

e-ISSN:4146-409X



SAKARYA
TIP DERGİSİ
MEDICAL JOURNAL

Cilt / Vol: 9

Sayı / Issue: 1

Mart / March: 2019

EDİTÖRLER VE YAYIN KURULU
SAHİBİ VE YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ
Prof. Dr. Ramazan AKDEMİR

BAŞ EDİTÖR
Prof. Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER

EDİTÖR YARDIMCILARI
Prof. Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER
Prof. Dr. Alptekin YASİM
Prof. Dr. Süleyman KALELİ
Prof. Dr. Gamze ÇAN
Prof. Dr. Galip EKUKLU
Doç. Dr. Ufuk BERBEROĞLU
Arş. Gör. Fulya Aktan KİBAR
Arş. Gör. Özgür SANCAR
Arş. Gör. Neşe AŞICI
Arş. Gör. Mine KESKİN
Arş. Gör. Gökhan OTURAK

BİYOİSTATİSTİK EDİTÖRÜ
Doç. Dr. Ünal ERKORKMAZ

İNGİLİZCE EDİTÖRÜ
Arş. Gör. Mustafa Baran İNCİ

KAPAK TASARIM DİZGİ
Öğr. Gör. Selçuk SELANİK

SEKRETERYA
Arş. Gör. Mine KESKİN

YAZIŞMA ADRESİ
Sakarya Tıp Dergisi
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Esentepe Kampüsü 54187 Serdivan - SAKARYA
Tel : 0 (264) 0 264 295 3134
Faks : 0 (264) 295 66 29
e-posta : hcekerbicer@gmail.com.tr

YAYINCI
Sakarya Üniversitesi
Sakarya üniversitesi Esentepe Kampüsü 54187 / SAKARYA
Tel:0.264.295 54 54
Yayın Türü: Yerel Süreli / Yılda Dört Kez

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU

Abdurrahim Çolak	Erzurum	İbrahim İkizceli	İstanbul
Abdurrahman Oğuzhan	Kayseri	İbrahim Kara	Sakarya
Ahmet Güzel	Samsun	İbrahim Keles	İstanbul
Ali Fuat Erdem	Sakarya	İbrahim Tekelioğlu	Sakarya
Ali Mert	İstanbul	İbrahim Yegül	İzmir
Ali Özer	Malatya	Kazım Karaaslan	İstanbul
Ali Savaş Çilli	Sakarya	Leman Yel	USA
Ali Yıldırım	Sivas	Mehmet Bülent Vatan	Sakarya
Alper Çelik	İstanbul	Mehmet Emin Büyükkuroğlu	Sakarya
Alptekin Yasım	K.Maraş	Mehmet Emin Özdoğan	Ankara
Arda Isık	Erzincan	Mehmet Güven	Sakarya
Atila Akbay	Ankara	Mehmet Halit Yılmaz	İstanbul
Aydin Tunçkale	İstanbul	Mehmet Koçak	USA
Aysen Yücel	İstanbul	Mehmet Zileli	İzmir
Behçet Al	Gaziantep	Merih Birlik	İzmir
Bulent Özgönel	USA	Mesut Erbas	Çanakkale
Cem Akın	USA	Metin Ingeç	Erzurum
Cengiz Isık	Bolu	Muhsin Akbaba	Adana
Davut Ceylan	Sakarya	Murat Aral	K.Maraş
Doğan Atılgan	Tokat	Murat Eevli	İstanbul
Elvan Şahin	Sakarya	Mustafa Altındis	Sakarya
Erdal Uysal	Gaziantep	Mustafa Çelik	K.Maraş
Ersan Tatlı	Sakarya	Mustafa Tarık Ağaç	Sakarya
Ertan Ural	Kocaeli	Namık Özkan	Denizli
Esra Koçoğlu	İstanbul	Nihat Uluocak	Tokat
Eyüp Murat Yılmaz	Aydın	Oğuz Karabay	Sakarya
Fahrettin Talay Bolu	Bolu	Özlem Güneysel	İstanbul
Fahrettin Yılmaz	İstanbul	Öznur Küçük	İstanbul
Fatih Altıntoprak	Sakarya	Pervin Iseri	Kocaeli
Fatih Meteroğlu	Diyarbakır	Recep Demir	Erzurum
Fatih Özkan	Samsun	Resul Yılmaz	Tokat
Feryal Çam Çelikel	İstanbul	Samad Shams Vahdati	İran
Fikret Ezberci	İstanbul	Selçuk Özden	Sakarya
Galip Ekuklu	Edirne	Serap Günes Bilgili	Van
Gökhan Özyigit	Ankara	Serhan Cevrioğlu	Sakarya
Gülsüm Semiha Kurt	Tokat	Serhat Çelikel	İstanbul
Gürkan Kıran	İstanbul	Seyfi Emir	Tekirdağ
Gürsoy Alagöz	Sakarya	Süreyya Savaşan	USA
Habip Almis	Adıyaman	Taner Kale	K.Maraş
Hacı Ömer Ateş	Tokat	Tayfun Şahinkanat	K.Maraş
Hakan Ak	Yozgat	Turan Yıldız	Sakarya
Hakan Aytan	Mersin	Ufuk Berberoğlu	Uşak
Hakan Oğuztürk	Malatya	Umut Tuncel	Samsun
Hakan Sarman	Bolu	Yahya Çelik	Edirne
Harika Çelebi	Ankara	Yasemin Gündüz	Sakarya
Hasan Hüseyin Eker	İstanbul	Yavuz Sanisoğlu	Ankara
Hayrullah Yazar	Yozgat	Yener Aydın	Erzurum
Helin Deniz Demir	Tokat	Yusuf Yürümez	Sakarya
Hüseyin Gündüz	Sakarya	Zafer Yüksel	K.Maraş
Hüseyin Şener Barut	Tokat	Zehra Kurdoğlu	Van
Işıl Babunoğlu	İstanbul		
İbrahim Hakan Bucak	Adıyaman		



GENEL BİLGİLER

Sakarya Tıp Dergisi, tıbbın her dalı ile ilgili olabilecek retrospektif, prospektif veya deneysel araştırma, derleme, olgu sunumu, ediyöryal yorum/tartışma, ediyöre mektup, cerrahi teknik, ayrıci tanı, tıbbi kitap değerlendirmeleri, soru-cevaplar ve tıp gündemini belirleyen güncel konuları yayımlayan, ulusal ve uluslararası tüm tıbbi kurum ve personele ulaşmayı hedefleyen bilimsel bir dergidir.

Dergi yılda dört sayı olarak Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında yayınlanmaktadır. Derginin resmi yayın dili Türkçe ve İngilizcedir. İngilizce yazım tercih sebebidir.

Dergi ile ilgili her türlü işlem ve başvuru www.sakaryamj.com yapılabilir. Geçmiş sayılarda yayınlanan çalışmalar bu adresten ulaşılabilir.

BİLİMSEL POLİTİKALAR VE ETİK SORUMLULUĞU:

Yazıların bilimsel sorumluluğu yazarlara aittir. Tüm yazarların çalışmaya aktif olarak katılımı esastır. Gönderilen yazıların dergide yayınlanabilmesi için daha önce başka bir bilimsel yayın organında yayınlanmamış olması gerekir. Gönderilen yazı daha önce herhangi bir toplantıda sunulmuş ise; toplantı adı, tarihi ve düzenlendiği şehir belirtilmelidir. Klinik araştırmaların protokolü ilgili kurumun etik komitesi tarafından onaylanmış olmalıdır. İnsanlar üzerinde yapılan tüm çalışmalarda, "Yöntem ve Gereçler" bölümünde çalışmanın ilgili komite tarafından onaylandığı veya çalışmanın Helsinki İlkeleri Deklarasyonuna (www.wma.net/policy/b3.htm) uyularak gerçekleştirildiğine dair bir cümle yer almalıdır. Çalışmaya dahil edilen tüm insanların bilgilendirilmiş onam formunu imzaladığı metnin içinde belirtilmelidir.

Çalışmada "Hayvan" ögesi kullanılmış ise yazarlar, makalenin Gereç ve Yöntemler bölümünde Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (www.nap.edu/catalog/5140.html) prensipleri doğrultusunda çalışmalarında hayvan haklarını koruduklarını ve kurumlarının etik kurallarından onay aldıklarını belirtmek zorundadır.

Değerlendirme Süreci:

Dergiyeye gönderilen yazılar, ilk olarak dergi standartları açısından incelenir. Derginin istediği forma uymayan yazılar, daha ileri bir inceleme gerektirmeksizin yazarına iade edilir. Tüm yazılar önce editör tarafından ön değerlendirilmeye alınır; daha sonra inceleme için danışma kurulu üyelerine gönderilir. Tüm yazılarda ediyörel değerlendirmeye ve düzeltmeye başvurulur; gerektiğinde, yazarlardan bazı sorulara yanıtlama ve eksikleri tamamlama istenebilir. Değerlendirme sonucu kabul, minör revizyon, major revizyon, yeniden yazılması gerektiği ya da ret kararı çıkabilir. Dergide yayınlanmasına karar verilen yazı basım sürecine alınır; bu aşamada tüm bilgilerin doğruluğu için ayrıntılı kontrol ve denetimden geçirilir; yayın öncesi şekline getirilecek yazıların kontrolüne ve onayına sunulur.

Yayın Hakki:

1976 Copyright Act'e göre, yayımlanmış üzere kabul edilen yazıların her türlü yayın hakkı dergiyeye yayımlayan kuruma aittir. Yazarlar, www.sakaryamj.com internet adresinden ulaşacakları "Yayın Hakları Devir Formu"nu doldurup, online olarak makale ile birlikte göndermelidir.

- Olgu sunumu/serisi ve derleme dışındaki bilimsel çalışmalarda etik kurul onay belgesi sisteme yüklenmelidir.
- Veri toplama süreci Aralık 2010 tarihinden önce tamamlanmış çalışmalar kabul edilmeyecektir.
- Bilimsel çalışmalar, çalışmadaki yazarların isim ve soy isimleri(çalışmaya dahil olan tüm yazar isimleri yazılmalı) ile çalışma başlığındaki tüm kelimelerin(bağlaçlar hariç) sadece ilk harfleri büyük harf olacak şekilde DergiPark sistemine yüklenmelidir.
- Yazarların aynı sayıya ilk isim oldukları yazılarda bir çalışmaları yayınlanacaktır.
- SCI, SSCI, SCIE, ESCI veya A&HCI'de indekslenen dergilerde yayınlanmış çalışmalarında Sakarya Tıp Dergisi'nde yayınlanmış herhangi bir çalışmaya atıfta bulunan yazarların çalışmalarına öncelik verilecektir. (Çalışma bilgilerinin ve varsa linkinin Editöre Sunum Sayfası'nda belirtilmesi gerekmektedir.)
- Yazım dili İngilizce olan bilimsel çalışmaların veya yazım dili Türkçe olan çalışmaların İngilizce özetlerinin yazımında akademik düzenleme hizmeti veren profesyonel kurum veya kuruluşlardan yardım alındığının belgelenebilir durumda bu çalışmalara öncelik verilecektir.

YAZININ HAZIRLANMASI

- Derleme türündeki bilimsel çalışmalar için yazar sayısı üçü geçmemelidir.
- Olgu sunumları için yazar sayısı altıyı geçmemelidir.
- Yazılar çift satır aralıklı ve 10 punto olarak, her sayfaının iki yanında ve alt ve üst kısmında 2,5 cm boşluk bırakılarak yazılmalıdır. Yazı stili Arial olmalıdır.
- Yazılar Microsoft Word formatında olmalıdır. (tablolara dahil olacak şekilde)
- Kısaltmalar, özette ve ana metinde kelimenin ilk geçtiği yerde parantez içinde verilmeli ve tüm metin boyunca o kısaltma kullanılmalıdır. Küçük harflerle yapılan kısaltmalara getirilen eldeler kelimenin okunuşu esas alınır: c'myi, kg'dan, m'dden, kr.cn. Büyük harflerle yapılan kısaltmalara getirilen eldeler ise kısaltmanın son harfinin okunuşu esas alınır: BDT'ye, TDK'den, THY'den, TRT'den, TL'nin vb. Ancak kısaltması büyük harflerle yapıldığı hâle bir kelime gibi okunan kısaltmalara getirilen eldeler kısaltmanın okunuşu esas alınır: BOLSAN'DA, BOTAŞ'ın, NATO'dan, UNESCO'ya vb.
- Editöre sunum sayfası ayrı bir Word dosyası olarak gönderilmelidir. Editöre sunum sayfasında gönderilen çalışmanın kategorisi, eş zamanlı olarak başka bir dergiyeye gönderilmemiş olduğu, daha önce başka bir dergide yayınlanmamış olduğu, varsa çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi ve kuruluşları ile varsa bu kuruluşların yazarlarla olan ilişkileri belirtilmelidir.
- Kapak sayfası ayrı bir Word dosyası olarak gönderilmelidir. Kapak sayfasında başlık basit ve anlaşılır şekilde olmalıdır (Türkçe ve İngilizce). Başlık 60 karakterden daha uzun olduğu takdirde İngilizce ve Türkçe kısa başlık da kapak sayfasına eklenmelidir. Tüm yazarların adı, soyadı ve unvanları, çalıştıkları kurumun adı ve şehri bu sayfada yer almalıdır. Bu sayfaya ayrıca "yazışmadan sorumlu" yazarın isim, açık adres, telefon ve e-posta bilgileri eklenmelidir.

İstatistik Bilgi Notu

- Kullanılan istatistiksel yöntem, orijinal veriye erişilecek bilgili bir okuyucunun rapor edilen sonuçları onaylayabileceği bir ayrıntıda belirtilmelidir. İstatistiksel terimler, kısaltmalar ve semboller tanımlanmalıdır. Kullanılan bilgisayar programı, istatistiksel yöntemlere dair açıklama verilmelidir. Çalışma deseni ve istatistiksel yöntemlere dair kaynaklar mümkünse belirtilmelidir.
- Sonuçların sunumunda, özellikle ortalamaya ve yüzdelik verirken, ondalıklı hanelerin gösteriminde virgülden sonra 2 hane kullanılmalıdır (112,2 yerine; 112,20 veya 112,21 gibi). P, t, Z değerleri istisnadar virgülden sonra 3 hane verilmelidir (p<0,05 yerine tam değer p=0,001). Tam sayı dışındaki gösterimlerde virgülden sonra iki hane, istatistiksel değerlerin (p,t,z,F,Kİ-Kare gibi) virgülden sonra üç hane değerlerin sunulması, p değerlerinin sunumunda p<0,05 veya p>0,05 yerine test istatistiği ile birlikte tam p değerinin (bu değerinde birinden küçük olması durumunda p<0,001 biçiminde) gösterilmesi gerekmektedir.

Yazının Bölümleri

- Çalışmanın gönderildiği metin dosyasının içinde sırasıyla, Türkçe başlık, Türkçe özet, Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce başlık, İngilizce özet, İngilizce anahtar kelimeler, çalışmanın ana metni, kaynaklar, her sayfaya bir tablo olmak üzere tablolar ve son sayfada şekillerin (varsa) alt yazıları şeklinde olmalıdır. Tablolar kaynaklardan sonra, her sayfaya bir tablo olmak üzere çalışmanın gönderildiği dosya içinde olmak ancak çalışmaya ait şekil, grafik ve fotoğrafların her biri ayrı bir imaj dosyası (jpeg ya da gif) olarak gönderilmelidir.

Araştırma Makalesi için yazının bölümleri

- ÖZ (Abstract): Türkçe ve İngilizce özetler çalışmanın başlığı ile birlikte verilmelidir. Özetler Amaç (Objective), Gereç ve Yöntemler (Materials and Methods), Bulgular (Results) ve Sonuç (Conclusion) bölümlerine ayrılmalı ve 250 sözcüğü geçmemelidir.
- Anahtar Kelimeler (Keywords): Türkçe özetten sonra Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce özetten sonra İn-

gilizce anahtar kelimeler belirtilmelidir.

- Giriş (Introduction): Giriş bölümünün son paragrafında çalışmanın amacını bildiren bir cümle yer almalıdır.
- Gereç ve Yöntemler (Materials and Methods): Araştırmanın tipi, etik hususlar, kullanılan istatistiksel analiz yöntemleri belirtilmelidir.
- Bulgular (Results)
- Tartışma (Discussion)
- Kaynaklar (References)

Olgu Sunumu/Serisi için yazının bölümleri

- ÖZ (Abstract): Türkçe ve İngilizce özetler makalenin başlığı ile birlikte verilmelidir. Özetler tek paragrafık olmalıdır. (100-150 kelime olmalıdır.)
- Anahtar Kelimeler (Keywords): Türkçe özetten sonra Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce özetten sonra İngilizce anahtar kelimeler belirtilmelidir.
- Giriş (Introduction)
- Olgu Sunumu (Case Report)
- Tartışma (Discussion)
- Kaynaklar (References)

Derleme için yazının bölümleri

- ÖZ (Abstract): Derleme özetleri kısa ve tek paragrafık olmalıdır (ortalama 100-150 kelime; bölümsüz; Türkçe ve İngilizce)
- Anahtar Kelimeler (Keywords): Türkçe özetten sonra Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce özetten sonra İngilizce anahtar kelimeler belirtilmelidir.
- Giriş (Introduction)
- Konu ile İlgili Başlıklar
- Sonuç (Conclusion)
- Kaynaklar (References)

Anahtar Kelimeler

- En az 3 en fazla 6 adet, Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır.
- Kelimeler birbirlerinden noktalı virgül (;) ile ayrılmalıdır.
- İngilizce anahtar kelimeler (MESH) e uygun olarak verilmelidir (www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html).
- Türkçe anahtar kelimeler Türkiye Bilim Terimleri'ne uygun olarak verilmelidir (www.bilimterimleri.com).

Kaynaklar

- Yazarlar yalnızca doğrudan yararlandıkları kaynakları yazılarında gösterebilirler.
- Kaynaklar yazıda geliş sırasına göre yazılmalı ve metinde cümle sonunda noktalama işaretlerinden hemen sonra "Öst Simge" olarak belirtilmelidir.
- Çalışmada bulunan yazar sayısı 6 veya daha az ise tüm yazarlar belirtilmeli, 7 veya daha fazla ise ilk 6 isim yazılıp "et al" eklenmelidir.
- Kaynak yazımı için kullanılan format Index Medicus'ta belirtilen şekilde olmalıdır (www.icmje.org).
- Kaynak listesinde yalnızca yayınlanmış ya da yayınlanmasın kabul edilmiş veya DOI numaralı çalışmalara yer almalıdır.
- Kaynak sayısının araştırmalarda 50 ve derlemelerde 100, olgu sunumlarında da 10 ile sınırlanırılması önerilmektedir.
- Kaynakların dizilme şekli ve noktalamalar aşağıdaki örneklerle uygun olmalıdır (Noktalamaya işaretleride lütfen dikkat ediniz):

Makale için; Yazar(lar)ın soyad(lar) ve isim(ler)inin başharf(ler)i, makale ismi, dergi ismi, yıl, cilt, sayı, sayfa no'su belirtilmelidir.

Örnek: Dilek ON, Yılmaz S, Degirmenci B, Ali Sahin D, Akbulut G, Dilek FH. The use of a vessel sealing system in thyroid surgery. Acta Chir Belg 2005;105:369-372.

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

Örnek:

- Yabancı dilde yayımlanan kitaplar için; Vissers RJ, Abu-Laban RB. Acute and Chronic Pancreatitis. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS (eds.), Emergency Medicine: A comprehensive Study Guide. 6st ed. New York: McGraw-Hill Co; 2005. p.573-577.
- Türkçe kitaplar için; Gökkö Ö. Peptik ülser. Dilek ON, editör. Mide ve Duedonum. 1. Baskı. Ankara: Anıt Matbaası; 2001. s:265-276.
- On-line yayınlar için format; DOI tek kabul edilebilir on-line referanstır.

Şekil, Resim, Tablo ve Grafikler

- Şekil, resim, tablo ve grafiklerin metin içinde geçtiği yerler ilgili cümlelerin sonunda belirtilmelidir.
- Şekil, resim, tablo ve grafiklerin açıklama ana metnin sonuna eklenmelidir.
- Tablolar her sayfaya bir tablo olmak üzere yazım gönderildiği dosya içinde olmalı ancak yazıya ait şekil, grafik ve fotoğrafların her biri ayrı bir imaj dosyası (jpeg ya da gif) olarak gönderilmelidir.
- Kullanılan kısaltmalar şekil, resim, tablo ve grafiklerin altındaki açıklamada belirtilmelidir.
- Daha önce basılmış şekil, resim, tablo ve grafik kullanılmış ise yazılı izin alınmalıdır ve bu izin açıklama olarak şekil, resim, tablo ve grafik açıklamasında belirtilmelidir.
- Resimler/fotoğraflar renkli, ayrıntılı görülecek derecede kontrast ve net olmalıdır.

Çıkar ilişkisi: Yazarların herhangi bir çıkar dayalı bir ilişkisi varsa bu açıklanmalıdır.

Teşekkür: Bu bölümde yazar olarak ismi geçmeyen ancak teşekkür edilmesi gereken kişiler veya kurumlar yer almalıdır.

Yayımlanmak üzere gönderilen çalışmalar için kontrol listesi

Çalışmalar tam olmalı ve şunları kapsamalıdır:

- Sorumlu yazarca imzalanmış "Telif Hakkı Formu" (mavi kalemle ve ıslak imzalı olacak şekilde)
- Etik kurul onayının PDF veya JPEG formatındaki görüntüsü(Olgu sunumu- serisi ve derleme yazıları için gerekli değildir)
- Editöre Sunum Sayfası
- Kapak Sayfası
- Yazının Bölümleri
 - Türkçe ve İngilizce başlık
 - ÖZ (Türkçe ve İngilizce)
 - Anahtar sözcükler (en az 3 ve en fazla 6) (Türkçe ve İngilizce)
 - Uygun bölümlere ayrılmış ana metin
- Kaynaklar yazıda geliş sırasına göre yazılmalı ve metinde cümle sonunda noktalamaya işaretlerinden hemen sonra "Öst Simge" olarak belirtilmelidir.
- Dergi yazı kurallarına uygun olarak hazırlanmış kaynaklar listesi
- Bütün şekil, tablo ve grafikler
- Çalışmalar, çalışmadaki yazarların isim ve soy isimleri(çalışmaya dahil olan tüm yazar isimleri yazılmalı) ile çalışma başlığındaki tüm kelimelerin(bağlaçlar hariç) sadece ilk harfleri büyük harf olacak şekilde DergiPark sistemine yüklenmelidir.

Kontrol listesinde belirtilen koşulları sağlamayan çalışmalar için değerlendirme süreci başlatılmayacaktır.

General Information:

Sakarya Medical Journal is a scientific journal that publishes retrospective, prospective or experimental research articles, review articles, case reports, editorial comment/discussion, letter to the editor, surgical technique, differential diagnosis, medical book reviews, questions-answers and also current issues of medical agenda from all fields of medicine and aims to reach all national/international institutions and individuals. The journal is published four times in a year and in March, June, September and December. The official languages of the journal are Turkish and English, but English manuscripts are preferred. Any processes and submissions about the journal can be made from the website: www.sakaryamj.com. Past issues of the journal are also available at this website.

Scientific Policies and Ethics Responsibility:

The author(s) undertake(s) all scientific responsibility for the manuscript. All the authors must actively participate in the study. The author(s) guarantee(s) that the manuscript itself or any substantially similar content of the manuscript has not been published or is being considered for publication elsewhere. If the manuscript had been presented in a meeting before; the name, date and the province of the meeting should be noted.

The protocol of the clinical investigations must be approved by the appropriate ethical committee of the related institution. All manuscripts dealing with human subjects must contain, in the Materials and Methods section, a statement indicating that the study has been approved by the committee or there should be a statement that the research was performed following the Declaration of Helsinki principles (<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>). In research work which includes humans, informed consent must be obtained prior to the study and this should be stated in the text.

All papers reporting experiments using animals must include a statement in the Material and Methods section giving assurance that all animals have received humane care in compliance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (www.nap.edu/catalog/5140.html) and indicating approval by the institutional ethical review board.

Review Process:

Upon submission, all manuscripts are reviewed to check for requirements requested by the Journal. Manuscripts that do not comply with these requirements will be sent back to authors without further evaluations. All the papers are first evaluated by the editor; later the papers are sent to advisory board members. If needed, some questions can be asked to the authors to answer; or some defaults may have to be corrected by the authors. The result can be acceptance, minor revision, major revision, rejection in the current form, or rejection. Accepted manuscripts are forwarded for publication; in this stage, all information and data are checked and controlled properly; the proof of the article to be published by the journal are forwarded to the writers for proof reading and corrections.

Copyright Statement:

In accordance with the Copyright Act of 1976, the publisher owns the copyright of all published articles. All manuscripts submitted must be accompanied by the "Copyright Transfer and Author Declaration Statement form" that is available in www.sakaryamj.com.

- Ethics committee approval certificate should be uploaded to the system for scientific studies except case report / series and review articles.
- Studies for which data collection process is completed before December 2010 will not be accepted.
- Scientific studies should be uploaded to the DergiPark system including the names and surnames of the authors (all author names should be written and only the first letters of all the words (except connectors) in the title of the study.
- An author can only have one article published in an issue where she/he is the first author.
- Priority will be given to the works of the authors, who refer to any study published in the Sakarya Medical Journal in their studies published in the journals indexed in SCI, SSCI, SCIE, ESCI or A & HCL (information about the study and the link, if any, should be stated on the Presentation to the Editor Page).
- Priority will be given to studies where it is documented that an assistance has been obtained from professional institutions or organizations providing academic editing services in the writing of scientific studies in English, or in English abstracts of Turkish studies.

Manuscript Preparation

- Author number for review articles should not exceed three.
- Author number for case report presentations should not exceed six.
- Articles should be written with double line space in 10 font size and right, left, upper and lower margins should all be 2.5 cm. Writing style should be Arial.
- Manuscripts should be written with Microsoft Word (including tables)
- Abbreviations that are used should be defined in parenthesis where the full word is first mentioned.
- Cover Letter: Cover letter should be written with Microsoft Word and should include statements about manuscript category designation, single-journal submission affirmation, conflict of interest statement, sources of outside funding, equipments (if so), approval for language for articles in English and approval for statistical analysis for original research articles.
- Title Page: Title should be written with Microsoft Word. Title also should be concise and informative (in Turkish and English). The title page should include a list of all contributing authors and all of their affiliations. Positions of authors and names of departments and institutions to which they are attached and the province should be written. Supply full correspondence details for the corresponding author, including phone, mobile phone, fax number and e-mail address.

