GOAR tanısı sonrası rejeksiyon tedavisine rağmen bir hasta postoperatif erken dönemde, iki hasta da geç dönemde olmak üzere 3 (%10.7) hasta ex oldu. Transplantasyon sonrası takiplerinde klinik ve laboratuvar değerlendirme sonuçlarına göre geç akut rejeksiyon şüphesi nedeniyle karaciğer biyopsisi yapılan ancak histopatolojik olarak rejeksiyon tanısı konulamayan diğer 37 (%56.9) olgunun karaciğer biyopsi sonuçları; 16 (%43.2)'si inflamasyon, 6 (%16.2)'si Hepatit C Virüs (HCV) enfeksiyon nüksü, 5 (%13.5)'i kolestaz, 5 (%13.5)'i normal karaciğer parankim dokusu, 3 (%8.1)'ü Hepatit B Virüs (HBV) enfeksiyonu, 1 (%2.7)'i Hepatosellüler karsinom (HCC) nüksü ve 1 (%2.7)'i steatohepatit şeklindeydi.

## Tartışma

Günümüzde son dönem karaciğer hastalıklarında en iyi tedavi yaklaşımı karaciğer transplantasyonudur. Transplantasyon sonrası kullanılan immünoşüpresif ilaçların enfeksiyon riski ve yeni ortaya çıkabilecek malignensi ihtimalini artırma gibi yan etkilerinin yanı sıra yetersiz ilaç kullanımında ise rejeksiyon riskini artırma gibi etkileri mevcuttur. Bu rejeksiyonlar akut ve geç olmak üzere iki gruba ayrılır. Geç dönem ortaya çıkan akut rejeksiyonun, canlı vericili karaciğer transplantasyonunun (CVKT) 1-3-6. aylarından (genellikle kabul gören 6.ay) sonra ortaya çıkabilen ve akut rejeksiyondan farklı histopatolojik özellikler gös-



**Resim 1.** GOAR gelişen olguda safra yolu hasarının Histopatolojik görüntüsü



**Resim 2.** GOAR gelişen olguda portal inflamasyon ve santral perivenülitin Histopatolojik görüntüsü

teren, morbidite ve mortalitesi daha yüksek bir klinik tablodur (1,2). Bizde literatürle uyumlu olarak karaciğer transplantasyonu sonrası 6. aydan sonra görülen rejeksiyonları GOAR'lar olarak kabul ettik. Karaciğer nakillerinin 6. aydan sonra görülen GOAR insidansı literatürlerde % 7-23 olarak bildirilmektedir (10,11). Çalışmamızda ise literatürle uyumlu olarak GOAR insidansı % 11.6 olarak bulundu.

Rejeksiyon tanısında karaciğer biyopsisi halen altın standarttır (8). Bizim çalışmamızda da klinik ve labo-

ratuvar değerlendirmeleri sonrası GOAR şüphesi ile 65 (%27.1) hastaya tru-cut karaciğer biyopsisi yapıldı. Histopatolojik incelenme sonucu 28 (%43) hastaya GOAR tanısı konuldu. Bu 28 hastanın 21(%75)'i erkek, 7 (%25)'si kadındı. Karaciğer biyopsisi yapıldığı zamanı ortalama 660 (180-4354)'inci gündü.

GOAR; karaciğer transplantasyonu sonrası rutin kontrollerin düzenli olmaması nedeniyle akut rejeksiyonlara göre tanı ve tedavisi daha zordur (11). Bu nedenle GOAR, akut rejeksiyonlardan farklı olarak; tedaviye daha dirençli duktopenik rejeksiyon ve greft kaybı riski daha yüksek bir klinik tabloyla birliktelik gösterebilir (3,4,12,13). GOAR'a bağlı mortalite ve morbidite nedenlerinin başında; bilier komplikasyonlar, sepsis, malignensi, tekrarlayan primer hastalık, hepatik arter trombozu ve kardiyovasküler ölüm gelmektedir (6). Çalışmamızda da GOAR gelişen hastalardan 3 (%10.7)'ü rejeksiyon tedavisine rağmen öldü. İlki 55 yaşında primer sklerozan kolanjit (PSK) nedeniyle karaciğer transplantasyonu olmuş erkek hastaydı. Transplantasyon sonrası 20. ayda transaminaz değerlerinde yükselme sonrası yapılan karaciğer biyopsisi ile GOAR (Banff skor: 7/9) tanısı konuldu. Diğer hastamız da 54 yaşında erkek ve HCV+HCC nedeniyle karaciğer transplantasyonu olmuştu. Transplantasyonun 18. ayında rutin kontrolleri sırasında transaminaz yüksekliği nedeniyle yapılan karaciğer biyopsisinde GOAR (Banff skor: 6/9) tanısı konuldu. Ex olan son hasta 56 yaşında erkek ve HBV+HCC nedeniyle karaciğer transplantasyonu olmuştu. Postoperatif 8. ayda transaminaz değerlerinde yükselme ile poliklinikte değerlendirildi ve GOAR şüphesiyle tru-cut karaciğer biyopsisi yapıldı. Biyopsi sonucu GOAR ile uyumlu (Banff skor:8/9) gelmesi üzerine rejeksiyon tedavisi başlandı. Ancak bu üç hasta da takipleri sırasında bilier striktüre sekonder gelişen rekürren kolanjit atakları sonucu bilier sepsis nedeniyle öldüler.

GOAR'un en sık sebeplerinden birisi; transplantasyon sonrası kullanılan immüno-supresif ajanların kan terapötik değerlerinin olması gerekenden daha düşük seviyelerde olmasıdır (1,2). Ramji ve arkadaşları, GOAR tanısı alan hastaların tanı öncesi immüno-supresif ilaçların kan teropetik düzeylerini incelemiş ve bu hastaların tamamında, tanı öncesi 8 haftalık periyotta immüno-supresif ilaçların kan düzeylerinin arzulanan terapötik aralığın altında (takrolimus düzeyi<5 ng/mL, siklosporin düzeyi< 400 ng/mL) olduğunu saptamışlardır (14). Bizim çalışmamızda da; GOAR gelişen 28 hastadan; takrolimus+MMF tedavisi alan

17 hastanın 11 (%64.7) inde, siklosporin+MMF tedavisi alan 11 hastanın 9 (%81.8)'unda immüno-supresif ilaçların kan terapötik düzeyleri olması gereken değerlerin aşağısındaydı. Bu da transplant sonrası hastaların belirli aralıklarla ve düzenli olarak poliklinik takiplerinin yapılması gerektiği gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Önceki çalışmalarda, immüno-supresif tedavi rejimi olarak siklosporin+MMF verilen hastalarda, takrolimus+MMF kullanan hastalara göre daha fazla GOAR geliştiği bildirilmiştir (15). Bizim çalışmamızda da bu durumu destekler nitelikte olup, siklosporin+MMF tedavisi alan 23 hastanın 11(%47.8)'inde, takrolimus+MMF tedavisi alan 42 hastanın 17(%40.5)'sinde, GOAR geliştiği saptandı (p=0.377). GOAR gelişen hastalardan; takrolimus +MMF grubundaki 17 hastanın 11'inde (%64.7) kan takrolimus düzeyi ≤ 6 ng/mL ve siklosporin +MMF kullanan 11 hastanın 9'unda (%81.8) kan siklosporin düzeyi ≤ 450 ng/mL tesbit edildi ve bu değerler istenilen terapötik düzey aralığının altındaydı.

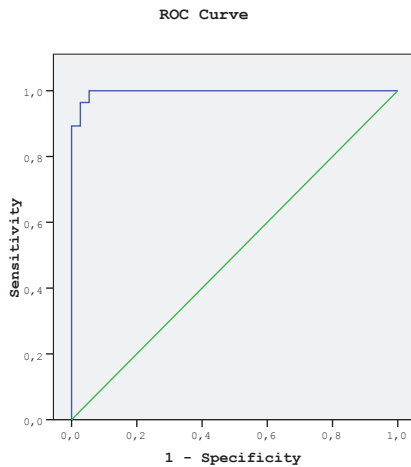
Literatürde otoimmün etiyoloji nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastalarda GOAR'un oldukça nadir görülmesi, bu hastaların nakil sonrası uzun süre düşük doz metilprednizolon tedavisi almaları ile açıklanmış (16). Literatürle uyumlu olarak kliniğimizde çalışmaya dahil edilen 240 nakil hastasından otoimmün hepatit etiyolojisi nedeniyle nakil yapılan 7 (%2.9) hastanın hiçbirisinde GOAR gelişmedi. Sadece bir hastada klinik ve laboratuvar olarak GOAR şüphesi nedeniyle yapılan karaciğer biyopsisi; normal karaciğer dokusu olarak bulundu, rejeksiyonu düşündürecek herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Özellikle rejeksiyon tanısında halen altın standart olan karaciğer biyopsisinin yol açtığı komplikasyonlar göz önüne alındığında, yükselmiş kan eozinofil değerlerinin GOAR'u tahmin etmede iyi bir belirteç olarak kullanılmasının önemi her geçen gün artmaktadır (8). Bizim çalışmamızda da rejeksiyon şüphesi nedeniyle tru-cut karaciğer biyopsisi yapılan 65 hastada; 6 hastanın biyopsi sonrası hemoglobin değerlerinde düşme nedeniyle hastanede kalış süreleri (2-4 gün) uzadı ancak kan transfüzyonuna ihtiyaç olmadı. 4 hastada biyopsi sonrası ateş yüksekliği oldu fakat takiplerinde sorun olmadan taburcu edildiler. 2 hastada biyopsi sonrası karın ağrısı ve defans gelişti. Yapılan abdominal ultrasonografide; batin içi minimal sıvı bulundu. Bu iki hasta da izlemleri sonrası sorunsuz taburcu edildiler. Literatürde hem akut rejeksiyon tanısında (6,7,17-23) hemde GOAR tanısında (6,7) prediktif bir belirteç olarak artmış kan eozinofil değerinin rolünü vurgulayan



bazı çalışmalar mevcuttur. Kanda yüksek eozinofil değerleri ile GOAR tanısını tahmin etme; biyopsiye göre hem uygulanabilirliğinin kolay ve non-invaziv olması hem de maliyetinin düşük olması bu alandaki araştırmalara hız kazandırmıştır. Tabii ki burada asıl önemli olan, yükselmiş kan eozinofil değerlerinin GOAR tanısını tahmin etmede anlamlı olabilmesi için; nakil sonrası hastaların çok düzenli poliklinik takiplerinin yapılması gerekmektedir. Literatürle uyumlu olarak (8), çalışmamızda biyopsi öncesindeki kan laboratuvar değerlerinde tespit edilen yükselmiş kan eozinofil sayısı ile GOAR gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p < 0.001$ ).

## Sonuç

Literatürlerle uyumlu olacak şekilde kan eozinofil cut-off değerini 0.05 olarak kabul ettik (8). Çalışmamızda Cox regresyon analizi yaptığımızda; kan eozinofil değerlerinin GOAR'nu tahmin etmedeki duyarlılığı %100 ve seçiciliği %70.3 olarak bulundu (Grafik:1), bu sonuçlar literatürle uyumlu ve anlamlıydı(8).



**Grafik 1.** Cox regresyon analizi

Günümüzde karaciğer biyopsisi, GOAR'un tanısındaki önemini halen korumaktadır. Ancak karaciğer biyopsisinin maliyeti, uygulama zorluğu ve neden olduğu komplikasyonların her geçen gün artması araştırmacıları; morbiditesi daha az, kolay uygulanabilir ve düşük maliyeti olan başka tanı yöntemlerini araştırmaya yönlendirmiştir. Kim bilir belki de bu düşün-

ceden hareketle GOAR tanısını koymada; bağımsız bir prediktif faktör olarak ön plana çıkan yükselmiş kan eozinofil değerlerinin kullanılması gelecekte daha da yaygınlaşıp, spesifikleşerek, rejeksiyon şüphesi olan tüm karaciğer transplant hastalarının karaciğer biyopsilerinin neden olduğu komplikasyonlara maruz kalmasını önleyecektir.

## Kaynaklar

1. Demetris AJ, Adeyi O, Bellamy CO, Clouston A, Charlotte F, Czaja A et al. Liver biopsy interpretation for causes of late liver allograft dysfunction. *Hepatology* 2006; 44: 489.
2. Hubscher SG. Transplantation pathology. *Semin Diagn Pathol* 2006; 23: 170.
3. Samuel D, Gugenheim J, Canon C, Saliba F, Bismuth H. Use of OKT3 for late acute rejection in liver transplantation. *Transplant Proc* 1990;22: 1767-1768.
4. Mor E, Solomon H, Gibbs JF, Holman MJ, Goldstein RM, Husberg BS, et al. Acute cellular rejection following liver transplantation: Clinical pathologic features and effect on outcome. *Semin Liver Dis* 1992;12:28-40.
5. Goldman M, Le Moine A, Braun M, Flamand V, Abramowicz D. A role for eosinophils in transplant rejection. *Trends Immunol.* 2001 May;22(5):247-51.
6. Foster PF, Sankary HN, Hart M, Ashmann M, Williams JW. Blood and graft eosinophilia as predictors of rejection in human liver transplantation. *Send to Transplantation.* 1989 Jan;47(1):72-4.
7. Sanada Y, Ushijima K, Mizuta K, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, et al. H. Prediction of acute cellular rejection by peripheral blood eosinophilia in pediatric living donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2012 Jun;44(5):1341-5.
8. Wang GY, Li H, Liu W, Zhang J, Zhu HB, Wang GS, et al. Elevated blood eosinophil count is a valuable biomarker for predicting late acute cellular rejection after liver transplantation. *Transplant Proc.* 2013 Apr;45(3):1198-200.
9. Demetris AJ, Batts KP, Dhillon AP, Ferrell L, Fung J, Geller SA, et al. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology.* 1997 Mar;25(3):658-63.
10. Mor E, Gonwa TA, Husberg BS, Goldstein RM, Klintmalm GB. Late-onset acute rejection in orthotopic liver transplantation-associated risk factors and

outcome Transplantation 1992;54:821-824

11. Florman S1, Schiano T, Kim L, Maman D, Levay A, Gondolesi G, et al. The incidence and significance of late acute cellular rejection (>1000 days) after liver transplantation Clin Transplant, 18 (2004), pp. 152-155

12. Demetris AJ, Ruppert K, Dvorchik I, Jain A, Minervini M, Nalesnik MA, et al. Real-time monitoring of acute liver-allograft rejection using the Banff schema. Transplantation 2002; 74: 1290.

13. Dousset B, Conti F, Cherruau B, Louvel A, Soub-rane O, Houssin D, et al. Is acute rejection deleterious to long-term liver allograft function? J Hepatol 1998; 29: 660.

14. Ramji A, Yoshida EM, Bain VG, Kneteman NM, Scudamore CH, Ma MM, et al. Late acute rejection after liver transplantation: the Western Canada experience. Liver Transpl. 2002 Oct;8(10):945-51.

15. O'Grady JG, Burroughs A, Hardy P, Elbourne D, Truesdale A. UK and Republic of Ireland Liver Transplant Study Group. Tacrolimus versus micro-emulsified ciclosporin in liver transplantation: the TMC randomised controlled trial. Lancet. 2002 Oct 12;360(9340):1119-25.

16. Milkiewicz P, Gunson B, Saksena S, Hathaway M, Hubscher SG, Elias E. Increased incidence of chronic rejection in adult patients transplanted for autoimmune hepatitis: assessment of risk factors. Transplantation. 2000 Aug 15;70(3):477-80.

17. Hughes VF, Trull AK, Joshi O, Alexander GJ. Monitoring eosinophil activation and liver function after liver transplantation. Transplantation. 1998 May 27;65(10):1334-9.

18. de Groen PC, Kephart GM, Gleich GJ, Ludwig J. The eosinophil as an effector cell of the immune response during hepatic allograft rejection. Hepatology. 1994 Sep;20(3):654-62.

19. Dollinger MM, Plevris JN, Bouchier IA, Harrison DJ, Hayes PC. Peripheral eosinophil count both before and after liver transplantation predicts acute cellular rejection. Liver Transpl Surg. 1997 Mar;3(2):112-7.

20. Barnes EJ, Abdel-Rehim MM, Goulis Y, Abou Ragab M, Davies S, Dhillon A, et al. Applications and limitations of blood eosinophilia for the diagnosis of acute cellular rejection in liver transplantation. Am J Transplant. 2003 Apr;3(4):432-8.

21. Nagral A, Quaglia A, Sabin CA, Dhillon AP, Beacroft CP, Millar A, et al. Blood and graft eosinophils in acute cellular rejection of liver allografts. Transplant Proc. 2001 Jun;33(4):2588-93.

22. Romero R, Abramowsky CR, Pillen T, Smallwood

GA, Heffron TG. Peripheral eosinophilia and eosinophilic gastroenteritis after pediatric liver transplantation. Pediatr Transplant. 2003 Dec;7(6):484-8.

23. Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Tsochatzis E, Rolando N, Luong TV, Dhillon AP, et al. Predicting severity and clinical course of acute rejection after liver transplantation using blood eosinophil count. Transpl Int. 2012 May;25(5):555-63.

# Investigation of Immunological Differences in Mecsina Hemostopper©, Ankaferd Blood Stopper® and Tranexamic Acid Used as Haemostatic Agents with Cell Culture Study

## Hemostatik Ajan Olarak Kullanılan Mecsina Hemostopper©, Ankaferd Blood Stopper® ve Traneksamik Asidin İmmunolojik Farklılıklarının Hücre Kültürü Çalışması ile Araştırılması

\* \*\* Mehmet Kemal TUMER  
\*\*\* Mustafa CICEK

\* Dr, PhD, Assistant Prof.  
Department of Oral and  
Maxillofacial Surgery,  
Faculty of Dentistry,  
Gaziosmanpasa University,  
Tokat, Turkey.

\*\* PhD, Department of  
Medical Biology, Faculty of  
Medicine, Gaziosmanpasa  
University, Tokat, Turkey.

\*\*\* Dr, PhD, Department  
of Anatomy, Faculty of  
Medicine, Kahramanmaraş  
Sutcu Imam University,  
Kahramanmaraş, Turkey.

### Yazışma Adresi:

Assistant Professor  
Dr. Mehmet Kemal TUMER  
Mailing address: Department of  
Oral and Maxillofacial Surgery,  
Faculty of Dentistry, University of  
Gaziosmanpasa, Tokat, Turkey  
E-mail:  
dr\_kemaltumer@yahoo.com  
Contact phone number :  
+90 543 319 91 55  
Fax: +90 (356) 212 42 25

### Öz

**Amaç:**Tıp ve diş hekimliğinin birçok uygulamasında, tedavi sırasında veya sonrasında görülen beklenmedik kanamalar, yapılan işlemin büyüklüğünden bağımsız olarak gelişebilecek bir komplikasyon olarak değerlendirilir. Kanamanın kontrol altına alınmasını kolaylaştırmak amacıyla cerrahi işlem öncesinde ve/veya sonrasında kullanılacak birçok biyomalzeme üretilmiştir. Bu çalışmada kanama durdurucu ajan olarak kullanılan Ankaferd Blood Stopper® (ABS), Traneksamik Asit (TA) ve yeni bir kanama durdurucu olan Mecsina Hemostopper®'in(MH) immünolojik etkinlikleri ve etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** Çalışmada pıhtılaşma ve fibrin oluşumu üzerinde en çok çalışma yapılan ölümsüz hücre içeriğine sahip insan umbilikal kord hücreleri (HUVEC, Human Umbilical Vein Endothelial Cell ) kullanılmıştır. Her flaska her bir ilaç için 5000 hücre olacak şekilde 5 gruba (ABS grubu, TA grubu, MH grubu, distile su uygulanan negatif grup ve herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu) hücreler dağıtıldı. **Bulgular:** Elde edilen verilere göre 1:2 ve 1:10' luk konsantrasyonlarda; MH uygulaması yapılan hücrelerde Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ) seviyeleri diğer ilaç gruplarına göre daha düşüktür ( $p<0,05$ ). İnterlökin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) ve İnterlökin- 6 (IL-6) seviyelerinde ise hem 1:2 hem de 1:10' luk konsantrasyonlarda tüm ilaç uygulamaları sonucunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). TNF- $\alpha$  seviyelerinde ise 1:2 konsantrasyonda tüm ilaç uygulamalarında kontrole göre artış ( $p<0,05$ ) gözlenmişken, 1:10 konsantrasyonda MH uygulamasında anlamlı bir değişiklik görülmemiş ( $p>0,05$ ) ancak TA ve ABS uygulamalarında ise anlamlı derecede artış olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). **Sonuç:** Sonuç olarak, HUVEC hücre gruplarında farklı konsantrasyonlarda uygulanan farklı anti hemorajik ajanların hücre içi sitokin seviyelerinde önemli ölçüde bir artış meydana getirdiği görülmüştür. Sonuçlar göz önüne alındığında MH uygulamasının ABS (ve özellikle TA uygulamalarına kıyasla daha etkili bir anti hemorajik ajan olduğunu söyleyebilmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** HUVEC, Interleukin-6, Interleukin-1 beta, Tumor Necrosis Factor Alpha, Mecsina

### Abstract

**Objective:** Hemorrhagic complications may develop in many branches of medicine and dentistry after or during the treatment independently of the ex-

tent of the procedure performed. Various biomaterials have been used in the medical and dental practice procedures before and after surgical procedures. The aim of this study was to compare the immunological efficacies and effects of Ankaferd Blood Stopper® (ABS), Tranexamic acid (TA) used as anti-hemorrhagic agents and Mecsina Hemostopper® (MH), a new anti-hemorrhagic agent. **Method:** The immortalized Human Umbilical Vein Endothelial Cell (HUVEC) cell lines, which are human umbilical cord cells and used in many studies on coagulation and formation of fibrin, were commercially purchased for the study. The cells, 5000 cells per flask for each drug, were distributed into the 5 groups (ABS Group, TA group, MH group, distilled water-administered negative group and control without any administration). **Results:** According to the data we obtained, Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) levels were found to be lower in the cells, to which MH was administered at concentrations of 1: 2 and 1:10, than other drug groups ( $p < 0,05$ ). There was a significant increase in Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and Interleukin 6 (IL6) levels in all drug administrations at both concentrations of 1: 2 and 1: 10 compared to the control group ( $p < 0,05$ ). While there was no significant increase in TNF- $\alpha$  levels in all drug administrations at a concentration of 1: 2 ( $p < 0,05$ ), there was no significant correlation in MH administration at a concentration of 1:10 ( $p > 0,05$ ), but a significant increase was found in TA and ABS administrations ( $p < 0,05$ ). **Conclusion:** In conclusion, it has been observed that different anti-hemorrhagic agents administered at different concentrations in HUVEC cell groups produced a significant increase in intracellular cytokine levels. Considering the results, we can say that MH administration is a more effective anti-hemorrhagic agent than administrations of ABS and especially TA.