Statistical Note:

- The statistical method that used should be stated in detail that a knowledgeable reader can confirm the reported results.
- Statistical terms, abbreviations and symbols must be defined. The computer program and statistical method that used should be described completely.
- References to the study design and statistical method should be indicated if possible.
- In the presentation of the results, especially when giving the average and the percentage, 2 digits should be used after the comma in the display of the decimal places (instead of 112,2, such as 112,20 or 112,21).
- The values of p, t and z are exceptions and 3 digits should be given after the comma (instead of p <0.05, exact value like p = 0.001).
- Two digits after comma in non-integer representations, three digits after comma in the presentation of statistical values (p, t, z, F, chi-square) and in the presentation of p values, it is necessary to show the exact p value with the test statistic instead of p <0.05 or p > 0.05 (if this value is less than one thousandth, like p <0.001 format).

Article Sections:

- The text file should include the title, keywords and abstract both in Turkish and English, the text of the article, references, tables (only one table for one page) and figure legends (if any), respectively.
- Within the text file, the names of the authors, any information about the institutions, the figures and images (jpeg or gif) should be excluded.
- Sections for Original Research articles:
- Abstract: Turkish and English abstracts should be given with the title of the study. Abstracts should be divided into Objective, Materials and Methods, Results and Conclusion and should not exceed 250 words.
- Keywords: Turkish keywords should be indicated after the Turkish abstract and English keywords should be indicated after the English abstract.

- Introduction: In the last paragraph of the introductory section, there should be a specific sentence that states the purpose of the study.
- Materials and Methods: The type of research, ethical issues, statistical analysis methods used should be specified.
- Results
- Discussion
- References
- Sections for Case Report/Series articles:
- Abstract: Turkish and English abstracts should be given with the title of the article. Abstracts should be single-paragraph and must be 100-150 words.
- Keywords: Turkish keywords should be indicated after the Turkish abstract and English keywords should be indicated after the English abstract.
- Introduction
- Case report
- Discussion
- References
- Sections for Review articles:
- Abstract: Review abstracts should be short and single paragraph, 100-150 words on average, non-sectioned and Turkish (and English) or English only.
- Keywords: Turkish keywords should be indicated after the Turkish abstract and English keywords should be indicated after the English abstract.
- Introduction:
- Topic related titles
- Conclusion
- References

Keywords:

- They should be minimally 3 and maximally 6 and should be written in Turkish and English.
- The words should be separated by semicolon (;), from each other.
- English key words should be appropriate to "Medical Subject Headings (MESH)" (www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html).
- Turkish key words should be appropriate to "Turkish Science Terms" (www.bilimterimleri.com)

References:

The authors are required to cite only those references that they can submit to the Journal in the event they are requested to do so. References in the text should be numbered as superscript numbers and listed serially according to the order of mentioning on a separate page, double-spaced, at the end of the paper in numerical order. All authors should be listed if six or fewer, otherwise list the first six and add the et al. Journal abbreviations should conform to the style used in the Cumulated Index Medicus (www.icmje.org). Only list the literature that is published, in press (with the name of the publication known) or with a doi number in references. It is preferred that number of references do not exceed 50 for research articles, 100 for reviews and 10 for case reports.

Follow the styles shown in examples below (please give attention to punctuation):

Format for journal articles; initials of author's names and surnames, title of article, journal name, date, volume, number, and inclusive pages, must be indicated.

Example: Dilek ON, Yilmaz S, Degirmenci B, Ali Sahin D, Akbulut G, Dilek FH. The use of a vessel sealing system in thyroid surgery. *Acta Chir Belg* 2005;105(4):369-72.

Format for books; initials of author's names and surnames, chapter title, editor's name, book title, edition, city, publisher, date and pages. Example: Vissers RJ, Abu-Laban RB. Acute and Chronic Pancreatitis. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS (eds.), *Emergency Medicine: A comprehensive Study Guide*. 6 st ed. New York: McGraw-Hill Co; 2005. p.573-77.

Format for on-line-only publications; DOI is the only acceptable on-line reference.

Figures, Pictures, Tables and Graphics:

- All figures, pictures, tables and graphics should be cited at the end of the relevant sentence.
- Explanations about figures, pictures, tables and graphics must be placed at the end of the article.
- Figures, pictures/photographs must be added to the system as separate .jpg or .gif files.
- The manuscripts containing color figures/pictures/tables would be published, if accepted by the Journal. In case of publishing colorful artwork, the authors will be asked to pay extra printing costs.
- All abbreviations used, must be listed in explanation which will be placed at the bottom of each figure, picture, table and graphic.
- For figures, pictures, tables and graphics to be reproduced relevant permissions need to be provided. This permission must be mentioned in the explanation.
- Pictures/photographs must be in color, clear and with appropriate contrast to separate details.

Conflict of interest:

If any of the writers have a relationship based on self-interest, this should be explained.

Acknowledgment:

Only acknowledge persons and institutions who have made substantial contributions to the study, but was not a writer of the paper.

Checklist for Submitted Articles:

- Articles must be complete.
- They must include the following:
 - Cover Letter
 - Title Page
 - Article sections
 - Turkish and English titles
 - Abstract (250 words) (Turkish and English)
 - Keywords (minimum 3; maximum 6)
 - Article divided into appropriate sections
 - Complete and accurate references and citations
 - List of references styled according to "journal requirements"
 - All figures (with legends) and tables (with titles) cited.
 - "Copyright Form" signed by the responsible author (with a blue pen and wet signature)

Manuscripts lacking any of the above elements will be rejected from the review process.

DERGİ HAKEM HEYETİ

Prof. Dr. Ramazan Akdemir	Doç. Dr. Gülfem Ece
Prof. Dr. Işıl Fidan	Doç. Dr. Tuba Dal
Prof. Dr. Matem Tunçdemir	Doç. Dr. Barış Yilmazer
Prof. Dr. Sinan Canpolat	Doç. Dr. Selda Çelik
Prof. Dr. Mustafa Çelik	Doç. Dr. Dilek Öztaş
Prof. Dr. Aydın Him	Doç. Dr. Evren Odyakmaz Demirsoy
Prof. Dr. Ramazan Bal	Doç. Dr. Vildan Kaya
Prof. Dr. Alptekin Yasım	Doç. Dr. Ertuğrul Güçlü
Prof. Dr. Neriman Çolakoğlu	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Ceylan
Prof. Dr. Mehmet Erikoğlu	Dr. Öğr. Üyesi Halil İbrahim Erdoğan
Prof. Dr. Birsen Aydemir	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Aslan
Prof. Dr. Mehmet Gül	Dr. Öğr. Üyesi Görker Sel
Prof. Dr. Ayhan Taştekin	Dr. Öğr. Üyesi Veysel Atilla Ayyıldız
Prof. Dr. Havva Belma Koçer	Dr. Öğr. Üyesi Mesut Özgökçe
Prof. Dr. Merih Birlik	Dr. Öğr. Üyesi Aysel Kaya Tekeşin
Prof. Dr. Derya Hakan Uçar	Dr. Öğr. Üyesi Bekir Enes Demiryürek
Prof. Dr. Emine Tamer	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Öztürk
Doç. Dr. Özlem Bilir	Dr. Öğr. Üyesi Hilal Uslu Yuvacı
Doç. Dr. Hayati Deniz	Dr. Öğr. Üyesi Yusuf Yasin Gümüş
Doç. Dr. Belma Doğan Güngen	Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan Bol
Doç. Dr. Nazan Kılıç Akça	Dr. Öğr. Üyesi Ömür Öztürk
Doç. Dr. Mehmet Fatih Ceylan	Dr. Öğr. Üyesi Nevra Alkanlı
Doç. Dr. Mustafa Tarık Ağaç	Dr. Öğr. Üyesi Nazmi Mutlu Karataş
Doç. Dr. Hakan Akan	Dr. Öğr. Üyesi Yaşar Topal
Doç. Dr. Ufuk Berberoğlu	Dr. Öğr. Üyesi Nuray Varol
Doç. Dr. Kerem Karaman	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Çalışkan
Doç. Dr. İbrahim Caner	Uzm. Dr. Ayşe Bozkurt Oflaz
Doç. Dr. Ercan Özdemir	Uzm. Dr. Muhammet Kazım Erol
Doç. Dr. Abdullah Demirhan	

İÇİNDEKİLER / CONTENTS**DERLEME / REVIEW (1-16)**

- 1 **Autotransplantation of Cryopreserved/Thawed Ovarian Tissue: Overview of Methods and Challenges**
Dondurulmuş/Çözülmüş Over Dokusunun Ototransplantasyonu: Yöntem ve Sorunlara Genel Bakış
Hulya Ayık Aydın, A. Yasemin Goksu Erol, Armagan Aydın

- 11 **Diabetik Hastalarda Amputasyon Sonrası Yara İyileşmesi ve Bakım**
Wound Healing and Care After Amputation in Diabetic Patients
Seda Akutay, Özlem Ceyhan

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLES (17-159)

- 17 **Taburculuğa Hazırlanan Preterm İnfantlarda Kritik Olmayan Morfolojik Deformiteler**
Non-critical Morphological Deformities in Discharge Preterm Infants
Nuriye Tarakçı, Hüseyin Altunhan

- 22 **Frequency of Contrast Nephropathy after Intravenous Contrast Computerized Tomography Scan in The Patients Admitted to Emergency Department**
Acil Servise Başvuran Hastalarda İntravenöz Kontrast Madde Verilerek Çekilen Tomografi Sonrası Kontrast Madde Nefropatisi Gelişme Sıklığı
Hakan Hakkoymaz, Mehmet Okumus

- 30 **The Correlation between Pregnancy and Delivery Characteristics and Autism Spectrum Disorder and Symptomatic Severity**
Gebelik ve Doğum Özelliklerinin Otizm Spektrum Bozukluğu ve Belirti Şiddeti ile İlişkisi
Elrem Damla Çimen

- 38 **Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında Serum Çinko, Selenyum, Mangan, Demir, Bakır Element Düzeyleri ve Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn Oranlarının Değerlendirilmesi**
Evaluation of the Serum Zinc, Selenium, Manganese, Iron, Copper Element Levels, and Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn Ratios in Type 2 Diabetes Mellitus Patients
Nurten Bahtiyar, Yalçın Hacıoğlu

- 46 **Evaluation of Health Care Services Delivered to Syrian Refugees in a Tertiary Pediatrics Hospital Between 2013-2016**
Bir Üçüncü Basamak Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesinde 2013-2016 Yılları Arasında Suriyeli Sığınmacılara Sunulan Sağlık Hizmetlerinin Değerlendirilmesi
Ali Güngör, Alkım Öden Akman, Cüneyt Karagöl, Mücahit Koçoğlu, Bahar Çuhacı Çakır, İlker Çetin, Halil İbrahim Yakut

- 52 **Long-Term Effects of Ultrasound-Guided Genicular Nerve Pulsed Radiofrequency on Pain and Knee Functions in Patients with Gonarthrosis**
Gonartroz Hastalarında Ultrason Eşliğinde Uygulanan Geniküler Sinir Pulsed Radyofrekans Tedavisinin Ağrı ve Diz Fonksiyonlarına Uzun Dönem Etkisi
Tolga Ergönec, Serbülent Gökhan Beyaz

- 60 **The Effects of N-Acetylcysteine on MMP-2 and MMP-9 Immune Activities in Testicular Tissue of Streptozotocin Induced Diabetic Rats**
N-Asetilsistein'in Streptozotocin İle Oluşturulan Diyabetik Ratların Testis Dokusundaki MMP-2 ve MMP-9 İmmun Aktivitelerine Etkileri
Alper Yalçın

- 68 **Can Successful Outcomes be Achieved Using the Single-Row Rather Than the Double-Row Technique for Repair of a Rotator Cuff Tear?**
Rotator Manşet Yırtığı Onarımı İçin Çift Sıra Tamir Tekniği Yerine Tek Sıra Tamir Tekniği Kullanılarak Başarılı Sonuçlar Elde Edilebilir Mi?
H. Çağdaş Basat, Mehmet Armanlı, Yener Yoğun

- 74 **Exposure of Students To Bullying İn A Secondary School and Evaluation of Related Factors**
Bir Orta Okulda Öğrencilerin Zorbalığa Maruziyeti ve İlgili Faktörlerin Değerlendirilmesi
Ersin Nazlıcan, Gonca Gül Çelik, Muhsin Akbaba, Ramazan Azim Okyay, Burak Kurt, Ayşegül Yolga Tahiroğlu

- 84 **Lazer Mikrodiseksiyon Tekniği İle Yaralanan Periferik Duyusal Nöronlar Üzerinde Nörotrofin-3 ve Nörotrofin-4/5'in Rejeneratif Etkilerinin Değerlendirilmesi**
Evaluation of Regenerative Effects of Neurotrophin-3 and Neurotrophin-4/5 on Peripheral Sensory Neurons Injured with Laser Microdissection Technique
Ramazan Üstün, Elif Kaval Oğuz

- 92 **Zoledronik Asidin Meme Kanseri Alt Tiplerinde Terapötik Etkisinin Değerlendirilmesi**
Assessment of The Therapeutic Effects of Zoledronic Acid on Breast Cancer Subtypes
LGamze Güney Eskiler, Asuman Devci Özkan, Cemil Bilir, Süleyman Kaleli

- 103 **Eczacıların Akılcı İlaç Kullanımı ile İlgili Yaklaşımları**
Pharmacy's Approaches to Rational Drug Use
Celal Alpdoğan, Selma Altındış

- 112 **The Relationship Between the Presence of Early Repolarization Pattern and the Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Stable Coronary Artery Disease**
Stabil Koroner Arter Rahatsızlığı Olan Hastalarda Erken Repolarizasyon Patern Varlığı ile Koroner Arter Hastalığının Ciddiyeti Arasındaki İlişki
Serhat Karaman, Kayhan Karaman, Abuzer Coşkun

- 120 **Sakarya İlindeki Herediter Nöropati Hastalarının Demografik, Klinik ve Elektrofizyolojik Özellikleri**
Demographic, Clinical and Electrophysiological Characteristics of The Hereditary Neuropathy Patients in Sakarya
Dilcan Kotan, Aslı Aksoy Gündoğdu, Murat Alemdar
- 125 **Relationship Between Epicardial Fat Thickness and Cardioversion Success in Patients with Atrial Fibrillation**
Atriyal Fibrilasyon Hastalarında Epikardiyal Yağ Kalınlığı ile Kardiyoversiyon Başarısı Arasındaki İlişki
Savaş Özer, Mürsel Şahin, Merih Kutlu
- 131 **Comparison of Effects of Three Distinct Stress Models on Anxiety- and Depression-Related Behaviors in Female Rats**
Dişi Sıçanlarda Üç Farklı Stres Modelinin Anksiyete ve Depresyon Benzeri Davranışlara Etkilerinin Karşılaştırılması
Zafer Sahin, Aynur Koc, Raviye Ozen Koca, Hatice Solak, Alpaslan Ozkurkculer, Pinar Cakan, Z. Isik Solak Gormus, Selim Kutlu
- 141 **Comparison of Intravitreal Ranibizumab and Diod Laser Photocoagulation Treatment for Retinopathy of Prematurity; Effects on Axial Length and Refractive Status**
Prematüre Retinopatisinde uygulanan Diod Lazer Fotokoagülasyon ile İntravitreal Ranibizumab Tedavilerinin Gözün Aksiyel Uzunluğuna ve Refraktif Durumuna Olan Etkilerinin Karşılaştırılması
Emine Alyamac Sukgen, Selim Cevher, Yusuf Kocluk
- 148 **Thin Fiber Neuropathy Associated With Vitiligo**
Vitiligo Hastalarında İnce Lif Nöropatisinin Değerlendirilmesi
Bahar Sevimli Dikicier, Bekir Enes Demiryürek
- 154 **Bir Şehir Hastanesi Kan Transfüzyon Merkezine Başvuran Donörlerde HBV, HCV, HIV ve VDRL Seroprevalansı**
Seroprevalence of HBV, HCV, HIV and VDRL in Donors Apply to a City Hospital Blood Transfer Center
Özlem Kirişçi, Murat Aral, Gökhan Arıcan, Gürkan Muratdağ

OLGU SUNUMU / CASE REPORTS (160-189)

- 160 **Batı Nil Virüsü Enfeksiyonuna Sekonder Gelişen Akut Demiyelinizan Polinöropati Olgusu**
A Case of Acute Demyelinating Polyneuropathy Secondary to West Nile Virus Infection
Yonca Ünlübaş, Abdulkadir Tunç, Murat Alemdar, Dilcan Kotan
- 164 **Cerrahi Müdahale Gerektiren Olanzapin İlişkili Paralitik İleus Olgusu**
A Case of Olanzapine-related Paralytic Ileus Necessitating Surgical Intervention
Halil İbrahim Taşcı
- 169 **Son Dönem Böbrek Yetmezliğinde Volüm Yüku ve Diüretik Kullanımı**
Volume Load and Diuretic Use In The End Stage Kidney Disease
Mehmet Nur Kaya, Ömer Toprak, Uğur Ergün
- 175 **Gallbladder Ascariasis: A Case Report and Review of the Literature**
Safra Kesesi Askariasis: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi
Ogün Taydaş, Mustafa Özdemir, Behiç Akyüz, Onur Taydaş*
- 180 **Yüksek Serum CA19-9 Seviyeleri ile Seyreden Bir Endometriozis Olgusu**
A Case of Endometriosis with High Serum CA19-9 Levels
Özlem Nuray Sever, Dilahan Şankır
- 185 **Erişkin Still Hastalığı ilişkili Makrofaj Aktivasyon Sendromu; Olgu Sunumu**
Macrophage Activation Syndrome Associated with Adult Still's disease: A Case Report
Burcu Aydoğan, Mehmet Kılıç, Emel Gönüllü

Autotransplantation of Cryopreserved/Thawed Ovarian Tissue: Overview of Methods and Challenges

Dondurulmuş/Çözölmüş Over Dokusunun Ototransplantasyonu: Yöntem ve Sorunlara Genel Bakış

Hülya Ayık Aydın¹, A. Yasemin Goksu Erol^{2,3}, Armagan Aydın⁴

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, Gynecological Oncology Department, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey

² In Vitro Fertilization Center, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey

³ Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey

⁴ Department of Medical Oncology, Antalya Training and Research Hospital, Antalya, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Hülya Ayık Aydın

Department of Obstetrics and Gynecology, Division of Gynecologic Oncological Surgery, Akdeniz University School of Medicine, 07059, Konyaalti, Antalya, Turkey

T: +90 507 708 02 45 E-mail: hulya_ayik@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 02.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 26.02.2019

Abstract

Objective In recent years, an increasing number of women diagnosed with malignant or non-malignant diseases have been subjected to cytotoxic chemoradiotherapy. Women who face the possibility of premature ovarian failure caused by cytotoxic therapy may retain their fertility potential via ovarian tissue cryopreservation. Despite its advantages, this fertility preservation method for women at risk of losing reproductive function is considered experimental due to 1) a possible decrease in the ovarian follicular pool as a result of cryopreservation and thawing procedures (although this has been minimised by improved methods), or by ischemic damage occurring in the graft during ovarian transplantation; and 2) the risk of minimal residual disease for cancer patients which can be defined as reintroducing pre-existing cancer cells in ovarian tissue before cryopreservation. Although the indications for ovarian cryopreservation now extend beyond cancer, cancer survivors remain as the patient population who most commonly need this procedure. For these patients, the risk of minimal residual disease is an important challenge for the application of this method. Even though the risk of reimplanting pre-existing cancer cells through ovarian transplantation is minimal or non-existent for most types of cancer, this risk must be ascertained according to cancer type and disease stage. Moreover, the efficacy of ovarian tissue transplantation is determined by the degree of success in minimising follicular loss. For this purpose, many experiments aim to reduce ischemic damage in transplanted ovarian grafts, and to determine the best methods/protocols for human ovarian cryopreservation, comparing 'slow freezing' and 'vitrification'. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):1-10)

Keywords Human ovary; cryopreservation; transplantation; fertility preservation; minimal residual disease

Öz

Amaç Son yıllarda malign veya malign olmayan hastalık teşhisi alan artan sayıda kadın hasta sitotoksik kemoradyoterapiye maruz kalmıştır. Sitotoksik tedavinin neden olduğu erken overaryan yetmezlik olasılığına maruz kalan kadınlar, overaryum dokusunun dondurularak korunması yoluyla doğurganlık potansiyellerini koruyabilirler. Avantajlarına rağmen, üreme fonksiyonunu kaybetme riski taşıyan kadınlarda bu fertilitte koruma yöntemi henüz deneysel kabul edilmektedir. Bunun en önemli iki nedeni; 1) Overaryan foliküller havuzunda bir azalma durumu: Geliştirilmiş yöntemler ile en aza indirilmiş olmasına rağmen kriyoprezervasyon ve çözölmüş prosedürlerinin bir sonucu olarak ve overaryan transplantasyon esnasında meydana gelen iskemik hasar nedeni ile görölmektedir. 2) Minimal rezidüel hastalık riski: Kanser hastaları için overaryum dokusunda dondurma öncesi var olan kanser hücrelerinin overaryum transplantasyonu yoluyla tekrar hastaya verilme riski olarak tanımlanabilir. Her ne kadar overaryan kriyoprezervasyon endikasyonları kanserin ötesine geçse de, kanserden kurtulanlar bu işleme en çok ihtiyaç duyan hasta popölyasyonudur. Bu hastalar için minimal rezidüel hastalık riski, bu yöntemin uygulanmasında önemli bir sıklıttır. Önceden var olan kanser hücrelerinin yeniden yerleştirilme riski çoğu kanser tipinde olmasa ya da minimal olsa da, bu risk kanser tipine ve hastalık evresine göre tespit edilmelidir. Ayrıca, overaryan doku transplantasyonunun etkinliği, overaryan foliküller kaybın azaltılmasındaki başarı oranı ile ortaya konabilecektir. Bu amaçla çok sayıda deney, transplante over grafitında iskemik hasarı azaltmaya ve insan over dokusunun kriyoprezervasyonunda 'slow freezing' ve 'vitrifikasyon' yöntemlerinin karşılaştırılarak en iyi yöntem/protoköü belirlemeye çalışmaktadır. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):1-10).

Anahtar Kelimeler

İnsan overaryumu; kriyoprezervasyon; transplantasyon; fertilitte koruma; minimal rezidüel hastalık

Introduction

Surgical, medical, and technological developments in cancer therapies have led to improvements in quality of life and survival rates; however, preservation and maintenance of fertility are also of great importance. Women of reproductive age are at risk for a wide variety of cancer types, with breast cancer being the most frequent. Furthermore, 4,000 girls are exposed to chemotherapy (CT) and/or radiotherapy (RT) every year, which may potentially cause sterility. Over the last few decades, cancer therapy during childhood and adolescence has greatly improved survival rates. Whereas the 5-year survival rate has increased from 56% to 64% among adult women, it has increased from 56% to 75% among children.¹⁻³

Factors playing a role in the preservation of fertility are related to age at the time of diagnosis, type, location, and severity of cancer, and also treatment protocols received by the patient. Cancer treatment today consists mainly of conservative surgery, CT, and RT. Using these current treatment modalities in some cancer types, such as breast cancer, cure rates have exceeded 90%. However, there are very few effective clinical methods to preserve female fertility following aggressive CT and RT protocols. The adverse effects of chemotherapeutic agents or radiation on ovarian function are generally progressive, and mostly irreversible, leading to permanent amenorrhea and infertility.⁴

Importantly, these group of patients at risk of losing reproductive function may retain their fertility potential via ovarian tissue cryopreservation. Despite its advantages, this fertility preservation method for women is considered experimental due to 1) a possible decrease in the ovarian follicular pool as a result of cryopreservation and thawing procedures (although this has been minimised by improved methods), or by ischemic damage occurring in the graft during ovarian transplantation; and 2) the risk of minimal residual disease for cancer patients which can be defined as reintroducing pre-existing cancer cells in ovari-

an tissue before cryopreservation.

Although many cancer types do not always metastasise to the ovary, some cancers, such as leukaemia, may confer a high risk due to their systemic nature. Neuroblastoma, breast cancer, and also cancers of gastrointestinal origin may also carry a risk for micrometastasis to the ovary. Histological evaluation of multiple ovarian tissue samples should be performed to minimise this risk before cryopreservation. Moreover, in leukaemia and lymphoma patients, cancer cells should be screened for tumour markers (i.e. b2 microglobulin, LDH, uric acid), and immunohistochemical or other molecular analysis methods should be performed. In patients who undergo oophorectomy due to a genetic predisposition towards ovarian cancer due to mutations of tumour suppressor genes such as BRCA-1 and BRCA-2, implantation of the same tissue confers greater risk of potential future malignancy. This procedure is also not recommended in cases of ovarian cancer, because malignant cells might spread throughout the body again.

Methods For Fertility Preservation

The Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM) has approved sperm cryopreservation in men and assisted reproductive techniques (ART) in women to achieve embryo cryopreservation.⁵ Most fertility preservation strategies are still considered to be at an experimental stage, and do not guarantee full recovery of fertility. Current strategies and future treatment options are shown in Table 1.³

Cryopreservation and Transplantation of Ovarian Tissue

In women, cryopreservation of whole/cortical ovarian tissue before receiving chemo/radiotherapy, and transplantation of thawed ovarian tissue after full recovery is an effective method for preserving fertility. This method has advantages for the preservation of both endocrine function (i.e. regaining ovarian hormonal secretions), and reproductive function (i.e. preserving the oocyte/follicular

Table 1. Fertility preservation methods

1. Cryopreservation of embryos
2. Cryopreservation of ovarian tissue of whole ovary for future transplantation
3. Cryopreservation of oocytes for future fertilisation, embryo retrieval, and transfer
4. Storage of frozen ovarian tissue or primordial follicles isolated from ovarian tissue for in vitro growth and maturation
5. Ovarian transposition before radiotherapy
6. Hormonal prophylaxis with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues
7. Pharmacologic prophylaxis with antiapoptotic (sphingosine-1-phosphate) agents
8. Uterine transplantation in patients with uterine agenesis or non-functional uterus

reservoir).

Cryopreservation of ovarian tissue is a particularly promising method in the preservation of gonadal function during the prepubertal period, in that these patients do not require ovarian stimulation. A partner is not required for the procedure, and it can be applied without any delay. At the same time, the cryopreserved ovarian tissue provides a source of follicles for in vitro maturation (IVM), if necessary. Immature oocytes are smaller than mature ones, and are also more resistant to freezing and thawing procedures. Furthermore, during autotransplantation there is no need for immunosuppressive treatment.

Alkylating agents, such as chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, mechlorethamine, melphalan, and ionising radiation in particular frequently lead to ovarian failure. Among paediatric cancers, in particular Hodgkin's lymphoma, Wilms tumor, B-cell nonHodgkin lymphoma (B-NHL), which are treated with RT or alkylating agents, ovarian cryopreservation can be regarded as a suitable alternative treatment.^{6,7}

After accumulating sufficient experience in experimental ovarian autograft studies in animals, the same technique is now being applied in humans.⁸ However, due to technical and ethical issues [Fig. 1], this treatment is still considered experimental in humans, although there is a wide range of indications for ovarian tissue cryopreservation, as shown

in Table 2.