**Keywords:** HUVEC, Interleukin-6, Interleukin-1  $\beta$ , Tumor Necrosis Factor Alpha, Mecsina

## Introduction

As a result of all surgical procedures, different levels of hemorrhage occur in the operation area. The maintenance of homeostasis pre- and post-operatively is one of the most important surgical requirements for a good and effective surgical operation.<sup>1</sup> Besides mechanical techniques, the use of anti-hemorrhagic agents is vital for bleeding control, especially in patients with bleeding problems.<sup>2</sup> Ankaferd Blood

Stopper (ABS) is a hemostatic agent consisting of 5 different plant extracts. It is known to be an effective anti-hemorrhagic agent routinely used during surgical operations. Each of these plants, composing the content of ABS, has different effects on blood cells, endothelium, angiogenesis, cell proliferation and cellular mediators.<sup>3</sup> Tranexamic acid (TA) is an anti-fibrinolytic agent that prevents the transformation of plasminogen to plasmin and is also used in patients with postoperative long-term bleeding after surgery.<sup>4</sup> TA competitively inhibits the interaction between lysine residues on the fibrin surface and the heavy chain of plasminogen and plasmin, blocking the lysine-binding portion on the plasminogen molecule. It reduces other plasma proteins, including fibrin clot, fibrinogen, FV and FVIII.<sup>5</sup> In the use of TA does not increase the risk of mortality, myocardial infarction, stroke, deep venous thrombosis, pulmonary embolism and renal dysfunction, in addition to that, causes a significant reduction in the length of hospital stay.<sup>6</sup> Anti-hemorrhagic agents may prevent hemorrhage by using different mechanisms of action. Mecsina Hemostopper (MH) is made from herbal agents such as Glycyrrhiza glabra extract, Alpinia officinarum, Thymus serpyllum, Syzygium aromaticum, Hypericum perforatum, Vitis vinifera, Urtica angustifolia, Mentha arvensis. MH provides a vital erythrocyte aggregation by forming a protein network in the environment. It has been proved in electron microscope experiments that it forms a protein network by binding especially to fibrinogen, and the erythrocytes are arranged in the formation in this network. By this means, its effect on hemostasis could be observed. In this study, we aimed to compare the immunological and effects of ABS, TA routinely used as hemostatic agents, and MH, a new hemostatic agent.

## Materials and Method

### Cell Culture

In this study, the immortalized HUVEC (C0155, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) cell lines, which are human umbilical cord cells and used in many studies on coagulation and formation of fibrin, were commercially purchased. They were incubated and grown in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)/Ham's F-12 medium containing 10% fetal bovine serum (12483012, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) at 37 ° C in 5% carbon dioxide atmosphere with 95% humidity. The cells grown in 25 cm<sup>2</sup> flasks were removed from

the flask surface with 0.05% trypsin/EDTA (25200056, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) solution when they covered the cell culture plates. During passaging, the cells were transferred so as to be 1: 2 cell in the new passage. The culture medium was changed every two days after the passaging. It was then stored as stock by applying a cryopreservation protocol with Dimethylsulfoxide (DMSO, sc-358801 Santa Cruz Biotechnology, California, USA). After dying with Sigma branded Trypan Blue (0.05%) dye, the amount of living/dead cells was determined by Celeromics (Grenoble, France) branded cell counting device. After reaching a sufficient number of cells, the cells, 5000 cells per flask for each drug, were distributed into 5 groups (ABS, TA, MH, distilled water, distilled water-administered negative control without any administration).

**Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Study**

The control cells and HUVEC cells, to which 1:2 and 1:10 drug doses were administered, were planted on 96-well plate so as to be 10.000 cells per plate. After 24 hours of drug administration, the cell extract was obtained.

**Protocol for Cell Extract Preparation**

In the study, the protocol was carried out using the ProtiEx total protein extraction solution kit (South Korea, Geneall) to measure the antibody levels in both monolayer and supernatants. Supernatants were used for ELISA plates after being measured with NanoDrop

spectrophotometer. (NanoDrop 2000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)

In the ELISA study,) IL-1β (28 KHC0011, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), IL-6 (27KHC0062, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)) and TNF-α (29 KHC3012, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) kits were used. After the standards of the study were prepared, pipetting was performed, following the steps in the manuals of the kits. 2 hours later, the color change occurred was measured by ELISA reader with 450 nm filter. After creating a linear curve according to the standard concentrations and optical density (OD) values, the OD values of the samples were written in their place in the equilibrium on the resulting graph and their concentrations were calculated.

**Results**

In this study, the immunological effects of MH, ABS and TA at concentrations of 1: 2 and 1:10 on intracellular cytokines in cell extracts obtained from commercially purchased immortalized HUVEC cell lines were analyzed (Table 1). The inhibition of the drugs at these concentrations was compared with the control group.

According to the results obtained, at a concentration of 1:2, there was respectively a 3%, 28%, 14.25% increase with MH (Figure 1), 10.7%, 54%, 8% increase with ABS (Figure 2) and 9.5%, 15%, 19% increase with TA (Figure 3) in TNF-α, IL-6, and IL-1β levels. At a concentration of 1:10, there was respectively a

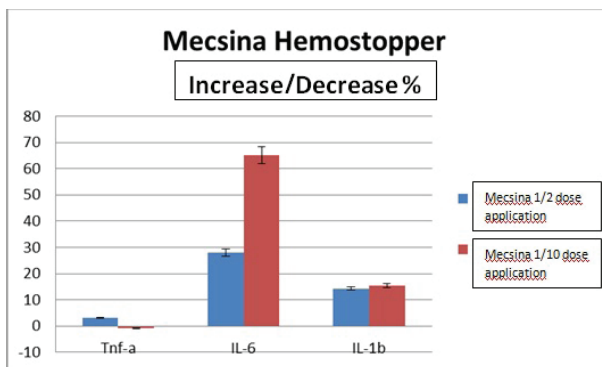
**Table 1** Cytokine levels of different anti-hemorrhagic agents in the HUVEC cells

HUVEC cell line (1st day 24th hour)							
Cytokine	Mec sina Hemostopper		Ankaferd Blood Stopper		Tranexamic Acid		Statistical significance (p)
	1/2 dose administration	1/10 dose administration	1/2 dose administration	1/10 dose administration	1/2 dose administration	1/10 dose administration	
Tnf-a	3	-0.8	10.7	22.1	9.5	5.2	p<0,05
IL-6	28	65	54	90	15	106	p<0,05
IL-1b	14.3	15.4	8	20	19	22	p<0,05

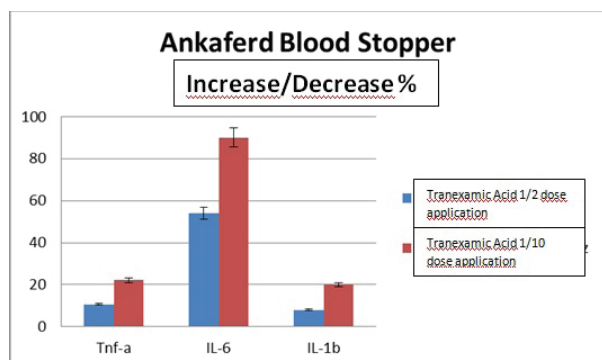


0.8%, 65%, 15.4% increase with MH, 22.1%, 90%, 20% increase with ABS and 5.2%, 106%, 22% increase with TA in IL-6 and IL-1 $\beta$  levels. While there was 0,8% decrease in TNF- $\alpha$  levels with MH, there was a 22.1% increase with ABS and 5.2% increase with TA.

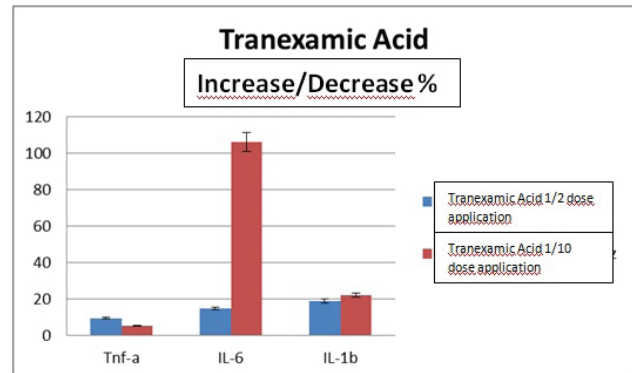
In our results, there was a significant increase in IL-1 $\beta$  and IL-6 levels compared to the control group with all drug administrations at both 1:2 and 1:10 concentrations ( $p < 0.05$ ). While there was a significant increase in TNF- $\alpha$  levels with all drug administrations at a concentration of 1:2 ( $p < 0.05$ ), there was no significant correlation with MH administration at a concentration of 1:10 ( $p > 0,05$ ), but a significant increase was found with TA and ABS administrations ( $p < 0,05$ ).



**Figure 1.** Demonstration of the increase or decrease rates (in percentage) of the cytokines in HUVEC cells to which Mecisina Hemostopper was administered at different doses



**Figure 2.** Demonstration of the increase or decrease rates (in percentage) of the cytokines in HUVEC cells to which Ankaferd Bloodstopper was administered at different doses



**Figure 3.** Demonstration of the increase or decrease rates (in percentage) of the cytokines in HUVEC cells to which Tranexamic Acid was administered at different doses

## DISCUSSION

Although a lot of active substances providing coagulation are recently available, the molecular mechanisms of some of them have not yet been fully clarified. ABS and MH, which are a completely herbal product, provide coagulation by taking haemostatic effect with erythrocyte aggregation in protein network environment independently of the classical coagulation cascade system.<sup>3</sup> The most defined mechanism of action for TA is that it is an anti-fibrinolytic.<sup>7</sup> TA is a lysine analog that competitively inhibits the plasma activation of plasminogen, thus preventing clot lysis.<sup>8</sup> It has reported in a study that TA had an anti-inflammatory effect in cardiopulmonary bypass.<sup>9</sup> As a result of experiments conducted with the HUVEC cell model, it may be possible to use anti-hemorrhagic agents with herbal active substances more actively and effectively in clinical practice, considering the fact that the investigation of genetic factors and intracellular activities is becoming more and more important. By determining whether these hemostatic agents are effective on procoagulants, anticoagulants and pro-fibrinolytic proteins, regulations in active substance doses and administration times, and improvements in potential bleeding risks may occur with the use of these agents at the most effective level possible. Within this scope, in our study, it was tried to investigate the effects of ABS, MH and TA hemostatic agents at different concentrations on intracellular cytokine levels in the HUVEC cell line and to compare them with each other. In a study conducted on the transcription factors and

erythrocyte protein profile of ABS in HUVEC endothelium, it has been observed that ABS stopped bleeding effectively because of forming a rapid complex between the cells.<sup>10</sup> It has been also reported in the same study that ABS administration at low doses was not only effective in the outer part of the cells, but also very effective on endothelial cells inside the cell. It has been reported that oral systemic ABS was hematologically and biochemically reliable in rabbits in the short term.<sup>11</sup> According to our study results, less inflammatory cytokine release was observed in cells to which ABS was administered at low concentrations. This seems to be consistent with the previous studies. Moreover, while MH at low concentrations produced less inflammatory cytokines than both ABS and TA, interestingly, MH at higher concentrations caused minimum inflammation.

In a study investigating the effect of aprotinin and TA on surgical bleeding, aprotinin has been reported to be more effective than TA, and antifibrinolytics have been found to be clinically more advantageous.<sup>12</sup> It has been reported that the complication incidence was higher after the use of TA.<sup>13</sup> In studies evaluating plasma cytokine concentrations, the antiinflammatory characteristics of TA have been observed, and the cytokines have been indicated to play an important role in the inflammatory response after surgical procedure.<sup>9</sup> In a study, TA has been indicated to cause more regulation of proinflammatory and antiinflammatory genes. It has been stated in the same study that TA suppressed the TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  release by altering gene expression only in multiple organ failure patients involving down-regulation of IL-12 $\alpha$  and IL-17 $\beta$ .<sup>14</sup> In our study, TNF- $\alpha$  cytokine levels were observed to be lower in the cells, to which TA was administered at lower or higher concentrations, than the cells to which ABS was administered. Conversely, in the case of MH administration, we noted that TNF- $\alpha$  levels were considerably lower than both TA and ABS.

In a study, the down-regulation of inhibin-beta that is released together with TNF- $\alpha$  has been noted at the onset of sepsis before IL-6 of TA administration.<sup>15</sup> In parallel with this, as in our results, IL-6 has been found to be higher than TNF- $\alpha$  levels in the cells to which ABS and TA and most significantly MH were administered. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  are known as potent inflammatory cytokines that are up-regulated during inflammation, and play an important role in improving wound healing.<sup>16</sup> In a study, in which ABS was used in

fracture healing, while TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  values were increased on the 7th day after the fracture compared to the control, the levels of both cytokines were decreased on the 21st and 45th days after fracture.<sup>17</sup> Similarly, in our study, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels were significantly increased in the cell groups to which ABS and TA were administered, even at different concentrations, whereas IL-1B showed a significant increase in cell groups to which MH was administered, but there was no significant increase in TNF- $\alpha$  levels.

## Conclusion

In conclusion, it has been observed that different anti-hemorrhagic agents administered at different concentrations in the HUVEC cell groups produced a significant increase in intracellular cytokine levels. Considering the results, we can state that the MH administration is a more effective anti-hemorrhagic agent than ABS and especially TA administrations. The use of MH, a new generation of anti-hemorrhagic agent, may be appropriate to be able to produce less inflammatory effects in peroperatively and/or postoperatively, however we think that the importance of our statement in clinical practice will be increased by more advanced and more complex studies.

**Financial support:** This work was supported by Gaziosmanpaşa University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project Number: 2013/104.

## References

1. Simsek HO, Tuzum MS, Baykul T, Gurer IE, Bas-sorgun CI. Experimental investigation of the effects of a blood stopper agent (ankaferd blood stopper) on bone surfaces. *Turk J Hematol.* 2013; 30(2): 177-83.
2. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2007; 91(1): 131-7.
3. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y, et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract, Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res.* 2008; 36(1): 163-70.
4. Emes Y, Aybar B, Vural P, Issever H, Yalcin S, Atalay B, et al. Effects of hemostatic agents on fibroblast cells. *Implant Dent.* 2014; 23(6): 641-7.
5. Nuttall GA, Gutierrez MC, Dewey JD, Johnson ME, Oyen LJ, Hanson AC, et al. A preliminary study of a

- new tranexamic acid dosing schedule for cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2008; 22(2): 230-5.
6. Henry DA, Carless PA, Moxey AJ, O'Connell D, Stokes BJ, McClelland B, et al. Anti-fibrinolytic use for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 17(4): CD001886.
7. Balvers K, Van Dieren S, Baksaas-Aasen K, Gaarder C, Brohi K, Eaglestone S, et al. Combined effect of therapeutic strategies for bleeding injury on early survival, transfusion needs and correction of coagulopathy. *Br J Surg.* 2017; 104(3): 222-9
8. Cole E, Davenport R, Willett K, Brohi K. Tranexamic acid use in severely injured civilian patients and the effects on outcomes: a prospective cohort study. *Ann Surg.* 2015; 261(2): 390-4.
9. Jimenez JJ, Iribarren JL, Lorente L, Rodriguez JM, Hernandez D, Nassar I, et al. Tranexamic acid attenuates inflammatory response in cardiopulmonary bypass surgery through blockade of fibrinolysis: a case control study followed by a randomized double-blind controlled trial. *Crit Care.* 2007; 11(6): R117.
10. Yılmaz E, Gülec ŞS, Torun D, Haznedaroglu IC, Akar N. The effects of Ankaferd® Blood Stopper on transcription factors in HUVEC and the erythrocyte protein profile. *Turk J Hematol.* 2011; 28(4): 276-85.
11. Bilgili H, Captug O, Kosar A, Kurt M, Kekilli M, Shorgabi A, et al. Oral systemic administration of Ankaferd Blood Stopper has no short-term toxicity in an in vivo rabbit experimental model. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2010; 16(5): 533-6.
12. Porte RJ, Leebeek FW. Pharmacological strategies to decrease transfusion requirements in patients undergoing surgery. *Drugs.* 2002; 62(5): 2193-211.
13. Murkin JM, Falter F, Granton J, Young B, Burt C, Chu M. High-dose tranexamic acid is associated with nonischemic clinical seizures in cardiac surgical patients. *Anesth Analg.* 2010; 110(2): 350-3.
14. Later AF, Sitniakowsky LS, Van Hilten JA, Van De Watering L, Brand A, Smit NP, et al. Antifibrinolytics attenuate inflammatory gene expression after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013; 145(6): 1611-6.
15. Jones KL, De Kretser DM, Patella S, Phillips DJ. Activin A and follistatin in systemic inflammation. *Mol Cell Endocrinol.* 2004; 225(1-2): 119-25.
16. Lange J, Sapozhnikova A, Lu C, Hu D, Li X, Miclau T et al. Action of IL-1 $\beta$  during fracture healing. *J Orthop Res.* 2010; 28(6): 778-84.
17. Amanvermez R, Gunay M, Piskin A, Keles G, Tomak L. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and oxidative stress during fracture healing with or without ankaferd. *Bratisl Lek Listy.* 2013; 114(11): 621-4.

# Effect Of The Inflammatory Bowel Diseases On Choroidal And Macular Thickness

## İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarının Koroidal ve Makular Kalınlık Üzerine Etkisi

\* Fahrettin AKAY, MD,  
Associate Professor  
\*\* Halil GENÇ, MD  
\*\*\* Yusuf Çağdaş KUMBUL,  
MD

\* İzmir Katip Çelebi  
University Atatürk  
Training and Research  
Hospital, Department  
of Ophthalmology  
Gastroenterology,  
İzmir, Turkey

\*\* İzmir Katip Çelebi  
University Atatürk  
Training and Research  
Hospital, Department of  
Gastroenterology,  
İzmir, Turkey

\*\*\* İzmir Katip Çelebi  
University Atatürk Training  
and Research Hospital,  
Department of Ear Nose  
Throat Head and Neck  
Surgery, İzmir, Turkey

### Yazışma Adresi:

Fahrettin AKAY, MD,  
Associate Professor  
İzmir Katip Çelebi University  
Atatürk Training and Research  
Hospital, Department of  
Ophthalmology, İzmir, Turkey

Email: drfakay@yahoo.com  
GSM: +90 505 3829385

### Öz

**Amaç:** Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (ÜK) bir grup inflamatuvar barsak hastalığıdır (IBD). IBD'de oftalmik bozukluklar ortaya çıkabilir. En sık görülen bulgular episklerit ve üveitir. Çalışmanın amacı IBD'deki koroidal ve makula kalınlığını (MT ve CT) değerlendirmek ve bunu hastalık aktivitesi ile kontrol etmektir. **Yöntem:** IBD grubu 50 hastanın 50 sağ gözünü içeriyorken, kontrol grubu ise 50 sağlıklı gönüllünün herhangi bir gözünden oluşmuştu. Tüm katılımcılar spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) ile test edildi. CT değerleri yedi farklı noktada elde edildi. **Bulgular:** IBD'nin ortalama süresi  $3.9 \pm 1.5$  yıl idi. Foveal maküler kalınlık; çalışma grubunda  $258.1 \pm 14.2$   $\mu\text{m}$ , kontrol grubunda  $262.7 \pm 20.9$   $\mu\text{m}$  idi. Gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $P = 0,19$ ). Subfoveal, temporal 500  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$  ve 1500  $\mu\text{m}$  CT ölçümleri, çalışma grubunda sırasıyla istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.001$ ). Çalışma grubunda ortalama BT  $289.8 \pm 25.6$   $\mu\text{m}$ , kontrol grubunda  $273.9 \pm 33.2$   $\mu\text{m}$  idi. Gruplar arasında anlamlı fark vardı ( $P = 0.008$ ). Ortalama BT ve eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein düzeyi ve diğer klinik parametreler arasında korelasyon yoktu ( $P = 0,05$ ). **Sonuç:** Bağırsak iltihabı, koroidal vasküler yapıyı etkileyebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Koroidal kalınlık, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, maküler kalınlık

### Abstract

**Objective:** Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) are a group of inflammatory bowel disease (IBD). Ophthalmic disorders might occur in IBD. The most common findings are episcleritis and uveitis. Then purpose of the study was to evaluate the choroidal and macular thickness (MT and CT) in the IBD and to check it with the disease activity. **Methods:** IBD group was including 50 patients and the control group consisted of 50 healthy volunteers. All participants were tested with spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT). The CT values were obtained at seven different points. **Results:** Mean duration of the IBD was  $3.9 \pm 1.5$  years. Foveal macular thickness was  $258.1 \pm 14.2$   $\mu\text{m}$  in study group and  $262.7 \pm 20.9$   $\mu\text{m}$  in the control group. There was not significant difference between groups ( $P=0,19$ ). Subfoveal, temporal 500  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$ , and 1500  $\mu\text{m}$  CT measurements were respectively statistically significant in the study group ( $p < 0.001$ ). Mean CT was



289.8 ± 25.6 µm in study group and 273.9 ± 33.2 µm in the control group. There was a significant difference between groups (P=0.008). There was no correlation between mean CT and erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level and other clinical parameters (P> 0,05). **Conclusion:** Inflammation of the bowels might affect the choroidal vascular structure.

**Keywords :** Choroidal thickness, Inflammatory Bowel Diseases, Macular Thickness

## Introduction

Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) are a group of inflammatory bowel disease (IBD) which characterized by relapses. They affect generally all gastrointestinal tractus especially the colon and small intestine primarily with unknown etiology. Intestinal inflammation is the main impairment in IBD but extra-intestinal signs are observed in 5%-40% of patients. Extraintestinal signs may represent the first indication of disease in 10%-20% of all cases(1). Extraintestinal manifestations have undefined multifactorial pathogenesis(2). It is assumed that toxins and antigens leads to an antigen-antibody complex accumulation in different extraintestinal organs(2). Ophthalmic manifestations are categorized as primary, secondary, and coincidental(3). Primary signs are usually associated with IBD activations and secondaries are the complications that range cataracts to the visual impairments from 5-ASA, or blindness as a result the deficiency of vitamins. Rare complications are ocular findings that occur as in the population. Ophthalmic disorders occur in 1.6%-5.4% among the ulcerative colitis and 3.5%-6.8% among the Crohn's disease(4). The most findings are episcleritis (2%-5%) and uveitis (0.5%- 3.5%). Ocular symptoms may be blurred vision, burning, or itchy eyes from the pain, photophobia, teary, red eyes, loss of visual acuity, and blindness(5).

Spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) is a subjective method for examining retina and choroidal structures in the globe. Detailed retinal and choroidal cross sectional images can be evaluated. Alterations in choroidal thickness have previously been reported in different autoimmune and inflammatory impairments(6-8). The goal of the study was to evaluate the choroidal and macular thickness alterations in the IBD and to check it with the disease activity.

## Material and Methods

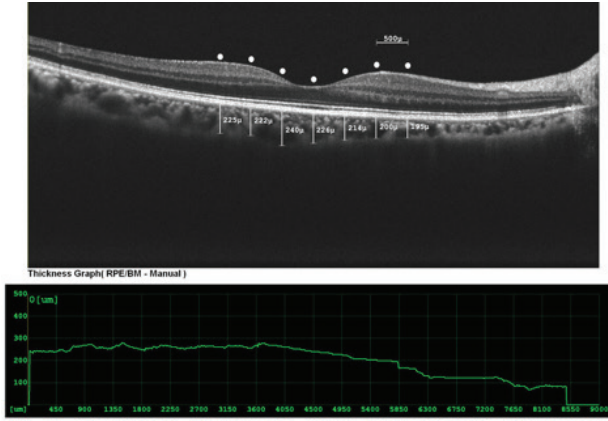
Our study is designed as prospective case-control clinical investigation. It was performed between January 2016 and February 2018 in Izmir Ataturk Training and Research Hospital, Izmir, Turkey. The IBD group included 50 patients who were referred from the gastroenterology department. These patients were underwent from the full ophthalmological examination to the ophthalmology department. The control group included 50 healthy volunteers. Only right eyes of the subjects was used for study. Signed informed document was obtained from each participant. The principles of the Declaration of Helsinki were followed by the authors. It was allowed by the ethics committee. The diagnosis of IBD was dependent on the pathological biopsy results and clinical findings. OCT measurements were obtained during acute attacks. All patients were under the treatment and received nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Age, sex, disease duration, white blood cell count (WBC), erythrocyte sedimentation rate(ESR) and C-reactive protein(CRP) levels were recorded. Arterial blood pressures were measured from the arm. All participants had been taken a rest for at least 10 minutes before measurements. Abnormal values of both groups were not included the study. The control group did not have a diagnosis of any disease. Ocular trauma, visual acuity under 20/32, uveitis, glaucoma, previous ocular surgery, lens-cornea opacities and systemic arterial hypertension, and spherical equivalent  $\geq \pm 3.0$  dpt. were excluded from the study. IOP was tested with Goldman applanation tonometry (Haag- Streit AG, Switzerland) and axial length (AL) was analysed with a biometer (OcuScan, Alcon, USA).

SD-OCT (RS-3000, NIDEK, Japan) was used for macular and choroidal analysis after pupillary dilation. Scans were done between 9:00 and 10:00 a.m. Images were taken from patients and control subject. Signal strength ( $\geq 8$  over 10) was chosen for best image. Macula line raster image was used for CT evaluations. The CT was ranged as the distance between the RPE line and the scleralborder drawn by examiner(-FA). The CT values were obtained at seven different points: starting at the subfoveal center and spaced at three points with the 500 µm intervals to the temporal and nasal retina(Figure 1).

All data were checked with using SPSS version 21.0 (SPSS Inc., USA). Results were expressed as



means ± standard deviation (SD). The normality of the values was analyzed using the Shapiro-Wilk test. The Student-t test or the Mann-Whitney U test was used according to the normality scores. P < 0.05 accepted as significant. Correlations between the variables were performed by the Pearson correlation coefficient test.



**Figure 1:**  
Choroidal thickness measurements in IBD.

## Results

Characteristic of the IBD and study groups were shown in Table 1. There were no statistical difference between groups according to the age, sex, visual acuity and other parameters. In the study group 18 patients were Crohn's disease and 32 patients were ulcerative colitis. Mean duration of the IBD was  $3.9 \pm 1.5$  years. Foveal macular thickness was  $258.1 \pm 14.2$  µm in study group and  $262.7 \pm 20.9$  µm in the control group. There was not significant difference between groups ( $P=0,19$ ). Subfoveal, temporal 500 µm, 1000 µm, and 1500 µm CT measurements were respectively statistically significant in the study group ( $p<0.001$ ). Mean CT was  $289.8 \pm 25.6$  µm in study group and  $273.9 \pm 33.2$  µm in the control group. There was significant difference between groups ( $P=0.008$ ).

Correlations between mean CT and clinical or laboratory parameters were evaluated with Pearson's correlation coefficient. There was no correlation between mean CT and erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level and other clinical parameters ( $P>0,05$ ).

**Table 1** Characteristics and laboratory findings of the IBD patients and control groups

Characteristics and Laboratory Findings	Study group n= 50	Control group n= 50	P value
Age, years	$25.5 \pm 3.5$	$24.1 \pm 2.6$	0.07*
Males, Females	38/12	35/15	0.10*
BCVA, logMAR	$-0.007 \pm 0.01$	$-0.008 \pm 0.03$	0.72*
IOP, mmHg	$15.9 \pm 2.5$	$15.1 \pm 2.6$	0.12**
Axial length, mm	$22.7 \pm 0.9$	$22.6 \pm 0.7$	0.40**
Spherical equivalent, dioptries	$-0.48 \pm 0.9$	$-0.25 \pm 0.6$	0.09*
BMI	$24.5 \pm 1.7$	$24.1 \pm 1.6$	0.69**
MBP, mmHg	$89.2 \pm 3.2$	$87.3 \pm 4.1$	0.53**
Crohn's disease/Ulcerative colitis,n	18/32	N/A	-
Disease duration, years	$3.9 \pm 1.5$	N/A	-
Serum C-reactive protein level, mg/L	$13.5 \pm 6.9$	-	-
Erythrocyte sedimentation rate, mm/hr	$18.9 \pm 5.9$	-	-

BCVA = best- corrected visual acuity, logMAR = logarithm of the minimum angle of resolution, IOP= intraocular pressure, BMI = Body mass index, MBP = mean blood pressure, N/A = not applicable  
\*Mann-Whitney U test, \*\*Independent samples t-test,

Table 2 Correlation of the choroidal and macular thickness between groups

Choroidal and macular thickness measurement location	Study group n= 50	Control group n= 50	P value
Subfoveal, $\mu\text{m}$	298.9 $\pm$ 26.9	279.1 $\pm$ 34.3	<b>P=0,02</b>
Temporal, 500 $\mu\text{m}$	300.8 $\pm$ 28.3	279.5 $\pm$ 35.2	<b>p&lt;0.001</b>
Temporal, 1,000 $\mu\text{m}$	304.7 $\pm$ 29.3	277.9 $\pm$ 34.1	<b>p&lt;0.001</b>
Temporal, 1,500 $\mu\text{m}$	302.3 $\pm$ 31.1	272.1 $\pm$ 33.2	<b>p&lt;0.001</b>
Nasal, 500 $\mu\text{m}$	289.6 $\pm$ 27.7	277.1 $\pm$ 34.7	P=0,65
Nasal, 1,000 $\mu\text{m}$	273.9 $\pm$ 32.1	270.9 $\pm$ 34.6	p=0.75
Nasal, 1,500 $\mu\text{m}$	258.5 $\pm$ 35.5	260.7 $\pm$ 35.5	p=0.20
Mean CT, $\mu\text{m}$	289.8 $\pm$ 25.6	273.9 $\pm$ 33.2	<b>P=0.008</b>
Foveal macular Thickness, $\mu\text{m}$	258.1 $\pm$ 14.2	262.7 $\pm$ 20.9	p=0.19

\* Independent samples t-test.

## Discussion

Inflammatory bowel diseases are a group of disorders which effect the multiple organs including the ocular tissues. For that reason it is very important to understand the ocular manifestations of the IBD. It may be helpful for preventing the visual morbidity. Pathophysiology which leads the ocular complications of the IBD is still unclear. In this study we aimed to evaluate the choroidal and macular thickness changes compared with the healthy controls. Posterior portion of the uveal tract continues with choroidal vascular structure in the globe. It is divided in to the three layers: Haller layer that includes large vessels, Sattler layer with medium vessels with choroidal stroma and the innermost layer of choriocapillaris(9). It provides up to 85% of the ocular blood flow and supply the outer two thirds of the retina(9).

Inflammation of the eye effects the choroidal vascular structure. Some authors reported reported many ocular inflammatory diseases that effect the choroidal tissue. Voght-Koyonagi Harada (VKH), sarcoidosis, Behçet's disease, familial mediterranean fever(FMF), IBD and posterior scleritis have been reported before(6-8, 10, 11). Kim et al. enounced that increased blood flow, vascular resistance, and exudates may

effect the choroidal thickening. They found the increased CT during the active phase of Behçet's posterior uveitis. Also they showed the degree of decrease in CT was significantly correlated with improvement in vascular leakage(12). With a similar mechanism, IBD may also affect the choroidal vascular system with inflammatory mediators.

Episcleritis and uveitis are the most common ocular findings in IBD. Low-grade recurrent acute anterior uveitis is common in IBD. In our study there was no uveitis in study group. Posterior uveitis with chorioretinitis have been reported in a study(13). But subclinical inflammation in uveal tissue may have a role in increased mean CT in IBD group. Cloche at al. reported that low rate ocular inflammation may have a role ocular symptoms of IBD in a large cohort study(14). Önal at al. declared a similar study which CT was increased in IBD with ileal involment(8). Similarly we find out increased CT in both Crohn and UC patients in our study.

In conclusion SD-OCT is a new and current method for the visualization of the CT. Inflammation of the any part of the body can effect the choroidal vascular structure. The exact influence of IBD on choroid is still unclear. Further studies will reveal the pathogenesis of these disorders in the future.

## References

1. Bernstein CN. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Current gastroenterology reports*. 2001;3(6):477-83.
2. Goudet P, Dozois RR, Kelly KA, Ilstrup DM, Phillips SF. Characteristics and evolution of extraintestinal manifestations associated with ulcerative colitis after proctocolectomy. *Digestive surgery*. 2001;18(1):51-5.
3. Mady R, Grover W, Butrus S. Ocular Complications of Inflammatory Bowel Disease. *The Scientific World Journal*. 2015;2015:1-5.
4. Troncoso LL, Biancardi AL, de Moraes HV, Jr., Zaltman C. Ophthalmic manifestations in patients with inflammatory bowel disease: A review. *World J Gastroenterol*. 2017;23(32):5836-48.
5. Felekis T, Katsanos K, Kitsanou M, Trakos N, Theopistos V, Christodoulou D, et al. Spectrum and frequency of ophthalmologic manifestations in patients with inflammatory bowel disease: a prospective single-center study. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(1):29-34.
6. Ishikawa S, Taguchi M, Muraoka T, Sakurai Y, Kanda T, Takeuchi M. Changes in subfoveal choroidal thickness associated with uveitis activity in patients with Behcet's disease. *The British journal of ophthalmology*. 2014;98(11):1508-13.
7. Fong AH, Li KK, Wong D. Choroidal evaluation using enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Retina (Philadelphia, Pa)*. 2011;31(3):502-9.
8. Onal IK, Yuksel E, Bayrakceken K, Demir MM, Karaca EE, Ibis M, et al. Measurement and clinical implications of choroidal thickness in patients with inflammatory bowel disease. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*. 2015;78(5):278-82.
9. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2010;29(2):144-68.
10. Baltmr A, Lightman S, Tomkins-Netzer O. Examining the choroid in ocular inflammation: a focus on enhanced depth imaging. *Journal of ophthalmology*. 2014;2014:459136.
11. Gundogan FC, Akay F, Uzun S, Ozge G, Toyran S, Genç H. Choroidal thickness changes in the acute attack period in patients with familial Mediterranean fever. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde*. 2015;235(2):72-7.
12. Kim M, Kim H, Kwon HJ, Kim SS, Koh HJ, Lee SC. Choroidal thickness in Behcet's uveitis: an enhanced depth imaging-optical coherence tomography and its association with angiographic changes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2013;54(9):6033-9.
13. Banares A, Jover JA, Fernandez-Gutierrez B, Benitez del Castillo JM, Garcia J, Vargas E, et al. Patterns of uveitis as a guide in making rheumatologic and immunologic diagnoses. *Arthritis and rheumatism*. 1997;40(2):358-70.
14. Cloche V, Buisson A, Trechot F, Batta B, Locatelli A, Favel C, et al. Ocular symptoms are not predictive of ophthalmologic inflammation in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*. 2013;45(3):195-9.

# Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hastalarında Onkogen Mutasyonlarının Araştırılması

## Determination of Oncogene Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer Patients

### Öz

- \* Metin ÇALIŞKAN  
\*\* Gökay BOZKURT  
\*\*\* Nezh MEYDAN  
\*\*\*\* İbrahim METEOĞLU  
\* Nur SELVİ GÜNEL
- \* Ege Üniversitesi Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
- \*\* Adnan Menderes  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye
- \*\*\* Adnan Menderes  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı,  
Aydın, Türkiye
- \*\*\*\* Adnan Menderes  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,  
Aydın, Türkiye

### Yazışma Adresi:

Metin ÇALIŞKAN  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,  
İzmir, Türkiye

metincaliskan58@gmail.com

**Amaç:** Yüksek insidansa sahip olan Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) en yüksek mortaliteye sahip kanser alt tipi olarak önemini korumaktadır. Çoğunlukla belirtilerin ileri evrelerde kendini göstermesi tedavi başarısını önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Son yıllarda, tümör dokusunda meydana gelen genetik değişiklikler sonucu ortaya çıkan onko-proteinlerin baskılanabilmesi tedavi başarısına önemli katkı sağlamıştır. Tümördeki bu moleküler değişimlerin tespiti kişiye özgü tedavilerin ön plana çıkmasına katkı sağlamıştır. Toplumdan topluma ve kişiden kişiye farklılık gösterebilen bu moleküler değişimlerin tedavi başarısını artırmak amacıyla her ülkedeki sıklık ve korelasyonlarının ortaya konması önem arz etmektedir. Ülkemizde KHDAK onkogen sıklık ve korelasyonlarına dair yeterli veri bulunmamaktadır, tanı ve tedavi batılı toplumlara benzer olduğu varsayılarak düzenlenmektedir. Ülkemize ait verilerin oluşturulması, tanı ve tedavi stratejileri açısından klinisyene fayda sağlaması ve böylece tedavi başarısını artırabilmesi bakımından önemlidir. Bu amaçla çalışmamızda KHDAK tanılı olguların tümör parafin bloklarında onkogen oluşumuna sebep olan ve sık gözlemlenen mutasyonların sıklıklarının ve korelasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. **Materyal-Metot:** Tanısı KHDAK olan toplam 80 hastaya ait parafin blok kesitlerinden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Ticari mutasyon kitleri (Roche Diagnostics, Amoy Diagnostics) kullanılarak Cobas z (Roche Diagnostics) RT-PCR cihazında Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (*EGFR*), Kirsten sıçan sarkoma viral onkogen homoloğu (*KRAS*), v-Ras Nöroblastom viral onkogen homoloğu (*NRAS*), v-Raf Murine sarkoma viral onkogen homoloğu (*BRAF*), Fosfatidil inozitol-3-kinaz katalitik alfa polipeptid (*PIK3CA*), İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2 (*HER2*) mutasyonları araştırılmıştır. **Bulgular:** 80 olgunun 37'sinde toplam 38 mutasyon saptanmıştır. Olguların 7'sinde *EGFR*, 23'ünde *KRAS*, 6'sında *PIK3CA*, 1'inde *BRAF* ve 1'inde *NRAS* mutasyonu saptanmıştır. *HER2* mutasyonu hiçbir olguda saptanmamıştır. *KRAS* mutasyonu bulunan bir olguda *PIK3CA* mutasyonu birlikteliği saptanmıştır. **Sonuç:** Sonuçlarımız; Ülkemizde *PIK3CA* mutasyon sıklığı dışında batılı toplumların mutasyon profiline benzer bir profile sahip olduğumuzu göstermektedir. Elde ettiğimiz *PIK3CA* mutasyon sıklığı %7,5'tir ve literatürdeki gösterilen %1-4 aralığının üzerindedir. Sonuçlarımız doğrultusunda *PIK3CA* mutasyonlarının tanı ve tedavide daha fazla dikkate alınmasının tedavi başarısına katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** KHDAK; *EGFR*; *KRAS*; *BRAF*; *PIK3CA*; *HER2*; *NRAS*

## Abstract

**Objective:** Non-small-cell lung cancer (NSCLC) having a high incidence rate remains importance as cancer subtype with the highest mortality. Mostly, the manifestation of symptoms in advanced stages severely restrict treatment success. In the recent years, the suppression of onco-proteins occurring as a result of genetic alterations provide an important contribution to the success of treatment. Detection of molecular changes in the tumor has contributed person-specific treatments to come into prominence. Revealing the frequency and the correlations with the aim of increasing treatment success of these molecular variations which can vary from society to society and person to person in each country are important. There are insufficient data related to (NSCLC) oncogene frequencies and the correlations in our country. Diagnosis and treatments have been arranged and assumed to be similar to the western societies. The forming of national data belonging to our country is likely to increase treatment success and clinician benefit in terms of diagnosis and treatment strategies. In the present study, it was aimed to determine frequencies of observed mutations inducing formation of oncogene in tumor paraffin blocks and correlations of (NSCLC) diagnosed cases. **Material-Method:** Genomic DNA isolation was performed using the paraffin block sections belonging to a total of 80 patients, whose diagnosis were NSCLC. Epidermal growth factor receptor (*EGFR*), Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*KRAS*), v-RAS neuroblastoma viral oncogene homolog (*NRAS*), v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog (*BRAF*), phosphatidylinositol-3-kinase catalytic alpha polypeptide (*PIK3CA*), human epidermal growth factor receptor 2 (*HER2*) mutations were searched using Cobas z (Roche Diagnostic) RT-PCR devices and commercial mutation kits (Roche Diagnostics, Amoy Diagnostics). Findings: *EGFR*, *KRAS*, *PIK3CA*, *BRAF* and *NRAS* mutations were determined in 7, 23, 6, 1 and 1 of the cases, respectively. *HER2* mutation was not detected in any case. *PIK3CA* mutation togetherness at the one case, having *KRAS* mutation, has been revealed. **Results:** Our results show that we have a profile similar to the mutation profile of the western societies apart from *PIK3CA* frequency in our country. *PIK3CA* mutation frequency was found to be 7,5%, which is greater than the 1-4% range shown in the literature.

Taking *PIK3CA* mutations in diagnosis and treatment into account more can contribute to the success of treatment.

**Keywords:** NSCLC; *EGFR*; *KRAS*; *BRAF*; *PIK3CA*; *HER2*; *NRAS*

## Giriş

Günümüzde en yüksek mortaliteye sahip kanser tipi olan Akciğer kanseri insidansı ve moleküler yapısı açısından toplumdan topluma farklılıklar göstermektedir. Sessiz seyretmesi sebebiyle genellikle ileri evrelerde tespit edilebilmekte bu sebeple tedavi başarısı son derece düşük olmaktadır (1-4). Son yıllarda tümör dokusundaki genetik değişikliklerin tespit edilmesi ve bu değişiklikler sonucu oluşan onkoproteinlere karşı baskılayıcı moleküllerin kullanılmasıyla tedavide ilerlemeler kaydedilmiştir (4-5). Görülme sıklığı açısından toplumlar arası farklılıklar gösteren bu genetik değişiklikler aynı baskılayıcı moleküllere karşı farklı cevaplar verebilmektedir (6-8).