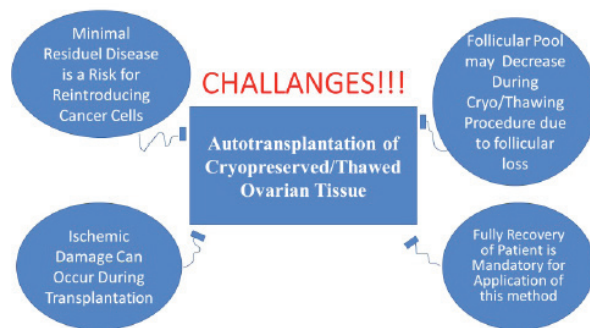


Figure 1. Challenges for cryopreservation and transplantation of ovarian tissue

Ovarian Follicular Pool and Cryopreservation Procedures (Slow Freezing versus Vitrification)

First of all, a possible decrease in the ovarian follicular pool as a result of cryopreservation and thawing procedures is the first challenge of autograft applications. In the last decades, researchers are intensively trying to determine the best method of human ovarian cryopreservation by comparing the two methods, 'slow freezing' and 'vitrification'. Currently, the most common methods for the evaluation of cryopreserved ovarian tissue in terms of its functionality are as follows; investigation of histomorphological changes, apoptotic gene expressions and immunohistochemical localization of protein markers for proliferation and apoptosis. However, these end-points do not reflect true ovarian function. The gold standard for the success of

Table 2. Indications for ovarian tissue cryopreservation	
Cancer in children	Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma
	Leukaemia
	Ewing's sarcoma
	Wilms' tumour
	Neuroblastoma
	Pelvic osteosarcoma
	Genital rhabdomyosarcoma
Breast cancer	Infiltrative ductal histological subtype
	Infiltrative lobular
	Stage I–III
	Stage IV
Cervical cancer	Squamous cell carcinoma
	Adeno/adenosquamous carcinoma
Autoimmune and haematological diseases	Systemic lupus erythematosus
	Behçet's disease
	Steroid resistant glomerulonephritis
	Inflammatory bowel disease
	Pemphigus vulgaris
	Rheumatoid arthritis
	Progressive systemic sclerosis
	Juvenile idiopathic arthritis
	Multiple sclerosis
	Autoimmune thrombocytopenia
	Aplastic anaemia
Sickle cell disease	
Benign ovarian disease	Endometriosis
	Benign ovarian lesions requiring repeated surgeries
Patients receiving pelvic radiation	Ewing's sarcoma
	Osteosarcoma
	Tumours of the spinal cord
	Retroperitoneal sarcoma
	Rectal cancer
	Benign bone tumours
Prophylactic oophorectomy	BRCA-I-positive patients
	BRCA-II-positive patients
Hematopoietic stem cell transplantation	Malignant diseases
	Genetic, haematological, and autoimmune disorders

a fertility preservation method is live birth, which can take several years to achieve.^{9,10}

The results of previous studies comparing the two methods are controversial due to various protocols employed for cryopreservation. But apparently, slow freezing and vitrification of human ovarian tissue result in similar morphological integrity, estradiol release, follicular proliferation and apoptosis rate, *in vitro*.¹¹

Zhou et al. in 2016 showed that vitrification and slow freezing techniques result in equivalent numbers of intact primordial follicles.¹² Herraiz et al. demonstrated that vitrification of bovine ovary using ethylene glycol (EG), dimethyl sulfoxide (DMSO), sucrose, and synthetic serum substitute offers higher follicular density, proliferation, and viability, lower cell death and, could preserve a larger population of quiescent follicles than slow freezing or other vitrification protocols.¹³

Moreover, Luyckx et al. have reported that transplantation of human cryopreserved prepubertal ovarian tissue to mice demonstrated that a very high number of follicles survive after transplantation and a large pool of primordial follicles remains dormant. In addition, growing follicles were observed, proving the responsiveness of prepubertal ovarian tissue to gonadotropins.¹⁴

Actually, the two methods have their own advantages and disadvantages. Slow freezing, which is known as equilibrium freezing, requires low concentration of cryoprotectants which is less toxic, but may be insufficient for avoiding ice crystal formation within the cells. It is more time consuming and requires an expensive programmable freezing machine, Vitrification is now regarded as a potential alternative to the conventional slow freezing method. This method is a non-equilibrium ultra-rapid method of cryopreservation with extremely fast rates of cooling where by embryo/ovarian tissue is transitioned from 37°C to -196°C (in liquid nitrogen) in <1 minute. It has the advantage of

preventing ice crystal formation by a short exposure to high concentrations of cryoprotectants with low water content and eliminating the use of expensive equipments. The main drawback is exposure of the tissue to a high concentration of cryoprotectants which may have a detrimental effect. This can be minimized by allowing a very short exposure i.e. 30-40 seconds, combining several cryoprotectants and using a less toxic cryoprotectant. Some of the commonly used cryoprotectants are DMSO, glycerol, ethylene glycol, propanediol, and sugars.¹⁵

Loss of Follicle due to Post-transplantation Ischemia

The second main challenge for autograft applications is the post-transplantation ischemia which reduces the lifespan of a graft, and causes massive loss of follicles in the early stages after transplantation. In fact, ischemia is much more detrimental to ovarian tissue than freezing/thawing injuries.¹⁶

Although ovarian tissue is well endowed with angiogenic factors, the process of angiogenesis requires more than 48 h to revascularise a cortical slice; thus, ovarian grafts are subject to hypoxia, which leads to follicular loss. The survival rate of primordial follicles after transplantation ranges from 5% to 50%. Though the ovary becomes revascularised within 48 h after transplantation in rodents, revascularisation may occur more slowly in human ovarian grafts, as they are inherently more fibrous, with a reduced follicle density.¹⁷ In this context, one of the most important questions to be resolved for successful ovarian transplantation is how to minimise ischemic injuries before and during the establishment of angiogenesis in ovarian grafts. Because ovarian reserve correlates with the number of follicles in the ovary, the significant follicular loss caused by ischemia after transplantation can directly affect ovarian reserve and subsequent longevity of ovarian function. Thus, the degree of success in minimising follicular loss will determine the efficacy of ovarian tissue transplantation. In recent years, many experiments have aimed to

reduce ischemic damage in transplanted ovaries. For instance, Nugent et al. reported that antioxidant treatment using vitamin E improved the survival of follicles in ovarian grafts by reducing ischemic injury.¹⁸

In this context, we have an ongoing research project investigating whether catenastatin, a novel proangiogenic agent reduces ischemic tissue damage and protects cryopreserved/thawed ovarian tissue grafts in rats against apoptosis and follicular loss. Vitrification was used as the cryopreservation method, and whole ovarian autotransplantation to the back muscle was performed. Our preliminary data shows that both freeze/thaw and transplantation cause a significant loss of follicular pool and that much more primordial and primary follicles degenerate from ischemia and reperfusion than from freezing/thawing injury (Figure 2; A-D) (Project number: TSA-2016-1830, Akdeniz University BAP Research Project Commission, Project title: The investigation of the effects of cryopreservation and autotransplantation of rat ovarian tissue on the expression of angiogenic factors and mast cells and the effect of catenastatin application on these values.)

Moreover, recent investigations also suggest that microvascular transplantation of cryopreserved whole ovaries may allow immediate revascularisation, ensuring better fertility preservation.

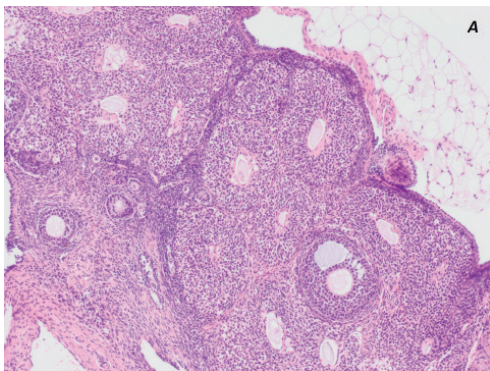
Reimplantation of the Primary Tumour

One of the most important concerns with ovarian tissue cryopreservation is the possibility of re-seeding a tumour. Theoretically, ovarian tissue may carry micro-metastases that could “re-infect” a patient who had been previously cured of her cancer.

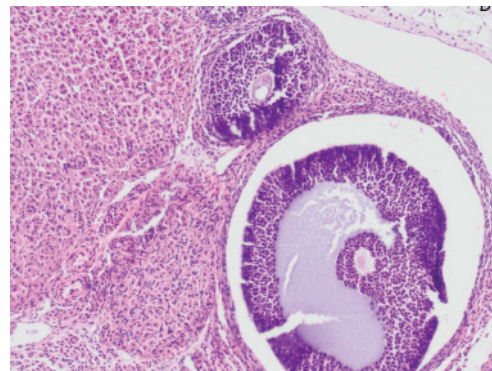
Ovarian transplantation might be particularly risky in blood-born malignancies, such as leukaemia, in which cancer cells are already in the blood, and therefore presumably within the cryopreserved ovarian tissue. Shaw et al. showed that fresh and cryopreserved ovarian tissue samples taken from donors with lymphoma transmitted the cancer into previously healthy graft recipients.¹⁹

Ideally, ovarian tissue cryopreservation should be performed in patients with a low risk of cancer metastasis to ovaries. Most of the malignancies encountered in the re-

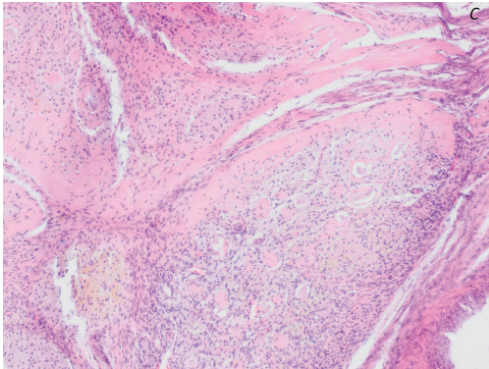
Fig 2. (A-D) Histologic illustrations of ovarian tissue from wistar rats (4-6 weeks' of age) (H&E)



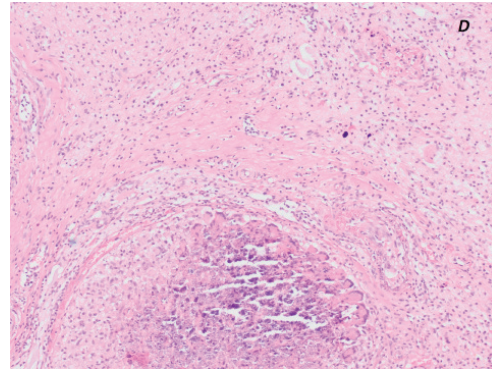
(A) Control group. Normal ovarian histological appearance with a large pool of primordial follicles, besides intact primary and secondary follicles are seen (x100).



(B) Frozen-thawed ovarian tissue. Diminished pool of primordial follicles, besides degenerated primary and secondary follicles are observed (x100).



(C) Fresh ovarian tissue after grafting. A few intact primordial and growing follicles besides many atrophic follicles were observed (x100).



(D) Frozen-thawed and grafted ovarian tissue. Many atrophic follicles and degenerated primary follicles, besides a few intact primordial follicles are seen. Dystrophic calcification and necrosis can also be noticed (x100).

productive years do not metastasise to the ovaries. The risk of ovarian metastasis according to cancer type is shown in Table 3.

As summarised by Sönmezer and Oktay, the cancers with high risk of ovarian involvement are leukaemia, Burkitt's lymphoma, neuroblastoma, and genital rhabdomyosarcoma.²⁰⁻²³ Patients with high-risk cancers should not be given the option of ovarian autotransplantation, or ovarian tissue harvest should be performed after the first round of CT to ablate any neoplastic cells residing within the ovary.²⁴ However, this method of application carries a risk of diminishing the ovarian reserve with each cycle of CT.

To eliminate reimplantation of the primary tumour, alternative techniques, such as IVM of primordial follicles or ovarian tissue xenografting, can be applied in patients with a high risk of minimal residual disease.^{25,26} Regardless of the risk of the cancer involved, a histological assessment for micrometastases must be made on portions of the removed ovarian tissue before cryopreservation to avoid transplanting tissue that contains cancer.²⁷

Currently, there is no guarantee that ovarian tissue transplantation in a woman in whom the tissue was collected at the time of active cancer disease can be regarded as 100%

disease-free and safe. Confidential and simple methods to detect whether the ovarian tissue to be transplanted harbours cancer cells are urgently needed and further research is required.

The most frequently used in vitro methods to detect malignant cell contamination in ovarian tissue that are available for individual patients include; histology, immunohistochemistry, and detecting molecular markers using reverse transcription/quantitative polymerase chain reaction (RT/QPCR). Although each of these methods has its individual strengths and weaknesses, none of them is perfectly suited to detect malignant cells. Histology has been validated for many years, and the use of immunohistochemistry is also prevalent. However, both methods are relatively insensitive. Immunohistochemistry is also prone to both false-negative and false-positive results.²⁸ Molecular markers are highly sensitive, but detecting genetic material from nonviable malignant cells that do not survive may also occur.²⁹ Furthermore, most tumours do not display any detectable molecular markers.

Importantly, patients should be fully aware that pieces of tissue used for grafting cannot be fully checked for contamination with residual disease, and that safety cannot be 100% guaranteed. On the other hand, if residual ma-

Table 3. The risk of ovarian metastasis.				
Low risk		Moderate risk		High risk
Squamous cell carcinoma of the cervix		Breast cancer	Stage IV	Leukemia
Ewing's sarcoma		W	Infiltrative lobular	Burkitt's lymphoma
Breast cancer	Stage I–III	Colon cancer (including tumors of rectum and appendix)		Neuroblastoma
	Infiltrative ductal	Adeno/adenosquamous carcinoma of the cervix		Genital rhabdomyosarcoma
Wilms' tumor		Upper gastrointestinal system malignancies		
Non-Hodgkin's lymphoma				
Hodgkin's lymphoma				
Osteogenic sarcoma				
Non-genital rhabdomyosarcoma				

lignant cells have been localised to ovarian tissue, ovarian tissue transplantation should obviously not be performed. Generally, a cancer patient is considered disease-free after treatment, which may imply that malignant cells are not completely absent from the patient but only present at sub-clinical levels. However, the actual number of malignant cells is unknown. The question is therefore: how many malignant cells are necessary to cause a relapse? Again, the answer is unknown in humans for most cancers, but studies in rats have shown that just a few malignant leukemic cells are sufficient to cause a relapse^{30,31}

The number of malignant cells introduced back into the patient is dependent on the number of ovarian tissues transplanted. The number of autotransplanted tissues may vary from three fragments to more than ten, and this will clearly impact the number of malignant cells potentially transplanted. However, the number of cells needed to cause relapse in connection with ovarian tissue transplantation in humans is completely unknown.

Finally, the contributions of cancer stem cells (CSCs) to cancer progression should also be emphasised here. These cells, which were first identified in leukaemia, are a population of stem-like cells. They have been reported to possess the abilities of self-renewal, invasion, metastasis, and engraftment of distant tissues. The CSC hypothesis attempts to explain tumour cell heterogeneity based on the existence of stem cell-like cells within solid tumours. In fact, the elimination of CSCs is challenging for most human cancer types due to their heightened genetic instability and increased drug resistance.³² In this context, the detection of CSCs in an ovarian graft is of great importance, and requires further investigation.

Orthotopic and/or Heterotopic Transplantation of Ovarian Tissue

The most frequently applied method for cryopreservation and transplantation of ovarian tissue is reimplantation of small frozen cortical sections of ovary retrieved from the patient before initiation of cancer therapy. After treatment is terminated and remission achieved, those frozen tissue

specimens are thawed, and subjected to orthotopic and/or heterotopic autotransplantation.³ In orthotopic transplantation of ovarian tissue, after tissue sections are thawed, they are placed in their proper anatomical place in the ipsilateral or contralateral ovary or immediately beneath this area. Thus, this procedure enables natural fertilisation, but on the other hand, it requires abdominal surgery and general anaesthesia. A laparoscopic approach, which is less invasive, is an alternative to abdominal surgery.

Ovarian stimulation in female patients after orthotopic autotransplantation of frozen/thawed ovarian cortical tissue has successfully achieved ovulation.²⁵ Donnez et al. published the first case of successful pregnancy and live birth in a patient with a previous history of CT and RT for lymphoma treatment who had undergone autotransplantation with frozen/thawed ovarian tissue.⁶ Meirow et al. also performed in vitro fertilisation and reported the first case of live birth following orthotopic autotransplantation of frozen ovarian tissue in a patient who had developed premature ovarian failure after CT.⁷

In heterotopic autotransplantation of ovarian tissue, the graft is implanted in subcutaneous tissue of the forearm or abdominal wall. The advantage of heterotopic autotransplantation is that the surgery is less invasive. Furthermore, it does not require general anaesthesia and the surgical wound heals rapidly. However, it is difficult to monitor follicular maturation, and there is no chance of spontaneous pregnancy. Restoration of ovarian function has been reported an average of 2 years following implantation of heterotopic autografts to subcutaneous tissue covering the brachioradial fascia of the forearm. Researchers have even percutaneously aspirated oocytes in a patient.⁹ Since the first birth in 2004, more than 20 healthy children have been born worldwide to women who underwent autotransplantation of frozen/thawed ovarian cortex.³³⁻³⁷

Conclusions

As techniques improve and clinical indications expand, ovarian tissue cryopreservation offers the ability to protect and extend reproductive capacity. Other clinical options for women and girls who face a high likelihood of diminished or absent ovarian reserve resulting from obligatory disease treatments may be limited or non-existent. However, before cryopreservation of ovarian tissue becomes as a practice, well-standardised and improved methods are required for all stages of the procedure, from the freeze/thaw process to transplantation. The development of strict evaluation criteria regarding the risk of reintroducing malignant cells via transplantation of ovarian grafts is also mandatory. The emerging role of CSCs in ovarian grafts should also be investigated further in different types of cancer.

Finally, when seeking patient consent for ovarian tissue cryopreservation, a thorough discussion must ensue regarding the fate of the tissue and the inherent procedural risks to the health of the patient. Moreover, clinicians must consider that many patients might not fully recover from their illness, and may experience a chronic course of the disease. Therefore, every patient should be carefully assessed individually.

References

- American Cancer Society. Special section: obesity. *Cancer Facts and Figures 2001*. 1st ed. Atlanta GA: National Media Office; 2001; 20-7.
- Blatt J. Pregnancy outcomes in long-term survivors of childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 1999; 33:29-33.
- Bedaiwy MA, Shahin AY, Falcone T. Reproductive organ transplantation: advances and controversies. *Fertil Steril* 2008; 90:2031-55.
- Howell SJ, Sharlet SM. Fertility preservation and management of gonadal failure associated with lymphoma therapy. *Curr Oncol Rep* 2002; 4:443-52.
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in cancer patients. *Fertil Steril* 2005; 83:1622-8.
- Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 364:1405-10.
- Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med* 2005; 353:318-21.
- Torrents E, Boiso I, Barri PN, Veiga A et al. Applications of ovarian tissue transplantation in experimental biology and medicine. *Hum Reprod Update*. 2003;9:471-81.
- Ting A. Y., RR Yeoman, Campos JR, Lawson M.S., Mullen S.F., Fahy G.M. et al. Morphological and functional preservation of pre-antral follicles after vitrification of macaque ovarian tissue in a closed system. *Human Reproduction*, 2013, 28.5: 1267-1279.
10. Dalman A. NSDG Farahani, Totonchi M., Pirjani R., Ebrahimi B., Valojerdi M.R., et al. Slow freezing versus vitrification technique for human ovarian tissue cryopreservation: An evaluation of histological changes, WNT signaling pathway and apoptotic genes expression. *Cryobiology*, 2017, 79: 29-36.
- Klocke S., Bündgen N., Köster F., Eichenlaub-Ritter U., Griesinger G. Slow-freezing versus vitrification for human ovarian tissue cryopreservation. *Archives of gynecology and obstetrics*, 2015, 291.2: 419-426.
- Zhou XH, Zhang D, Shi J, Wu YJ. Comparison of vitrification and conventional slow freezing for cryopreservation of ovarian tissue with respect to the number of intact primordial follicles: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Sep;95(39):e4095.
- S. Herraiz, E. Novella-Maestre, B. Rodriguez, C.Díaz, M. Sánchez Serrano, V. Mirabet, et al. Improving ovarian tissue cryopreservation for oncologic patients: slow freezing versus vitrification, effect of different procedures and devices. *Fertil. Steril.*, 101 (2014), pp. 775-784.
- Luyckx V , Scalercio S, Jadoul P, Amorim CA, Soares M, Donnez J, et al. Evaluation of cryopreserved ovarian tissue from prepubertal patients after long-term xenografting and exogenous stimulation. *Fertil Steril*. 2013;100(5):1350-7.
- Son WY, Tan SL. Comparison between slow freezing and vitrification for human embryos. *Expert review of medical devices*, 2009, 6.1: 1-7.
- Aubard, Y., Piver, P., Cogni, Y., Fermeaux, V., Poulin, N., Driancourt, M.A. Orthotopic and heterotopic autografts of frozen-thawed ovarian cortex in sheep. *Hum Reprod*. 1999; 14: 2149-2154.
- Dissen, G. A., Lara H.E., Fahrenbach W. H. ,Costa M.E., Ojeda S.R.. "Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show a gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression." *Endocrinology* 134.3 (1994): 1146-1154.
- Nugent D., et al. Protective effect of vitamin E on ischaemia-reperfusion injury in ovarian grafts. *Journal of reproduction and fertility*, 1998, 114.2: 341-346.
- Shaw JM, Bowles J, Koopman P, et al. Fresh and cryopreserved ovarian tissue from donors with lymphoma, transmit the cancer to graft recipients. *Hum Reprod* 1996; 11:1668-73.
- Sommezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004; 10:251-66.
- Chu JY, Craddock TV, Danis RK, et al. Ovarian tumor as manifestation of relapse in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1981; 48:377-9.
- Yada-Hashimoto N, Yamamoto T, Kamiura S, et al. Metastatic ovarian tumors: a review of 64 cases. *Gynecol Oncol* 2003; 89:314-7.
- McCarville MB, HillDA, Miller BE, et al. Secondary ovarian neoplasms in children: imaging features with histopathologic correlation. *Pediatr Radiol* 2001; 31:358-64.
- Sommezer M, Shamonki MI, Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation: benefits and risks. *Cell Tissue Res* 2005; 322:125-32.
- Oktay K, Newton H, Mullan J, et al. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13:1133-8.
- Oktay K, Newton H, Gosden RG. Transplantation of cryopreserved human ovarian tissue results in follicle growth initiation in SCID mice. *Fertil Steril* 2000; 73:599-603.
- Oktay KH, Yih M. Preliminary experience with orthotopic and heterotopic transplantation of ovarian cortical strips. *Semin Reprod Med* 2002; 20:63-74
- Rosendahl M, Tolstrup Andersen M, et al. Evidence of residual disease in cryopreserved ovarian cortex from female patients with leukaemia. *Fertil Steril*. 2010; 94:2186-90.
- Bastings L, Beerendonk CC, Westphal JR, et al. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing malignancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2013; 19:483-506.
- Hou M, Andersson M, Eksborg S, et al. Xenotransplantation of testicular tissue into nude mice can be used for detecting leukemic cell contamination. *Hum Reprod*. 2007; 22:1899-906.
- Jahmukainen K, Hou M, Petersen C, et al. Intratesticular transplantation of testicular cells from leukemic rats causes transmission of leukemia. *Cancer Res*. 2001; 61:706-10.
- Lee D, Suh DS, Lee SC, Tigyi GJ, Kim JH. Role of autotaxin in cancer stem cells. *Cancer Metastasis Rev*. 2018. doi: 10.1007/s10555-018-9745-x.
- Dittrich R, Lotz L, Keck G, et al. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril*. 2012; 97:387-90.
- Donnez J, Silber S, Andersen CY, et al. Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. A review of 13 live births. *Ann Med*. 2011; 43:437-50.
- Revel A, Laufer N, Ben MA, et al. Micro-organ ovarian transplantation enables pregnancy: a case report. *Hum Reprod*. 2011; 26:1097-103.
- Silber SJ. Ovary cryopreservation and transplantation for fertility preservation. *Mol Hum Reprod*. 2012; 18:59-67.
- Andersen CY, Silber SJ, Bergholdt SH, et al. Long-term duration of function of ovarian tissue transplants: case reports. *Reprod Biomed Online*. 2012; 25:128-32.

Diyabetik Hastalarda Amputasyon Sonrası Yara İyileşmesi ve Bakım

Wound Healing and Care After Amputation in Diabetic Patients

Seda AKUTAY, Özlem Ceyhan

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik ABD, Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği BD, KAYSERİ, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Özlem Ceyhan

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, 38039, Melikgazi/Kayseri

T: +90 542 667 65 04 E-mail: ozlemceyhan06@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.12.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 21.02.2019

Öz

Diyabette bozulan glikoz metabolizması dokular üzerinde yıkıcı etkilere sahiptir. Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) verilerine göre 2017 yılında dünya genelindeki 425 milyon diyabetli bireyden yaklaşık 6.7 milyonu Türk toplumunda bulunmaktadır. Diyabetik ayak, yüksek kan glikozunun sinir ve damar hasarı gibi yıkıcı etkileri sonucunda ortaya çıkan alt ekstremitelerde görülen minör bir travmayı takiben gelişen ülser, enfeksiyon ve derin doku hasarıdır. Diyabetik ayak dünya genelinde her 20 saniyede bir ayak kaybına neden olmaktadır. Ayak yaraları diyabetik popülasyonda %80 oranında majör amputasyonla sonuçlanabilen durumlardır. Yara bakımı tüm cerrahi hastalarında olduğu gibi diyabetik amputasyon geçiren bireylerde de enfeksiyon ve yeniden amputasyonları önlemek açısından önemlidir. Diyabete bağlı bozulan yara iyileşmesi amputasyon sonrası süreçte de bireyi etkilemektedir. Steril teknikle yapılacak pansuman, negatif basınçlı yara tedavisi gibi uygulamalar iyileşmeyi destekleyerek yara iyileşme sürecini hızlandırabilecek yöntemlerdir. Bu makale diyabetik hastalarda amputasyon sonrası yara iyileşme süreci ve yara bakımı konusunda farkındalık yaratmak amacıyla yazılmıştır. (Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):11-15)

Anahtar Kelimeler

Amputasyon; diyabetik ayak; yara iyileşmesi

Abstract

The impaired glucose metabolism in diabetes has destructive effects on tissues. According to the International Diabetes Federation (IDF) data in 2017, approximately 6.7 million out of 425 million diabetic patients worldwide are in the Turkish population. Diabetic foot is a ulcer, infection and deep tissue damage following minor trauma in lower extremities resulting from destructive effects of high blood glucose, nerve and vascular damage. Diabetic foot causes loss of foot every 20 seconds through out the world. Foot wounds are those that can result in 80% of the major amputation in the diabetic population. As with all surgical patients, wound care is important to prevent infection and re-amputations in individuals with diabetic amputation. Worsening wound healing due to diabetes affects the individual in the post-amputation period. Applications such as dressing with sterile technique, negative pressure wound treatment, injection of growth factors to the wound site, hyperbaric oxygen therapy are methods that can accelerate the wound healing process by supporting healing. This article was written to raise awareness about the factors affecting wound healing processes in amputations with diabetic patients. (Sakarya Med J 2019, 9(1):11-15).

Keywords Amputation; diabetic foot; wound healing

GİRİŞ

Diyabetes mellitus, pankreastaki beta hücrelerinden insülin hormonu üretiminde ya da dokulardaki insülin kullanımında bir bozukluktan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki değişikliklerle karakterize, kronik bir hastalıktır.¹ Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) verilerine göre 2017 yılında dünya genelinde 425 milyon diyabetli birey bulunmakla birlikte bu sayının 2045 yılında 629 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Yine aynı verilerde Türk toplumunda diyabet görülme sıklığı %12.8 ve diyabetli insan sayısı yaklaşık 6.7 milyon olarak belirtilmiştir. Diyabete bağlı küresel sağlık harcamasının ise 2017 yılında 727 milyar dolar olduğu belirlenmiştir.² Bakım maliyeti bu kadar yüksek olan diyabette ayak yaraları yaygın görülen bir komplikasyon olup dünyada her 20 saniyede bir ayak kaybına neden olmaktadır.³

Diyabetik Ayak Yaraları

Diyabetik ayak genellikle nöropatik, iskemik ve nöro-iskemik olarak sınıflandırılmaktadır. Nöropatik ayak, diyabetik nöropatinin motor, duyuşsal ve otonomik bileşenlerinin bir sonucudur. Motor nöropatide, ayağın intrinsik kaslarının ilerleyici atrofisine bağlı ayak deformiteleri ortaya çıkmaktadır. Duyusal nöropatide ağrı algısı bozulduğu için ayak travmalara ve yara oluşumuna karşı korunmasız kalmaktadır. Otonomik nöropatide cilt kuru ve çatlak bir hal aldığı için diyabetik ayak yaralarının oluşumu risk faktörüdür. İskemik ayak hızlı ve ilerleyici bir durumdur ve alt ekstremitelerde ayak enfeksiyonu riskini arttırmaktadır.⁴ Nöro-iskemik ayakta ise hem nöropatik hem de iskemik olaylar birlikte görülmektedir.

Diyabetik Ayak Yaraları ve Amputasyon

Diyabetik ayak, periferik nöropatiye bağlı sinir hasarı ve periferik damarlardaki ateroskleroz gibi nedenlerle alt ekstremitelerde görülen minör bir travmaya bağlı gelişen ülser, enfeksiyon ve derin doku hasarıdır.^{5,6} Diyabetik ayak yaralarından %60 oranında nöropati sorumludur.⁷ Diyabetik ayak görülme sıklığı erkeklerde ve Tip 2 diyabet hastalarında daha fazladır.⁸ Diyabetik hastalardaki nöro-

pati, iskemi ve immünsüpresyon gibi nedenler dirençli enfeksiyonların gelişmesine neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların kemiğe kadar ilerlemesi sıklıkla amputasyona ve hatta ölüme neden olabilmektedir.^{9,10} Amputasyonlar için tanımlanan en yaygın endikasyonlar gangren, enfeksiyon ve iyileşmeyen yaralardır.¹¹ Ülkemizde yapılan amputasyon sayısı Sağlık Bakanlığı verilerine göre yılda yaklaşık 12000 civarındadır.¹² Travmatik nedenler dışındaki amputasyonların %50'si diyabete bağlı olarak gerçekleşmektedir.⁶ Diyabetik amputasyonların %45-85'i önlenebilir nedenlerden kaynaklanmaktadır.^{13,14} Nöropati, enfeksiyon ve iskeminin iyi yönetilememesinden kaynaklanan ayak yaraları diyabetik popülasyonda %80 oranında majör amputasyonla sonuçlanabilen durumlardır.¹³

Diyabette Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi birbiriyle ilişkili hemostaz, inflamasyon, epitel doku oluşumu ve oluşan dokunun yeniden şekillenmesi gibi birçok olayın bir arada gerçekleştiği bir süreç olduğu için, bu süreçte meydana gelecek değişiklikler yaranın kronikleşmesine ve iyileşmenin gecikmesine yol açabilmektedir.¹⁵ Normal yara iyileşmesinde enflamatuvar hücrelerin yara yatağına göçüyle uyarılan büyüme faktörlerinin etkisiyle meydana gelen endotel hücre proliferasyonu, anjiogenezis, kollajen sentezi gibi olaylar diyabette değişikliğe uğradığı için yara iyileşmesini geciktirebilmektedir.^{16,17}

Diyabetik hastalarda gelişen mikrovasküler (nöropati, retinopati, nefropati) ve makrovasküler (koroner arter hastalığı, perifer arter hastalığı, serebrovasküler hastalıklar) komplikasyonların temelinde yatan neden hiperglisemidir.¹⁸ Hiperglisemi diyabetik hastalarda lökosit fonksiyonunu bozarak nötrofil ve makrofajların yaraya yetersiz göçüne neden olmaktadır. Bu tür hücresel değişiklikler diyabetik bireyleri yara enfeksiyonu riskine yatkın hale getirebilmektedir.¹² Ayrıca hastaların bozulan glikoz metabolizmaları normal koşullarda hipoksi durumunda hücreleri uyaran, düşük oksijen basıncına karşı doku ve hücrelerin adaptasyonunu sağlayan, hücre çoğalması, anjiogenezis

gibi işlevlere sahip olan hipoksiyle indüklenen faktör-1 (HIF-1) proteininin fonksiyonunu bozarak tüm iyileşme süreçlerini etkileyen bir yalancı hipoksiye neden olmaktadır.^{4,19} Bunun yanı sıra hiperglisemi kollajen sentezini de bozarak yaranın kapanmasını geciktirebilmektedir.¹⁶ Tüm bu sebepler diyabette yara iyileşmesini etkilemektedir.

Diyabetik Amputasyon Sonrası Yara İyileşmesinde Bakım

Amputasyon süreci bireyi ve ailesini etkileyen kompleks bir süreçtir. Bu süreçte bireye verilecek olan bakım, hem bireyin cerrahi işleme bağlı oluşan yara bakım sürecini hem de ağrı yönetimi, postoperatif komplikasyonların takibi ve önlenmesi, eğitim, hasta güvenliği, mobilizasyon, beslenme ve rehabilitasyon gibi hasta gereksinimlerinden doğan çok yönlü bir süreci kapsamalıdır.

Yara bakımı tüm cerrahi hastalarında olduğu gibi diyabetik amputasyon geçiren bireylerde de enfeksiyon ve yeniden amputasyonları önlemek açısından son derece önemlidir. Diyabete bağlı bozulan yara iyileşme süreci amputasyon sonrasında da bireyi etkilemektedir. Amputasyon güdüğü yüksek kan glukozu, yetersiz kan dolaşımı ve zayıflmış bağışıklık sistemi gibi nedenlerle sıklıkla enfekte olmaktadır.²⁰ Yara alanının kanlanması ve oksijenlenmesinin desteklenmesi, yaranın enfeksiyon ve travmalardan korunması iyileşme sürecinde önemlidir.²¹

Yara iyileşmesinde hücrelere gereksinim duyduğu enerjiyi sağlamak için beslenme de bir diğer önemli faktördür. Karbonhidrat, yağ, protein, vitamin ve minerallerin dengeli alımı hücre yenilenmesi ve doku onarımını sağlarken, besin eksiklikleri yara iyileşmesinde gecikmeye neden olarak yaranın kapanmasında gecikme ve enfeksiyona neden olabilir. Yara iyileşmesinde; enerji kaynağı olarak karbonhidratlara, hücre membranının yenilenmesi için yağlara, dokunun direncini sağlayacak kollajenin yapımı ve immün sistemi güçlendirmek için protein, vitamin ve minerallere ihtiyaç duyulmaktadır.^{22,23} Armstrong ve arkadaşlarının yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada,

diyabetik ayak ülserinde yara iyileşmesine protein desteğinin etkisini incelemişler ve 270 hastaya 16 hafta boyunca verilen protein destek içeceğinin yara iyileşmesinde hızlanma sağladığını saptanmışlardır.²⁴ Diyabetik ayak ülseri olan 57 hastayla yapılmış bir başka randomize kontrollü çalışmada magnezyum ve E vitamini desteğinin ülser büyüklüğü üzerinde olumlu etkisi olduğu bulunmuştur.²⁵

Amputasyon sonrası süreçte yara yeri; kanama, enfeksiyon, ödem ve travma açısından gözlenmelidir. Vital bulgular ameliyat sonrası dönemde kanama ve enfeksiyon bulguları açısından değerlendirilmeli, nörovasküler değerlendirme (duyu, ödem, ağrı, nabız, hareket, cilt rengi ve ısı) kalan ekstremitede (güdük) dolaşımını sağlamak için yakından takip edilmelidir.

Ameliyat sonrası süreçte aseptik koşullara uygun gerçekleştirilen pansuman teknikleri, negatif basınçlı yara kapatma tedavisi gibi tedaviler iyileşmeyi destekleyerek yara iyileşme sürecini hızlandırır. Böylece güdüğün proteze hazırlanması kolaylaştırılmış olur. Steril tekniklere uyularak gerçekleştirilen güdük bakımı hızlı iyileşmeye ve güdüğün fonksiyonlarını daha kısa sürede kazanmasına yardımcı olmaktadır. Diz altı seviyeden ampute edilen 20 hastanın dahil edildiği, amputasyon güdüğünde ödem kontrolünün sağlanmasında elastik bandaj uygulaması ile bandajlamaya ek olarak masaj ve güdüğün elevasyona alındığı kompleks boşaltıcı terapi (KBT) yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada KBT uygulanan hastalarda kalıcı proteze geçişin daha kısa sürede gerçekleştiği saptanmıştır.²⁶

Negatif basınçlı yara tedavisi (NBYT) yaradaki boşluğu dolduran özel bir sünger ve bir aspiratör yardımıyla aralıklı ya da devamlı olarak yaradaki fazla eksudayı uzaklaştıran ve yaranın hızla iyileşmesini sağlayan bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda amputasyon sonrası yara iyileşmesinde kullanılan NBYT'nin standart nemli pansumana oranla daha hızlı iyileşmeye katkı sağladığı ve birçok klinisyen tarafından standart nemli pansumana göre tercih edildiği görülmüştür.²⁷⁻²⁹

Kronik yaralarda NBYT tedavisinin etkinliğini ölçen bir çalışmada diyabetik ayak nedeniyle amputasyon yapılan 2 hastada NBYT sonrası enfeksiyon bulgularının gerilediği ve yaraların kapandığı görülmüştür.³⁰ Diyabetik ayak ülseri nedeniyle kısmi ayak amputasyonu yapılan 65 hastada yapılan NBYT ile klasik nemli pansumanın karşılaştırıldığı retrospektif bir çalışmada NBYT ile yara bakımında %90'a varan granülasyon dokusuyla daha başarılı sonuçların elde edildiği görülmüştür.³¹ Bir diğer çalışmada diyabetik ayak yarası olan 40 hastanın yarısına NBYT ve debridman, yarısına ise pansuman ve debridman uygulanmıştır. NBYT uygulanan hastaların yaralarının daha kısa sürede iyileştiği ve amputasyon oranlarının daha az olduğu görülmüştür.³²

Diyabetik yaraların tedavisinde aktif yara kapama tekniği olarak, negatif basınçlı yara kapatma tedavisinin yanı sıra, hiperbarik oksijen tedavisi, çeşitli debridman tedavileri (Maggot tedavisi, enzimatik debridman), yaraya büyüme faktörlerinin enjeksiyonu ve greft uygulama gibi çeşitli tedaviler de kullanılmaktadır.³³

Hiperbarik oksijen tedavisi, yaraya 1.5 ila 3 atmosfer basıncında 1-2 saate kadar değişen sürelerde %100 oksijen verilmesi esasına dayanan tedavi şeklidir. Etki mekanizması tam olarak anlaşılmasa da ilk teoriler dokudaki arteriyel oksijen basıncı artışını sağlayarak vazokonstriksiyona neden olduğu yönündedir. Böylece venöz sistemde sıvı emilimi artar ve ödem azalır. Bu durum yara bölgesinde dokunun perfüzyonunu artırarak yara iyileşmesini kolaylaştırır.³⁴ Hiperbarik oksijen tedavisinin ayrıca diyabette bozulan angiogenezisi artırarak iyileşmeye yardımcı olduğu düşünülmektedir. Enfekte diyabetik ayak nedeniyle antibiyotik tedavisine ek olarak hiperbarik oksijen tedavisi alan 30 hastayla yapılan bir çalışmada hastaların 19 unda klinik iyileşme görülürken, 11 hastada etkin tedavi sağlanamadığı belirlenmiştir.³⁵ Diyabetik ayak yarası olan ve hiperbarik oksijen tedavisi uygulanan 48 hastanın tedavi öncesi ve sonrası yara iyileşmesinde İnsüline Benzer Büyüme Faktörü-1 (IGF-1) seviyelerindeki değişimin incelendiği

bir çalışmada, 40 hastada tam iyileşme sağlandığı ve iyileşen grupta büyüme faktörlerinin anlamlı şekilde yüksek bulunduğu görülmüştür.³⁶

Maggot tedavisi, laboratuvar koşullarında steril olarak çoğaltılan *Lucilia sericata* türü sineğin larvalarının yara tedavisinde kullanılmasıdır. Maggot tedavisi yara iyileşmesine 3 yolla etki eder. İlk olarak larvalar yara yüzeyindeki nekrotik ve enfekte olmuş dokuyu sindirerek mekanik debridman sağlarlar. İkincisi salgıladıkları sindirim enzimleri sayesinde enzimatik debridman yaparak yarayı mikroorganizmalardan korurlar. Son olarak larvaların yara yüzeyindeki hareketleri mekanik uyarı oluşturarak inflamatuvar hücrelerin yara yerine göçünü arttırarak yara iyileşmesine katkıda bulunur. Diyabetik ayak yarası olan 23 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada maggot tedavisinin iyileşme üzerinde olumlu sonuçlar oluşturduğu görülmüştür.³⁷

SONUÇ

Diyabette yara iyileşmesi birçok faktöre bağlı olarak gecikmektedir. Bu durum cerrahi bir girişim olan amputasyon sürecinde de iyileşmenin gecikmesine, bireyde çeşitli yara komplikasyonlarının gelişmesine yol açmaktadır. Bu durum, ameliyat sonrası süreçte güdüğün proteze hazırlanmasını geciktirerek bireyin daha uzun süre hastanede yatmasına ve tekrarlı amputasyonlara neden olabilmektedir. Ameliyat sonrası süreçte uygun yara bakım tekniklerini kullanarak planlı bir bakım yapılması bireyin iyileşme sürecini ve yaşam kalitesini etkilemektedir. Bunun için diyabetik bireylerde amputasyon sonrası yara bakım teknikleriyle ilgili daha çok çalışma yapılmasına ve bu konuda literatür oluşturulmasına gerek duyulmaktadır.

Bu makale 13.Ulusal Yara Kongresine poster bildiri olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

1. Guyton A.C, Hall J.E. İnsülin, Glukagon ve DıbetesMellıtus, (Çevıren:Sanlı Sadi Kurdak), İçinde:Tıbbi Fizyoloji. 12.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013.p. 950.
2. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, daRochaFernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes atlas: globalestimates of diabetes prevalence for 2017 andprojectionsfor 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2018;138:271-281.
3. Ayanoğlu S. Diyabetik ayak hastalığına g¼ncel yaklaşımlar. *Okmeydanı Tıp Dergisi* 2015; 31(Ek sayı):63-71.
4. Meloni M, Izzo V, Giurato L, Uccioli L. A Complication of the complications: the complexity of pathogenesis and the role of co-morbidities in the diabetic foot syndrome. *front diabetes. Basel, Karger* 2018;26:19-32.
5. Durgun O, G¼kmen Durgun A, ¼zyardımcı Ersoy C, Almacıoğlu S, Karadayı D, ¼zkaya G. ve ark. Diyabetik ayak gelişmiş olgularda amputasyon gerekliliğini belirleyen fakt¼rlerin retrospektif olarak incelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi Dergisi* 2012;38(2):59-62.
6. Olgun N, Eti Aslan F, Coşansu G, elik S. Diabetes Mellıtus. İçinde: Dahili ve Cerrahi Hastalıklarda Bakım. Karadakovan A. ve Eti Aslan F (edit¼rler). 4.Baskı, 2.cilt. Ankara: Akademisyen Kitabevi; 2017.p.795.
7. Clayton W Jr and Elasy TA. A Review of the pathophysiology, classification, and treatment of foot ulcers in diabetic patients. *Clinical Diabetes* 2009; 27(2): 5258.
8. Zhang P, Lu J, Jing Y, Tang S, Zhu D, Bi Y. Global epidemiology of diabeticfootulceration: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine* 2017;49(2):106-116.
9. Lipsky BA, Johannes RS, Weigelt JA, Derby KG, Sun X, Tabak YP. Developingand validating a risk score forlower-extremity amputation in patients hospitalized for a diabetic foot infection. *DiabetesCare* 2011;34:1695-1700
10. Costa RHR, Cardoso NA, Proc¼pia RJ, Navarro TP, Dardik A, deLoiolaCisneros L. Diabetic foot ulcer carries high amputation and mortalityrates, particularly in the presence of advancedage, peripheral artery disease and anemia. *diabetes & metabolic syndrome. ClinicalResearch&Review* 2017;11:583-587.
11. Piaggessi A, Apelqvist J. *Front Diabetes: The Diabetic Foot Syndrome*. Basel: Karger, 2018.p.1-18.
12. Saltoğlu N, Kılıoğlu ¼, Baktroğlu S, Oşar Siva Z, Aktaş S, Altındaş M.ve ark. Diyabetik ayak yarası ve enfeksiyonunun tanısı, tedavisi ve ¼nlenmesi: ulusal uzlaşı raporu. *Klinik Dergisi* 2015;28(1):2-34.
13. Vartanian SM, Robinson KD, Ofili K, Eichler CM, Hiramoto JS, Reyzelman AM, Conte MS. Outcomes of neuroischemic wounds treatedby a multidisciplinary amputation prevention service. *Annals of Vascular Surgery* 2015; 29(3):534-542.
14. Canavan RJ, Kelly WF, Unwin NC, Connolly VM. Diabetes and nondiabetes related lower extremity mutation incidence before and after the introduction of better organized diabetes foot care. *Diabetes Care* 2008; 31:459-463.
15. Bilen H. Yara y¼netiminde alternatif y¼ntemler ve yenilikler. *T¼rkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics* 2015; 8(3):50-57.
16. Blakytny R and Judé E. Themolecularbiology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabetic Medicine* 2006;23(6):594-608.
17. Rebolledo FA, Soto JT, de la Peņa J.E. The pathogenesis of the diabetic foot ulcer: prevention and management. In: Dinh T (eds), *Global Perspective on Diabetic Foot Ulcerations*. In Tech; 2011.p.155-182.
18. ¼zkan S, Eser H.R. Diyabetik ayak ve cerrahi yaklaşımlar.1.Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi Bildiri Kitabı. Burdur: 2018; 319-325.
19. Demirel SH ve etinkaya S. Hipoksiyle ind¼klenen fakt¼r-1: h¼crenin hipoksiye fizyolojik ve patolojik cevabı. *Sakarya Tıp Dergisi* 2014;4(4):171-177.
20. Ashraff S, Siddiqui MA, Santos D, Carline T. Complications of stump healing among diabetic population. *Turkish J Endocrinology and Metabolism* 2018; 22:91-97.
21. Schreiber ML. Lower limb amputation:postoperative nursing care and considerations. *Med Surg Nursing* 2017; 26(4): 274-277.
22. Kutluay K¼kl¼ H. ve Uçar ankal DA.Yara İyileşmesini Etkileyen Fakt¼rler İçerisinde Beslenmenin Yeri. *Atat¼rk Üniversitesi Dış Hekimliği Fak¼ltesi Dergisi* 2013;7:135-141.
23. Dryden SV, Shoemaker WG ,Kim JH. Wound Management And Nutrition For Optimal Wound Healing. *Atlas Of The Oral And Maxillofacial Surgery Clinics Of North America* 2013; 21(1):37-47.
24. Armstrong DG, Hanft JR, Driver VR, ve ark. Effect of oral nutritional supplementation on wound healing in diabetic foot ulcers: a prospective randomized controlled trial. *Diabet Med*. 2014;31(9):1069-77.
25. Afzalı H, Caferi Kashi AH, Momen-Heravi M, Razzaghi R , Amirani E, Bahmani F, Gilasi HR, Asemi Z. The effects of magnesium and vitamin E co-supplementation on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: A randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Wound Rep Reg.* <https://doi.org/10.1111/wrr.12701>; 28 Ocak 2019.
26. Topuz S, ¼lger ¼, Yurt Y, Bayramlar K, Erbaheci F, şener G, Yetkin H. Diz altı amputelerde farklı postoperatif ¼dem kontrol y¼ntemlerinin etkinliğinin karşılaştırılması. *T¼rk Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi* 2015;24 (1):64-70.
27. Armstrong DG, Fiorito JL, Leykum BJ, Mills JL. Metatarsal Head Resection as a Curative Procedure in Patients with Diabetes Mellıtus and Neuropathic Fore foot Wounds. *Foot & Ankle Specialist* 2012;5(4):235-240.
28. Akyolcu N. Yara iyileşmesi ve hemşirelik bakımı. Aksoy G, Kanan N, Akyolcu N, edit¼r. *Cerrahi Hemşireliği*. 2. Baskı. Adana: Nobel Tıp Kitabevleri 2017.p.79-114.
29. Sep¼lveda G, Esp¼ndola M, Maureira M, Sep¼lveda E, Fernandez JI, Oliva C, Sanhueza A, Vial M, Manterola C. Negative-pressure wound therapy versus standard wound dressing in the treatment of diabetic foot amputation. A randomised controlled trial. *Ciruga Espaola* 2009;86(3):171-177.
30. Ayg¼n H, akar A, Atilla HA, İrlayıcı TB, Aytekin MN, Ağır İ, İslam C. Zor iyileşen alt ekstremite yaralarının tedavisinde negatif basınçlı yara tedavii y¼nteminin etkinliği ve sonuçları. *Ankara Medical Journal* 2013;13(1):16-21.
31. ř¼kk¼r E, Akar A, Uyar A, Cicekli O, Kochai A, Turker M, Topcu, HN. Vacuum-assisted closure versus moist dressings in the treatment of diabetic wound ulcer safter partial foot amputation: A retrospectiv eanalysis in 65 patients. *Journal of Orthopaedic Surgery* 2018;26(3):1-5.
32. Novak A, Khan WS, Palmer J. The evidence-based principles of negative pressure wound therapy in trauma & orthopedics. *The Open Orthopaedics Journal* 2014; 8:168-177.
33. ErdoğanB. Diyabetik ayakta yara bakımı ve yara bakımı malzemeleri. *T¼rkiye Klinikleri J Gen Surg-Special Topics* 2010;3(1):88-93.
34. Murphy PS and Evans GRD. Advances in Wound Healing: AReview of Current Wound Healing Products. *Plastic Surgery International* 2012; doi: 10.1155/2012/190436
35. Mert G, Metin S, Yıldız ř, Karakuzu E, akmak T. Diyabetik ayak ¼lseri nedeniyle hiperbarik oksijen tedavisi planlanan hastalarda yara k¼lt¼r¼ ile tespit edilen enfeksiyon ajanları. *TAF Preventive Medicine Bulletin* 2012;11(2):205-210.
36. Aydın F, Kaya A, Karakuzu C, Kumbaracı M, Karapınar L, İncesu M. Diyabetik Ayak ¼lserinde Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Etkisinin İgf-1 İle Araştırılması.5.Ulusal Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Kongresi ve Su Sporları Sempozyumu Kongre Kitabı S¼zel Bildiri 2012: İstanbul.p.92-98.
37. Tany¼ksel M, Koru ¼, Araz E, Kılıbaş HZG, Yıldız ř, Alaca R. Kronik yaraların tedavisinde steril Luciliasericata larva uygulamaları. *GulhaneMed J* 2014;56(4):218-22.

Taburculuğa Hazırlanan Preterm İnfantlarda Kritik Olmayan Morfolojik Deformiteler

Non-critical Morphological Deformities in Discharge Preterm Infants

Nuriye Tarakçı, Hüseyin Altunhan

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Neonatoloji BD, Konya, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Nuriye Tarakçı

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Neonatoloji BD, 42080, Konya, TÜRKİYE

T: +90 332 223 60 60 E-mail: nuriyetarakci@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.11.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 02.01.2019

Öz

Amaç	Bu çalışmada yenidoğan yoğun bakım kliniğinde izlenen preterm infantlarda tedavileri sırasında ortaya çıkan ve taburcu sırasında devam eden kritik olmayan hasarları ve risk faktörlerini değerlendirmek amaçlanmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):16-21)
Gereç ve Yöntemler	Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi yenidoğan yoğun bakım ünitesinde 2011 ile 2017 yılları arasında tedavi edilen preterm bebeklerin tedaviye bağlı olduğu düşünülen deformiteleri ve risk faktörleri retrospektif olarak kaydedildi.
Bulgular	Çalışmada 1040 preterm infant retrospektif olarak değerlendirildi. En sık görülen deformite kafatası şekil bozukluğu idi (%14.4). Nazal Sürekli Pozitif Havayolu Basıncı (nCPAP)'a bağlı nazal deformasyon (%13.8) ikinci sıklıkta gözlemlendi. En sık risk faktörü sürekli sabit pozisyon ve nCPAP uygulaması idi.
Sonuç	Preterm infantların yaşam şansları arttıkça deformasyona neden olabilecek enstürmanlarla karşılaşmaları da artmaktadır. Başlangıçta bebeklerinin yaşadığının sevincinde olan ebeveynler bu problemleri sorun etmese de bu infantlar büyüdüğünde onlarda psikolojik sorunlara neden olabileceği unutulmamalı ve bu deformasyon oluşumunu önleyebilmek için gerekli özen gösterilmelidir.
Anahtar Kelimeler	premature; morfolojik deformite; taburcu bebek

Abstract

Objective	To evaluate the non-critical damages that occurred during the discharge of the patients in preterm infants in the neonatal intensive care unit and their risk factors (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):16-21).
Materials and Methods	We retrospectively evaluated treatment related deformities and risk factors of preterm infants who were treated in the neonatal intensive care unit at Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty between 2011 and 2017.
Results	A total of 1040 preterm infants were evaluated retrospectively. The most common deformity was skull deformity (14.4%). Nasal deformation (13.8%) due to nasal continuous positive airway pressure (nCPAP) was the second most common. The most common risk factor was continuous fixed position and nCPAP application.
Conclusion	As the survival chances of the preterm infants increase, their encounter with the instruments that may cause deformation increases. Although parents who are initially delighted by their babies living do not mind these problems, it should be kept in mind that these infants may cause psychological problems when they grow up, and care should be taken to prevent this deformation.
Keywords	premature; morphological deformity; discharge baby

GİRİŞ

Son yıllarda dünyada perinatal ve neonatal bakımda artan tecrübe ve teknolojik gelişmelerle birlikte prematüre bebeklerin solunum sıkıntısı sendromu, intraventriküler kanama ve enfeksiyonlar gibi çok kritik komplikasyonları azalmış ve çok küçük preterm bebeklerin yaşam şansları artmıştır. Bu durumun erken ve geç dönemde yaşamı tehdit etmeyen ve yenidoğan yoğun bakım uygulamalarının olumsuz sonuçlarına bağlı bazı morbiditelere neden olduğu görülmüştür.¹ Ortaya çıkan bu bozuklukların çoğu zamanla düzelirken bazıları ise fonksiyonel ve estetik bakımdan sorunlara neden olmakta ve hatta rekonstrüktif tedavilere gereksinim göstermektedir. Preterm infantların kritik sorunlarının taburculuk sırasında ve sonrasında değerlendirildiği pek çok çalışma var. Literatürde invaziv ve noninvaziv girişimler sırasında nazal yaralanma, palatal hasar, dermal kalsinozis gibi komplikasyonların tek başına değerlendirildiği çalışmalar da bulunmaktadır.^{1,2} Ancak bildiğimiz kadarıyla preterm bebeklerin kritik olmayan ne tür sorunlarla taburcu edildiği üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Biz bu çalışmamızda yenidoğan yoğun bakım kliniğinde izlenen preterm infantlarda tedavileri sırasında ortaya çıkan hasarlar ve risk faktörlerini retrospektif olarak değerlendirdik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2011-Aralık 2017 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Üçüncü Basamak Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde izlenen hastaları kapsayan tanımlayıcı çalışmada hastaların verileri hastane kayıtlarından retrospektif değerlendirildi. Çalışmaya 32 haftadan küçük üçüncü düzey yoğun bakım gerektiren ve yaşayan tüm infantlar alındı. Konjenital anomaliye bağlı dismorfik özellikleri olan, tedavisi devam ederken ölen ve cerrahi gerektiren hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların gebelik haftası, doğum ağırlığı, fizik muayene bulguları kaydedildi. Tüm hastaların hastanede yattığı süre boyunca aldığı tedaviler (intravenöz kalsiyum infüzyonu, total paranteral nutrisyon), invaziv ve noninvaziv girişimler (torax tüpü, eksternal ventriküler drenaj sistemi

(EVDS), periton diyalizi, endotrakeal tüp uygulaması, nCPAP, orogastrik (OG) veya nazogastrik (NG) feeding) ve uygulama süreleri kaydedildi. Hastaların taburculuğu sırasında yapılan fizik muayenelerinde gözlenen farklılıklar kaydedildi. Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi etik kurulundan onay alındı.