Akciğer kanserinde moleküler markerler hedeflenmiş tedavilere yanıtta önemli belirleyiciler haline gelmiş ve son zamanlarda hastaya ait tümörde moleküler patolojiye dayalı en iyi tedavi seçeneklerinin belirlenmesi önem kazanmaya başlamıştır. Her bir kanser moleküler alt tipini, belirli bir genetik değişiklik veya değişiklikler tetiklemektedir (2,9,10). Genetik değişiklikler sonucu oluşan onkoproteinler, tirozin kinaz inhibitörleri ve monoklonal antikorlar gibi spesifik baskılayıcı moleküller ile hedef alınabilmekte sonuç olarak kanser gelişimindeki etkinlikleri durdurulabilmektedir. Akciğer kanserinde genetik değişiklikler sonucu oluşan mutant epidermal büyüme faktörü reseptörleri Tirozin kinaz inhibitörleriyle baskılanması hedeflenmiş tedavilere en iyi örneklerden biridir (2,11). Diğer taraftan birçok kanserde olduğu gibi Akciğer kanserinde de *KRAS* gen mutasyonu sonucu oluşan *KRAS* onkoproteinlerini baskılayacak efektif bir baskılayıcı olmaması sebebiyle prognoz kötü yönde ilerlemektedir (12).

Akciğer kanserinin büyük çoğunluğunu oluşturan Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde tümör dokusunda *EGFR*, *ALK*, *ROS1* ve *HER2* gibi reseptör tirozin kinaz genlerinde, *RAS*, *RAF* ve *MEK1* gibi Map Kinaz sinyal yolağı üyelerinde ve *PIK3CA*, *AKT1* gibi PI3K/Akt sinyal yolağındaki genlerde mutasyonlar gözlenmekte ve bunlar kanserleşme ile ilişkilendirilmektedir (11-14).



Çalışmamızda KHDAK tanılı hastaların tümör parafin bloklarından alınan kesitlerde *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *HER2* ve *NRAS* gen mutasyonlarının, sıklıklarının ve korelasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

### Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması

Tıbbi Patoloji AD laboratuvarında 2013-2014 yılları arasında arşivlenmiş olan KHDAK tanılı 68 erkek ve 12 kadın toplam 80 olguya ait parafin bloklar, İnsan Etik Kurulunun 2014/11 no'lu kararı ile kullanılmıştır. Laboratuvarında mevcut olan mikrotom aletinde steril mikrotom bıçakları kullanılmış, 5-10µm kalınlığında ve içeriğinde en az %60 tümör dokusu bulunan 0,5-1 cm<sup>2</sup> alanında 2-5 kesit alınarak 1,5 ml kapasiteli steril mikrotüplere aktarılmıştır. Alınan örnekler Tıbbi Genetik AD laboratuvarına teslim edilmiştir.

### DNA İzolasyonu ve Kalite Kontrolü

Parafin blok kesitlerinden DNA izolasyonu Roche Diagnostics tarafından üretilen ticari izolasyon kiti kullanılarak sağlayıcı firma protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonucu elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflıkları, Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific) cihazında 260/280 dalga boylarında absorbans değerlerinin ölçülmesiyle belirlenmiştir (ng/µl). İzole edilen DNA'ların saflığı 260 ve 280nm'deki absorbanslarının oranı ile kontrol edilerek, 260/280 absorbans oranınının 1,8-2,0 olanlar çalışmaya dahil edilmiştir.

### Gerçek Zamanlı PCR Aşaması

Genetik değişikliklerin bulunduğu bölgelere özgü primer ve probler kullanılarak *in vitro* ortamda değişikliklerin gerçek zamanlı olarak tespit edilebildiği Gerçek Zamanlı PCR tekniği kullanılmıştır. Bu teknik hedef bölgedeki genetik değişikliğin varlığını/yokluğunu veya miktarını hızlı, güvenilir ve hassas bir şekilde dedekte edebilmektedir. Gerçek Zamanlı PCR çalışması, Amoy Diagnostics tarafından üretilen *PIK3CA*, *BRAF*, *NRAS* ve *HER2* mutasyon tespit ticari kitleleri, Roche Diagnostics tarafından üretilen *EGFR* ve *KRAS* mutasyon tespit ticari kitleleri kullanılarak Cobas z 480 (Roche Diagnostics) cihazında gerçekleştiril-

miştir. Ticari kitleler kapsamında araştırılan genetik değişiklikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

### Verilerin Analiz Yöntemleri

PCR esnasında mutasyon bölgelerine ve kontrol bölgelerine spesifik Taqman problemlerinin floresan ışımaları (FAM,HEX/VIC) detekte edilmiştir. PCR sonunda her kuyucuk için bir Ct (cycle threshold) değeri belirlenmiştir. Hastaya ait DNA'nın bulunduğu kuyucuktaki Ct değeri negatif kontrol, pozitif kontrol, standartlar ve eksternal kontroller dikkate alınarak değerlendirilmiştir. ΔCt cut-off değeri olguya ait internal kontrol ile olguya ait hedef mutasyon Ct değerinin mutlak farkı olarak değerlendirilmiştir. Fark belirtilen değerden küçük ise pozitif büyük ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda hastaya ait örnekte mutasyon var veya yok şeklinde bir sonuç elde edilmiştir.

### Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 80 olgunun 68'i erkek ve 12'si kadındır. Olguların 71'i adenokarsinoma alt tipini gösterirken geri kalan 9 olgu diğer KHDAK alt tipini göstermektedir. Olgular çok büyük çoğunluğu 50 yaş ve üzerindedir. Tütün ürünü kullanımı açısından değerlendirildiğinde olguların yaklaşık %94'ü kullanım geçmişine sahip olduğu ve %75'nin ise aktif kullanıcı olduğu gözlenmiştir. Olguları tanımlayıcı özellikler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Olguların %46,2'sinde yani 37 olguda en az bir mutasyon saptanmıştır. Olguların %8,7'sinde yani 7 olguda *EGFR* gen mutasyonu, %28,7'sinde yani 23 olguda *KRAS* gen mutasyonu, %1,2'sinde yani 1 olguda *BRAF* gen mutasyonu, %7,5'inde yani 6 olguda *PIK3CA* gen mutasyonu, %1,2'sinde yani 1 olguda *NRAS* gen mutasyonu tespit edilmiştir. *HER2* geninde mutasyon saptanmamıştır ayrıca 1 olguda *KRAS* ve *PIK3CA* gen mutasyonu birlikteliği gözlenmiştir. Saptanan mutasyonlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

### Tartışma

KHDAK olgularında onkogen sıklıkları toplumdan topluma farklılıklar göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Paez J.G. ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada *EGFR* gen mutasyon oranı %2, Pao W ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise %5 olarak gösterilmiştir (15,16). 2005 yılında Shigematsu

Tablo 1 Çalışma kapsamında araştırılan mutasyonlar.

	Mutasyonlar	Genetik değişiklikler
<b>EGFR</b>	G719X	2156G>C, 2155G>A, 2155G>T
	Ex19Del	2240_2251del12, 2239_2247del9, 2238_2255del18, 2235_2249del15, 2236_2250del15, 2239_2553del15, 2239_2556del18, 2237_2554del18, 2240_2254del15, 2240_2257del18, 2239_2251>C, 2237_2255>T, 2238_2252del15, 2233_2247del15, 2235_2255>AAT, 2237_2252>T, 2239_2258>CA, 2239_2256>CAA, 2237_2253>TTGCT, 2238_2252>GCA, 2238_2248>GC, 2237_2251del15, 2236_2253del18, 2235_2248>AATTC, 2235_2252>AAT, 2235_2251>AATTC, 2253_2276del24, 2237_2257>TCT, 2239_2248TTAAGAGAAG>C
	S768I	2303G>T
	T790M	2369C>T
	Ex20Ins	2307_2308ins9GCCAGCGTG, 2319_2320insCAC, 2310_2311insGGT, 2311_2312ins9GCGTGGACA, 2309_2310AC>CCAGCGTGGAT
	L858R	2573T>G, 2573_2574TG>GT
L861Q	2582T>A	
<b>KRAS</b>	Codon12/13	c.34G>T, c.34G>A, c.34G>C, c.35G>T, c.35G>A, c.35G>C, c.38G>A
	Codon61	c.181C>A, c.181C>G, c.182A>C, c.182A>G, c.182A>T, c.183A>C, c.183A>T
<b>BRAF</b>	V600E1	1799T>A, 1799GT>AA (complex)
	V600E2	1799GT>AG (complex)
	V600K	1799TG>AA (complex)
	V600D1	1799TG>AC (complex)
	V600D2	1799TG>AT (complex)
<b>PIK3CA</b>	H1047R	CAT>CGT
	H1047L	CAT>CTT
	E542K	GAA >AAA
	E545K	GAG> AAG
	E545D	GAG > GAT
<b>HER2</b>	A775_G776insYVMA	2325_2326 ins12 (tacgtgatggct), 2324_2325 ins12 (atacgtgatggc)
	G776>VC	2326_2327 ins3 (tgt)
	P780_Y781insGSP	2339_2340 ins9 (tggtctccc)
	M774_A775insAYVM	2322_2323 ins12 (gcatacgtgatg)
<b>NRAS</b>	Codon12/13	34G>A, 34G>T, 35G>A, 35G>C(1), 35G>C(2), 37G>C, 38G>A, 38G>T
	Codon59	176C>A
	Codon61	181C>A, 182A>G, 182A>T, 183A>C
	Codon117	351 A>C, 351 A>T
	Codon146	436 C>T

Tablo 2 Olgulara ait demografik özellikler.

	Grup	Sayı (Yüzde)
Cinsiyet	Erkek	68/80 (%85)
	Kadın	12/80 (%15)
Yaş	50>	6/80 (%8)
	50-59	18/80 (%23)
	60-69	39/80 (%48)
	>70	17/80 (%21)
Kanser alt tipi	Adenokarsinom	71/80 (%89)
	Diğer	9/80 (%11)
Sigara kullanımı	Kullanıcı	60/80 (%75)
	Bırakmış	15/80 (%19)
	Hiç kullanmamış	5/80 (%6)

Tablo 3 Olgularda tespit edilen gen mutasyonları, sayıları, yüzdeleri ve birliktelikleri.

	Mutasyon	Sayı (Yüzde)	Birliktelik
<b>KRAS</b>	Codon12/13	22/23 (%96)	1 olguda <i>PIK3CA</i> geni H1047L mutasyonu
	Codon61	1/23 (%4)	-
<b>EGFR</b>	L858R	3/7 (%43)	-
	Ex19Del	3/7 (%43)	-
	T790M	1/7 (%14)	-
<b>PIK3CA</b>	H1047L	6/6(%100)	1 olguda <i>KRAS</i> geni Codon12/13 mutasyonu
<b>BRAF</b>	V600E1	1/1(%100)	-
<b>NRAS</b>	Codon12/13	1/1(%100)	-
<b>HER2</b>	-	-	-

H ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda Amerika Birleşik Devletleri'nde %14, Avustralya'da %7 ve diğer batı toplumlarında %8 oranında olduğu tespit edildiği bildirilmiştir (17). 2016 yılında Barlesi F ve arkadaşlarının Fransa'da yaptığı çalışmada %11 oranında tespit edilmiştir (14). Diğer birçok çalışmada da benzer oranlar tespit edilmiş olup batı toplumlarında ise bu oranın genel olarak %2-14 olduğu gözlenmektedir. Diğer taraftan *EGFR* gen mutasyon sıklığı uzak doğulu-

lar da oldukça yüksek oranda gözlenmektedir. Birçok çalışmada %27 ile %42 arasında bir orana sahip olduğu gösterilmiştir. Paez J.G. ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada *EGFR* gen mutasyon oranı Japonlarda %26, Shigematsu H ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları araştırmalarda Japonlarda %27, Tayvanlılarda %34 ve diğer doğu asyalılarda %30 olduğu bildirilmiştir (15,17). Suudi kökenli KHDAK olgularını çalışan Al-Kuraya ve arkadaşları

*EGFR* gen mutasyonlarının oranının %2,9 olarak belirlenmiştir (18). Yapılan az sayıdaki araştırma Arap kökenlilerde *EGFR* gen mutasyon oranının %2-5 oranında olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda incelenmiş olan 80 olgudan yedisinde (7/80) yaklaşık %9 oranında *EGFR* geninde mutasyonu belirlenmiştir. Belirlenen bu oran diğer batı toplumlarındaki oranlara benzerlik göstermektedir. *EGFR* gen mutasyonlarının aksine *KRAS* gen mutasyon oranının Asyalılarda düşük olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Batı toplumlarında %20-40'larda bir sıklıkta görülebilen *KRAS* gen mutasyonları Asyalılarda %10'lar seviyesinde tespit edilmektedir (17,19). Bizim çalışmamızda oran yaklaşık %29'dur ve batılı toplumlara benzerlik göstermektedir.

*NRAS* mutasyonlarıyla ilgili 2013 yılında Kadoaki Ohashi ve çok sayıdaki Amerikalı, Japon, Alman ve İspanyol araştırmacının ortaklaşa yaptıkları bir çalışmada 4562 olgunun 30'unda (%0,7) *NRAS* gen mutasyonu tespit edilmiştir (21). Bu sonuç bizim bulduğumuz oran %1,2 ile benzerdir. *BRAF*, *NRAS*, *HER2* gen mutasyonları yaklaşık olarak %0 ila %5 oranında bildirilmektedir benzer şekilde bizim sonuçlarımız sırasıyla %1,2, %1,2, %0 bu oran içerisindedir (2,14,19). Bulgularımız *PIK3CA* gen mutasyonları hariç batı toplumlarına benzer profile sahip olduğumuzu göstermektedir. KHDAK'de *PIK3CA* mutasyon sıklığının literatürde %1-4 olduğu bildirilmiştir (14,23,24). Çalışmamızda, altı örnekte *PIK3CA* mutasyonu tespit edilmiş ve sıklığı %7,5'tir. Bu mutasyonun oranı literatürde bildirilenlere göre daha yüksektir. Bu durumun hasta seçimine veya popülasyonlar arasındaki farklılıklara bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde *PIK3CA* gen mutasyonları ve sıklığı Ekin-ci S ve arkadaşları tarafından araştırılmış ve *PIK3CA* gen mutasyon sıklığı %7,5 olarak tespit edilmiştir (25). Türkiye'de konuyla ilgili yapılmış ilk çalışma olarak nitelendirdikleri bu çalışmayı bizim çalışmamız aynı oran %7,5 ile desteklemektedir. Yapılacak daha çok çalışma ile desteklenmesi gereken bu sonuçlar ülkemizdeki KHDAK teşhis ve tedavisine *PIK3CA* seçeneğinin eklenebileceğini, hedeflenmiş tedavilerin gelişmesiyle yüksek mortaliteli ve kötü prognozlu bu hastalıkta tedavi başarısının önemli ölçüde artabileceğini düşünmekteyiz. Günümüzde *PIK3CA* gen mutasyonları birçok kanser tipinde gözlenmekte ve özellikle kolorektal kanserlerde tanı ve tedavide önemli yer tutmaktadır ancak kötü prognoz göstergesi olan *PIK3CA* mutasyonuna karşı henüz etkin bir hedefe yönelik te-

davi mevcut değildir. *EGFR*, ALK füzyonları ve *HER2* amplifikasyonların baskılanmasında olduğu gibi etkin bir hedefe yönelik tedavinin *PIK3CA* baskılanmasında da başarılabilmesi birçok kanserde tedavi başarısına önemli katkı sağlayacaktır. Çalışmamızla ortaya koymuş olduğumuz yüksek *PIK3CA* gen mutasyon oranı, hedefe yönelik tedavinin başarılması durumunda ülkemizdeki önemli orandaki KHDAK hastası için umut kaynağı olarak görünmektedir. Bulgularımızın desteklenmesi için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca olguların 43 (%53,7)'ünde araştırılan mutasyonlara rastlanmamıştır. Bu olgulardaki tümör gelişimini tetikleyen moleküler etkenlerin belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### Sonuç

Son yıllarda kanserin moleküler özelliklerinin anlaşılmasına başlaması ile hedefe yönelik tedaviler ön plana çıkmaya başlamıştır. Toplumdan topluma farklı sıklıklarda gözlenebilen moleküler değişikliklerin aynı tedaviye farklı yanıtlar verebiliyor olması tek tip tedavi "One fits all" yerine toplumlara hatta bireylere özgü tedavilerin oluşturulmasını gerekli kılmaktadır. Bu bağlamda her ülkenin daha iyi tedavi bir seçeneği sunabilmesi için kendi datalarını oluşturarak tedavi stratejilerini topluma özgü hale getirilmesi gerekmektedir. Ülkemizde Akciğer kanseri tanı ve tedavisi batı toplumları örnek alınarak düzenlenmektedir. Yapılacak daha çok araştırma ile toplumumuza özgü genetik değişikliklerin belirlenmesi, oranlarının saptanması ve korelasyonlarının ortaya konması klinisyene tedavide yol gösterici olacağı gibi tanıda öncelikleri belirleme noktasında önemli katkı sağlayacaktır.

**Etik kurul kararı:** Adnan Menderes Üni., Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 30.10.2014 tarihli olağan toplantısı 11 no'lu kararı.

**Proje Desteği:** Ege Üni. Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu ve EÜTF Bilimsel Araştırma Projeleri Alt Komisyonu 2015-TIP-051 no'lu projesi.

Çalışma Adnan Menderes Üni. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD, Tıbbi Onkoloji BD, Tıbbi Genetik AD. klinik ve laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma 22-25 Mayıs 2017 tarihleri arasında İstanbul'da düzenlenen VI. Uluslararası Moleküler Tıp Kongresinde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

**Kaynaklar**

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66:7-30.
2. Tuononen K, Mäki-Nevala S, Sarhadi VK, Wirtanen A, Rönty M, Salmenkivi K, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing (NGS) and real-time PCR in the detection of EGFR, KRAS, and BRAF mutations on formalin-fixed, paraffin-embedded tumor material of non-small cell lung carcinoma-superiority of NGS. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52:503–511.
3. Yamamoto H, Toyooka S, Mitsudomi T. Impact of EGFR mutation analysis in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2009;63:315–321.
4. Cheng L, Zhang S, Alexander R, et al. The landscape of EGFR pathways and personalized management of non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.* 2011;7:519–541.
5. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371:2167-2177.
6. Ma BB, Hui EP, Mok TS. Population based differences in treatment outcome following anti-cancer drug therapies. *Lancet Oncol* 2010;11:75-84.
7. Wang L, Wheeler DA. Genomic sequencing for cancer diagnosis and therapy. *Annu Rev Med* 2014 ;65:33-48.
8. Tan DSW, Mok TSK, Rebeck TR. Cancer Genomics: Diversity and Disparity Across Ethnicity and Geography. *J Clin Oncol.* 2016;34:91–101.
9. Lawrence M, Stojanov P, Polak P et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer associated genes. *Nature* 2013; 499(7457): 214–218.
10. Kris M, Johnson B, Berry L et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *J Am Med Assoc* 2014; 311(19): 1998–2006.
11. Costa DB, Kobayashi S, Halmos B, et al. Bim mediates EGFR tyrosine kinase inhibitor induced apoptosis in non-small cell lung cancers and is linked to the resistance conferred by secondary EGFR mutations, T790M and the novel L747S. Abstract number LB-61. AACR 2007 meeting. 2007
12. GJ, Marks J, Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc* 2009;6(2):201–205.
13. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol* 2011;29:3574-3579
14. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet Lond Engl.* 2016;387:1415–26.
15. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-1500
16. Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:13306-13311
17. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:339-346
18. Al-Kuraya K, Siraj AK, Bavi P, et al. High epidermal growth factor receptor amplification rate but low mutation frequency in Middle East lung cancer population. *Hum Pathol* 2006;37:453-7.
19. Dearden S, Stevens J, Wu YL, et al. Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: Meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap) *Ann Oncol.* 2013;24:2371-2376
20. Buttitta F, Barassi F, Fresu G, et al. Mutational analysis of the HER2 gene in lung tumors from Caucasian patients: mutations are mainly present in adenocarcinomas with bronchioloalveolar features. *Int J Cancer* 2006;119:2586-91
21. Ohashi K, Sequist LV, Arcila ME, et al. Characteristics of lung cancers harboring NRAS mutations. *Clin Cancer Res.* 2013;19(9):2584-2591.
22. Samuels Y, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science.* 2004;304(5670):554.
23. Kawano O, Sasaki H, Endo K, et al. PIK3CA mutation status in Japanese lung cancer patients. *Lung Cancer.* 2006;54:209-215
24. Sequist LV, Heist RS, Shaw AT, et al. Implementing multiplexed genotyping of non-small cell lung cancers into routine clinical practice. *Ann Oncol.* 2011;22(12):2616-2624.
25. Ekinci S, Ilgin-Ruhi H, Dogan M, et al. Molecular spectrum of PIK3CA gene mutations in patients with nonsmall-cell lung cancer in Turkey. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2015;19:353-8.