Veri kullanımı ve istatistik analizi SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler kesikli sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma (SS) biçiminde gösterilirken kategorik ve sıralanabilir değişkenler olgu sayısı ve (%) şeklinde ifade edildi.

BULGULAR

Çalışmada 1040 preterm infant retrospektif olarak değerlendirildi. 32 hasta konjenital anomaliye bağlı dismorfik görünüm, 6 hasta taburculuk sırasında ayrıntılı fizik muayene bulgularının olmaması nedeniyle çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların ortalama gebelik haftası 29.36 ± 2.37 , ortalama doğum ağırlığı 1248.16 ± 389.4 gr, ortalama hastanede yatış süresi 70 ± 13 gün idi. Mekanik ventilatör (MV); 200/1002 (%19.9), nCPAP; 600/1002 (%59.9), pnömotoraks nedeni ile torax tüpü; 68/1002 (%6.8), periton diyalizi; 24/1002 (%2.4) hastaya uygulandı. Posthemorajik hidrosefali nedeni ile eksternal ventriküler drenaj sistemi veya rezervuar takılan hasta sayısı 16/1002 (%1.6), solunum problemi nedeni ile trakeostomi açılan hasta sayısı 5/1002 (%0.5), enteral beslenmeyi başaramadığı için OG sonda ile taburcu edilen hasta sayısı 40/1002 (%3.99) idi (Tablo 1).

Taburcu sırasında yapılan fizik muayenede saptanan deformiteler ve risk faktörleri Tablo 2'de gösterildi. Hastaların %14.4 (144/1002)'ünde kafatası şeklinde deformite, %3 (30/1002)'ünde tek taraflı kulak deformitesi, %1.3 (13/1002)'ünde üst dudak ve yumuşak damakta oluklanma (endotrakeal tüp ve/veya OG sondaya bağlı) gözlemlendi. nCPAP ihtiyacı olan hastaların %13.8 (83/600)'ünde nCPAP bağlı nazal septumun ön kısmında deformite tespit edildi. Bunların dışında torax tüpü, periton diyaliz, patent

duktus arteriosus (PDA) ligasyonu gibi girişimsel işlemlere ait skarlar ve ilaç ekstrevasyonu sonucu oluşan deformiteler tespit edildi.

TARTIŞMA

Bu çalışmada yenidoğan yoğun bakımda tedavi edilen preterm bebeklerin taburcu anında kritik olmayan hasarlanmaları değerlendirildi.

Preterm infantlar intrauterin hayattan ekstrauterin hayata adaptasyon sürecini yenidoğan yoğun bakım ünitesinde geçirmektedirler. Bu sürede preterm infantlar çoğu önlenebilir mekanik problemlerle karşılaşabilmektedir. Doğum sonrası hayatta yerçekimi ve preterm bebeklerin pozisyonu kranial, palatal ve fasiyal kemiklerde deviasyonlara sebep olabilir. Bu da preterm infantın fasiyal görünümünü değiştirebilir.³ Bebeğin kraniumunun yumuşak ya da şekil verilebilir olması kraniumun düz bir yüzey üzerine yatırıldığında düzleşmesine yol açar. Özellikle posterior deformasyonel plagiosefalinin sırt üstü yatış pozisyonunun bir sonucu olarak geliştiği yaygın olarak kabul edilir. Prematür doğan infantlar ve doğum sonrası uzun süre prone pozisyonda yan yatırılan bebekler dolikosefalik kranium gelişimi yönünden yüksek risklidir.⁴ Çalışmamızda da taburcu edilen preterm bebeklerde kafatası şekil bozukluğu olduğunu gördük.

Preterm infantlar beslenme ve spontan solunumu devam ettirmede zorlanabilmektedir. Ağır kronik akciğer hastalığı nedeni ile mekanik ventilasyon gereksinimi olan preterm infantların uzun süre entübasyon ve OG/NG beslenme ihtiyacı olmaktadır. Orotrakeal ve orogastrik tüplerin, alveolar krest ve damağın medyan bölgesine basınç uyguladığı, palatal büyümeye ve çenenin inişine olumsuz etki de bulunduğu tahmin edilmektedir. Bir çalışmada, OG tüp kullanımının her ek günü için palatal oluk gelişim riskini % 2 artırdığı gösterilmiştir.² Başka bir çalışmada palatal oluklanmanın preterm bebeklerde oral beslenmeye geçiş olumsuz etkilediği bildirilmiştir.¹ Bizim çalışmamızda da hastalarımızın son muayenesinde bir kısmında palatal

oluklanma ve dış pulpasında deformasyon gözledik. Palatal oluklanmanın kalıcı olup olmadığı ise bilinmemektedir.³

Binasal pronglar, preterm bebeklere nCPAP uygulanması için sık kullanılan araçlardır. Bununla birlikte, bunlar kolumella üzerine basınca bağlı kan akım hızını azaltabilir.^{5,6} Bu durum doku perfüzyonunu bozar, doku hasarı ve iskemiye yol açabilir. Kabuklanma, kızarıklık, kanama, endürasyon gibi önlem alındığında tamamen iyileşebilecek komplikasyonlar oluşabilirken kalıcı sekellere neden olan septal perforasyon ve kolumella nekrozu da gelişebilir.⁷⁻¹⁴ Literatürde nCPAP ilişkili bilateral timpanik membran rüptürü, su intoksikasyonu, aerikular seroma gibi nadir komplikasyonlar bildirilmiştir.^{15,16} Bu komplikasyonlar nCPAP cihazları ve nazal prongların tüm tipleri ile oluşabilir.⁷⁻¹³ Bizim çalışmamızda nCPAP ile ilişkili nazal septumda hasar ve antevort nares gözlenmiştir.

Preterm infantlarda kulağın iç ve dış kartilaj tabakası çok hassastır ve vaskülarizasyonu kötüdür. Bu yüzden trofik komplikasyon riski yüksektir. Uzun süreli aynı pozisyonda bulunmak normalde de az kanlanan bu organın kanlanmasını daha da bozarak kulak aerikulasında nekroz ve enfeksiyona zemin hazırlamaktadır. Çalışmamızda hastaların bir kısmında taburcu olurken hayatın ilk günlerindeki muayeneden farklı olarak tek taraflı kulak aerikuların anterior deviasyonunu tespit ettik. Bu durumun doğumdan sonraki ilk muayenede olmaması ve tek taraflı olması hastaların uzun süre aynı pozisyonda kalmaları ve ince olan kulak aerikulasının kolay katlanabilmesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda bir hastada psödomonas sepsisine bağlı kulak helixinde nekroz gelişmiş ve nekrotik alan debride edilerek sonrasında rekonstrüksiyon uygulanmıştır.

İntraventriküler kanama, posthemorajik ventriküler dilatasyon ve hidrosefali preterm infantların yönetiminde önemli bir sorundur ve kalıcı morbidite ile ilişkilidir.¹⁷ Progressif ventriküler dilatasyona bağlı olumsuz sonuçları önlemek

için seri lomber ponksiyon, EVDS, ventrikülo-peritoneal şant, ventrikül içi araç, beyin omurilik sıvısının transraknoidal aspirasyonu gibi terapötik yaklaşımlara ihtiyaç duyulabilir.¹⁸ Gerek başın ağırlığında artışa neden olan hidrosefali gerekse preterm infantın motor hareketlerinin yerçekimi kuvvetinden etkilenmesi hastanın baş pozisyonunu kontrol etme yeteneğini kısıtlar. Bu durum özellikle ventrikül içi araç uygulanan hastalarda operasyon yerinin kanlanmanın bozulmasına ve ciltte nekrotik alan oluşumuna zemin hazırlayabilir. Çalışmamızda da görüldüğü gibi yatak zemininin operasyon yeri ile uzun süre teması ve baş hareketlerinin kısıtlı olması o bölgede nekroza ve sonuçta da lokalize alopesi gelişmesine neden olabilir.

Preterm infantların tedavisi sırasında ilaç ekstrevasyonu sıklıkla görülür. Literatürde kalsiyum ekstrevasyonu so-

nucu sellülit, osteomyelit, kompartman sendromu bildirilmiştir.¹⁹⁻²⁵ Kanlanmanın iyi olmadığı bölgelerde ve büyük lezyonlarda erken cerrahi müdahale ile kalsiyum kristallerinin çıkartılması veya deri grefti uygulaması gerekebilir. Çalışmamızda ilaç ekstrevasyonunun (amfoterisin b, kalsiyum glukonat) hastalarda kontraktür ve doku nekrozuna neden olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak preterm bebeklerin yaşam şansları arttıkça deformasyona neden olabilecek enstürmanlarla karşılaşmaları da artmaktadır. Başlangıçta bebeklerinin yaşadığının sevincinde olan ebeveynler bu problemleri sorun etmese de bu infantlar büyüdüğünde onlarda psikolojik sorunlara neden olabileceği unutulmamalı ve deformasyon oluşumunu önleyebilmek için gerekli özen gösterilmelidir.

Demografik özellik	Tanımlayıcı istatistikler
Gestasyonel yaş (hafta) (ortalama±SS)	29.36±2.37
Doğum ağırlığı (gr) (ortalama±SS)	1248.16±389.4
Hastanede kalış süresi (gün) (ortalama±SS)	70±13
nCPAP (1 aydan uzun süre Ncpap ihtiyacı / Total Ncpap)	84/600
Mekanik Ventilator (1 aydan uzun süre MV ihtiyacı / Total MV ihtiyacı)	23/200
Periton diyalizi (n/N)	24/1002
Göğüs tüpü (n/N)	104/1002
PDA ligasyon (n/N)	7/1002
OG sonda ile taburcu (n/N)	40/1002
Tedavi gerektiren hidrosefali (n/N)	
Ventrikülo-peritoneal şant	13/1002
EVDS	7/1002
Tekrarlayıcı lomber ponksiyon	42/1002
Ventrikül içi araç	9/1002

SS: Standart sapma, nCPAP: Nazal Sürekli Pozitif Havayolu Basıncı, MV: Mekanik ventilatör, PDA: Patent duktus arteriosus, OG: Orogastrik, EVDS: Eksternal ventriküler drenaj sistem

Tablo 2. Taburcu edilirken tespit edilen dismorfoloji ve risk faktörleri		
Morbidite	Hasta sayısı n (%)	Risk faktörü
Kafa şekli bozukluk	144 (14.4)	sürekli sabit pozisyon
Plagiosefali	112 (77.8)	-
Dolikosefali	32 (22.2)	-
Kulak deformitesi	30 (3)	sürekli sabit pozisyon, bası yarısı sonrası iyileşme
Kulak aerikulasının nekrozu	1 (3.3)	psödomonas sepsisi
Diğer (kulak aerikulasının öne doğru kıvrılması, kulakta çentiklenme)	29 (96.7)	-
Dudak ve yumuşak damak hasarı	13 (1.3)	uzun süreli entübasyon, OG sonda ile beslenme
Palatal oluklanma	13 (100)	
Dudak ve diş pulpasında deformasyon	2 (15.4)	
Nazal septum hasarı	83 (13.8)	nCPAP
Skar		
Alın	2 (33.3)	nCPAP
Abdomen	24 (2.4)	periton diyaliz
Torax	104 (10.4)	torax tüpü, PDA ligasyonu
Alopesi, saçlı deri skarı	2 (0.2)	hidrosefali tedavisinde rezervuar yerleştirme
Kalsiyum ve/veya ilaç ekstrevasyasyonu	4 (0.4)	
Doku nekrozu	3 (75)	Amfoterisin B ve kalsiyum tedavisi
Kontraktür	1 (25)	hipokalsemi tedavisi
OG: Orogastrik, PDA: Patent duktus arteriosus, nCPAP: Nazal sürekli pozitif havayolu basıncı		

Kaynaklar

1. Enomoto M, Sezaki H, Muranishi R, Sato Y, Kikuchi S, Katayama Y et al. Acquired palatal groove and delayed oral feeding in preterm infants. *Pediatr Int* 2017; 59:171-175.
2. Cortines AAO, Costa LR. Associated factors and persistence of palatal groove in preterm infants: a cohort study. *BMC Pediatr* 2016; 16:143.
3. Molteni RA, Bumstead DH. Development and severity of palatal grooves in orally intubated newborns. *Am J Dis Child* 1986; 140:357-359.
4. Laughlin J, Luerssen TG, Dias MS. Committee on Practice and Ambulatory Medicine, Section on Neurological Surgery: Prevention and management of positional skull deformities in infants. *Pediatrics* 2011; 128:1236-1241.
5. Imbulana DI, Manley BJ, Dawson JA, Davis PG, Owen LS. Nasal injury in preterm infants receiving non-invasive respiratory support: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2018; 103: F29-F35.
6. Günlemez A, Isken T, Gökalp AS, Türker G, Arisoy EA. Effect of silicon gel sheeting in nasal injury associated with nasal CPAP in preterm infants. *Indian Pediatr* 2010; 47: 265-267.
7. Robertson NJ, McCarthy LS, Hamilton PA, Moss AL. Nasal deformities resulting from flow driver continuous positive airway pressure. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996;75: 209-212.
8. Yong SC, Chen SJ, Boo NY. Incidence of nasal trauma associated with nasal prong versus nasal mask during continuous positive airway pressure treatment in very low birthweight infants: a randomised control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005; 90:480-483.
9. Buettiker V, Hug MI, Baenziger O, Meyer C, Frey B. Advantages and disadvantages of different nasal CPAP systems in newborns. *Intensive Care Med* 2004; 30:926-930.
10. Shanmugananda K, Rawal J. Nasal trauma due to nasal continuous positive airway pressure in newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; 92: 18.
11. Foster SJ. Nasal deformities arising from flow driver continuous positive airway pressure. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78:157-158.
12. Smedsaas-Lofvenberg A, Faxelius G, Axelsson I, Lagercrantz H. Nasal deformities at a UK hospital. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78:158.
13. Kopelman AE, Holbert D. Use of oxygen cannulas in extremely low birthweight infants is associated with mucosal trauma and bleeding, and possibly with coagulase-negative staphylococcal sepsis. *J Perinatol* 2003; 23:94-97.
14. Loftus B.C, Ahn J, Haddad Jr J. Neonatal nasal deformities secondary to nasal continuous positive airway pressure. *Laryngoscope* 1994; 104:1019-1022.
15. Eifinger F, Lang-Roth R, Woelfl M, Kribs A, Roth B. Auricular seroma in a preterm infant as severe complication of nasal continuous positive airway pressure (nCPAP). *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005; 69: 407-410.
16. Rosenfeld W.N., Linshaw M., Fox H.A. Water intoxication: a complication of nebulization with nasal CPAP. *J. Pediatr* 1976; 89:113-114.
17. Whitelaw A, Aquilina K. Management of posthaemorrhagic ventricular dilatation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2012; 97: F229-233.
18. Lam HP, Heilman CB. Ventricular Access device versus ventriculosubgaleal shunt in post hemorrhagic hydrocephalus associated with prematurity. *I Matern Fetal Neonatal Med* 2009; 22 :1097-1101.
19. Chen TK, Yang CY, Chen SJ, Chen SJ. Calcinosis cutis complicated by compartment syndrome following extravasation of calcium gluconate in neonate: a case report. *Pediatr Neonatol* 2010; 5:238-241.
20. Moss J, Syrengelas A, Antaya R, Lazova R. Calcinosis cutis: a complication of intravenous administration of calcium gluconate. *J Cutan Pathol* 2006; 3: 60-62.
21. Millard TP, Harris AJ, MacDonald DM. Calcinosis cutis following intravenous infusion of calcium gluconate. *Br J Dermatol* 1999; 140:184-186.
22. Mu SC, Lin CH, Sung TC. Calcinosis cutis following extravasation of calcium gluconate in neonates. *Acta Paediatr Taiwan* 1999; 40:34-35.
23. Chiang MC, Chou YH, Wang CR, Huang CC. Extravasation of calcium gluconate concomitant with osteomyelitis in a neonate. *Acta Paediatr Taiwan* 2004; 45:35-37.
24. Arora A, Agarwal A, Kumar S, Gupta SK. Iatrogenic calcinosis cutis: a rare differential diagnosis of soft-tissue infection in a neonate-a case report. *J Orthop Surg* 2005; 13:195-198.
25. Soon SL, Chen S, Warshaw E, Caughman SW. Calcinosis cutis as a complication of parenteral calcium gluconate therapy. *J Pediatr* 2001; 138:778.

Frequency of Contrast Nephropathy after Intravenous Contrast Computerized Tomography Scan in The Patients Admitted to Emergency Department

Acil Servise Başvuran Hastalarda İntravenöz Kontrast Madde Verilerek Çekilen Tomografi Sonrası Kontrast Madde Nefropatisi Gelişme Sıklığı

Hakan Hakkoyunmaz¹, Mehmet Okumuş²

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Kahramanmaraş, Turkey.

² University of Health Sciences School of Medicine, Ankara Education and Training Hospital, Department of Emergency Medicine, Ankara, Turkey.

Yazışma Adresi / Correspondence:

Hakan Hakkoyunmaz

University, Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Kahramanmaraş, Turkey

T: +90 538 401 67 72 E-mail: hkkymz@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 14.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 28.01.2019

Abstract

Objective	In this study, we aimed to determine contrast nephropathy incidence in patients who admitted to emergency department and got intravenous contrasted computerized tomography scan. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):22-29)
Materials and Methods	Medical records patients who admitted to the emergency department between October 2013 and October 2014 and underwent intravenous contrasted computerized tomography scan were examined. 142 patients over 16 years old were included in our study. Patient data on demographics, clinical and laboratory findings, previous diagnoses, prognoses and prophylactic treatments were collected and examined.
Results	50,7 % of the patients were female and 49,3 % were male. The mean age was 52,0. 11,2 % of the patients had contrast nephropathy. When the patients were examined separately at 72th and 120th hours, the incidence of radiocontrast nephropathy was found as 9,2 % and 8,5 %, respectively. Women and patients who had diabetes mellitus, low glomerular filtration rate and malignancy were found to have a high risk for contrast nephropathy.
Conclusion	Intravenous contrast usage has increased in emergency departments. Appropriate risk assessment should be made and prophylactic treatment should be administered to the patients with high risk. Also, serum creatinine values should be examined before intravenous contrast administration and should be monitored closely after the exposure.
Keywords	Contrast-induced nephropathy; contrast media; emergency department

Öz

Amaç	Bu çalışmada erişkin Acil Servisine başvuran ve intravenöz kontrast madde verilerek bilgisayarlı tomografi çekilen hastalarda kontrast madde nefropatisi gelişme sıklığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):22-29).
Gereç ve Yöntemler	Ekim 2013 - Ekim 2014 tarihleri arasında acil servise intravenöz kontrast madde verilerek bilgisayarlı tomografi çekildiği tespit edilen hastaların dosyaları, retrospektif olarak tarandı. 16 yaş ve üstü 142 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların demografik, klinik ve laboratuvar verileri, tanıları, klinik sonuçları ve uygulanan profilaktik tedavileri değerlendirildi.
Bulgular	Hastaların %50,7'sinin kadın, %49,3'ünün erkek olduğu ve yaş ortalamasının 52,0 olduğu tespit edildi. Hastaların % 11,2'sinde kontrast madde nefropatisi geliştiği belirlendi. Ayrıca hastalar 72.saat ve 120.saat olarak iki ayrı zaman diliminde değerlendirildiğinde kontrast madde nefropati sıklığı % 9,2 ve % 8,5 olarak tespit edildi. Kadınlarda, diyabeti, malignitesi olanlarda, glomerüler filtrasyon hızı düşük hastalarda kontrast madde nefropatisi gelişimi açısından daha yüksek risk saptandı.
Sonuç	Acil servislere kontrast madde kullanımı hızla artmaktadır. Hastalara doğru bir risk analizi yapılmalı, riskli gruplara gerekli profilaktik tedavi uygulanmalı ve kreatinin düzeyi gerek uygulama öncesi gerekse uygulama sonrası sıkı takip edilmelidir.
Anahtar Kelimeler	Kontrast madde nefropatisi; kontrast madde; acil servis

INTRODUCTION

Nowadays, radiological diagnostic methods especially with the spread of iodinated contrast agent (CA) has steadily increased. CA is used in approximately 60 million cases around the world annually.¹ A number of complications accompany these increasing uses. Contrast induced nephropathy (CIN) is the most important of these complications.² CIN is the third most common cause of kidney failure acquired in the hospital is after surgery and hypotension.³ CIN is defined as increase of serum creatinine by 0.5 mg/dL or an increase of 25% or more relative to the baseline value after 48-72 hours of intravenous (IV) CA administration, and a decrease in calculated glomerular filtration rate (eGFR) 25% or more, or a combination of these.⁴

Although the incidence of CIN is unknown, it was found to be up to 50% in patients with a risk factor like chronic renal failure (CRF) in diabetics and 1-2% for those without risk factors. Hypotension, age (75 years), congestive heart failure (CHF), diabetes mellitus (DM), hypertension (HT), CRF, nephrotoxic drug use, proteinuria, anemia, hyperuricemia, hypercalcemia, multiple myeloma (MM), used CA amount and type have been shown to facilitate the development of CIN in various studies. IV fluid administration is the only practical way of preventing the development of CIN.⁵ In addition, a variety of methods such as N-acetylcysteine (NAC), calcium channel blockers, mannitol, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, theophylline, fenoldopam and hemodialysis have been used in clinical trials but, debates about the usefulness of these methods are still in progress.

In recent years, diagnostic imaging interventions have frequently been used in emergency departments. Contrast enhanced computerized tomography (CT) is the most common diagnostic imaging intervention which uses CA in the emergency department. On the other hand, it has been determined that half of the physicians do not have known about the risks related to CIN in a study.⁶ Despite the high frequency of contrast-enhanced CT in emergency

departments, there are not enough studies in the literature regarding the rate of CIN in the emergency. For this reason, we planned this study to evaluate the frequency of CIN in emergency department patients who had contrast-enhanced CT. In addition we aimed to determine the association between CIN frequency and demographic variables such as age and sex and pre-contrast treatment. Thus, we targeted to make a contribution to predicting patients at risk in terms of CIN in emergency department.

MATERIALS and METHODS

This is a descriptive and cross sectional study which was carried out on 282 patients who had an IV contrast enhanced tomography in the emergency department of Kahramanmaraş Sutcu Imam University (KSU) between October 20, 2013 and October 20, 2014, with the approval of KSU Medical Faculty Scientific Research Ethics Committee (Decision date:10.11.2014; Decision no:6). The study included 142 patients over the age of 16 who had 72 hours or 120 hours creatinine value after IV CA delivery for emergency diagnostic evaluation in the emergency department. Demographic, clinical and laboratory data, diagnostic and clinical outcomes of these patients, and prophylactic treatments applied to emergency or hospitalized patients were evaluated. 140 patients who had chronic renal disease requiring dialysis, whose file information was not available from the hospital automation system, died within 72 hours after the contrast was given, or whose creatinine level had not measured at 72 hours or 120 hours after the administration of contrast, were excluded. CIN was defined as an increase of 0.5 mg/dL or or a 25% or higher increase in serum creatinine levels compared to the baseline level observed at 72 hours and 120 hours after administration of IV CA. Basal creatinine levels with a baseline creatinine value of <1.2 mg/dL evaluated as normal, and basal creatinine levels in patients with $\geq 1,2$ mg/dL assessed as abnormal. GFR is calculated based on the "Modification of Diet in Renal Disease" equation. Patients who received 600 mg oral NAC before and after CA administration, given IV sodium bicarbonate infusion before and after CA admini-

nistration, given ≥ 100 mL/h IV serum physiologic (0.9% and 0.45%) for at least 4 hours before CA administration, defined as having received preventive treatment. Statistical analysis was performed using the SPSS 20.0 package program. Mean, frequency and standard deviation values were determined in the analysis of the data. Compliance of normal distribution were analyzed using the Kolmogorov-Smirnov test variable. Chi-square and Studentt-test were used to determine the difference between the two groups. The paired t-test was used to determine the change in repeated measures. Statistically, $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

The mean age of the patients was 52.0 ± 20.6 (min=18, max=95), and 50.7% (n=72) were female and 49.3% (n=70) were male. CIN has developed at the 72nd hour, in 9 (12.5%) female patients, in 4 (5.7%) male patients. Of the 12 patients who developed CIN at 120th hours, 11 (15.3%) were female and 1 (1.4%) were male. At the 120th hour, a significantly higher CIN development rate was detected in female patients ($\chi^2=8.799$, $p=0.003$). Furthermore, when

these patients are classified according to age groups; it was determined that 56 (39.4%) patients were in the age range of 18-44, 36 (25.4%) were between the ages of 45-64 and 50 (35.2%) were in the age range of ≥ 65 . The distribution and averages of the numerical data of the total 142 patients are summarized in Table 1.

75 patients (52.9%) were found to have accompanying disease. The relationship between illnesses and development of CIN at different time periods is shown in Tables 2 and 3. Especially in DM and malignant patients, it was found that there was a statistically significant difference between the 72nd hour and 120th hour CIN development frequency.

Baseline creatinine values were above ≥ 1.2 mg/dL in 12 (8.5%) of the patients included in the study. Basal creatinine levels in these patients were assessed to be impaired, and all of these patients were found to have received IV 0.9% saline ≥ 100 mL/h for at least 4 hours as a prophylactic therapy before administration of IV CA. There was no statistically significant difference regarding the development of CIN at 72nd hours and 120th hours when only

	n	minimum	maximum	mean	Std. Deviation
Age	142	18.00	95.00	52.0423	20.65106
SBP	142	60.00	190.00	118.5352	21.38126
DBP	142	30.00	110.00	72.6408	13.25813
Basal BUN	142	3.00	55.00	18.0070	9.12443
Basal Cr	142	0.23	2.00	0.7902	0.28556
72nd BUN	142	4.00	50.00	15.288	9.09881
72nd Cr	142	0.22	2.20	0.7065	0.28981
120th BUN	142	2.00	50.00	15.0563	9.98991
120th Cr	142	0.20	2.00	0.6507	0.27653
Basal GFR	142	40.61	398.16	112.3951	52.94364
72nd GFR	142	25.21	412.08	130.1289	61.34129
120th GFR	142	28.15	498.68	147.6451	77.58696

SBP:Systolic Blood Pressure, **DBP:**Diastolic Blood Pressure, **BUN:**Blood Urea Nitrogen, **Cr:**Creatinin, **hr:**hour, **GFR:**Glomerular Filtration Rate

Table 2. The relationship between additional diseases and the frequency of 72th hour CIN development

Disease		CIN+		CIN-		Total		P value	χ^2
		n	(%)	n	(%)	n	(%)		
DM	+	3	33.7	6	66.7	9	100	0.009	6.754
	-	10	7.5	123	92.5	133	100		
HT	+	6	15.8	32	84.2	38	100	0.097	2.746
	-	7	6.7	97	93.3	104	100		
CHF	+	2	18.2	9	81.8	11	100	0.280	1.168
	-	11	8.4	120	91.6	131	100		
Malignancy	+	5	45.5	6	54.5	11	100	0.000	18.89
	-	8	6.1	123	93.9	131	100		
CAD	+	2	12.5	14	87.5	16	100	0.622	0.243
	-	11	8.7	115	91.3	126	100		
Others	+	5	13.5	32	86.5	37	100	0.285	1.14
	-	8	7.6	97	92.4	105	100		
Total		13	9.2	129	90.8	142	100		

DM:Diabetes mellitus, **HT:**Hypertension, **CHF:**Congestive Heart Failure, **CAD:**Coronary Artery Disease

Table 3. The relationship between additional diseases and the 120th hour CIN development frequency

Disease		CIN+		CIN-		Total		P value	χ^2
		n	(%)	n	(%)	n	(%)		
DM	+	3	33.3	6	66.7	9	100	0.006	7.690
	-	9	6.8	124	93.2	133	100		
HT	+	4	10.5	34	89.5	38	100	0.591	0.289
	-	8	7.7	96	92.3	104	100		
CHF	+	2	18.2	9	81.8	11	100	0.227	1.459
	-	10	7.6	121	92.4	131	100		
Malignancy	+	3	27.3	8	72.7	11	100	0.019	5.460
	-	9	6.9	122	93.1	131	100		
CAD	+	0	0	16	100	16	100	0.197	1.664
	-	12	9.5	114	90.5	126	100		
Others	+	5	13.5	32	86.5	37	100	0.198	1.658
	-	7	6.7	98	93.3	105	100		
Total		12	8.5	130	91.5	142	100		

DM:Diabetes mellitus, **HT:**Hypertension, **CHF:**Congestive Heart Failure, **CAD:**Coronary Artery Disease

cases with prophylactic IV fluids an were compared with cases without preventative IV fluid ($\chi^2=1.321$, $p=0.250$) ($\chi^2=1.210$, $p=0.271$). We noticed that 16 (11.2%) of the patients had developed nephropathy after IV CA administra-

tion. In 13 of these 16 patients (81.2%) CIN developed in 72 hours and in 3 (18.8%) in 120 hours (Figure 1).

The incidence of CIN in patients is evaluated in two diffe-

rent time zones, 72nd hours and 120th hours; The prevalence of CIN growth in 72nd hours of 142 patients received in total study was 9.2% (13 patients) and the incidence of CIN growth in 120th hours was 8.5% (12 patients).

Patients were diagnosed as 29 (20.4%) traumatic findings, 22 (15.5%) pulmonary embolism, 12 (8.5%) ileus, 11 (7.7%) biliary pathologies, 9 (6.3%) pancreatitis, 5 (3.5%) appendicitis, 5 (3.5%) acute mesenteric ischemia and in 32 (22.5%) patients were evaluated as normal after imaging.

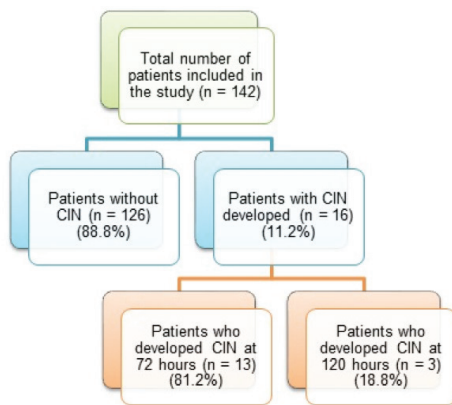


Figure 1. Contrast induced nephropathy (CIN) development frequency flow diagram.

83 of the 142 patients (58.5%) were hospitalized, and 59 (41.5%) were discharged from the emergency service. CIN was found in 8 (9.6%) of the 83 hospitalized patients and in 5 (8.5%) of 59 discharged patients when evaluated regarding 72nd hour CIN development. CIN was found in 5 (6%) of hospitalized 83 patients and 7 (11.9%) of 59 discharged patients when evaluated regarding 120th hour CIN development. There was no statistically significant difference in the evaluation of the clinical outcomes of the patients and the frequency of CIN development at 72nd and 120th hours ($\chi^2=1.520$, $p=0.218$ and $\chi^2=0.056$, $p=0.813$).

DISCUSSION

The use of diagnostic tests in emergency departments has increased and the use of CA has also increased considerably. CIN is a condition with high incidence, morbidity,

and mortality, and has recently been a highly clinical and researched clinical problem particularly at risk. The number of studies on the frequency of CIN associated with CA use in emergency services is very few. In a recent study on the frequency of CIN development due to contrast-enhanced CT imaging in emergency surveillance patients, CIN frequency was 11%, in another retrospective study involving 198 patients with acute stroke pre diagnosis with IV contrast enhanced CT angiography CIN frequency was 2.9%, and another frequency of 4.5% in another study conducted in emergency services.^{7,8,9} In our study, we found the CIN development frequency to be 11.2%. Also, we determined these rates as 9,2% and 8,5% when the patients were evaluated in two separate time periods, 72nd hours and 120th hours respectively. We have found that the frequency of CIN development is similar to other studies in the literature. In addition, the majority of CIN was observed in the first 72 hours, consistent with the literature. However, in this study, CIN can be seen even in 120th hours, and most of the studies in the literature are not followed up after 72 hours, which is a big disadvantage in terms of detecting CIN that can develop after this hour. Patients with a high risk of developing complications should be correctly identified so that management and preventive measures of CIN patients can be taken. Many studies to date have revealed many of the risk factors that cause CIN. The most important of these risk factors is pre-existing kidney disease.⁵ Other important risk factors are; type, amount and frequency of administration of CA, HT, cardiogenic shock and hypotension, decreased intravascular volume and dehydration, sepsis, myocardial infarction (MI), anemia and nephrotoxic drugs, renal involvement DM, CRF (Stage 4).^{5,10,11,12}

Although there is no definite age limit for a significant increase in CIN, many studies in the literature show that over 75 years of age have an increased risk for CIN development.^{5,11,13,14} Studies in the literature have shown that CIN is more common in female patients.^{15,16} Increased CIN frequency in women was found to be associated with older

age, impaired basal renal function, and more common risk factors such as HT and DM.¹⁷ In our study, we found that the frequency of CIN development in female gender was higher supporting the literature. In many previous studies, the use, frequency, type, osmolarity, and route of administration of CA have been shown to be an important risk factor for the development of CIN.^{18,19,20,21,22} In this study, we found that all patients were using a single non ionized low osmolar CA and that the sole route of administration was an IV route and 100 mL of CA was given to the patients. For this reason, we did not conduct a comparison study on the amount, type and type of CA. Preexisting kidney disease story is the most critical risk factor that plays a role in the development of CIN.⁵ Patients with a serum creatinine clearance of less than 50 mL/min/1.73m² and eGFR less than 60 mL/min have been found to have an increased risk of CIN.²³ In our study, patients with CRF were not included in the study and therefore were not evaluated for risk factors. We have also found eGFR over 60 mL/min in majority of patients. Despite not finding a statistically significant difference between CIN development frequency and eGFR in our study, we found that the frequency of CIN development in our study was directly proportional to the decrease in eGFR as it is in other literature studies performed. In a previous study by Çavuşoğlu et al., they found that patients with serum creatinine levels of 1.4-1.9 mg/dL had a five-fold increase in CIN compared to patients with a serum creatinine level below 1.2 mg/dL.¹⁰ When we evaluated patients regarding baseline serum creatinine levels in our study, we found that creatinine levels were below 1.2 mg/dL in all CIN patients. Although this finding is controversial in the literature, we attributed this to the treatment of prophylactic fluid with creatinine values of 1.2 mg/dL and above, which we have applied. Although diabetic nephropathy is seen as a definite risk factor for CIN development, DM patients without nephropathy are considered as risky.¹¹ As we have seen in our study, we found that the frequency of CIN development was high in patients with diabetes. This finding is consistent with the literature and supports that diabetes is a significant risk fa-

ctor for CIN development. Studies by Mehran et al., Rihal et al. have shown that HT is a risk factor for CIN development.^{15,5} Marenzi et al. have not considered HT as a risk for CIN in their study.²⁴ We did not detect a significant CIN development in patients with HT in our study. Hypertension is known to cause renal dysfunction and decrease GFR, which may lead to CIN. Studies have reported that CHF has a definite risk of developing CIN.^{5,11} Mainly, <50% of the left ventricular ejection fraction is considered significant for CIN development.¹¹ In our study, we did not find any significant risk of developing CIN in patients with CHF. In the literature, many studies on CHF have been performed on a group of patients with cardiac problems and coronary intervention. We think that this is the reason why our work is not meaningful because we added all the patients who applied to the emergency service and performed IV CA during imaging to the study. Some drugs may pose a risk for the development of CIN. Since we do not have data on medicines registered in patients' files because of the retrospective nature of the study we conducted, we were not able to assess whether there was a relationship between these drugs and the frequency of CIN development concerning risk. There are also risk factors such as malignancy, coronary artery disease (CAD), decreased intravascular volume and dehydration, hypotension, hyperuricemia, liver insufficiency, MM, hyperlipidemia, single kidney regarding CIN development. In our study, we found that there was a significant risk increase in patients with malignancy from these risk factors. In patients with CAD, we could not detect a substantial increase in risk for CIN development.

Since CIN does not have a valid treatment method, the primary strategy should be to prevent the development of nephropathy.²⁵ Although there have been numerous experimental and clinical trials to date to avoid CIN, there has still been no traditional practice except for IV fluid treatment. However, the length of time and the amount of the solution to be administered remains uncertain. In some studies, it is recommended to apply normal saline

at 1-1.5mL/kg/min for 6-12 hours (without heart failure), starting 3-12 hours before the procedure to provide 150 cc urine output for 6 hours after the procedure.²⁶ In our study, we found that patients were treated with IV fluid prophylactically, and we found that there was no statistically significant difference in CIN development between both treated and untreated cases at both time points. Although this result suggests that IV fluid hydration is useless to be protected from CIN, IV hydration is a frequent application with oral intake restriction in many patients with emergency services. Hydration is performed in different amounts and durations according to the complaints of the patients. For this reason, it is wrong to make a particular comment unless a randomized prospective study is performed.

The CIN frequency was 11.2% in the patients who were admitted to the adult emergency department of the KSU Medical Faculty Hospital and who were given CT with IV CA. Although 8.5% of CIN is observed within the first 72 hours, it is particularly useful to have at least 120 hours of follow-up time for risky patients, since CIN at 120th hours is not negligible. Since CIN does not have adequate treatment, the primary strategy should be to prevent CIN. For this reason, a risk analysis should be performed towards the disease, the necessary prophylactic treatment should be applied to these risk groups, and the creatinine level should be monitored before application or after application. The frequency of CIN development is significantly higher in patients with DM and malignancies, and these two diseases should be questioned especially in patients who will take CA. Although we did not find a statistically significant difference between baseline creatinine level and CIN development, we concluded that this was related to the prophylactic fluid treatment given to all patients with high baseline creatinine (1,2 mg/dL and above). Also, as GFR calculated in patients decreases, CIN development is increased, so it is useful to figure GFR values of patients before treatment, even by the emergency departments' laboratories.

The most critical prophylactic treatment to prevent CIN is IV hydration. Much of the other treatment modalities are still controversial. In our study, we found that isotonic fluid infusion was given prophylactically to all patients with a high baseline creatinine value and that none of these patients developed CIN. For this reason, as in the literature, infusion of IV fluid, especially at risk and high baseline creatinine value, should be given prophylactically. The best way to protect patients from CIN is never to use the CA. IV contrast usage has increased in emergency departments. In many patients, the risk of CIN can be ignored for some reasons, such as the fact that life-threatening illness, and necessary imaging tests are performed without evaluating renal function. In addition to taking the existing diseases into account, it should not be forgotten that the hydration is needed to prevent the development of CIN. Appropriate risk assessment should be made and prophylactic treatment should be administered to the patients with high risk. Also, serum creatinine values should be examined before intravenous contrast administration and should be monitored closely after the exposure. Instead of long-term treatment protocols in CIN prophylaxis, fast and easy treatment protocols should be established which also take into account the time and patient intensity in emergency department.

References

1. Reddan D. Patients at high risk of adverse events from intravenous contrast media after computed tomography examination. *European Journal of Radiology* 2007;62:26-32.
2. Wysowski DK, Nourjah P. Deaths attributed to X-ray contrast media on U.S. death certificates. *American Journal of Roentgenology* 2006;186:613-5.
3. McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, et al. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. *The American Journal of Cardiology* 2006;98:5-13.
4. Jabara R, Gadesam RR, Pendyala LK, Knopf WD, Chronos N, Chen JP, et al. Impact of the definition utilized on the rate of contrast-induced nephropathy in percutaneous coronary intervention. *The American Journal of Cardiology* 2009;103:1657-62.
5. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, et al. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002;105:2259-64.
6. Konen E, Konen O, Katz M, Levy Y, Rozenman J, Hertz M. Are referring clinicians aware of patients at risk from intravenous injection of iodinated contrast media? *Clinical Radiology* 2002;57:132-5.
7. Mitchell AM, Kline JA. Contrast nephropathy following computed tomography angiography of the chest for pulmonary embolism in the emergency department. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007;5:50-54.
8. Hopyan JJ, Gladstone DJ, Mallia G, Schiff J, Fox AJ, Symons SP, et al. Renal safety of CT angiography and perfusion imaging in the emergency evaluation of acute stroke. *American Journal of Neuroradiology* 2008;29:1826-30.
9. Kim KS, Kim K, Hwang SS, Jo YH, Lee CC, Kim TY, et al. Risk stratification nomogram for nephropathy after abdominal contrast-enhanced computed tomography. *The American Journal of Emergency Medicine* 2011;29:412-7.
10. Cavusoglu E, Chhabra S, Marmur JD, Kim A, Sharma SK. The prevention of contrast-induced nephropathy in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Minerva Cardioangiologica* 2004;52:419-32.
11. Toprak Ö, Cirit M, Bayata S, Yeşil M. Radyokontrast nefropatisi risk profilini gözden geçirilmesi ve risk değerlendirilmesi. *Anadolu Kardiyol Derg* 2004;4:331-5.
12. Cronin RE. Contrast-induced nephropathy: pathogenesis and prevention. *Pediatric Nephrology* 2010;25:191-204.
13. Marenzi G, Lauri G, Assanelli E, Campodonico J, Metrio MD, Marana I, et al. Contrast-induced nephropathy in patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2004;44:1780-5.
14. Pannu N, Wiebe N, Tonelli M. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 2006;295:2765-79.
15. Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, Lasic Z, Iakovou I, Fahy M, et al. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *Journal of the American College of Cardiology* 2004;44:1393-9.
16. Sadeghi HM, Stone GW, Grines CL, Mehran R, Dixon SR, Lansky AJ, et al. Impact of renal insufficiency in patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation* 2003;108:2769-2775.
17. Mueller C, Buerkle G, Perruchoud AP, Buettner HJ. Female sex and risk of contrast nephropathy after percutaneous coronary intervention. *The Canadian Journal of Cardiology* 2004;20:505-9.
18. Ellis JH, Cohan RH. Reducing the risk of contrast-induced nephropathy: a perspective on the controversies. *American Journal of Roentgenology* 2009;192:1544-9.
19. Barrett BJ, Carlisle EJ. Metaanalysis of the relative nephrotoxicity of high and low osmolality iodinated contrast media. *Radiology* 1993;188:171-8.
20. Schrader R. Contrast material-induced renal failure: An overview. *Journal of Interventional Cardiology* 2005;18:417-23.
21. Harris KG, Smith TP, Cragg AH, Lemke JH. Nephrotoxicity from contrast material in renal insufficiency: ionic versus nonionic agents. *Radiology* 1991;179:849-52.
22. Gleeson TG, Bulughapitiya S. Contrast induced nephropathy. *American Journal of Roentgenology* 2004;183:1673-89.
23. Barrett BJ, Parfrey PS. Preventing nephropathy induced by contrast medium. *N Engl J Med* 2006;354:379-386.
24. Marenzi G, Lauri G, Campodonico J, Marana I, Assanelli E, Metrio MD, et al. Comparison of two hemofiltration protocols for prevention of contrast-induced nephropathy in high-risk patients. *The American Journal of Medicine* 2006;119:155-62.
25. Lin J, Bonventre JV. Prevention of radiocontrast nephropathy. *Current Opinion Nephrology Hypertension* 2005;14:105-10.
26. Stacul F, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, McCullough PA, et al. Strategies to reduce the risk of contrast induced nephropathy. *The American Journal of Cardiology* 2006;98:59-77.

The Correlation between Pregnancy and Delivery Characteristics and Autism Spectrum Disorder and Symptomatic Severity

Gebelik ve Doğum Özelliklerinin Otizm Spektrum Bozukluğu ve Belirti Şiddeti ile İlişkisi

İrem Damla Çimen

Darica Farabi Training and Research Hospital, Child and Adolescent Psychiatry Department, Kocaeli

Yazışma Adresi / Correspondence:

İrem Damla Çimen

Department of Child and Adolescent Psychiatry, Darica Farabi Training and Research Hospital, Kocaeli, Turkey, TR 41700

T: +90 262 656 43 45 (d:1565) E-mail: damlamanga@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.09.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 22.01.2019

Abstract

Objective Autism is a neurodevelopmental disorder. Although Autism is substantially hereditary, it has been associated with environmental factors as well. This study investigates the correlation between pregnancy period and delivery characteristics and Autism and to evaluate whether or not there is a correlation between the symptom severity and some factors in this period. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):30-37)

Materials and Methods In the study, 35 children, who were admitted to the Child/Adolescent Psychiatry Clinic, diagnosed with Autism were taken as the study group, and their 35 siblings of the same gender with the closest age and without any mental disorder were taken as the control group. The diagnosis of Autism was made according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5 Diagnostic Criteria in the clinic interviews held. Characteristics of delivery and birth were questioned by sociodemographic data form. And the symptom severity of Autism was assessed by using the Autism Behavior Checklist.

Results The rate of unplanned pregnancy and stressful life events during pregnancy was found to be significantly higher in the cases with Autism. The social relating, body and object use, language skills and total scores of the Autism Behavior Checklist were found to be significantly higher in children with Autism who were born as a result of unplanned pregnancy.

Conclusion There are few studies on Autism etiology in our country. It is important to investigate the effects of environmental factors in the etiology of Autism, and that elucidation of the etiology can contribute to prevention studies of the disorder.

Keywords Autism Spectrum Disorder; gestation; unplanned pregnancy; birth

ÖZ

Amaç Otizm Spektrum Bozukluğu nörogelişimsel bir bozukluk olup büyük oranda kalıtsal olmakla birlikte çevresel faktörler de ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada gebelik süreci ve doğum özellikleri ile Otizm Spektrum Bozukluğu arasındaki ilişkinin incelenmesi ve Otizm Spektrum Bozukluğu belirti şiddeti ile bu süreçteki bazı faktörlerin ilişkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):30-37).

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada araştırma grubu olarak Darica Farabi Eğitim Araştırma Hastanesi çocuk psikiyatri polikliniğine başvuran, Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı konulan 35 çocuk alınmış, kontrol grubu olarak ise bu çocuklar ile aynı cinsiyetteki, yaşı en yakın olan, herhangi bir ruhsal bozukluğu olmayan 35 kardeşi alınmıştır. Olguların gebelik süreci ve doğum özellikleri ile ilgili bilgiler sosyodemografik veri formu ile toplanmıştır. Otizm Spektrum Bozukluğu tanısı yapılan klinik görüşmelerde Psikiyatride Hastalıkların Tanınması ve Sınıflandırılması El Kitabı 5 tanı kriterlerine göre konulmuş, belirti şiddeti Otizm Davranış Kontrol Listesi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular Otizm Spektrum Bozukluğu olan olgularda plansız gebelik ve gebelikte stresli yaşam olayı yaşama oranı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Otizm Davranış Kontrol Listesini ilişki kurma, beden ve nesne kullanımı, dil becerileri ve toplam puanlarının, plansız gebelik sonucu doğan Otizm Spektrum Bozukluğu olan olgularda belirgin düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.

Sonuç Otizm Spektrum Bozukluğu etyolojisinde çevresel etmenlerin etkilerinin incelenmesinin önemli olduğu, etyolojinin aydınlatılmasının bozukluğu önleme çalışmalarına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler Otizm spektrum bozukluğu; gestasyon; planlanmamış gebelik; doğum

INTRODUCTION

Autism Spectrum Disorders (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by deficiencies in social communication and interaction, repetitive behavioral patterns, interests or activities, in which symptoms begin at an early stage of development.¹ The prevalence of the disease in developed countries is presumably reported as 1,5%.^{2,3} Considering the prevalence according to gender, the male/female ratio is indicated as 4/1.⁴

The etiopathogenesis of ASD is quite complex and the etiologic factors can only be detected in 15-25% of the cases.⁵ Although the underlying etiology of ASD has not been elucidated to a large extent, a progress has been made about the neurobiological and genetic basis and risk factors of this complex condition over the past decade. The family and twin studies have shown the effects of genetic factors. The fact that the diagnosis of autism is more common in siblings of children diagnosed with autism than in siblings of children with normal development and the concordance rate is greater in monozygotic twins than in dizygotic twins of the same gender has revealed the role of genetic factors in autism.⁶⁻¹⁰

Genetic factors as well as environmental factors have been reported to influence the subsequent cell generation by affecting the fetal programming in the prenatal period or by making changes in the control of gene expression.¹¹ Considering the studies on environmental factors, numerous studies report that the prenatal and perinatal risk factors are associated with autism.¹²⁻¹⁸ The use of thalidomide during pregnancy, having rubella infection, vitamin D deficiency, smoking, elevated fever especially during the 2nd trimester, the use of antidepressant during the 2nd and/or 3rd trimester, air pollution due to traffic, advanced age of mother and father are also indicated to be the risk factors for ASD.^{12,14,15,19-26} Experiencing hemorrhage or preeclampsia during pregnancy and breech presentation in the delivery process, cesarean delivery, fetal hypoxia and delivery before the 35th gestational week were found to be the risk

factors in the studies conducted. Being the first child and low birth weight were also significantly associated with autism spectrum disorder.^{13,14,18,27,28,29} It is also reported in the literature that mother's mental status during pregnancy and stressful life events experienced during pregnancy may be the risk factors for ASD.^{16,30}

The aim of this study was to investigate the correlation between pregnancy period and delivery characteristics and autism spectrum disorder, and to evaluate whether or not there is a correlation between the symptom severity of autism spectrum disorder and some factors in this period.

MATERIALS and METHODS

Sample

This research is a case-control study. A total of 35 patients, who have sibling with the same gender, and without mental disorder, under 18 years were selected as the study group from the patients diagnosed with ASD who were admitted to the Child/Adolescent Psychiatry Clinic of the Darica Farabi Training and Research Hospital between May to November 2017. And their 35 siblings of the same gender with the closest age and without any mental disorder were taken as the control group. The diagnosis of ASD was made according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5 Diagnostic Criteria in the clinic interviews held and the symptom severity was assessed by using the Autism Behavior Checklist. The mental statuses of the siblings of the children with ASD were also clinically evaluated. Those who did not agree to participate in the study and were not diagnosed with ASD and did not have a sibling of the same gender and had a sibling with mental disorder were excluded from the study. The study was approved by the Kocaeli Clinical Research Ethics Committee (Project Nr.: 2016/152).

Data collection tools:

Socio-demographic data form: It includes characteristics such as parental age/education level/marital status, way of getting pregnant, number of pregnancy, hospitalization

status during pregnancy/drug use/stressful event experienced/malnutrition/vitamin D deficiency/smoking/use of tap water, type/place/season of delivery, whether or not there is a problem during delivery.

Autism Behavior Checklist (ABC): It is one of the scales used for the assessment and screening of ASD. ABC is a 57-item assessment tool consisting of a total of five sub-scales which are sensory behavior, social relating, body and object use, language and social and adaptive skills. The lowest score that can be got from the scale is 0, the highest score is 159.³¹ The validity and reliability of the Turkish version of the Autism Behavior Checklist were done by Yilmaz Irmak et al. The cut-off score of the Turkish version of the scale was determined as 39.³² The data were analyzed using the Statistical Package for the Social

Sciences 22.0 software. The Kolmogorov-Smirnov test for normality of the distribution was carried out prior to the analysis of the numerical data. The MannWhitney U test was used for the analysis of the quantitative independent data. The chi-square test was used for the analysis of qualitative independent data, and the Fischer test was used when the conditions were not met for the Chi-square test. The statistical significance level was accepted as $p < 0,05$.