# Nadir Görülen Bir Akut Karın Olgusu: İdiopatik Omental İnfarkt

## A Rare Case of Acute Abdomen: Idiopathic Omental Infarction

- \* Halil İbrahim Taşcı
- \* TC Sağlık Bakanlığı,  
Dr.Ersin Arslan Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi, Genel  
Cerrahi Kliniği

### Öz

Omental infarkt büyük omentumun kan akımında azalma sonucu ortaya çıkan nadir bir durumdur. Çoğunlukla altta yatan başka bir patolojiye ikincil ortaya çıksa da herhangi bir sebebe bağlı olmaksızın da görülebilmektedir. Bilinen herhangi bir ek hastalığı ya da geçirilmiş cerrahi öyküsü olmayan 65 yaşında bayan hasta iki gündür olan ve giderek artan, sağ alt kadranda daha belirgin ağrı şikayeti ile başvurdu. Karın ağrısına eşlik eden bulantı, kusma, iştahsızlık, ateş gibi başka bir şikayeti yoktu. Yapılan tahlil, tetkik ve muayene bulguları neticesinde hasta idiyopatik omental infarkt olarak değerlendirildi. Konservatif olarak takip edilen hasta sorunsuz şekilde taburcu edildi. İdiopatik omental infarkt genelde kendi kendini sınırlayabilen, nadir bir akut karın ağrısı sebebidir. Her ne kadar radyolojik bulguları belirgin olmayan, klinik dışında kötü olanlarda cerrahi müdahale zorunlu olsa da tanıda şüphe olmayan hastalarda konservatif tedavi yöntemleri ile gereksiz cerrahi ve anestezi riskleri önlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Akut karın, konservatif tedavi, omental infarkt.

### Abstract

Omental infarction is a rare condition caused by the decrease in blood flow in the greater omentum. Although it is mostly seen secondarily to another underlying pathology, it can also emerge independent of any other reason. A 65-year-old female patient, who had no known comorbidity or previous history of surgery, presented with complaints of increasing pain for the last two days which was more pronounced in the right lower quadrant. The patient did not have other complaints like nausea, vomiting, lack of appetite, or fever accompanying abdominal pain. The patient was diagnosed with idiopathic omental infarction as shown by the results of tests, studies, and examinations conducted. The patient was treated conservatively and was discharged without any problems. Idiopathic omental infarction is a rare cause of acute abdomen which can generally limit itself. Although surgical intervention is necessary in cases with unspecified radiological results and bad clinical prognoses, unnecessary surgical procedures and anesthetic risks can be prevented by conservative treatment methods in patients with definitive diagnoses.

**Keywords:** Acute abdomen, conservative treatment, omental infarction.

### Yazışma Adresi:

Halil İbrahim Taşcı

TC Sağlık Bakanlığı,  
Dr. Ersin Arslan Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi,  
Genel Cerrahi Kliniği,  
GAZİANTEP

E-mail: okcu1@mynet.com  
Telefon: 0 505 481 04 45

## Giriş

Omental infarkt büyük omentumun kan akımında azalma sonucu ortaya çıkan nadir bir durumdur (1). Çoğunlukla altta yatan başka bir patolojiye ikincil ortaya çıksa da herhangi bir sebebe bağlı olmaksızın da görülebilmektedir. Önceki yıllarda tanısız güçlükler sebebi ile idiopatik omental infarkt her ne kadar nadir görülen bir durum olsa da radyolojik yöntemlerdeki gelişmeler sayesinde tanı konulması kolaylaşmış, böylelikle radyoloji ve genel cerrahi literatüründe daha sık yer alır hale gelmiştir (2,3).

Daha çok sağ tarafı etkilemekte ve akut apandisit, akut kolesistit, divertikülit, renal kolik gibi durumların ayırıcı tanısında yer almaktadır(1). Önceki yıllarda tanı büyük çoğunlukla başka nedenlerle yapılan cerrahi esnasında rastlantısal olarak konulmaktaydı. Günümüzde cerrahi işlem öncesi radyolojik olarak tanısının konulabiliyor olması tedavide ameliyatsız takibi gündeme getirmiştir (4).

Bu çalışma ile radyolojik olarak tanısı konulan, cerrahi müdahaleye gerek kalmaksızın başarılı şekilde tedavi edilen idiopatik omental infarkt olgusu sunulmuş ve literatürün gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

## Olgu

Bilinen herhangi bir ek hastalığı ya da geçirilmiş cerrahi öyküsü olmayan 65 yaşında bayan hasta iki gündür olan ve giderek artan, sağ alt kadranda daha belirgin ağrı şikayeti ile başvurdu. Karın ağrısına eşlik eden bulantı, kusma, iştahsızlık, ateş gibi başka bir şikayeti yoktu. Hastanın vücut kitle indeksi normal sınırlardaydı. Yapılan karın muayenesinde bağırsak sesleri normaldi. Sağ alt kadranda hassasiyet olmasına rağmen rebound, istemsiz defans gibi diğer peritonit bulguları yoktu. Beyaz küre 6700/uL, CRP:3mg/L olarak saptandı.

Ultrasonografide gaz superpozisyonu nedeni ile belirgin bir patoloji saptanamaması üzerine hastaya yapılan bilgisayarlı karın tomografisinde sağ alt kadranda çekum komşuluğunda omentumda yaygın dansite artışı, çizgisel dansiteler içeren, kitle etkisine yol açan lezyon ve bu lezyon komşuluğunda peritoneal serbest sıvı izlendi(Şekil 1a-1d). Yapılan tahlil, tetkik ve muayene bulguları neticesinde hasta idiopatik omental infarkt olarak değerlendirildi. Öncelikle semptomatik

analjezik tedaviyle medikal takibi planlandı. Üç günlük takibi sonrasında şikayetleri düzelen hasta sorunsuz şekilde taburcu edildi. 4 ay boyunca yapılan düzenli kontrolleri esnasında yapılan fizik muayene, görüntüleme ve laboratuvar tetkiklerinde herhangi bir komplikasyona rastlanmadı.

## Tartışma

Omental infarkt akut karın ağrısının nadir görülen; fakat önemli sebeplerinden birisidir. İlk defa 1896 yılında Bush tarafından tanımlanmıştır (5). Akut karın nedeni ile laparotomi yapılan hastaların %0.1'inde omental infarkt saptanmaktadır (6). En sık dördüncü-beşinci dekatta görülmekle beraber her yaş grubundan vakalar olabilmektedir. Erkekleri kadınlara göre daha çok etkilemektedir. Obezite, geçirilmiş travma ve cerrahi öyküsü, beslenme sonrası vasküler konjesyon, karın içi basınçta ani artış, herniler, tümör, kist ya da lokalize inflamatuvar hadiseler, hiperkoagülabilité gibi altta yatan çok sayıda sebebe bağlı olabileceği gibi daha nadiren idiopatik omental infarkt olarak da ortaya çıkabilmektedir (7,8). Sunduğumuz hastanın da omental enfarkta sebep olabilecek herhangi bir ek hastalığı ya da geçirilmiş cerrahi hikayesi yoktu. Bu yüzden primer omental infarkt olarak değerlendirildi. Damar yapısındaki anatomik varyasyonlar, staz veya tromboza sebep olabilecek venöz malformasyonlar, aşırı ağır yemek sonrası ortaya çıkan venöz konjesyona bağlı gelişebileceği gibi teoriler ortaya atılsa da idiopatik omental infarktın sebebi tam olarak bilinmemektedir (9).

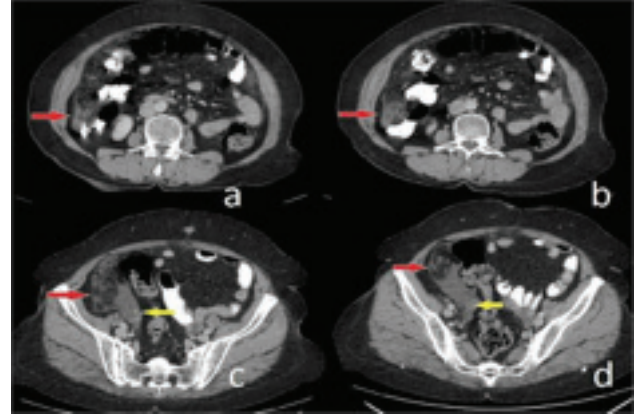
Hastalarda klinik bulgular spesifik değildir. Tutulumun olduğu bölgeye göre şikayetler farklılık gösterebilmektedir. Daha çok sağ alt kadranı etkilediği için akut apandisiti taklit eden semptomları vardır. Hastalar genelde akut ya da subakut başlangıçlı, bulantı-kusma, iştahsızlık ya da ishal gibi gastrointestinal şikayetlerin eşlik etmediği karın ağrısı şikayeti ile başvururlar (1). Ateş genellikle ağrıya eşlik etmez ya da hafif artmış olabilir. Beyaz küre ve C-reaktif protein değerleri normal sınırlarda olabileceği gibi hafif yükselme de saptanabilir (1). Bununla beraber omental infarktın apandisit ya da kolesistit gibi diğer cerrahi patolojilerden klinik olarak ayırt edilmesi zordur (4). Bizim hastamızın da karın ağrısı dışında bulantı-kusma, ateş, iştahsızlık gibi ek bir şikayeti yoktu. Fizik muayenesinde de sağ alt kadranda hassasiyet dışında bir bulgu saptanmadı.

Radyolojik yöntemler hasta için uygun tedavi yöntemini belirlemede önemli rol oynamaktadırlar. Ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi bulguları oldukça tipiktir. Ultrasonografide hiperekoik solid kitle lezyonu şeklinde görülürken bilgisayarlı tomografide ise yoğunluğu yağ dokusuna göre yüksek, heterojen, ovoid, etrafında visseral peritonun oluşturduğu hiperdens halka görünümü olan kitle lezyonu olarak tarif edilmektedir (10). Omental infarkt vakalarının yarısına yakınında bu lezyon komşuluğunda peritoneal serbest sıvı saptanabilmektedir (4). Sunulan olgunun radyolojik tanısında da bilgisayarlı tomografi kullanılmıştır.

Tedavide medikal takip ya da cerrahi seçeneklerini destekleyen iki farklı görüş vardır. Son yıllarda bilgisayarlı tomografi ile omental patolojinin doğru olarak tanınabilmesi konservatif tedaviyi uygulanabilir bir seçenek haline getirmiştir (11). Bu yaklaşımda ilk etapta optimal sıvı yönetimi ile analjezik ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımı önerilmektedir. Konservatif tedavi yöntemini destekleyenlerin genel fikir birliği omental enfarktın kendi kendisini sınırlayan bir patoloji olduğu yönündedir ve bu tezleri de hastalara yapılan uzun dönem tomografi takipleri ile desteklenmektedir (11). Bu şekilde cerrahi müdahale sonucu ortaya çıkabilecek anestezi ve cerrahi riskler de ortadan kaldırılmaktadır. Cerrahi müdahale önerenler ise bu şekilde hastanın şikayetlerinin daha erken kontrol altına alınabileceği ve daha erken taburculuğunun sağlanabileceğini düşünmektedirler. Ayrıca patolojik omentum dokusunun çıkarılmasının, teorik olarak omental infarkta ikincil gelişebilecek apse ihtimalini de düşüreceğini öne sürmektedirler (12). Fakat yapılan bazı çalışmalar göstermiştir ki konservatif olarak takip edilmiş hastaların hiç birisinde ilerleyen dönemde herhangi bir komplikasyonla karşılaşılması (4). Cerrahi müdahale planlanan hastalarda laparoskopik yöntemler hem tanısız hem de tedavi açısından düşük morbidite ile uygulanabilir olmasından dolayı tercih sebebidir (13). Hastamızın klinik seyrinin rahat olması, laboratuvar bulgularının normal sınırlarda seyretmesi, tanıda herhangi bir şüphe olmaması ve ileri yaşı da göz önüne alınarak konservatif takibi uygun görüldü. Sorunsuz şekilde taburcu edilen hastanın takipleri esnasında da herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir.

İdiopatik omental infarkt genelde kendi kendini sınırlayabilen, nadir bir akut karın ağrısı sebebidir. Her ne kadar radyolojik bulguları belirgin olmayan, klinik gidişatı kötü olanlarda cerrahi müdahale zorunlu olsa da tanıda şüphe olmayan hastalarda konservatif te-

davi yöntemleri ile gereksiz cerrahi ve anestezi riskleri önlenmektedir.



**Şekil 1.** Omental enfarktın farklı kesitlerde tomografik görünümü ( kırmızı ok: omentumda yaygın dansite artışı, çizgisel dansiteler içeren, kitle etkisine yol açan lezyonunun görünümü, sarı ok: lezyon komşuluğundaki serbest sıvının görünümü).

### Çıkar Çakışması Beyanı

Yazar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmiştir.

### Finansman

Yazar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadığını beyan etmiştir.

### Kaynaklar

1. Battaglia L, Belli F, Vannelli A, Bonfanti G, Gallino G, Poiasina E et al. Simultaneous idiopathic segmental infarction of the great omentum and acute appendicitis: a rare association. *World J Emerg Surg.* 2008 Oct 29; 3: 30.
2. Park TU, Oh JH, Chang IT, Lee SJ, Kim SE, Kim CW et al. Omental infarction: case series and review of the literature. *J Emerg Med.* 2012 Feb; 42 (2): 149-54.
3. Goti F, Hollmann R, Stieger R, Lange J. Idiopathic segmental infarction of the greater omentum successfully treated by laparoscopy: report of case. *Surg Today.* 2000; 30 (5): 451-3.
4. Soobrah R, Badran M, Smith SG. Conservative management of segmental infarction of the greater

- omentum: a case report and review of literature. *Case Rep Med.* 2010;2010. pii: 765389.
5. Bush P. A case of haemorrhage into the greater omentum. *Lancet.* 1896; 147: 286.
  6. Lardies JM, Abente FC, Napolitano A, Sarotto L, Ferraina P. Primary segmental infarction of the greater omentum: a rare cause of RLQ syndrome: laparoscopic resection. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2001 Feb; 11 (1): 60-2.
  7. Rao A, Remer EM, Phelan M, Hatem SF. Segmental omental infarction. *Emerg Radiol.* 2007 Jul; 14 (3): 195-7.
  8. Sakellaris G, Stathopoulos E, Kafousi M, Arbiros J, Bitsori M, Charissis G. Primary idiopathic segmental infarction of the greater omentum: two cases of acute abdomen in childhood. *J Pediatr Surg.* 2004 Aug; 39 (8): 1264-6.
  9. Puylaert JB. Right-sided segmental infarction of the omentum: clinical, US, and CT findings. *Radiology.* 1992 Oct; 185 (1): 169-72.
  10. Grattan-Smith JD, Blews DE, Brand T. Omental infarction in pediatric patients: sonographic and CT findings. *AJR Am J Roentgenol.* 2002 June; 178 (6): 1537-9.
  11. Barai KP, Knight BC. Diagnosis and management of idiopathic omental infarction: A case report. *Int J Surg Case Rep.* 2011; 2 (6): 138- 40.
  12. Costi R, Cecchini S, Randone B, Violi V, Roncoroni L, Sarli L. Laparoscopic diagnosis and treatment of primary torsion of the greater omentum. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2008 Feb; 18 (1): 102-5.
  13. Kavalakat AJ, Varghese CJ. Laparoscopic management of an uncommon cause for right lower quadrant pain: A case report. *Cases J.* 2008 Sep 19; 1 (1): 164.

# Aşırı Doz Siklopentolat Göz Damlasına Bağlı Gelişen Santral Antikolinergik Sendrom

## Central Anticholinergic Syndrome Induced by Overdose Cyclopentolate Eye Drops

- \* Mehmet Barış ÜÇER
- \* Hülya Gökmen SOYSAL
- \* Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD, Kars

### Öz

Siklopentolat hidroklorür %1 damla göz kliniklerinde çok sık kullanılan topikal midriyatik ve sikloplejik bir ilaçtır. Bu olguda sekiz yaşındaki hastaya yanlışlıkla toplamda 16 damla siklopentolat hidroklorür %1 döküldükten sonra gelişen santral antikolinergik sendrom sunulmuştur. Dizatri, ataksik yürüyüş, görsel halüsinasyon, ağız şapırdatma, dizoryantasyon ve yüzde kızarıklık gelişen hasta, tıbbi gözetim altında tutulmuş ve tüm bulgular 6 saat içinde kendiliğinden düzelmiştir. Özellikle uygun dozda kullanılmayan siklopentolat göz damlasına bağlı sistemik yan etkiler gelişebileceği için bu hastalar gözlem altında tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Siklopentolat hidroklorür %1, toksisite, aşırı doz

### Abstract

Cyclopentolate hydrochloride %1 is a commonly used drug as a topical mydriatic and cycloplegic agent in ophthalmology clinics. In this report, an eight years old patient was presented who diagnosed as central anticholinergic syndrome after accidental instillation of a total dose of 16 drops cyclopentolate hydrochloride %1. Patient was strickly monitered as for the symptoms of dysarthria, gait ataxia, visual hallucination, mouth sneezing, disorientation and facial redness. All findings were resolved spontaneously within 6 hours. Cyclopentolate eye drops can cause systemic side effects especially if not used at appropriate dose, thus these patients should be observed.

**Keywords:** Cyclopentolate hydrochloride %1, toxicity, overdose

### Yazışma Adresi:

Dr. Öğretim Üyesi  
Mehmet Barış Üçer  
Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Göz Hastalıkları AD, KARS  
Tel: (0 474) 225 11 50  
Fax: 0 474 225 11 96  
email: dr.mbu@hotmail.com

### Giriş

Siklopentolat hidroklorür damla, oftalmolojik muayenede ve tedavide sıklıkla kullanılan sentetik antikolinergik bir ajandır. Asetilkolinle yarışmalı antagonizma yaratarak antimuskarinik etki gösterir. İris sfinkter kasında ve siliyer kasta kolinerjik uyarıyı engelleyerek midriyazise ve sikloplejiye yol açar. Sikloplejik etki, uygulandıktan 30-60 dk sonra başlar ve 24 saat boyunca devam edebilir (1). Çocuklarda sağlıklı bir refraksiyon ve fundus muayenesi ancak farmakolojik olarak siklopleji ve midriyazise sağlandıktan sonra mümkün olmaktadır. Ülkemizde siklopentolatın %1'lik ticari solüsyonu kullanımdadır. Siklopentolatın özellikle yüksek konsantrasyon ve doza bağlı olarak



artan oranda sistemik yan etkilerinin görülebileceği bilinmektedir (2,3).

Bu çalışmada, %1'lik siklopentolat göz damlası uygulaması sonrası santral antikolinergik sendrom gelişen çocuk yaş grubu bir olgu sunulmuştur.

### Olgu

Uzağı net görememe şikayeti nedeniyle ailesi tarafından polikliniğe getirilen 8 yaşındaki kız çocuğunun görme keskinliği her iki gözde 7/10 seviyesindeydi. Gözler primer pozisyonda ortoforik olup refraksiyon muayenesi için hastanın ailesine siklopentolat hidroklorür %1 damla verilerek her iki gözüne 5 dakika aryla üç kez birer damla damlatılması tariflendi. Bir saat sonra hasta çağırıldığında ailesinden, kızlarının garip davrandığı ve her bir göze 8'er damla olmak üzere toplamda 16 damla döktükleri öğrenildi. Hastada dizartri, ataksik yürüyüş, görsel halüsinasyon, ağız şapırdatma ve yer, zaman, kişi oryantasyon bozukluğu tespit edilmesi üzerine acil servise yönlendirildi. Fizik muayenesinde aksiller vücut sıcaklığı 37 °C, nabız 83/dk, arteriyel tansiyon 100/70 mmHg, pulse oksimetre ile oksijen saturasyonu % 97 idi. Pupiller dilate ve ışık refleksi yoktu. Yüzünde kızarıklık olan hastada başka sistemik ve nörolojik fizik muayene bulgusu saptanmadı. Aşırı doz siklopentolata bağlı santral antikolinergik sendrom tanısıyla hasta monitorize edilerek İV serum fizyolojik infüzyonuna başlandı. Acil serviste takibe alınan hastanın yaklaşık 6 saat sonra tüm bulguları düzeldi. Pupilla dilatasyonu üç gün sonra düzeldi.

### Tartışma

Siklopentolat damla göze topikal uygulandığında nazolakrimal kanala ve burun boşluğuna kolaylıkla geçer. Konjonktiva ve nazal mukozadan sistemik olarak iyi emilir. Sistemik emilim aynı zamanda orofarenks, sindirim sistemi ve deri yoluyla da gerçekleşir (4). Sistemik emilime bağlı nadir de olsa yan etkiler gelişebilmektedir. Taşikardi, santral sinir sistemi (SSS) uyarılmasına ya da baskılanmasına bağlı etkiler, dizoryantasyon, vazodilatasyon, hipertermi, ağız kuruluğu, tremor, çocuklarda epileptik nöbet, halüsinasyon, deri döküntüleri ve üriner retansiyon bilinen yan etkilerdir (5).

Asetilkolin ve reseptörleri SSS'de yaygın olarak bulunmaktadır. Kolinerjik sistem hafıza, oryantasyon,

uyku-uyanıklık, farkındalık gibi beyin aktivitelerinde görevlidir. Santral sinir sisteminde özellikle santral kortikal ve subkortikal muskarinik reseptörlerin antagonezasyonu, santral antikolinergik sendroma yol açar. Topikal siklopentolat kullanımına bağlı SSS toksisitesi ilk defa 1962 yılında 8 yaşında bir hastada gelişen ataksi, dizartri ve anlamsız konuşma nedeniyle Simco tarafından tanımlanmıştır (6). Toksikasyon belirtileri damla uygulamasından 20-30 dakika sonra ortaya çıkar ve 4-8 saat devam ederek sekelsiz düzelir (7,8). Bu süre içerisinde hastalarda ataksi, dizartri, dizoryantasyon, halüsinasyon, öfori, nedensiz gülmeler, ajitasyon, artmış motor aktivite, konfüzyon ve deliryum izlenebilir (6,7,9).

Olgumuza topikal siklopentolat uygulaması sonrası dizartri, ataksik yürüyüş, görsel halüsinasyon, ağız şapırdatma ve dizoryantasyon gibi SSS toksisite bulguları gelişmesi üzerine santral antikolinergik sendrom tanısı konuldu. Hasta acil serviste monitorize edilerek takibe alındı.