RESULTS

A total of 70 cases, 8 (11,4%) females and 62 (88,6%) males, were included in the study. The mean age of the cases diagnosed with ASD is $83,4 \pm 30,6$ months and the mean age of the siblings is $111,8 \pm 58,5$ months. The sociodemographic characteristics of the cases participating in the study are defined in Table 1.

Characteristics	Groups	N (%)
Mother's education level	No education	2 (5,7)
	Primary school	14 (40,0)
	Secondary school	8 (22,9)
	High school	10 (28,6)
	University	1 (2,8)
Father's education level	Primary school	12 (34,3)
	Secondary school	7 (20,0)
	High school	15 (42,9)
	University	1 (2,8)
Father's job	Private	19 (54,3)
	Employee	16 (45,7)
Monthly income	1000-1500	16 (45,7)
	1501-2000	11 (31,4)
	2001-2500	2 (5,7)
	2501-3000	2 (5,7)
	3001-3500	1 (2,9)
	3501 and more	3 (8,6)
Marital status	Together	35 (100,0)
	Divorced	0 (0,0)
Kinship between parents	Yes	9 (25,7)
	No	26 (74,3)
N: Number		

Table 2. Comparison of the characteristics of the ASD and control group's mothers's pregnancy period

Characteristics	Groups	Control group N (%)	ASD group N (%)	Ki square P value	Post hoc Power analyses
Pregnancy order	Second (after abort/curettage)	4 (11,4)	6 (17,1)		% 10
	1	16 (45,7)	6 (17,1)	0,055	% 73
	2 (after healthy birth)	11 (31,4)	13 (37,1)		% 7
	3	3 (8,6)	7 (20,0)		% 28
	4	1 (2,9)	3 (8,6)		% 17
Multiple pregnancy	No	34 (97,1)	35 (100,0)	1,000	% 17
	Yes (twin)	1 (2,9)	0 (0,0)		
Planned pregnancy	Yes	29 (82,9)	21 (60,0)	0,034*	% 56
	No	6 (17,1)	14 (40,0)		
Use of oral contraceptive before pregnancy	Yes	0 (0,0)	2 (5,7)	1,000	% 30
	No	6 (17,1)	14 (40,0)		
Type of conception	By natural ways	35 (100,0)	34 (97,1)	0,314	% 17
	Other	0 (0,0)	1 (2,9)		
Regular doctor check in pregnancy	Yes	32 (91,4)	31 (88,6)	0,690	% 6
	No	3 (8,6)	4 (11,4)		
Hospitalization in pregnancy	No	30 (85,7)	33 (94,3)	0,232	% 22
	Due to non-febrile disease	4 (11,4)	1 (2,9)		% 28
	Due to fever disease	1 (2,9)	1 (2,9)		% 3
Drug use in pregnancy	Yes	10 (28,6)	7 (20,0)	0,403	% 13
	No	25 (71,4)	28 (80,0)		
Stressful life event in pregnancy	Yes	8 (22,9)	16 (45,7)	0,044*	% 52
	No	27 (77,1)	19 (54,3)		
Malnutrition in pregnancy	Yes	6 (17,1)	6 (17,1)	1,000	% 3
	No	29 (82,9)	29 (82,9)		
Problems in pregnancy	Yes	12 (34,3)	13 (37,1)	0,803	% 4
	No	23 (65,7)	22 (62,9)		
Weight gain during pregnancy	≤ 5 kg	4 (11,4)	3 (8,6)	0,849	% 6
	6-17 kg	26 (74,3)	28 (80,0)		% 8
	≥ 18 kg	5 (14,3)	4 (11,4)		% 6
Vitamin D deficiency in pregnancy	Yes	11 (31,4)	7 (20,0)	0,389	% 19
	No	18 (51,4)	18 (51,4)		% 3
	Unknown	6 (17,1)	10 (28,6)		% 21
Smoking in pregnancy	Yes	2 (5,7)	1 (2,9)	1,000	% 8
	No	33 (94,3)	34 (97,1)		
Smoker at home during pregnancy	Yes	19 (54,3)	15 (42,9)	0,339	% 16
	No	16 (45,7)	20 (57,1)		
Tap water usage in pregnancy	Yes	30 (85,7)	27 (77,1)	0,356	% 15
	No	5 (14,3)	8 (22,9)		

ASD: Autism Spectrum Disorders, **N:** Number, **Kg:** Kilograms, *P < 0,05.

The pregnancy and delivery characteristics of the cases with ASD diagnosis and the control group are seen in Table 2 and Table 3, and the rate of unplanned pregnancy and stressful life events during pregnancy was found to be significantly higher in the cases with ASD ($p < 0,05$).

In the ASD group, the correlation between the subscores and total scores of the ABC scale and parental educational level, parental age during delivery, monthly income

level, experiencing a stressful event during pregnancy, birth order of the child and whether or not the pregnancy was planned were investigated. The social relating, body and object use, language skills and total scores of the ABC scale were found to be significantly higher in those with ASD who were born as a result of unplanned pregnancy ($p < 0,05$) (Table 4). There was no significant correlation between the subscores of the ABC scale and other characteristics ($p > 0,05$).

Table 3. Comparison of birth characteristics of ASD diagnosed cases and control group

Characteristics	Groups	Control group N (%)	ASD group N (%)	Ki square P value
Birth time	Term	30 (85,7)	28 (80,0)	0,526
	Preterm	4 (11,4)	3 (8,6)	
	Post-term	1 (2,9)	4 (11,4)	
Birth season	Spring	7 (20,0)	7 (20,0)	1,000
	Summer	10 (28,6)	10 (28,6)	
	Autumn	7 (20,0)	7 (20,0)	
	Winter	11 (31,4)	11 (31,4)	
Birth weight	1500-2000 gr	1 (2,9)	0 (0,0)	0,445
	2001-2500 gr	4 (11,4)	2 (5,7)	
	2501-3000 gr	7 (20,0)	8 (22,9)	
	3001-3500 gr	11 (31,4)	15 (42,9)	
	3501 gr and more	11 (31,4)	10 (28,6)	
Delivery method	Normal	17 (48,6)	17 (48,6)	1,000
	Caesarean	18 (51,4)	18 (51,4)	
Problems in birth	Yes	6 (17,1)	10 (28,6)	0,255
	No	29 (82,9)	25 (71,4)	
Place of birth	Hospital	34 (97,1)	35 (100,0)	1,000
	Home	1 (2,9)	0 (0,0)	

ASD: Autism Spectrum Disorders, N: Number

Table 4. Comparison of ABC scores according to whether the pregnancy is planned or not

Subscales	Unplanned pregnancy		Planned pregnancy		Mann-Whitney U test P value
	Mean \pm SD	Median	Mean \pm SD	Median	
Sensory Behavior	12,5 \pm 6,1	12,0	10,4 \pm 4,7	11,0	0,311
Social Relating	19,6 \pm 8,1	20,0	10,9 \pm 6,2	11,0	0,003*
Body and Object Use	14,4 \pm 7,8	19,5	10,0 \pm 6,1	8,0	0,006*
Language Skills	18,1 \pm 9,1	23,0	12,5 \pm 5,2	14,0	0,040*
Social and Adaptive Skills	16,9 \pm 9,2	16,5	12,1 \pm 7,3	11,0	0,117
Total	84,4 \pm 34,9	94,0	55,8 \pm 21,5	55,0	0,018*

ABC: Autism Behavior Checklist, SD: Standard Deviation, *P < 0,05.

DISCUSSION

35 children/adolescents with diagnosed with ASD were taken as the study group, and their 35 siblings were taken as the control groups in the study. Whether some of the factors during the pregnancy and delivery period contributed to the etiology of ASD and some factors that are predicted to affect the severity of autism symptoms were investigated in the study.

In the literature, there are conclusions that ASD may be linked to numerous factors like Vitamin D deficiency, fever, air pollution during pregnancy and delivery period.^{21,22,23} In the study conducted, many factors thought to play a role in the etiology of ASD related to pregnancy and delivery period were questioned. Among these factors, only unplanned pregnancy and stressful life events during pregnancy were found to be significantly higher in children with ASD, and no correlation was found between ASD and other factors.

Stress, natural disasters such as earthquakes, floods, storms, unavoidable events such war and terrorism, or domestic violence can be caused by problems in human relations in the home or business environment. Considering the literature, there are studies reporting a significant correlation between encountering stressful events and experiencing stress before delivery and the increased risk for ASD, similar to the conclusion of the study.^{16,33-35} It has been reported that stress is involved in the etiology of ASD through various mechanisms. One of these mechanisms is in the form of impairments in the negative feedback system of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis caused by stress, and an increase in the glucocorticoid levels. Psychological stress experienced during pregnancy increases the secretion of corticotropin-releasing hormone (CRH) from the hypothalamus and regulates the HPA axis and also affects the programming of the fetal HPA axis. Thus, early life stress increases the susceptibility of individuals to mental disorders in later stages by causing an increase in stress response.³⁶ Some human and animal studies

proved the significant effects of prenatal stress activating the HPA axis on postnatal behavior. Elevated plasma CRH levels have been associated with preterm labor and anxiety in the preconception period. It has also been reported that acute stress increased the level of serum interleukin-6 level, which is secreted by the mast cell and is responsible for the neuroinflammatory response, thereby contributing the pathogenesis and symptoms of autism by the impairing the permeability of the blood-gut barrier and blood-brain barrier and increasing the penetration of neurotoxic molecules into the brain.³⁷ Changes in the Gamma-aminobutyric acid, serotonergic, and dopaminergic pathways and changes secondary to increased activity in the sympathoadrenal system have also been reported to be other mechanisms of action of stress in the etiology of ASD.³⁸⁻⁴¹ It has been suggested by the animal studies conducted that prenatal stress negatively affected the neurodevelopment of infant and led to behaviors resembling autism symptoms.¹⁷ It has been suggested that psychological stress may affect the neurodevelopment through mechanisms such as Deoxyribo Nucleic Acid methylation or the programming of the HPA axis.^{17,42} It has been indicated that in Rhesus apes, exposure of mother to prenatal stress hormones or psychological stress resulted in abnormalities in the immune function that occur in the postnatal period and continues in the late childhood period.⁴³ It has been indicated that impaired immune functions, such as lymphocyte proliferation, natural killer cell activity and cytokine production, may reduce the ability to resist viral and bacterial infections, and may therefore be associated with an increased risk of autism, suggesting that the pathological mechanisms of prenatal stress are linked to prenatal infections.⁴⁴ Although the conclusions of this mentioned study are biologically reasonable, the evidence supporting the correlation between psychological stress during pregnancy and ASD is limited and inconsistent in human studies.⁴⁵ Experiencing a stressful event during pregnancy may also cause mother to have an unhappy mood during pregnancy. It has been reported by the studies that there were significant correlations between mother's unhappy mood

and ASD. It has been suggested that the unhappy mood of mother may increase the maternal hormone levels, such as adrenaline, and that the adrenalin may affect the cerebral blood flow of infant as a result of causing placental vasoconduction or may alter the fetal hormone levels, so as to affect the development of infant.³⁰

In the study conducted, unplanned pregnancy was associated with ASD. It has been suggested that unplanned pregnancy may result in mother's not being ready mentally and a major source of stress for pregnancy and perceptions for subsequent processes, and may affect this process similar to stress experienced during pregnancy period. Furthermore, this association may also have been caused by not taking care of the environmental factors or nutritional process that may be effective in terms of the development of ASD during pregnancy period, or by not performing necessary medical follow-ups. The ABC total score, social relating, body and object use and language skills of children with ASD who were born as a result of unplanned pregnancy were found to be significantly higher. Considering the studies, the women who had unplanned pregnancy were found to have a higher level of postnatal depression.^{46,47} It has been thought that depression symptoms such as turning in upon himself/herself, not wanting to communicate with people may have caused mother to interact less with child, thus child's ability to communicate, body and object use and language development may be negatively affected. There are also studies in the literature revealing a strong correlation between the oral responsiveness levels, interaction styles and frequency of parents, and the language skills of autistic children.^{48,49}

The study has various strengths and limitations. There are few studies on the pregnancy and delivery period of ASD cases in our country. It has been thought that inclusion of the siblings of the same gender with the closest age to that of patients diagnosed with ASD as the control group reduced the effect of the genetic factor, known to be important in the etiology of ASD, to lower levels. The low number of

samples in the study and control groups limits the generalization of the study results and control of confounding factors. Moreover, the fact that some of the patients were in the adolescence period may have caused a problem in recalling the answers to questions asked retrospectively so bias probability is high. In case-control studies, it is not known which of the "Cause and Result" started first.

In this study, the stress experienced during pregnancy and the unplanned pregnancy were found to be correlated with ASD. It was determined that the patients with ASD, who were born as a result of unplanned pregnancy, had more symptoms of autism, such as social relating, body and object use, language skills, and a higher total symptom severity. It has been thought that getting pregnant by planning and living stress-free may allow mother to adapt to pregnancy, delivery and subsequent processes easier, and may reduce the possibility of the ASD development, and may lead the symptom severity to be lower, even if ASD develops.

It is reported that the prevalence of ASD has increased in recent years. Although it is indicated that this may be due to causes such as increased awareness of both clinicians and parents about the disease, better record-keeping and increased use of screening scales, these causes cannot exactly explain the increase in the prevalence.⁵⁰ Therefore, it is thought that it is also important to investigate the effects of environmental factors in the etiology of ASD, and that elucidation of the etiology can contribute to prevention studies of the disorder.

Conflict of interest

The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

References

1. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM)*, 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2013.
2. Baxter AJ, Brugha TS, Erskine HE, Scheurer RW, Vos T, Scott JG. The epidemiology and global burden of autism spectrum disorders. *Psychol Med* 2015;45:601–613.
3. Christensen DL, Baio J, Braun KV, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2012. *MMWR Surveill Summ* 2016;65:1–23.
4. Werling DM, Geschwind DH. Sex differences in autism spectrum disorders. *Curr Opin Neurol* 2013;26:146–153.
5. Gurrieri F. Working up autism: the practical role of medical genetics. *Am J Med Genet* 2012;160C(2):104–110.
6. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, et al. Autism as a strongly genetic disorder: Evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995;25(1):63–77.
7. Folstein S, Rutter M. Infantile autism: a genetic study of 21 twin pairs. *J Child Psychol Psychiatry* 1977;18(4):297–321.
8. Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Mol Psychiatry* 2007;12(1):2.
9. Ritvo ER, Freeman BJ, Mason-Brothers A, Mo A, Ritvo AM. Concordance for the syndrome of autism in 40 pairs of afflicted twins. *Am J Psychiatry* 1985;142(1):74–77.
10. Steffenburg S, Gillberg C, Hellgren L, Andersson L, Gillberg IC, Jakobsson G, et al. A twin study of autism in Denmark, Finland, Iceland, Norway and Sweden. *J Child Psychol Psychiatry* 1989;30(3):405–416.
11. Dietert RR, Dietert JM, DeWitt JC. Environmental risk factors for autism. *Emerging health threats journal* 2011;4(1):7111.
12. Bilder D, Pinborough-Zimmerman J, Miller J, McMahon W. Prenatal, perinatal, and neonatal factors associated with autism spectrum disorders. *Pediatrics* 2009;123(5):1293–1300.
13. Glasson EJ, Bower C, Petterson B, de Klerk N, Chaney G, Hallmayer JF. Perinatal factors and the development of autism: a population study. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61(6):618–627.
14. Hultman CM, Sparén P, Cnattingius S. Perinatal risk factors for infantile autism. *Epidemiology* 2002;13(4):417–423.
15. Juul-Dam N, Townsend J, Courchesne E. Prenatal, perinatal, and neonatal factors in autism, pervasive developmental disorder-not otherwise specified, and the general population. *Pediatrics* 2001;107(4):E63.
16. Kinney DK, Miller AM, Crowley DJ, Huang E, Gerber E. Autism prevalence following prenatal exposure to hurricanes and tropical storms in Louisiana. *J Autism Dev Disord* 2008;38(3):481–488.
17. Kinney DK, Munir KM, Crowley DJ, Miller AM. Prenatal stress and risk for autism. *Neurosci Biobehav Rev* 2008;32(8):1519–1532.
18. Larsson HJ, Eaton WW, Madsen KM, Vestergaard M, Olesen AV, Agerbo E, et al. Risk factors for autism: perinatal factors, parental psychiatric history, and socioeconomic status. *Am J Epidemiol* 2005;161(10):916–925.
19. Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B, Nelson S, Romano J. Embryological origin for autism: Developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. *J Comp Neurol* 1996;370(2):247–261.
20. Stromland K, Nordin V, Miller M, Akerstrom B, Gillberg C. Autism in thalidomide embryopathy: A population study. *Dev Med Child Neurol* 1994;36(4):351–356.
21. Hornig M, Bresnahan MA, Che X, Schultz AF, Ukaigwe JE, Eddy ML, et al. Prenatal fever and autism risk. *Mol Psychiatry* 2018;23(3):759–766.
22. Volk HE, Lurmann F, Penfold B, Hertz-Picciotto I, McConnell R. Traffic-Related Air Pollution, Particulate Matter, and Autism. *JAMA Psychiatry* 2013;70(1):71–77.
23. Grant WB, Soles CM. Epidemiologic evidence for supporting the role of maternal vitamin D deficiency as a risk factor for the development of infantile autism. *Dermatoendocrinol* 2009;1(4):223–228.
24. Boukhris T, Sheehy O, Mottron L, Bérard A. Antidepressant Use During Pregnancy and the Risk of Autism Spectrum Disorder in Children. *JAMA Pediatr* 2016;170(2):117–124.
25. Hamadé A, Salameh P, Medlej-Hashim M, Hajj-Moussa E, Saadallah-Zeidan N, Rizk F. Autism in children and correlates in Lebanon: a pilot case-control study. *J Res Health Sci* 2013;13(2):119–124.
26. Idring S, Magnusson C, Lundberg M, Ek M, Rai D, Svensson AC, et al. Parental age and the risk of autism spectrum disorders: findings from a Swedish population-based cohort. *Int J Epidemiol* 2014;43(1):107–115.
27. Walker CK, Krakowiak P, Baker A, Hansen RL, Ozonoff S, Hertz-Picciotto I. Preeclampsia, placental insufficiency, and autism spectrum disorder or developmental delay. *JAMA Pediatr* 2015;169(2):154–162.
28. Burstyn I, Wang X, Yasui Y, Sithole F, Zwaigenbaum L. Autism spectrum disorders and fetal hypoxia in a population-based cohort: accounting for missing exposures via Estimation-Maximization algorithm. *BMC Med Res Methodol* 2011;11(1):2.
29. Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues Clin Neurosci* 2012;14(3):281.
30. Zhang X, Lv CC, Tian J, Miao RJ, Xi W, Hertz-Picciotto I, et al. Prenatal and perinatal risk factors for autism in China. *J Autism Dev Disord* 2010;40(11):1311–1321.
31. Krug D, Arick J, Almond P. Autism Behavior Checklist – ABC. In: Krug DA, Arick J, Almond P. *Autism Screening Instrument for Educational Planning- ASIEP-2*. Austin, Texas: PRO-ED; 1993.
32. Yılmaz-Irmak T, Tekinsav-Sütçü S, Aydın A, Sorias O. Otizm Davranış Kontrol Listesinin (ABC) geçerlilik ve güvenirliğinin incelenmesi. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi* 2007;14(1):13–23.
33. O'Donnell K, O'Connor TG, Glover V. Prenatal stress and neurodevelopment of the child: focus on the HPA axis and role of the placenta. *Dev Neurosci* 2009;31(4):285–292.
34. Ward AJ. A comparison and analysis of the presence of family problems during pregnancy of mothers of “autistic” children and mothers of normal children. *Child Psych Hum Dev* 1990;20(4):279–288.
35. Beversdorf DQ, Manning SE, Hillier A, Anderson SL, Nordgren RE, Walters SE, et al. Timing of prenatal stressors and autism. *J Autism Dev Disord* 2005;35(4):471–478.
36. Polat Çorumlu E, Ulupinar E. Neurobiological effects of prenatal stress exposure. *Osmangazi journal of medicine* 2016;38:89–98.
37. Angelidou A, Asadi S, Alysandratos KD, Karagkouni A, Kourembanas S, Theoharides TC. Perinatal stress, brain inflammation and risk of autism. *BMC Pediatr* 2012;12:89.
38. Barros VG, Berger MA, Martijena ID, Sarchi MI, Perez AA, Molina VA, et al. Early adoption modifies the effects of prenatal stress on dopamine and glutamate receptors in adult rat brain. *Journal of neuroscience research* 2004;76(4):488–496.
39. Huppert-Kessler CJ, Poeschl J, Hertel R, Unsicker K, Schenkel J. Effects of a new postnatal stress model on monoaminergic neurotransmitters in rat brains. *Brain and development* 2012;34(4):274–279.
40. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 1997;20:78–84.
41. Barbazanges A, Piazza PV, Le Moal M, Maccari S. Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *Journal of Neuroscience* 1996;16(12):3943–3949.
42. Schanen NC. Epigenetics of autism spectrum disorders. *Hum Mol Genet* 2006;15:R138–R50.
43. Coe LB, Lubach GR, Karaszewski JW. Prenatal stress and immune recognition of self and nonself in the primate neonate. *Biol Neonate* 1999;76(5):301–310.
44. Grabrucker AM. Environmental Factors in Autism. *Front Psychiatry* 2012;3:118.
45. Rai D, Golding J, Magnusson C, Steer C, Lewis G, Dalman C. Prenatal and early life exposure to stressful life events and risk of autism spectrum disorders: population-based studies in Sweden and England. *PloS one* 2012;7(6):e38893.
46. Bunevicius R, Kusminskas L, Bunevicius A, Nadisauskienė RJ, Jureniene K, Pop VJ. Psychosocial risk factors for depression during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009;88:599–605.
47. Yücel P, Çayır Y, Yücel M. Birinci trimester gebelerde depresyon ve anksiyete bozukluğu. *J Clin Psy* 2013;16:83–87.
48. Venker C, McDuffie A, Ellis Weismer S, Abbeduto L. Increasing verbal responsiveness in parents of children with autism: A pilot study. *Autism* 2011;16(6):568–585.
49. Siller M, Sigman M. The behaviors of parents of children with autism predict the subsequent development of their children's communication. *J Autism Dev Disord* 2002;32:77–89.
50. Özbaran B. Do environmental factors have influence on autism spectrum disorder? *The journal of pediatric research* 2014;1(4):170–173.

Tip 2 Diabetes Mellitus Hastalarında Serum Çinko, Selenyum, Manganez, Demir, Bakır Element Düzeyleri ve Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn Oranlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of the Serum Zinc, Selenium, Manganese, Iron, Copper Element Levels, and Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn Ratios in Type 2 Diabetes Mellitus Patients

Nurten Bahtiyar¹, Yalçın Hacıoğlu²

¹ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İSTANBUL

² İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği Kliniği, İSTANBUL

Yazışma Adresi / Correspondence:

Nurten Bahtiyar

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul - Türkiye

T: +90 212 414 30 00 E-mail: nurtenbahtiyar@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 11.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 21.02.2019

Öz

Amaç	Çalışmamızda Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) hastalarında serum çinko (Zn) ve bakır (Cu) selenyum (Se), manganez (Mn) ve demir (Fe) eser elementlerinin düzeyleri ve oranlarındaki olası değişimi ve hastalık patogenezindeki rolleri araştırılmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):38-45)
Gereç ve Yöntem	Çalışmaya 70 T2DM ve 40 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Tüm bireylere ait serum Zn, Cu, Se, Mn ve Fe düzeyleri induktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrofotometresi (ICP-OES) ile ölçülmüştür.
Bulgular	Serum Zn, Se, Mn düzeylerinin T2DM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı belirlendi (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,01$). Cu ve Fe değerlerinin ise T2DM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı belirlendi (sırasıyla $p<0,001$ $p<0,05$). T2DM grubunda Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn oranları kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulundu (hepsi için $p<0,001$). Ayrıca, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn oranları kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi (hepsi için $p<0,01$). T2DM grubunda Cu düzeyi ile Cu/Zn oranı arasında; Fe düzeyi ile Fe/Zn, Fe/Se ve Fe/Mn oranları arasında; Fe/Se ile Fe/Mn oranları arasında; Fe/Mn ile Cu/Mn oranları arasında yüksek derecede pozitif korelasyon olduğu belirlendi. Ayrıca Zn düzeyi ile Cu/Zn oranı arasında; Mn düzeyi ile Fe/Mn ve Cu/Mn oranları arasında; Se düzeyi ile Cu/Se oranı arasında ise yüksek derecede negatif bir korelasyon olduğu görüldü.
Sonuç	Çalışmamızın bulguları eser elementlerin T2DM patogenezinde yer aldığını göstermektedir. T2DM hastalarında eser element seviyelerinin ve oranlarının ilişkili mekanizmalarını belirlemek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.
Anahtar kelimeler	Tip 2 Diabetes Mellitus; Çinko; Selenyum; Manganez; Bakır; Demir

ÖZ

Objective	The aim of this study was to investigate the role of serum zinc (Zn) and copper (Cu) selenium (Se), manganese (Mn) and iron (Fe) levels and ratios, and their role in the pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):38-45)
Materials and Methods	70 T2DM and 40 healthy subjects were included in the study. Serum Zn, Cu, Se, Mn and Fe levels of all individuals were measured by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES).
Results	Serum Zn, Se, Mn levels were significantly decreased in T2DM group compared to the control group ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.01$, respectively). Cu and Fe values were significantly increased in T2DM group compared to the control group ($p<0.001$ $p<0.05$, respectively). In the T2DM group, Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn ratios were found to be statistically higher than the control group ($p<0.001$ for all). Also, Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn ratios were found to be statistically higher than the control group ($p<0.01$ for all). There were the highest positive correlations between Cu and Cu/Zn; Fe and Fe/Zn; Fe/Se and Fe/Mn; Fe/Se and Fe/Mn; Fe/Mn and Cu/Mn in T2DM group. Also, there were the highest negative correlations between Zn and Cu/Zn; Mn and Fe/Mn, and Cu/Mn; Se and Cu/Se.
Conclusion	When we examine the findings of our study, it shows that trace elements are involved in the pathogenesis of T2DM. Further studies are needed to determine the associated mechanisms of trace element levels and ratios in T2DM disease.
Key words	Type 2 Diabetes Mellitus; Zinc; Selenium; Manganese; Copper; Iron