Santral sinir sistemi toksisitesi gelişiminde güvenli eşik dozu belirlemek zordur. Siklopentolatın yüksek dozlarda ve konsantrasyonlarda toksisite riskini artırdığı gösterilmiştir (2,3,10). Hatta daha düşük konsantrasyonlarda ve dozlarda dahi çocuklarda deliryum tablosu geliştiği bildirilmiştir (11). Bagheri ve ark. ise yaşları 3,5 ile 20 arasında değişen 96 hasta üzerinde 1 doz %1'lik siklopentolat uygulamasının refraksiyon muayenesi için yeterli etki gösterdiğini ve 2 ya da 3 doz uygulamaya göre daha az yan etkisi olduğunu bildirmişlerdir (12).

Siklopentolata bağlı SSS toksisitesi her yaş grubunda görülebilmekle beraber (2,3,7,12,13), Mirshahi ve ark. yaptıkları literatür taraması sonucu nörolojik hastalığı olanlarda toksisite eğiliminin daha yüksek olduğuna dikkat çekmişlerdir (13).

Poliklinik şartları ne kadar yoğun olsa da hasta ve yakınları mutlaka ilaç yan etkileri hakkında bilgilendirilmeli, topikal uygulanan ilacın sistemik emilimini azaltmak için punktuallara bir süre bası yapılması anlatılmalıdır. Olgumuzda olduğu gibi damla uygulaması hasta ve yakınlarına bırakılmamalı bizzat profesyonel sağlık çalışanları tarafından yapılmalıdır. Topikal medikasyon mümkün olan en düşük konsantrasyonda ve dozda uygulanmalıdır.

Sonuç olarak sikloplejik ilaçlar yaygın olarak kullanılır.

sa da nadiren sistemik yan etkiler gelişebilmektedir. Özellikle yüksek dozlarda ve konsantrasyonlarda yan etki görülme ihtimali artmaktadır. Sağlık çalışanları olarak bu yan etkiler unutulmamalı ve uygulama sırasında hastalar gözlem altında tutulmalıdır.

caused by topical cyclopentolate use for cycloplegic refraction before refractive surgery: case report and review of the literature. *J Cataract Refract Surg.* 2003 ;29(5):1026-1030.

### Kaynaklar

1. Lovasik JV. Pharmacokinetics of topically applied cyclopentolate HCl and tropicamide. *Am J Optom Physiol Opt* 1986; 63:787–803
2. Awan KJ. Adverse systemic reactions of topical cyclopentolate hydrochloride. *Ann Ophthalmol* 1976; 8: 695-698.
3. Huismans H. Intoxikationspsychose nach Cyclopentolat-HCl (Zyklolat). *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1979; 175: 100-102.
4. Haaga M, Kaila T, Salminen L, Ylitalo P. Systemic and ocular absorption and antagonist activity of topically applied cyclopentolate in man. *Pharmacol Toxicol.* 1998 ;82(1):19-22.
5. Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York, NY, Pergamon Press, 1990
6. Simcoe CW. Cyclopentolate (Cyclogyl) toxicity. Report of a case. *Arch Ophthalmol.* 1962; 67:406-408
7. Baysal Z, Cengiz M, Oğuz H, Ganidağlı S. Central Anticholinergic Syndrome Induced by Cyclopentolate Eye Drops in A 4 Year Old Child. *The Internet Journal of Emergency and Intensive Care Medicine* 2006;9(1).
8. Bhatia SS, Vidyashankar C, Sharma RK, Dubey AK. Systemic toxicity with cyclopentolate eye drops. *Indian Pediatr* 2000;37:329-331.
9. Ağın H, Gerçek H, Kutlu A, Gülez N, Atlıhan F. Topikal siklopentolat kullanımına bağlı gelişen deliryum tablosu: Bir vaka takdimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2008; 51: 39-42
10. BinkhorstRD, WeinsteinGW, BaretzRM, Clahane-AC. Psychotic reaction induced by cyclopentolate (cyclogyl); results of a pilot study and a double-blind study. *Am J Ophthalmol* 1963; 55:1243–1245
11. Khurana AK, Ahluwalia BK, Rajan C, Vohra AK. Acute psychosis associated with topical cyclopentolate hydrochloride. *Am J Ophthalmol.* 1988; 15:105(1):91
12. Bagheri A, Givrad S, Yazdani S, Reza Mohebbi M. Optimal dosage of cyclopentolate 1% for complete cycloplegia: a randomized clinical trial. *Eur J Ophthalmol.* 2007 ;17(3):294-300.
13. Mirshahi A, Kohnen T. Acute psychotic reaction

# Geriatric Hastalarda Nöroonkolojik Sorunlar (Geriatric Nöroonkoloji)

## Neurooncological Problems in Geriatric Patients (Geriatric Neurooncology)

### Öz

\* Nilgün ŞENOL  
\* Hakan Murat GÖKSEL

\* Süleyman Demirel  
Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Beyin ve Sinir Cerrahi  
Anabilim Dalı, Isparta

Dünya popülasyonu giderek yaşlanmakta ve bununla orantılı olarak bu yaş grubunda görülen hastalıkların insidans ve prevalansı artmaktadır. Özellikle bu yaş grubunda görülen nöroonkolojik hastalıklar kanser metastazları ve glioblastomdur. Eşlik eden başka hastalıkların olması, kullanılan ilaçların yan etkileri ve uygulanan tedavi yöntemlerine bağlı gelişebilen komplikasyonlar, bu grup hastalarda tedavi planlamasını zorlaştırmakta, morbidite/mortalite oranlarının artmasına neden olmaktadır. Hastalarda yaşam kalitesini ve fonksiyonel bütünlüğü bozmadan en uygun tedavinin seçilebilmesi için önceden var olan ve sonradan eklenebilecek sorunların multidisipliner olarak değerlendirilmesi önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Nöroonkoloji, geriatri

### Abstract

World human population is getting older and according to this, the incidence-prevalance of the diseases in this age group is increasing. Neurooncological diseases, especially seen in this age group are metastasis and glioblastoma. Comorbidities, therapy-related side effects and complications of the treatment modalities make the management difficult, and also increase the ratio of morbidity/ mortality. It is important to evaluate the problems in multidisciplinary process, to choose the best treatment modality without effecting the quality of life and functional independence

**Keywords:** Neurooncology, geriatrics

### Giriş

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2015 yılına ait verilerinde son yıllarda yaşlı popülasyon oranında belirgin bir artış olduğu ve bunun önümüzdeki yıllarda artmaya devam edeceği bildirilmektedir (1). Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) verilerine bakıldığında, 65 yaş üstü nüfusun tüm nüfusa oranı 1990 yılında %4,3 iken, 2010 yılında bu oranın %7,2' ye yükseldiği görülmektedir. Bu artış, dünyadaki artışa paraleldir (2).

The American Medicare System kronolojik yaşı 65 ve üzeri, The Japanese Welfare Sistem ise 70 yaş ve üzeri bireyleri yaşlı olarak kabul etmektedir (3).

#### Yazışma Adresi:

Nilgün ŞENOL  
Süleyman Demirel  
Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Beyin ve Sinir Cerrahisi A.D.  
32260  
Isparta, TÜRKİYE

Tel: +90.246.211-9298  
Fax: +90.246.2371758  
e-mail: drnilgunesenol@yahoo.com

Dünya genelinde yaşlı popülasyonun artması “gümüş tsunami” olarak adlandırılmaktadır. Bu durum yaş ile ilişkili hastalıkların insidans ve prevalansında artmaya neden olacağından oldukça önemlidir (4). Yaşlanma; bir bio-psiko-sosyal süreçtir. Bu süreçte; oksidatif hasar, vasküler endotel disfonksiyonu, inflamatuvar yanıt olmakta ve bunun sonucunda beyin kan akımı azalmaktadır. Ayrıca, nöronlarda lipofuksin birikimi, gliosis, nöronal dejenerasyon sonucunda beyin hacminde azalma meydana gelmektedir (5).

Bu yaş grubunda görülebilecek nöroonkolojik sorunlar, primer beyin tümörlerinden veya sistemik malignitelerden (metastazlar) kaynaklanabilmektedir. Beyin metastazları kanserlerin en sık görülen komplikasyonlarından. Beyine metastaz, en sık meme (%44,8) ve akciğer (%14,3) kanserlerinde görülmektedir. Yaşam süresinin artması ile birlikte beyin metastazlarında da artış görülmektedir (6).

Yaşın ilerlemesi ile en sık görülen primer malign beyin tümörleri glioblastomlardır (7). Astroitik gliomalar arasında, malignite derecelerine göre, histolojik subtiplerin moleküler özellikleri ve yaşam sürelerinde, yaşa bağlı bir farklılaşma vardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde glioblastom insidansı 65-74 yaş arası 3,2/100 000 iken, 75-84 yaş arası 13,2/100 000'dir (8). Bu konuda en kapsamlı ve güvenilir veriler “Central Brain Tumor Registry of the United States” tarafından sağlanmış ve 2011 yılında Weller ve ark. tarafından yayınlanmıştır (7).

Bu yaş grubunda görülebilen olası nöroonkolojik sorunları 4 başlık altında toplayabiliriz.

### 1. Hastalık İlişkili Belirtiler (Semptomlar)

Intrakranyal basınç artışı ile ilişkili semptomlar (baş ağrısı, bulantı, kusma), nöbet, nörokognitif bozukluklar, nörolojik defisitler gibi bulgular hastalığa bağlı ortaya çıkan genel sorunlardır.

Bu grup hastalarda görülen nörokognitif ve ruhsal bozukluklar, nöbetler, tromboembolik komplikasyonlar, komorbiditenin artmasına, yaşam kalitesinin bozulmasına, mortalitenin artmasına neden olmaktadır (9). Özellikle gliomalarla ilişkili olarak tümör biyolojisi ve moleküler faktörler de son dönemde prognoza etkileri nedeni ile önem kazanmıştır. Tp53 mutasyonu, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR), 1p kromozom kaybı yaş bağımlı prognostik faktörlerdir (10).

70 yaş ve üzerinde Tp53 değişiklikleri yaşam süresinin kısalması ile ilişkilidir (11). Bunların yanısıra klinik pratiğinde kullanılan iki prognostik biyomarker bulunmaktadır; metilguanin metiltransferaz (MGMT) ve izositrat dehidrogenaz (IDH) enzimleri. Glioblastom (GBM) hastalarının % 15'inde telomer (ALT) mekanizmalarında uzama olduğu düşünülmektedir. Bu duruma sıklıkla IDH-1 mutasyonları eşlik etmektedir ve daha uzun yaşam süresi ile ilişkilidir (12). Son dönem çalışmalarda IDH 1/2 mutasyonlarının sekonder GBM ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (13). MGMT promoter metilasyonunun aksine IDH 1/2 mutasyonları yaş bağımlıdır ve GBM hastalarında çok nadir (<%2) ortaya çıkmaktadır (14). Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu ile Kanada Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (EORTC/NCIC) çalışmasında, MGMT promoter metilasyonu, GBM hastalarında major prognostik faktör olarak öne sürülmüştür (15).

### 2. Primer Tedavi İlişkili Komplikasyonlar, Tedavi Yan Etkileri:

Literatürde, ilaçlara bağlı toksisite, %40-56 oranında bildirilmektedir (16).

Kortikosteroidler; semptomatik peritümöral ödemi azaltmakta ve hastanın bununla ilişkili olabilen intrakranyal hipertansiyona bağlı oluşan baş ağrısı, bulantı şikayetlerini azaltmaktadır. Ancak, bu yaş grubunda osteoporoz, kas atrofisi, lenfopeni, bununla ilişkili pnömositozis gibi ilaç yan etkileri daha belirgin olabilmektedir (17). Bu nedenle steroid tedavisinin sadece semptomatik hastalarda olası en düşük dozda ve en kısa süre ile verilmesi önerilmektedir. Bu süreçte olası zararlı etkilerin riskini azaltmak için profilaktik ölçümler (potasyum, kalsiyum) ve tedaviler (vitamin D desteği, bifosfat tedavisi, gastrointestinal ülser profilaksisi (gastrik asit inhibitörü), trimetoprim-sulfometaksazol (pnömosistis karini pnömonisinden korunmak için) yapılmalıdır (16).

### Antiepileptikler

Nöbetlere bağlı yaşlılarda düşme ve fraktür riski artmaktadır. Ancak yaşlı hastaların antiepileptiklere daha duyarlı olmaları nedeni ile antikonvülzanlar sadece nöbet geçiren hastalara önerilmektedir (16). İlaç etkileşimlerinden ve yan etkilerinden kaçınmak için özellikle komorbidite durumlarında monoterapi (lamotrigine, levetiracetam...gibi) tercih edilmelidir (18). Düşük dozlar ve daha uzun titrasyon süresi önerilmektedir (19).

**Cerrahi**

İntraoperatif bazı faktörler (operasyon süresi, anestezi süresi, kan transfüzyon miktarı, cerrahi yaklaşım şekli...) yaşlı hastalarda daha fazla sistemik ve enfeksiyöz komplikasyonların gelişmesine neden olabilmektedir. Literatürde cerrahinin etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışma vardır. Bunlardan birçoğu cerrahinin sistemik komplikasyon ve mortalite insidansını arttırdığı yönünde görüş bildirmektedir (20- 23). Ancak Johans ve arkadaşları,  $\geq 65$  yaş, 286 GBM hastasını kapsayan çalışmalarında yaşın tek başına cerrahiye engel olmadığını ve komorbiditelerin asıl belirleyici faktörler olduğunu öne sürmüşlerdir (24).

Tedavi planlaması yapılırken önceleri, cerrahi girişimin postoperatif nörolojik komplikasyon oranını yükselttiği yönünde bir düşünce hakimdi. Bu nedenle biyopsi ile patolojik tanı konulmakta ve daha palyatif yaklaşım tercih edilmekteydi (25). Ancak son dönemde yapılan bazı retrospektif çalışmalarda yaşlı hastaların, cerrahi ilişkili morbidite artmadan agresif cerrahiye tolere edebildiği yönünde görüş bildirilmektedir. Yine aynı çalışmalarda geniş tümör rezeksiyonunun biyopsiye göre yaşam süresine olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir (26). Cerrahiye bağlı görülebilecek komplikasyonlar; sistemik (derin ven trombozu, pulmoner emboli, ilaç yan etkilerinin artması, sistemik enfeksiyon, miyokard enfarktüsü), bölgesel (intrakranyal kanama, menenjit, hidrosefali, beyin omurilik sıvısı fistülü, nöbetler) ve nörolojik (yeni nörolojik defisit gelişimi) komplikasyonlar olarak gruplandırılabilir (27).

**Radyoterapi (RT)**

Genç hastalarda cerrahi sonrası RT standart tedavi olarak veriliyorken, yaşlı hastalarda yaş ile birlikte RT'e bağlı nörotoksik etkilerin artması nedeni ile net bir standart tedavi şeması yoktur. Bu yaş grubundaki hastalar önceden var olabilen vasküler değişiklikler ve diyabet olasılığına bağlı, radyasyon ilişkili atrofi ve demans gelişimine daha yatkındırlar (28).  $\leq 70$  yaş uygulanan klasik RT dozu 30 fraksiyonda 60 Gy'dir (29). Roa ve ark.  $\geq 60$  y, Karnofsky Performans Skalası (KPS)  $\geq 50\%$  olan hastalarda yaptıkları prospektif, randomize klinik çalışmada, kısaltılmış RT süresinin (3 haftada, 15 fraksiyone, 40 Gy) daha az etkili olmadığını, standart RT grubu ile karşılaştırıldığında hipofraksiyone RT grubunda yaşam süresinin belirgin olarak daha iyi olduğunu göstermişlerdir (30).

**Kemoterapi (KT)**

Nörolojik ve fonksiyonel durumu bozuk olan hastalarda oral kullanılabilmesi ve toksisitesinin daha az olması nedeni ile KT tedavisi iyi bir alternatiftir (16). Ancak immunsupresyon ve enfeksiyona yatkınlık yaratılabilmesi açısından dikkatli olunmalıdır. Kemoterapotik ajanlar arasında temozolamid (TMZ) daha iyi tolere edilebilmesi nedeniyle önerilmektedir. Literatür incelendiğinde bu ilaca bağlı hematolojik toksisite, kutanöz reaksiyonlar ve hepatik toksisite gibi yan etkiler bildirilmiştir (31).

Glioblastom tedavisinde kullanılan antianjiojenik ajanlardan, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) antikoru bevacizumabın (BEV) etkileri de bu yaş grubunda araştırılmaktadır. Yeni tanı almış glioblastom hastalarında BEV ve TMZ'nin etkilerinin çalışıldığı faz II çalışmasının, Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) toplantısında (2013 Haziran) sunulan erken sonuçları, BEV ve TMZ birlikteliğinin, sadece TMZ tedavisine göre ek bir faydasının olmadığı yönünde olmuştur (32). Kono ve arkadaşlarının yaptığı bir başka faz I çalışmada TMZ ve BEV birlikte kullanılabileceği bildirilmiş, ancak karaciğer yetmezliği, proteinüri (grade 3) gibi yan etkilerin olabileceği vurgulanmıştır (33).

Literatürde RT ve KT tedavilerinin etkinliğini karşılaştıran birçok çalışma bulunmaktadır. "İskandinav Ükeleri Klinik Beyin Tümörleri Çalışma Grubu"nun yaptığı iki büyük randomize faz III çalışmasında, tek ajan TMZ (200 mg/m<sup>2</sup>) ile 2 farklı radyoterapi programı karşılaştırılmıştır (standart ve hipofraksiyone RT). 60 yaş ve üzeri 342 glioblastom hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Survey açısından 3 grupta da anlamlı bir fark gözlenmezken, sonuçların daha iyi olması nedeni ile TMZ ve hipofraksiyone RT standart tedavi seçenekleri olarak önerilmiştir. Yine aynı çalışmada MGMT promoter metile tümörlü hastalarda TMZ ile daha uzun yaşam süresinin olduğu belirtilmiştir, RT'nin yaşam süresine anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ancak bu durumda hala net olarak açıklığa kavuşmuş değildir (34).

"Alman Nöroonkoloji Çalışma Grubu"nun yaptığı faz III çalışmaya 65 yaş ve üzeri 373 anaplastik astrositom veya glioblastomlu hasta dahil edilerek, hastalara TMZ veya standart RT (60 Gy, 30 fraksiyon) verilmiştir. MGMT promoter metilasyonlu hastalarda KT yanıtının daha olumlu olduğu bildirilmiştir (35).



Minniti ve arkadaşlarının yaptığı faz II çalışmada RT ile eş zamanlı ve adjuvant olarak verilen TMZ sonuçları karşılaştırılmıştır. TMZ adjuvant olarak verildiğinde hastaların bir kısmında grade 4 trombositopeni ve lenfositopeni gibi hematolojik toksisite geliştiği gösterilmiştir (36).

### 3. Komorbiditeler

Yaşın ileri olması kişinin hastalıklarla ve diğer streslerle baş edebilme kapasitesini ya da immün direncini azaltmaktadır. Buna bağlı olarak cerrahi tedavi başta olmak üzere uygulanan tedavilerin morbidite / mortalite oranları artabilmektedir.

Bu yaş grubunda eşlik eden hastalıklar; akciğer fonksiyonlarında bozulma, tip 2 diyabet, hipertansiyon / hipotansiyon, hiperlipidemi, son dönem böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği, serebrovasküler hastalıklar, demans, koroner arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, kanama diyatezi, otoimmün hastalıklar olarak sayılabilir.

Yaşlılarda mobilitenin azalması da başka bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Mobilizasyonun azalması derin ven trombozu gelişmesi ve tromboembolik olaylar açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu durumdan korunmak için aktif-pasif mobilizasyon, kompresyon çorapları veya düşük moleküler ağırlıklı heparin kullanılmaktadır (37).

Depresyon ve anksiyete gibi affektif bozukluklar bu yaş grubunda mutlaka araştırılmalı, gerekli durumlarda düşük dozlarda metilfenidat gibi psikostimülan verilmelidir (38).

### 4. Yaşam kalitesi

Genel olarak bakıldığında hastanın düşkün olup olmaması yaşam kalitesini etkilemektedir. Düşkünlüğü, bir çok defisit birikimi şeklinde tanımlayabiliriz. Hastanın düşkün olması, hastanede kalış süresini uzatıp, komplikasyon gelişimine neden olup, yaşam süresini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (39).

Geriatristler, yaşlı hastaların fonksiyonel ve genel sağlık durumunu değerlendirmek için "Kapsamlı Geriatrik Değerlendirme" adı altında interdisipliner bir değerlendirme geliştirmişlerdir. Bu değerlendirmede amaç yaşa bağlı sorunları ortaya koyabilmek, en uy-

gun tedavi şemasını belirleyebilmektir (40,41). Bu değerlendirmelerde farklı skalalar kullanılmaktadır. Günlük aktiviteleri değerlendiren skalalar; KPS, G8 anketi, IADL ve komorbiditelerin değerlendirildiği Charlson komorbidite indeksi gibi.

### Sonuç

Yaşlı kanser hastaları arasında, her ne kadar kronolojik yaşlar aynı olsa da, fiziksel ve fizyolojik fonksiyonlar açısından geniş bir heterojenite söz konusudur ve tedavi planlanırken var olan ve oluşabilecek yeni nörolojik bozukluklar iyi değerlendirilmelidir. Tedavi şeması konusunda net bir veri olmasa da tümörün özellikleri ve komorbiditeler dikkate alınarak geniş cerrahi rezeksiyon hasta için daha avantajlı olabilmektedir. Bunun yanısıra, özellikle MGMT promotör metilasyonu olan hastalarda KT tercih edilebilir. Tedavide amaç, küratif olmaktan çok, hastanın hayat kalitesini ve fonksiyonel bağımsızlığı korumak olmalıdır.

### Kaynaklar

1. Aboderin IA, Beard JR. Older people's health in sub-Saharan Africa. *Lancet*. 2015; Feb 14;385 (9968):e9-11
2. (<http://www.tuik.gov.tr>;08.07.2010) Sağlık Bakanlığı 2010 yılı istatistikleri- Sağlık Bakanlığı Yayınları, 2010;Ankara
3. Morioka T, Miyazaki H, Tsuruta K. Problems in neurosurgical operations on elderly patients-from the viewpoint of Anesthesiology. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1980;20:713-720
4. Delafuente JC. The silver tsunami is coming: Will pharmacy be swept away with the tide? *Am J Pharm Educ* 2009;73:1
5. Janelins MC, Kohli S, Mohile SG, Usuki K, Ahles TA, Morrow GR. An update on cancer and chemotherapy related cognitive dysfunction:current status. *Semin Oncol* 2011;38(3):431-438
6. Loh D, Hogg F, Edwards P, MacColl J, Brogna C, Bhangoo R. Two year experience of multi-disciplinary team (MDT) outcomes for brain metastases in a tertiary neuro-oncology centre. *British J of Neurosurgery*, 2017; <https://doi.org/10.1080/02688697.2017.1368449>
7. Weller M, Platten M, Roth P, Wick W. Geriatric neuro-oncology: from mythology to biology. *Neurology* 2011;24:599-604
8. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous

- system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro-Oncol.* 2012;14 (5):v1-v49
9. Pruitt AA. Medical management of patients with brain tumors. *Curr Treat Options Neurol* 2011;13:413-426.
10. Chargari C, Feuvret L, Bauduceau O, et al. Treatment of elderly patients with glioblastoma: From clinical evidence to molecular highlights. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(8):988-995
11. Batchelor TT, Betensky RA, Esposito JM, et al. Age-dependent prognostic effects of genetic alterations in glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10(1 Pt 1):228-233
12. McDonald KL, McDonnell J, Muntoni A, et al. Presence of alternative lengthening of telomeres mechanism in patients with glioblastoma identifies a less aggressive tumor type with longer survival. *J Neuro-pathol Exp Neurol.* 2010;69(7):729-736
13. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2013;19(4):764-772
14. Bauchet L, Zouaoui S, Darlix A, Champfleury NM, Ferreira E, Fabbro M, Kerr C, Taillandier L. Assessment and treatment relevance in elderly glioblastoma patients. *Neuro-Oncology* 2014;16 (11):1459-1468
15. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, et al. MGMT Gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):997- 1003
16. Perez-Larraya JG, Delattre JY. Management of elderly patients with gliomas. *The Oncologist* 2014;19:1258-1267
17. Drappatz J, Schiff D, Kesari S, et al. Medical management of brain tumor patients. *Neurol Clin* 2007;25:1035-1071
18. Arif H, Buchsbaum R, Pierro J et al. Comparative effectiveness of 10 antiepileptic drugs in older adults with epilepsy. *Arch Neurol* 2010;67:408-415
19. Waterhouse E, Towne A. Seizures in the elderly: Nuances in presentation and treatment. *Cleve Clin J Med* 2005;72(suppl 3):S26-S37
20. Oh T, Safaee M, Sun MZ, Garcia RM, Mc Dermott MW, Parsa AT, et al. Surgical risk factors for post-operative pneumonia following meningioma resection. *Clin Neurol Neurosurg* 2014;118:76-79.
21. Khaldi A, Helo N, Schneck MJ, Origitano TC. Venous thromboembolism: deep venous thrombosis and pulmonary embolism in a neurosurgical population. *J neurosurg* 2011;114:40-46
22. Karkouri K, Wijeyesundera DN, Yau TM, Beattie WS, Abdelnaem E, Mc Cluskey SA, et al. The independent association of massive blood loss with mortality in cardiac surgery. *Transfusion* 2004;44:1453-1462.
23. Fujita T, Sakurai K. Multivariate analysis of risk factors for postoperative pneumonia. *Am J Surg* 1995;169:304-307.
24. Johans SJ, Garst JR, Burkett DJ, Grahnke K, Martin B, Ibrahim TF, Anderson DE, Prabhu VC. Identification of preoperative and intraoperative risk factors for complications in the elderly undergoing elective craniotomy. *World Neurosurgery* 2017;107:216-225
25. Laigle-Donadey F, Sanson M. Pattern of care of high-grade gliomas. *Rev Prat* 2006;56:1779-1786
26. Chaichana KL, Garzon Muvdi T, Parker S et al. Supratentorial glioblastoma multiforme: the role of surgical resection versus biopsy among older patients. *Ann Surg Oncol* 2011;18:239-245
27. D'Amico RS, Cloney MB, Sonabend AM, Zacharia B, Nazarian MN, Iwamoto FM, Sisti MB, Bruce JN, McKhann GM. The safety of surgery in elderly patients with primary and recurrent glioblastoma. *World Neurosurgery* 2015;84(4):913- 919
28. Crossen JR, Garwood D, Glatstein E, Neuwelt EA. Neurobehavioral sequelae of cranial irradiation in adults: a review of radiation-induced encephalopathy. *J Clin Oncol* 1994;12:627-42
29. Stupp R, Mason WP, van den Bert MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):987-996
30. Roa W, Brasher PM, Bauman G, et al. Abbreviated course of radiation therapy in older patients with glioblastoma multiforme: a prospective randomized clinical trial. *J Clin Oncol.* 2004;22(9):1583-1588
31. Perez-Larraya, Ducray F, Chinot O, Thomas IC, Taillandier L, Guillo JM et al. Temozolomide in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma and poor performance status: an ANOCEF phase II trial. *Journal of Clinical Oncology* 2011;29 (22):3050-3055
32. Holdhoff M, Chamberlain MC. Controversies in the treatment of elderly patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013;11(9):1165-1173
33. Kono M, Arakawa Y, Mineharu Y, Ohka F, Kinoshita M, Nakae S, Miyashita K, Luchi T, Hirose Y, Natsume A. et al. P09.50 Phase I trial of temozolomide plus bevacizumab for newly diagnosed high-grade gliomas in the elderly: Interim report. *Neuro-Oncology* 2017;19(3):81
34. Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomized, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13 (9):916-926
35. Wick W, Platten M, Meisner C, et al. Temozolomi-

de chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(7):707-715

36. Minniti G, Lanzetta G, Scaringi C, Caporello P, Salvati M, Arcella A, et al. Phase II study of short-course radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide in elderly patients with glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;83(1):93-9.

37. Perez-Larraya JG, Delattre JY. Treating glioblastoma in the elderly. *CNS Oncol* 2012;1:193-201

38. Gehring K, Patwardhan SY, Collins R et al. A randomized trial on the efficacy of methylphenidate and modafinil for improving cognitive functioning and symptoms in patients with primary brain tumor. *J Neurooncol* 2012;107:165-174

39. Cloney M, D'Amico R, Lebovic J, Nazarian M, Zacharia BE, Sisti MB, Bruce JN, McKhann GM, Iwamoto FM, Sonabend AM. Frailty in geriatric glioblastoma patients: a predictor of operative morbidity and outcome. *World Neurosurgery* 2016;89:362-367

40. Decoster L, Van Puyvelde K, Mohile S, Wedding U, Basso U, Colloca G et al. Screening tools for multidimensional health problems warranting a geriatric assessment in older cancer patients: an update on SIOG recommendations. *Ann Oncol* 2015;26(2):288-300

41. Pallis AG, Fortpied C, Wedding U, et al. EORTC elderly task force position paper: Approach to the older cancer patient. *Eur J Cancer* 2010;46 (9):1502-1513

# Lens Proteinleri ve Fizyolojisi

## Lens Proteins and Physiology

### Öz

\* Mustafa Suat ALIKMA  
\* Sezin Özdoğan ERKUL  
\* Erkan ÜNSAL

\* İstanbul Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi,  
Göz Hastalıkları Kliniği

Vücudumuzda bulunan bazı doku ve organlar dışında genel itibari ile beslenme damar yolu ile olur. Fenestralı kılcal damarlar doku içerisine yayılarak dokunun ihtiyaç duyduğu oksijeni eritrositler, besin maddelerini de kanın serum kısmı ile taşır. Doku ihtiyacı olan metabolitleri aldıktan sonra artıklarını da yine fenestralı kılcal damarlar ve lenf damaları sayesinde geri verir. Lens vücutta kan dolaşımının aktif olarak bulunmadığı ve canlılığını koruyan nadir yapılardan bir tanesidir. Beslenmesini ve artık boşaltımını aköz hümöre bağımlı olarak gerçekleştirir. Lensin metabolizması bu yüzden özelleşmiş bir döngüye sahiptir. Vücuttaki tüm organ ve dokuların temel yapı taşı proteindir. Lens vücutta hacim başına en fazla protein olan dokulardan biridir. İçeriğindeki yüksek protein miktarı lensin ihtiyaç duyduğu yüksek kırıcılık indeksine ve refraktif indeksin oluşmasını sağlar. Aynı zamanda lensin saydamlığının korunmasında da lens proteinleri önemli görevler üstlenir. Bununla birlikte lens hücrelerinin birbiri ile madde alışverişi sağlayabilmesi için de fonksiyonlar görür. Lens hücreleri içerisindeki proteinler ise hücre şeklinin korunmasında görev yaparlar.

**Anahtar Kelimeler:** Lens Proteinleri, Lens Fizyolojisi, Lens Metabolizması

### Abstract

Except for some of the tissues and organs found in our body, nutrition generally takes place via the vein. Fenestral capillary vessels spread through the tissue to touch the needy oxygen erythrocytes, and the nutrients are carried by the blood serum part. Once the tissue has taken up the metabolites it needs, it also restores its debris through its fenestral capillaries and lymph vessels. The lens is a rare tissue of the body that does not have an active blood circulation and protects its vitality. It performs feeding and residual discharge dependent on aqueous humor. The metabolism of the lens thus has a specialized loop. The basic building block of all the organs and tissues in the body is protein. The lens is one of the tissues with the highest protein per volume in the body. The high amount of protein in it provides the refractive index and refractive index required by the lens. At the same time, lens proteins play an important role in preserving the transparency of the lens. However, it also functions to allow the lens cells to exchange materials with each other. The proteins in the lens cells function in protecting the cell shape.

**Keywords:** Lens Proteins, Lens Physiology, Lens Metabolism

### Yazışma Adresi:

Mustafa Suat Alıkma  
Kasap İlyas Mah.,  
Org. Abdurrahman Nafiz Gürman  
Cd., İstanbul Eğitim ve Araştırma  
Hastanesi 7. Kat Göz Kliniği  
34098 Fatih/İstanbul

Telefon : 0532 171 55 71  
e-mail:m.suatalikma@gmail.com

## Giriş

Lenste bulunan majör protein olan kristalin proteini suda eriyen bir proteindir. Lensteki proteinlerin %90'undan fazlasını oluşturur (1). Lensin kırıcılık gücü ile refraktif indeksinin oluşmasında oldukça önemlidir. Aynı zamanda lensin saydamlığına da katkı sağlar. Lenste 3 farklı kristalin proteini tipi mevcuttur. Bunlar  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ - kristalin proteinleridir (Resim 1) (2).  $\alpha$ -kristalin lensteki proteinlerin kütsel olarak yaklaşık 1/3'ünü oluşturur. Vücutta  $\beta$ - ve  $\gamma$ - kristalin proteinin aksine göz dışında da bulunur.  $\alpha$ -kristalin moleküler şaperon proteinleri ailesindedir. Bu yüzden kristalin proteinlerinin optik amaçlar için şaperon proteinlerinden evrimleştiği varsayılır (3). Saydamlığın sağlanmasında bir diğer önemli olay kristalin proteinlerinin yanında lens fibril hücrelerinin gelişimi esnasında hücre organellerinin kaybolmasıdır.

## Lens Proteinleri

İnsan lens hücre içi proteinlerinin büyük kısmını kristalin proteinler oluşturur. Kristalin proteinleri suda çözünebilen hücre içi proteinlerinin ana bileşenini oluşturur. Lens içerisinde bulunan kristalin proteinleri alfa kristalin ve beta-gama kristalin olarak iki ana alt gruba ayrılır (4). Bu ayrım protein monomerlerinin agregat formlarının moleküler ağırlıklarına göre yapılmıştır (5). Alfa kristalin proteinleri total lens proteinlerinin %40'ını oluşturur (6). Alfa kristalin proteinleri Alfa-A ve Alfa-B olarak iki ayrı alfa kristalin alt ünitesi mevcuttur (3). Alfa kristalin proteininin öncelikli fonksiyonu yüksek refraktif indeks oluşturmasıdır. Aynı zamanda bu protein ısı şok proteini benzeri bir özelliğe de sahiptir. Bu özelliği sayesinde denatüre olmuş proteinlere bağlanarak ışık saçılmasına yol açabilen protein agregatlarının oluşmasını engeller (7). Lens saydamlığını alfa kristalin proteinlerinin düzenli dizilimlerine ve denatüre proteinleri kendilerine bağlamalarına borçludur (8).

Beta-gama kristalin proteinleri izo-elektrik ayrışmalarına ve moleküler ağırlıklarına göre iki gruba ayrılır (9). Her iki gruptaki protein karakteristik  $\beta$ -konfigürasyon zincir yapısına sahiptir (10).

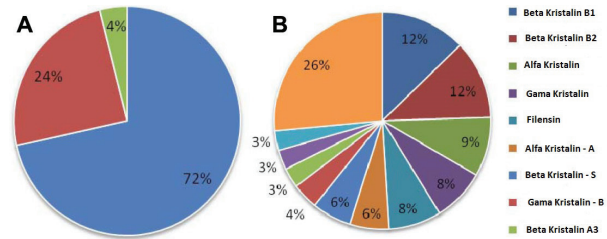
B-kristalin formun molekül ağırlığı 50000- 200000 dalton aralığında değişir ve 22000- 28000 dalton molekül ağırlığına sahip yedi farklı gen tarafından kodlanan yedi farklı alt birimden oluşur. Bu form lens içerisinde diğer proteinler ile kimyasal bağlı şekilde bulunurlar. Proteinler ile bağlı oldukları durumlarda yüksek-dü-

zenli kompleks protein yapısında bulunurlar.  $\gamma$ -kristalin proteinler moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 20000 dalton olan 7 farklı protein alt yapısından oluşurlar.  $\gamma$ - kristalin proteinleri B-kristalin proteinlerinin aksine diğer proteinler ile kompleks yapı oluşturmazlar ve monomer halde lens içerisinde bulunurlar (11).

## Lens Hücre Membran Proteinleri

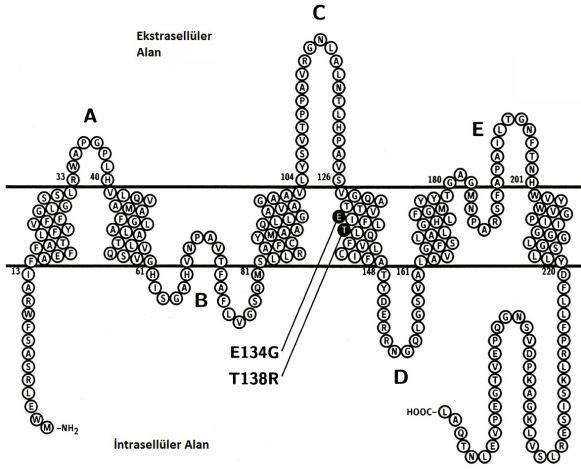
Membranla ilişki olan proteinler lens proteinlerinin yaklaşık %2'sini oluşturur. 10 kDa ile 250 kDa arasında ağırlığa sahiptirler. Bunlardan bir tanesi 135 kDa ağırlığında olan intrinsik membran proteini olan N-kaderin'dir. Bu protein hücre iskeletinin bir parçasıdır ve hücreler arası tutunmada görev yapmaktadırlar (12). Hücre membranına dışarıdan kalsiyum ile tutunan kalpaktin proteinleri ise membran ve hücre iskeleti arasında bağlantı kurmakta ve hücrenin uzamasında görev yapmaktadır (13). Nöral hücre adezyon molekülü 2 (NHAM 2) ise lens liflerine dönüşüm esnasında hücreler arası sıkı tutunma fonksiyonuna yardımcı olmaktadır (14).

Majör intrinsik protein (MIP) hidrofobik yapıda bir proteindir. Diğer adı aquaporin O'dır. Hücre zarında en fazla bulunan proteindir. Su kanalı olarak görev yapan aquaporin sınıfı proteinlere yapısal olarak çok benzemektedir. Aquaporin 1 sınıfı proteinler gibi 6 adet transmembran ünite, 3 adet hücre dışı ünite ve santral kanalın etrafında hücre içerisinde yerleşmiş 2 adet üniteden oluşur (Resim 2) (15, 16). Aquaporin proteinlerinin alt gruplarının mutasyonu konjenital katarakt ile ilişkilidir (16). Aquaporin proteininin T138R gen mutasyonunda birçok noktasal opasiteler gözlenirken, E134G gen mutasyonunda ise daha az sayıda ve lameller görünümlü opasiteler gözlenir (Resim 3 ve 4) (16).

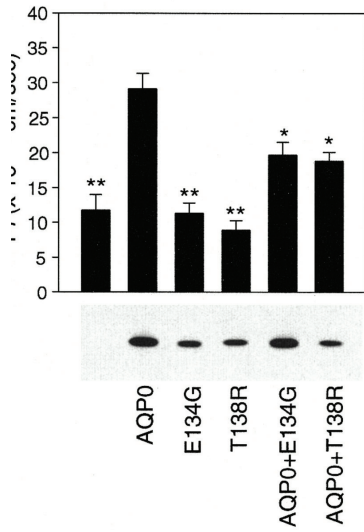


**Resim 1:** (A) Normal (B) Kataraktlı Gözde Lensin Yapısında Bulunan Kristalin Proteinleri Alt Grupları ve Oransal Miktarları (2).

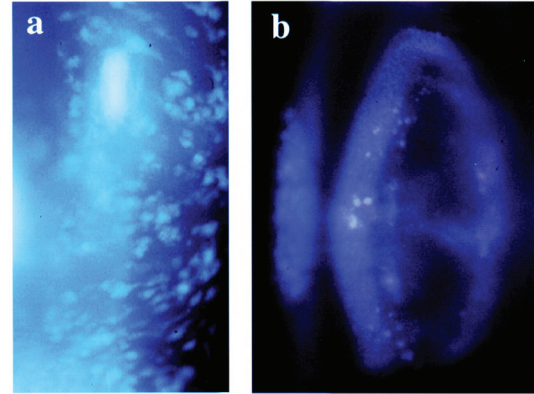




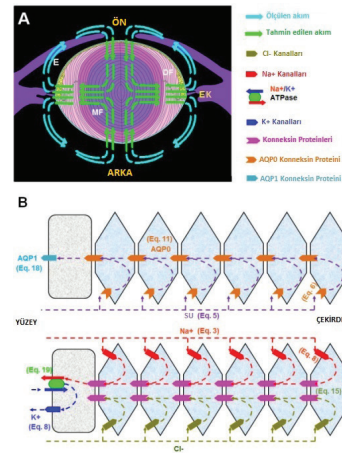
**Resim 2:** Lens hücre membranında Aquaporin Proteini Yapısı ve T138R ile E134G genlerinin kodladığı protein altyapısı alanları (16).



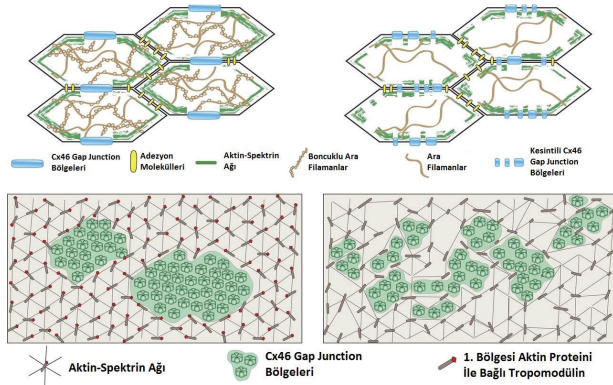
**Resim 4:** a: Afrika pençeli kurbağası oositine AQP0, E134G ve T138R cRNA'ları enjekte edilip 3 günlük inkübasyon süresi sonrasında oositlerde ölçülen osmotik geçirgenlik miktarı. Kontrol grubuna herhangi bir enjeksiyon uygulanmamıştır. Şekildeki AQP0, E134G ve T138R sütunlarında belirtilen oositlere 5 ng işaretlenmiş cRNA'lar enjekte edilmiştir. Şekildeki AQP0 + E134G ve AQP0 + T138R sütunlarında belirtilen oositlere ise 5 ng AQP0 cRNA'sı ve 5'er ng mutant E134G ve T138R cRNA'sı enjekte edilmiştir (16).



**Resim 3:** Biyomikroskopta yarıklı lambanın düşük güçteki beyaz ışığının lensten geçen bir kesitinde aquaporin mutasyonuna bağlı gelişmiş konjenital katarakt izlenmektedir. (A) T138R geni mutasyonlu bir olguda çoklu ve birbirinden ayrı noktasal opasite alanları izlenmektedir. (B) E134G gen mutasyonu olan bir olguda tekli lameller opasite izlenmektedir. Her iki şekilde de opasifikasyon olan alanlar dışındaki bölgeler saydam ve doğal izlenmektedir. (16).



**Resim 5:** A şeklinde lens epitel hücreleri (E), ekvator bölgesi (EK), diferansiyasyon alanı (DF), matürleşmiş fibriller (MF), lensin ön ve arka kısmı (GN, ARKA) gösterilmektedir. Şekilde iyon ve sıvı hareketleri oklar ile gösterilmiştir. Mavi ile gösterilen oklar tespit edilebilen iyon ve sıvı akışları iken yeşil ile gösterilen oklar lens içerisindeki tespit edilemeyen iyon ve sıvı akışını göstermektedir. B şeklinde ise hücreler arası boşlukta iyon ve sıvı akışı gösterilmektedir. İyonlar ve sıvı hücreler arası boşluktan hücre içine girmekte, konneksin proteinleri aracılığıyla hücreler arasında iletildikten sonra lens yüzeyinden hücre dışına atılmaktadır (54).



**Resim 6:** Lens hücresindeki konneksin bölgeleri, adezyon molekülleri, ara filamanlar ile aktin ve spektin ağı izlenmektedir. Soldaki resimde aktin-spektin ağı yapısı ile normal ilişki içerisinde olan konneksin plaklarının yapısı izlenmektedir. Sağdaki resimde tropomodulin eksikliğinde izlenen bozulmuş konneksin plak yapısı izlenmektedir (30).

Gelişimini tamamlamış avasküler lenste, hücreler arası iletişim ve metabolik aktivitede görev yapan sıkı bağlantı bölgeleri (konneksin proteinleri) bulunmaktadır (17, 18). Bu bağlantılar hücreler arası  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Cl}^-$  gibi iyonların geçişini sağlar. Aynı zamanda ikinci haberciler olan cAMP, cGMP ve IP3 ile glikoz ve aminoasit gibi küçük moleküllerin hücreler arasındaki geçişini sağlar. Konneksin proteini 1 (Kp1) ve konneksin proteini 8 (Kp8) epitelyal hücreler tarafından sentezlenir (19). Konneksin proteini 3 (Kp3) ise lens nükleusunda sentezlenir (20, 21).

Lens saydamlığının korunmasında hücre içi iyon ve su dengesi son derece önemlidir. Lens içerisindeki elektrolit ve su dengesinin bozulması lensin yapısal ve makromoleküler içeriği ile son derece ilişkilidir. Lens iyon ve su transport mekanizmaları ile aynı zamanda ışığın retina üzerine düşmesi için gerekli optik kırma gücünün de korunmasını sağlar (22). Yapılan çalışmalarda lens yüzeyine yakın kısımlarda bulunan ve sürekli olarak enerji kullanarak hücre içinden dışına  $\text{Na}^+$  iyonu pompalayan  $\text{Na},\text{K}-\text{ATPase}$  pompa sisteminin varlığı gösterilmiştir. Bu pompa çalıştığı zaman hücre dışına  $\text{Na}^+$  iyonu pompalarken, hücre içerisine de  $\text{K}^+$  iyonu almaktadır. Bu sebeple lens hücrelerinin içinde hücre dışına göre daha az  $\text{Na}^+$  iyonu bulunurken, daha az miktarda  $\text{K}^+$  iyonu bulunmaktadır. Ayrıca hücre dışına  $\text{Na}^+$  iyonu pompalanmasıyla birlikte

suyun  $\text{Na}^+$  iyonunu takip etmesi sayesinde hücre içi su miktarı azalmaktadır (Resim 5) (23, 24). Bu pompanın en fazla lens epitelinde ve yüzeysel kortikal liflerde, en az olarak da santral kısmında aktif olduğu saptanmıştır (25). Bununla birlikte western blot analizlerinde bu pompanın lens santralinde de bol miktarda olduğu gözlenmiştir (26). Domuz lensinin incelendiği bir çalışmada lens periferinde ve santralinde bulunan  $\text{Na},\text{K}-\text{ATPase}$  pompalarının farklı oranlarda tirozin ile fosforile oldukları ve farklı oranlarda aktifleştiği gösterilmiştir (24). Aktif  $\text{Na}^+$  iyon transportunun bozulduğu durumlarda hücre içerisindeki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının arttığı ve lensin şişerek saydamlığını yitirdiği saptanmıştır.

İnsanlarda aköz hümör içerisindeki  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu 1.34 milimolar olarak tespit edilmiştir. Lenste epitelinde hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu ise yaklaşık olarak 100 nanomolardır. Lens lifi hücrelerindeki  $\text{Ca}^{2+}$  miktarı ise epitel hücreleri içerisindeki  $\text{Ca}^{2+}$  miktarına göre oldukça fazladır. Lif hücrelerindeki  $\text{Ca}^{2+}$  miktarı yaklaşık olarak 10 mikromolar seviyesindedir (27). Bu yüksek farklılık hücre zarında bulunan  $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$  pompası ile sağlanmaktadır. Hücre içerisindeki  $\text{Ca}^{2+}$  miktarı hücre membranında bulunan bu pompa sayesinde aköz hümöre oranla çok daha az miktarda tutulmaya çalışılmaktadır.  $\text{Ca}^{2+}$  iyonu hücre içi ikincil habercilerin işlevleri açısından da son derece önemlidir. Bununla birlikte artan hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  oranları lens hücreleri içerisinde glikoliz basamaklarının bozulmasına, protein yıkımına neden olan proteaz enzimi aktivasyonuna, protein yapılarının bozulmasına ve tüm bunların sonucunda lensin saydamlığının kaybolmasına sebep olabilir. Bu hassas denge lensin saydamlığı için son derece önemlidir (28).

### Lens Hücre İskeleti Proteinleri

Lens fibrilli hücreleri organelsiz olmakla birlikte güçlü bir hücre içi iskelet yapısına sahiptir. Bu iskelet sistemi sayesinde şekillerini güçlü bir biçimde muhafaza ederler ve bu durumda lensin saydamlığı için önemlidir. Hücre içi iskeletin kaybolduğu durumlarda da lensin saydamlığı kaybolabilir (29).

Lens hücrelerinde, başka dokularda da bulunan birçok hücre iskeleti proteini tanımlanmıştır. Bunlara örnek olarak  $\alpha$ -aktin, ankrin, miyosin, spektin ve vimentin gösterilebilir (Resim 6) (30). Spektin ve aktin ise ilk olarak eritrosit hücre membranında bulunmuştur (31).  $\alpha$ -tubulin ve  $\beta$ -tubulin içeren mikrotübüller epitel

hücrelerinde az miktarda bulunur. Kortikal liflerde ise miktarları artar. Ancak nükleusda bulunan lif hücrelerine geçişte miktarı azalır (32). Mikrotübüller diğer hücre iskeleti proteinleri ile birlikte lens lifi hücrelerinin gelişmesi esnasında uzaması ve şeklini almasında görev yapmaktadır (33). Bu proteinlerden aktin filamanları hücre membranlarına yakın bulunur (34, 35). Aktin tutunma fonksiyonlarına katkıda bulunur (36, 37). Aktinin akomodasyonda rol oynadığı düşünülmektedir (38, 39).

Vimentin daha çok mezenkimal kökenli hücrelerde bulunur. Ancak lens lifi hücrelerinde ara filaman görevi yapmaktadır (40). Vimentin yapıları ara filamanlar öncelikle ön epitelyal hücrelerde bulunurlar. Lens epitel hücrelerinin hasarlanması durumunda onarım için bu ara filamanın varlığı gereklidir (41). Vimentin fosforillenebilen bir proteindir (42). Vimentinin fosforillenmesinde hata olması durumunda mikroftalmi ve katarakt gelişebilir (43). Vimentin içeren ara filamanların lens hücrelerinin gelişmesi esnasında ortadan kaybolması durumunda yerine boncuklu yapıları filamanlar geçer (44).

$\alpha$ -kristalin proteinleri lens hücre iskeletinin gelişimi, hasarın onarımı ve yeniden şekillendirilmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Bu proteinde lens dışı dokularda da izlenebilmektedir (45, 46). Fonksiyonları boncuklu ara filamanlara benzerlik göstermektedir.

### Lens Metabolizması

Lens metabolizması vücuttaki diğer doku metabolizmalarına oranla oldukça azdır. Yapısında kendisini besleyecek damarlar olmadığı için beslemek için aköz hümörü kullanır (47). Enerji kaynağı olarak kullanılan glikoz aköz hümörden basit difüzyon ve yardımcı moleküller sayesinde kolaylaştırılmış difüzyon yolu ile geçer. Bununla birlikte lens lifi hücreleri gelişimi esnasında mitokondri gibi organellerini kaybetmesinden dolayı, yaşamak için ek ihtiyaçlara gereksinim duyarlar. Mitokondri yokluğundan dolayı lens lifi hücreleri enerji temini için anaerobik glikoliz yapmak zorundadır. Bu yüzden normal dokulardan daha fazla glikoza ihtiyaç duyarlar. Aerobik glikoliz için gerekli olan sitrik asit döngüsü enzimleri sadece lensin ön kısmında bulunan epitel hücrelerinde mevcuttur. Yapılmış bir hayvan çalışmasında gösterildiği üzere, sitrik asit döngüsünün enerji verimliliği çok daha yüksek olduğu için, lensteki glikozun sadece %3'ünü kullanmasına rağmen,

lenste glikolizden sağlanan total enerjinin %20-30 kadarını sağlar (48).

Lenste glikozun daha az olarak kullanıldığı bir diğer yol olan heksoz monofosfat şantı da bulunmaktadır (49). Lensteki glikozun yaklaşık olarak %5'i bu yolla metabolize olur. Bu yol lens içerisinde yüksek glikoz mevcudiyeti durumunda aktive olur. Bu şant lenste diğer dokulara göre daha fazla aktiviteye sahiptir. Ancak diğer dokulardaki kullanım amacı yağ asidi biyosentezi ve NADPH senteziyken, lenste glikozun glikolitik yol ile laktik aside dönüştürülmesidir.

Lenste bulunan metabolizmalardan bir tanesi aldoz redüktaz aktivitesidir (50). Aldoz redüktaz aktivitesi lensteki sorbitol miktarını artırır. Artan sorbitol miktarı lensi bazı hastalıklarla ilişkili aköz hümör osmolaritesinin değişikliğinden korur (51). Aynı etki böbrek medullasında da izlenir (52). Bu diyabetes mellitus ve galaktozeminin katarakt yapıcı etkisini açıklayan bir etkidir. Her iki hastalıkta da aldoz redüktaz glikozu sorbitol ve galaktoza çevirir. Ancak bu dönüşümde galaktoza dönüşüm daha fazladır. Sorbitol dehidrogenaz enzimi sayesinde parçalanabilen sorbitolün aksine galaktoz lens lifi hücreleri içerisinde birikir. Bu birikim sonrasında hücre içi osmotik basınç artmasına bağlı olarak hücre su alarak şişer. Mevcut sorbitol dehidrogenazın kapasitesi oluşan fazla sorbitolü de yıkamadığı için, normalden fazlaca oluşan sorbitolde bu olaya yardımcı olur. Bu olay lens lifi hücrelerinin hasarlanmasına ve metabolik disfonksiyona yol açar (53).

### Kaynaklar

1. Hoehenwarter W, Klose J, Jungblut PR. Eye lens proteomics. *Amino acids*. 2006;30(4):369-89.
2. Huang C-H, Wang Y-T, Tsa C-F, Chen Y-J, Lee J-S, Chiou S-H. Phosphoproteomics characterization of novel phosphorylated sites of lens proteins from normal and cataractous human eye lenses. *Molecular Vision*. 2011;17:186-96.
3. Andley UP. Crystallins in the eye: Function and pathology. *Progress in retinal and eye research*. 2007;26(1):78-98.
4. Wistow G. The human crystallin gene families. *Human Genomics*. 2012;6(1):26-.
5. Wistow GJ, Piatigorsky J. Lens crystallins: the evolution and expression of proteins for a highly specialized tissue. *Annual review of biochemistry*. 1988;57:479-504.
6. Horwitz J, Bova MP, Ding LL, Haley DA, Stewart



- PL. Lens alpha-crystallin: function and structure. *Eye* (London, England). 1999;13 ( Pt 3b):403-8.
7. Ecroyd H, Carver JA. Crystallin proteins and amyloid fibrils. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2009;66(1):62-81.
8. Lampi KJ, Ma Z, Hanson SRA, Azuma M, Shih M, Shearer TR, et al. Age-related Changes in Human Lens Crystallins Identified by Two- dimensional Electrophoresis and Mass Spectrometry. *Experimental Eye Research*. 1998;67 (1):31-43.
9. Wistow G. Evolution of a protein superfamily: relationships between vertebrate lens crystallins and microorganism dormancy proteins. *J Mol Evol*. 1990;30(2):140-5.
10. Lubsen NH, Aarts HJ, Schoenmakers JG. The evolution of lenticular proteins: the beta- and gamma-crystallin super gene family. *Prog Biophys Mol Biol*. 1988;51(1):47-76.
11. Vendra VP, Khan I, Chandani S, Muniyandi A, Balasubramanian D. Gamma crystallins of the human eye lens. *Biochimica et biophysica acta*. 2016;1860(1 Pt B):333-43.
12. Leonard M, Zhang L, Zhai N, Cader A, Chan Y, Nowak RB, et al. Modulation of N-cadherin junctions and their role as epicenters of differentiation-specific actin regulation in the developing lens. *Developmental Biology*. 2011;349 (2):363-77.
13. Talian JC, Zelenka PS. Calpactin I in the differentiating embryonic chicken lens: mRNA levels and protein distribution. *Developmental Biology*. 1991;143(1):68-77.
14. Watanabe M, Kobayashi H, Rutishauser U, Katar M, Alcalá J, Maisel H. NCAM in the differentiation of embryonic lens tissue. *Developmental Biology*. 1989;135(2):414-23.
15. Gonen T, Sliz P, Kistler J, Cheng Y, Walz T. Aquaporin-0 membrane junctions reveal the structure of a closed water pore. *Nature*. 2004;429 (6988):193-7.
16. Francis P, Chung J-J, Yasui M, Berry V, Moore A, Wyatt MK, et al. Functional impairment of lens aquaporin in two families with dominantly inherited cataracts. *Human Molecular Genetics*. 2000;9(15):2329-34.
17. Gilula NB, Goodenough DA. Gap Junctional CommunicationThe crystalline lens. A system networked by gap junctional intercellular communication. *Seminars in Cell Biology*. 1992;3 (1):49-58.
18. Mathias RT, White TW, Gong X. Lens Gap Junctions in Growth, Differentiation, and Homeostasis. *Physiological Reviews*. 2010;90 (1):179-206.
19. Musil LS, Beyer EC, Goodenough DA. Expression of the gap junction protein connexin43 in embryonic chick lens: Molecular cloning, ultrastructural localization, and post-translational phosphorylation. *The Journal of Membrane Biology*. 1990;116(2):163-75.
20. Paul DL, Ebihara L, Takemoto LJ, Swenson KI, Goodenough DA. Connexin46, a novel lens gap junction protein, induces voltage-gated currents in nonjunctional plasma membrane of *Xenopus* oocytes. *The Journal of Cell Biology*. 1991;115 (4):1077-89.
21. White TW, Bruzzone R, Goodenough DA, Paul DL. Mouse Cx50, a functional member of the connexin family of gap junction proteins, is the lens fiber protein MP70. *Molecular biology of the cell*. 1992;3(7):711-20.
22. Vaghefi E, Malcolm DT, Jacobs MD, Donaldson PJ. Development of a 3D finite element model of lens microcirculation. *Biomedical engineering online*. 2012;11:69.
23. Delamere NA, Tamiya S. Lens ion transport: from basic concepts to regulation of Na,K-ATPase activity. *Experimental eye research*. 2009;88(2):140-3.
24. Bozulich LD, Dean WL, Delamere NA. The influence of protein tyrosine phosphatase-1B on Na,K-ATPase activity in lens. *Journal of cellular physiology*. 2004;200(3):370-6.
25. Tamiya S, Dean WL, Paterson CA, Delamere NA. Regional distribution of Na,K-ATPase activity in porcine lens epithelium. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(10):4395-9.
26. Delamere NA, Dean WL. Distribution of lens sodium-potassium-adenosine triphosphatase. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1993;34(7):2159-63.
27. Ringvold A, Sagen E, Bjerve KS, Folling I. The calcium and magnesium content of the human lens and aqueous humour. A study in patients with hypocalcemic and senile cataract. *Acta ophthalmologica*. 1988;66(2):153-6.
28. Rhodes JD, Sanderson J. The mechanisms of calcium homeostasis and signalling in the lens. *Exp Eye Res*. 2009;88(2):226-34.
29. Bloemendal H, de Jong W, Jaenicke R, Lubsen NH, Slingsby C, Tardieu A. Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2004;86(3):407-85.
30. Cheng C, Nowak RB, Gao J, Sun X, Biswas SK, Lo W-K, et al. Lens ion homeostasis relies on the assembly and/or stability of large connexin 46 gap junction plaques on the broad sides of differentiating fiber cells. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. 2015;308(10):C835- C47.
31. Allen DP, Low PS, Dola A, Maisel H. Band 3 and ankyrin homologues are present in eye lens: Evidence for all major erythrocyte membrane components in same non-erythroid cell. *Biochemical and Biophysical*

- Research Communications. 1987;149(1):266-75.
32. Kuwabara T. Microtubules in the Lens. *Archives of Ophthalmology*. 1968;79(2):189-95.
33. Lee A, Fischer RS, Fowler VM. Stabilization and remodeling of the membrane skeleton during lens fiber cell differentiation and maturation. *Developmental Dynamics*. 2000;217(3):257-70.
34. Ireland M, Lieska N, Maisel H. Lens actin: Purification and localization. *Experimental eye research*. 1983;37(4):393-408.
35. Rafferty NS, Scholz DL, Goldberg M, Lewyckij M. Immunocytochemical evidence for an actin-myosin system in lens epithelial cells. *Experimental eye research*. 1990;51(5):591-600.
36. Kam Z, Volberg T, Geiger B. Mapping of adherens junction components using microscopic resonance energy transfer imaging. *Journal of Cell Science*. 1995;108(3):1051-62.
37. Bagchi M, Katar M, Lo WK, Yost R, Hill C, Maisel H. ERM proteins of the lens. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2004;92(3):626-30.
38. Ireland M, Maisel H. A family of lens fiber cell specific proteins. *Lens and Eye Toxicity Research*. 1989;6(4):623-38.
39. Rafferty NS, Scholz DL. Comparative study of actin filament patterns in lens epithelial cells. Are these determined by the mechanisms of lens accommodation? *Current Eye Research*. 1989;8(6):569-79.
40. FitzGerald PG. Lens intermediate filaments. *Experimental eye research*. 2009;88(2):165-72.
41. Menko AS, Bleaken BM, Libowitz AA, Zhang L, Stepp MA, Walker JL. A central role for vimentin in regulating repair function during healing of the lens epithelium. *Molecular biology of the cell*. 2014;25(6):776-90.
42. Sredy J, Roy D, Spector A. Identification of two of the major phosphorylated polypeptides of the bovine lens utilizing a lens cAMP-dependent protein kinase system. *Current Eye Research*. 1984;3(12):1423-31.
43. Matsuyama M, Tanaka H, Inoko A, Goto H, Yonemura S, Kobori K, et al. Defect of mitotic vimentin phosphorylation causes microphthalmia and cataract via aneuploidy and senescence in lens epithelial cells. *The Journal of biological chemistry*. 2013;288(50):35626-35.
44. Sandilands A, Prescott AR, Carter JM, Hutcheson AM, Quinlan RA, Richards J, et al. Vimentin and CP49/filensin form distinct networks in the lens which are independently modulated during lens fibre cell differentiation. *Journal of Cell Science*. 1995;108(4):1397-406.
45. Carter JM, Hutcheson AM, Quinlan RA. In vitro studies on the assembly properties of the lens proteins CP49, CP115: Coassembly with  $\alpha$ -crystallin but not with vimentin. *Experimental eye research*. 1995;60(2):181-92.
46. Goulielmos G, Gounari F, Remington S, Müller S, Häner M, Aebi U, et al. Filensin and phakinin form a novel type of beaded intermediate filaments and co-assemble de novo in cultured cells. *The Journal of Cell Biology*. 1996;132(4):643-55.
47. Goulielmos G, Remington S, Schwesinger F, Georgatos SD, Gounari F. Contributions of the structural domains of filensin in polymer formation and filament distribution. *Journal of Cell Science*. 1996;109(2):447-56.
48. Hockwin O, Blum G, Korte I, Murata T, Radetzki W, Rast F. Studies on the Citric Acid Cycle and its Portion of Glucose Breakdown by Calf and Bovine Lenses *in vitro*. *Ophthalmic Research*. 1971;2(3-4):143-8.
49. Grant CM. Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. *Journal of Biology*. 2008;7(1):1.
50. Yabe-Nishimura C. Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Target for the Prevention of Diabetic Complications. *Pharmacological Reviews*. 1998;50(1):21-34.
51. Seland JH, Chylack Jr LT. Acute glucose-derived osmotic stress in rabbit lenses. *Acta ophthalmologica*. 1986;64(5):533-9.
52. Burg MB, Kador PF. Sorbitol, osmoregulation, and the complications of diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*. 81(3):635-40.
53. Kador PF, Kinoshita JH. Diabetic and galactosaemic cataracts. *Ciba Foundation symposium*. 1984;106:110-31.
54. Vaghefi E, Malcolm DTK, Jacobs MD, Donaldson PJ. Development of a 3D finite element model of lens microcirculation. *Biomedical engineering online*. 2