GİRİŞ

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), insülin sekresyon bozukluğu ve insülin direncinin meydana geldiği, karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarında bozukluklara yol açan, hiperglisemi ile karakterize kronik progresif metabolik bir hastalıktır.^{1,2} Hastalığın görülme sıklığındaki artış sebebiyle, önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir.³ T2DM gelişiminde etkili olan etiyolojik faktörler arasında genetik yatkınlık, viral enfeksiyonlar, otoimmünite ve obezite bulunmaktadır.⁴ Kronik hiperglisemiye bağlı kan damarları ve sinir hücrelerindeki hasar sonucunda retinopati, nöropati ve nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonların yanı sıra kardiyovasküler hastalık gibi makrovasküler komplikasyonlar da T2DM hastalığında görülmektedir.^{5,6} Vücuttaki yaşamsal pek çok mekanizmada yer alan eser elementler, organizmanın gelişimi, büyümesi ve fizyolojisi için gereklidir.⁷ Eser elementlerin çeşitli metabolik süreçlerde insan sağlığı ve hastalıkları üzerinde birçok önemli rolleri bulunmaktadır.⁶ Biyokimyasal reaksiyonda rol alan bu elementlerden bazıları insülin ve glukoz metabolizması ile de ilgilidir.⁸ Eser elementlerden biri olan çinko (Zn)'nun pankreasın beta hücrelerine taşınması insülin üretimi ve verimli bir şekilde veziküllerin içine paketlenmesi için gereklidir. Ayrıca adipozitlerde ve iskelet kaslarında çinko parmak proteini 407 ve çinko-alfa-2-glikoproteininin glukoz taşıyıcı tip 4 (GLUT 4) proteininin ekspresyonunu artırarak, bu hücelere insülin ile indüklenen glukoz alınmasına aracılık etmektedir.⁶ Bakır (Cu) elementinin ise mitokondriyal elektron taşıma zincirinin terminal ucundaki sitokrom oksidaz fonksiyonunda önemli bir rolü bulunmaktadır. Pankreatik asiner hücreleri ve hepatositler gibi metabolik olarak aktif dokularda Cu eksikliği mitokondrilerin distorsiyonuna katkı sağlamaktadır.⁹ Karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan başka bir eser element olan mangan (Mn)'in optimal insülin sentezi ve salgılanması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca Mn'nin insülinin reseptörüne bağlanmasını arttırdığı ve insülinin fizyolojik etkisini kolaylaştırdığı ifade edilmektedir.⁸ Demir (Fe), hücrel membran lipitlerine, proteinlere ve nükleik asitlere saldıran, güçlü prooksidantlardan biri olan hidroksil

radikallerinin oluşumunda önemli bir katalizördür. Fe'nin katalize ettiği hidroksil radikallerinin oluşumu başlangıçta insülin direncine, daha sonra azalmış insülin sekresyonu ve daha sonra T2DM gelişiminde etkili olduğu öne sürülmektedir.^{10,11} Selenyum (Se) önemli bir antioksidan eser elementtir. Se bağımlı glutatyon peroksidazın (Se GSHpx) ko-faktörü olan Se, oksidatif strese karşı savunma sisteminde görev almaktadır.¹²

Bu bilgileri dikkate alarak yaptığımız literatür araştırmamızda glukoz metabolizması ve/veya oksidatif stresle ilişkili oldukları bildirilen bu elementler ile T2DM hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışmanın bulunduğu ancak bu araştırmalarda çelişkili bulguların var olduğu görülmüştür.^{1,6,13-19} Bu çalışmada T2DM hastalarında Zn, Cu, Mn, Fe ve Se elementlerinin serum düzeyleri ile birlikte Cu/Se, Cu/Zn, Cu/Mn, Fe/Se, Fe/Zn ve Fe/Mn oranları da değerlendirilerek bu belirteçlerin T2DM hastalığının patogenezindeki olası rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Polikliniği'ne Eylül- Kasım 2018 tarih aralığında başvuran 70 T2DM ve 40 sağlıklı birey ile gerçekleştirildi. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu (3.08.2019 tarihli ve 1388 karar numaralı) onayı ve tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş olur formu alınarak, Helsinki Deklarasyonu kurallarına uygun olarak çalışma yapıldı. Çalışmamız vaka-kontrol araştırması olup, T2DM teşhisi konulan ve başka herhangi bir hastalık teşhisi bulunmayan bireyler çalışmaya dahil edildi. Açlık plazma glukozunun ≥ 126 mg/dl olması, oral glukoz tolerans testinin 2. saatindeki plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl olması, rastgele plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl ile birlikte diyabet semptomlarının bulunması, HbA1c düzeyinin $\geq 6,5$ olması kriterleri dikkate alınarak Tip 2 DM hasta grubu oluşturuldu.²⁰ Ayrıca kontrol grubuna herhangi bir hastalığı bulunmayan, benzer yaş aralığındaki sağlıklı bireyler dahil edildi. T2DM hastalarından ve sağlıklı bireylerden 4 ml venöz kan örneği alınarak 2000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi ve

serum örnekleri analiz edilinceye kadar -80°C'de saklandı. Serum örneklerinde Zn, Cu, Mn, Fe ve Se düzeyleri indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrofotometresi (ICP-OES, Thermo iCAP 6000, Cambridge, İngiltere) ile ölçüldü. Analiz için serum örnekleri % 0,3 HNO₃ (Merck, Darmstadt, Almanya) ile 1:10 oranında ile sulandırıldı. 1000 mg/l konsantrasyonlarda olan stok solüsyonları kullanılarak kalibrasyon standartları hazırlandı. Stok solüsyonları ve % 0,3 oranında HNO₃ içeren distile su kullanılarak 0,0025, 0,0050, 0,0100, 0,0500, 0,2500 ve 0,5000 ppm konsantrasyonlarda multielement standart solüsyonları (Millipore, Bedford, MA, ABD) hazırlandı. Zn, Cu, Mn, Fe ve Se element düzeylerinin belirlenmesinde 213,800 nm, 324,754 nm, 257,610 nm, 259,940 nm ve 196,026 nm dalga boyları kullanıldı. Element düzeyleri sonuçları µg/dL olarak belirlendi ve Cu/Se, Cu/Zn, Cu/Mn, Fe/Se, Fe/Zn, Fe/Mn oranları her hasta için ayrı ayrı hesaplandı.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler "Statistical Package for the Social Sciences-SPSS 21.0 for Windows" paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dağılım gösteren verilerin incelenmesinde Student t, normal dağılım göstermeyen verilerin incelenmesinde ise Mann-Whitney U testleri kullanılarak gruplar arasındaki anlamlılıklar belirlendi. Sonuçlar ortalama±standart sapma (S.S.) olarak verildi ve p<0,05 değerler anlamlı olarak kabul edildi. Ayrıca Pearson

korelasyon testi ile değişkenler arasındaki ilişki araştırıldı.

BULGULAR

Çalışma T2DM hastalarının oluşturduğu vaka grubu ve sağlıklı bireylerin oluşturduğu kontrol grubu ile gerçekleştirildi. Vaka ve kontrol gruplarına ait tüm veriler ortalama ± standart sapma (S.S.) olarak verildi. Vaka ve kontrol gurubu verileri arasında bulunan yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ) arasında istatistiksel bir anlamlılık olmadığı görüldü (sırasıyla p=0,362, p=0,100, p=0,218). T2DM hasta grubunun Açlık kan şekeri (AKŞ) ve HbA1c düzeyleri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (her ikisi de p<0,001) (Tablo 1).

T2DM ile kontrol gruplarının element düzeyleri karşılaştırıldığında, T2DM grubunun serum Zn, Mn ve Se düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü (sırasıyla p<0,01 p<0,01, p<0,001) (Tablo 2). Serum Cu ve Fe değerlerinin ise T2DM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı belirlendi (sırasıyla p<0,001 p<0,05) (Tablo 2). T2DM grubunun Cu/Zn oranı 1,61±0,30, Cu/Se oranı 9,30±1,60, Cu/Mn oranı ise 148,40±29,03 olarak hesaplandı. Kontrol grubunun ise Cu/Zn oranı 1,14±0,21, Cu/Se oranı 6,40±1,24, Cu/Mn oranı ise 101,40±27,27 olarak belirlendi. Kontrol grubuna göre T2DM grubunda Cu/Zn,

	T2DM (n:70)	Kontrol (n:40)	P
Yaş (Yıl)	56,43±8,35	53,96±9,36	0,362
Cinsiyet			
Kadın (n:60)	38	22	0,100
Erkek (n:50)	32	18	0,100
Vücut Kitle İndeksi (VKİ) kg/m ²	28,21±3,85	25,71±2,73	0,218
Hastalık Süresi (Yıl)	6,43±1,85	0	--
AKŞ (mg/dl)	150,80±36,90	96,84±8,64	<0,0001
HbA1c (%)	7,84±1,02	5,14±0,25	<0,0001
Veriler ortalama ± standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir. AKŞ: Açlık kan şekeri.			

	T2DM	Kontrol
Zn (µg/dl)	73,45±10,86**	84,12±13,66
Cu (µg/dl)	115,50±12,70***	94,08±15,02
Mn (µg/dl)	0,81±0,13**	0,99±0,26
Fe (µg/dl)	113,10±24,16*	93,85±24,63
Se (µg/dl)	12,84±2,10***	14,98±2,17

Veriler ortalama ± standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir. T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus, Zn: Çinko, Cu: Bakır, Mn: Mangan, Fe: Demir, Se: Selenyum. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

Cu/Se, Cu/Mn oranlarının istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi (tümü için p<0,001).

T2DM grubunun Fe/Zn oranı 1,56±0,35, Fe/Se oranı 9,08±2,40, Fe/Mn oranı ise 145,80±45,98 olarak bulundu. Kontrol grubunun ise Fe/Zn oranı 1,16±0,37, Fe/Se oranı 6,82±2,08, Fe/Mn oranı ise 98,89±45,98 olarak belirlendi. T2DM grubunun Fe/Zn, Fe/Se, Fe/Mn oranları da benzer şekilde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu (tümü için p<0,01) (Şekil 1a ve 1b).

Element düzeyleri ve oranları arasındaki ilişki incelendiğinde T2DM grubunda Zn ile Mn düzeyi ve Fe/Se, Fe/Mn, Cu/Mn oranları arasında; Cu ile Fe/Zn, Cu/Zn ve Cu/Mn oranları arasında; Fe ile Fe/Zn, Fe/Se ve Fe/Mn oranları arasında; Mn ile Cu/Zn oranı arasında; Fe/Zn oranı ile Fe/

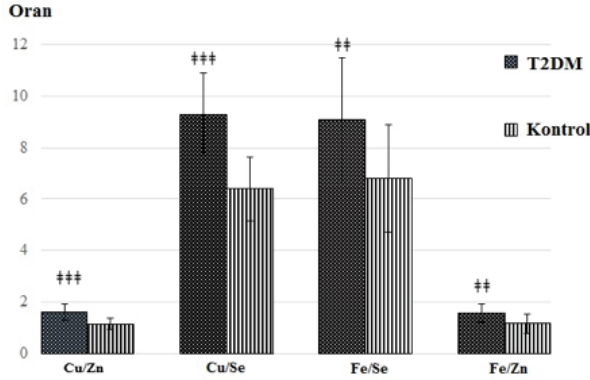
Se, Fe/Mn, Cu/Zn oranları arasında; Fe/Se oranı ile Fe/Mn, Cu/Se ve Cu/Mn oranları arasında; Fe/Mn ile Cu/Mn oranları arasında; Cu/Se ile Cu/Mn oranları arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. Buna ek olarak Zn ile Cu/Zn oranı arasında; Mn ile Fe/Mn ve Cu/Mn oranları arasında; Se ile Fe/Se ve Cu/Se oranları arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Tablo 3).

TARTIŞMA

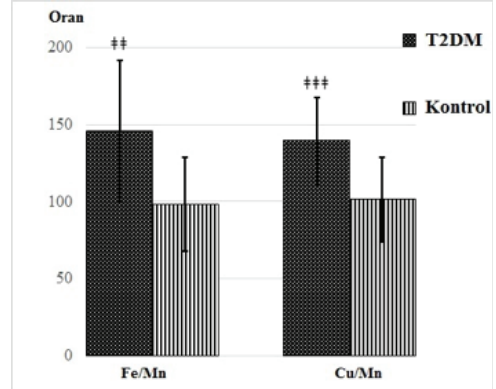
T2DM hastalığı, önlenmesi ve tedavisinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulan uluslararası bir sağlık sorunudur.²¹ Birçok etkene bağlı olarak gelişen T2DM hastalığı, endokrin etkileşimlerdeki fonksiyonel bozukluklara, karbonhidrat, lipit ve eser element metabolizmasındaki bozukluklara katkıda bulunmaktadır. Diyabetle ilişkili metabolik disregülasyonlar çoklu organ sistemlerinde patolojik değişik-

	Zn	Cu	Fe	Mn	Se	Fe/Zn	Fe/Se	Fe/Mn	Cu/Zn	Cu/Se
Zn										
Cu	-0,121									
Fe	0,287	0,336								
Mn	0,486*	0,161	-0,153							
Se	0,277	0,310	0,022	0,334						
Fe/Zn	-0,353	0,428*	0,789***	0,189	0,206					
Fe/Se	0,414*	0,026	0,754***	-0,396	-0,626**	0,455*				
Fe/Mn	0,537**	0,180	0,812***	-0,674***	-0,213	0,430*	0,804***			
Cu/Zn	-0,750***	0,739***	0,023	0,442*	0,411	0,517*	-0,278	-0,255		
Cu/Se	0,230	0,303	0,147	-0,267	-0,801***	0,009	0,614**	0,319	0,020	
Cu/Mn	0,418*	0,482*	0,399	-0,761***	-0,144	0,109	0,443*	0,767***	0,022	0,466*

Değerler r; korelasyon katsayısı olarak verilmiştir, *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,0001 olarak kabul edilmiştir (Pearson korelasyonu)



Şekil 1a. Tip 2 Diabetes Mellitus ve kontrol gruplarına ait Serum Cu/Zn, Cu/Se, Fe/Se, Fe/Zn Oranları. Veriler ortalama \pm standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.



Şekil 1b. Tip 2 Diabetes Mellitus ve kontrol gruplarına ait Serum Fe/Mn, Cu/Mn Oranları. Veriler ortalama \pm standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

liklere neden olmakla birlikte, makro ve mikro vasküler komplikasyonlardan kaynaklanan ağır morbidite ve mortalite yüküne sebep olmaktadır.^{1,21,22}

Eser elementlerin vücuttaki farklı metabolik süreçlerde hayati rolleri olduğu bilinmektedir.¹⁴ Diyabet hastalığında bazı elementlerin metabolizmalarında değişim meydana geldiği, bu element düzeylerindeki değişim ile hastalığın ilerlemesi arasında bir ilişki olduğu belirtilmektedir.²³ Diyabet hastalığında artan glukoz konsantrasyonunun pankreas beta hücrelerinin mitokondrilerinde serbest radikal artışına yol açarak oksidatif hasarda artışa sebep olduğu bildirilmektedir. Eser elementler, antioksidan enzimlerin kofaktörleridir, eksiklikleri durumunda antioksidanlarda azalma ve artan lipid peroksidasyonu yoluyla artan oksidatif stres ile ilişkili olabilecekleri ifade edilmektedir.⁶

Zn elementi, insülin üretimindeki görevinin yanı sıra serbest radikallerin yıkıcı etkisine karşı koruyucu bir mekanizma ile T2DM prognozunda rol almaktadır.^{6,8} T2DM hastalığında Zn olası değişimi ile ilgili yaptığımız literatür araştırmasında çelişkili bulguların olduğu dikkati çekmiştir. Karahan ve ark., Hussain ve ark., Ekin ve ark., Atalay ve ark. T2DM hastalarında kontrol grubuna göre azalan serum Zn verileri olduğunu bildirirken, Evliyaoğlu ve

ark. ise anlamlı bir değişim bulunmadığını bildirilmişlerdir.^{1,24-26} Çalışmamızın verileri incelendiğinde hasta grubunda serum Zn düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz veriler gastrointestinal absorpsiyonda azalma ve/veya hiperzinküri nedeniyle Zn düzeyinde azalmanın görülebileceği görüşünü desteklemektedir.^{8,27}

Cu elementi oksidatif stresin gelişiminde rol oynamakta ve Cu düzeyinin artışı metal bağımlı serbest radikallerin toksik etkisini de artırmaktadır.²⁸ T2DM hastalığında Cu düzeyleri ile ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde benzer şekilde çelişkili bulguların olduğu görülmüştür. Farid ve ark., Pujar ve ark., 2014, Tamrakar ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda T2DM hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı bir Cu artışı olduğu bildirilirken, Yeasmin ve ark., Basaki ve ark., Ahmed ve ark. düşük Cu düzeyi olduğunu, Terres-Martos ve ark. ise Cu düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığını bildirmişlerdir.^{6,14-16,21,23,29} Çalışmamızda T2DM hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı bir Cu artışı olduğu görülmektedir. Bulgularımızda elde ettiğimiz Cu düzeylerindeki artışın, glikasyonu uyarıcı ve Cu iyonlarının proteinlerin bakır bağlama bölgelerinden salınmasına neden olan hiperglisemiye bağlı olabileceğini düşündürmektedir.²⁸

Serbest Fe oldukça pro-oksidandır ve reaktif oksijen türleri (ROT) üretebilmektedir. Bu nedenle, yüksek serbest Fe konsantrasyonu organizma için zararlıdır.⁶ T2DM hastalığında Fe düzeyleri ile ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde benzer şekilde çelişkili bulguların olduğu görülmüştür. Ekin ve ark., Atari-Hajipirloo ve ark., Zheng ve ark., Sanjeevi ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda T2DM hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı bir Fe artışı olduğu bildirilirken, Yerlikaya ve ark., Atalay ve ark. hasta grubunda düşük Fe düzeyi olduğunu, Ekmekçioğlu ve ark. ise plazma Fe düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığını bildirmişlerdir.^{8,17-19,25,26,30} Serum Fe düzeyi ile ilgili elde ettiğimiz veriler incelendiğinde T2DM hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı bir Fe artışı olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz veriler glikoz proteinlerinin Fe'yi bağlayarak diyabet hastalığında sıklıkla gelişen komplikasyonlar arasında bulunan periferik vasküler disfonksiyon ve periferik nöropatilerin etiolojisinde önemli rol oynadığı hipotezini desteklemektedir.³¹

Mn elementi kofaktör olarak görev yapmakta ve serbest radikalleri uzaklaştırmaya yardımcı olmaktadır.³² Serum Mn ile T2DM ilişkili araştırmalar incelendiğinde Farid ve ark., Yeasmin ve ark. verilerimize paralel sonuçlar elde ederek hasta grubunda kontrol grubuna göre azalan Mn düzeyleri olduğunu bildirmişlerdir.^{15,21} Ancak Ekin ve ark. T2DM grubunda artan Mn düzeyleri olduğunu ifade etmişlerdir.²⁵

Se en önemli antioksidan özellik gösteren eser elementlerden biridir.¹² T2DM hastalığında Se düzeyleri ile ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde de çelişkili bulgular olduğu görülmüştür. Kornhauser ve ark. T2DM grubunda kontrol grubuna göre Se'nin daha düşük olduğunu, Ekmekçioğlu ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise plazma ve eritrosit örneklerinde Se düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığını, ancak lenfosit örneklerinde Se'nin anlamlı bir azalma gösterdiğini bildirmişlerdir.^{18,33} Elde ettiğimiz bulgular T2DM grubunda kontrol grubuna göre serum Se düzeylerinin daha düşük olduğunu göstermektedir.

Antioksidan özellikleri nedeniyle Se'nin oksidatif stresi ve dolayısıyla diyabet gelişimini engelleyebileceği bildirilmektedir. Diyabetik hastalarda görülen düşük Se GSHpx aktivitesinin tromboz ve kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkili olabileceği vurgulanmaktadır.¹²

Eser elementlerin çeşitli metabolik süreçlerde önemli rolleri bulunmakta ve bu elementlerin oranlarındaki dengesizliklerinin ateroskleroz, astım, diyabetes mellitus, koroner kalp hastalığı gibi çeşitli hastalıkların paragnozunda etkili olabilecekleri bildirilmektedir.^{1,17} Yaptığımız literatür taramasında T2DM hastalığında element oranlarını inceleyen sınırlı sayıda çalışma olduğunu ve çalışmaların büyük bir bölümünün Cu/Zn oranı ile ilişkili olduğu dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalarla ilgili bulgular incelendiğinde T2DM grubunda kontrol grubuna göre artan Cu/Zn oranları olduğu görülmektedir.^{17,21} Zn ve Cu elementleri antioksidan enzim olan Cu/Zn Süperoksit dismutaz (SOD)'ın temel aktivitesi için gereklidir. Cu, Zn element düzeylerinde ve Cu/Zn oranındaki değişikliklerin, antioksidan savunma sistemindeki dengeyi etkileyebileceği ve serbest radikallerin toksik etkisini artırabileceği bildirilmektedir.³¹ T2DM hastalarında sağlıklı bireylere göre Fe/Zn element oranında anlamlı artışının olduğu da bildirilmiştir.¹⁷ Çalışmamıza ait veriler incelendiğinde Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se ve Fe/Mn oranlarının T2DM grubunda kontrol grubuna göre arttığı görülmektedir. Ayrıca T2DM grubunda bazı element düzeyleri ve oranları arasında bir korelasyon olduğu da dikkati çekmektedir. Özellikle Cu düzeyi ile Cu/Zn oranı arasında; Fe düzeyi ile Fe/Zn, Fe/Se ve Fe/Mn oranları arasında; Fe/Se ile Fe/Mn oranları arasında; Fe/Mn ile Cu/Mn oranları arasında yüksek derecede pozitif korelasyon olduğu, Zn düzeyi ile Cu/Zn oranı arasında; Mn düzeyi ile Fe/Mn ve Cu/Mn oranları arasında; Se düzeyi ile Cu/Se oranı arasında ise yüksek derecede negatif bir korelasyon olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızın bulguları T2DM hastalarında serum Zn, Mn, Mg, Se düzeylerinde azalma, Cu ve Fe düzeyleri ve Cu/Zn, Cu/Se, Cu/Mn, Fe/Zn, Fe/Se ve Fe/Mn

oranlarında ise artış olduğunu göstermektedir. Bu bulgular bozulmuş eser element metabolizmasının T2DM patogenezinde ve progresyonunda rol oynayabileceği fikrini akla getirmektedir.

Çıkar ilişkisi:

Yazarların herhangi bir çıkar dayalı bir ilişkisi bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- Karahan SC, Değer O, Örem A, Uçar F, Erem C, Alver A et al. The effects of impaired trace element status on polymorphonuclear leukocyte activation in the development of vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 2001; 39(2): 109-115.
- Dulal H, Lamsal M, Sharma S, Baral N, Majhi S. Status of iron, oxidant and antioxidants in chronic type 2 Diabetes mellitus patients. *Nepal Med Coll J* 2013; 15(3): 208-211.
- Organization WH. Global report on diabetes, World Health Organization, 2016.
- Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW et al. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes care* 1991; 14(11): 1050-1056.
- de Vega RG, Fernández-Sánchez ML, Fernández JC, Menéndez FVÁ, Sanz-Medel A. Selenium levels and glutathione peroxidase activity in the plasma of patients with type II diabetes mellitus. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2016; 37: 44-49.
- Basaki M, Saeb M, Nazifi S, Shamsaei H. Zinc, copper, iron, and chromium concentrations in young patients with type 2 diabetes mellitus. *Biological Trace Element Research* 2012; 148(2): 161-164.
- CİNEMRE FBS, Bahtiyar NB, Ertan E, Değirmencioglu S, Dilaveroğlu N, Çakar AE et al. Hashimoto Tiroiditli Hastalarda Bakır, Demir, Çinko, Selenyum düzeyleri ve Cu/Se, Cu/Zn, Fe/Se, Fe/Zn Oranlarının Araştırılması. *Sakarya Tıp Dergisi*; 8(2): 285-291.
- Sanjeevi N, Freeland-Graves J, Beretvas SN, Sachdev PK. Trace element status in type 2 diabetes: A meta-analysis. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 2018; 12(5): OE01.
- Zargar AH, Shah NA, Masoodi SR, Laway BA, Dar FA, Khan AR et al. Copper, zinc, and magnesium levels in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Postgraduate medical journal* 1998; 74(877): 665-668.
- Jiang R, Ma J, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Dietary iron intake and blood donations in relation to risk of type 2 diabetes in men: a prospective cohort study. *The American journal of clinical nutrition* 2004; 79(1): 70-75.
- Hansen AF, Simić A, Åsvold BO, Romundstad PR, Midthjell K, Syversen T et al. Trace elements in early phase type 2 diabetes mellitus—A population-based study. *The HUNT study in Norway. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2017; 40: 46-53.
- Faure P. Protective effects of antioxidant micronutrients (vitamin E, zinc and selenium) in type 2 diabetes mellitus. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 2003; 41(8): 995-998.
- Evlıyaoğlu O, Keleşçılar L, Uzuncan N, Kılıçaslan N, Karaca B, Kocaçelebi R et al. Correlations of Serum Cu, Zn, Mg and HbA 1c in Type 2 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 2004; 2: 75-79.
- Pujar S, Pujar L, Ganiger A, Hiremath K, Mannangi N, Bhuthal M. Correlation of serum zinc, Magnesium, and copper with HbA1c in type 2 diabetes mellitus patients among Bagalkot population-A case control study. *Med Innovativa* 2014; 3: 4-8.
- Yeasmin R, Muttalib M, Sultana N, Bhuiyan NH, Alam R. Status of some Trace Elements in Type-2 Diabetic Patients and its Relationship with Lipid Profile. *Journal of Bangladesh Academy of Sciences* 2016; 40(1): 79-85.
- Terres-Martos C, Navarro-Alarcón M, Martín-Lagos F, De La Serrana HL-G, Perez-Valero V. Serum zinc and copper concentrations and Cu/Zn ratios in patients with hepatopathies or diabetes. *Journal of trace elements in medicine and biology* 1998; 12(1): 44-49.
- Atari-Hajjipirloo S, Valizadeh N, Khadem-Ansari M-H, Rasmi Y, Kheradmand F. Altered concentrations of copper, zinc, and iron are associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with type 2 diabetes mellitus and their first-degree relatives. *International journal of endocrinology and metabolism* 2016; 14(2).
- Ekmekcioglu C, Prohaska C, Pomazal K, Steffan I, Scherthaner G, Marktl W. Concentrations of seven trace elements in different hematological matrices in patients with type 2 diabetes as compared to healthy controls. *Biological Trace Element Research* 2001; 79(3): 205-219.
- Yerlikaya FH, Tokar A, Arıbaş A. Serum trace elements in obese women with or without diabetes. *The Indian journal of medical research* 2013; 137(2): 339.
- Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2014; 37(Supplement 1): S81-S90.
- Farid SM. Correlation between serum trace elements and lipids in patients with type 2 diabetes mellitus in Jeddah, Saudi Arabia. *Global Journal of Bio-science and biotechnology* 2016; 5(3): 311-317.
- Brandão-Lima P, Carvalho G, Santos R, Santos B, Dias-Vasconcelos N, Rocha V et al. Intakes of Zinc, Potassium, Calcium, and Magnesium of Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus and the Relationship with Glycemic Control. *Nutrients* 2018; 10(12): 1948.
- Tamrakar S, Kachhawa K, Agrawal D, Varma M, Swain T, Kumar S. Study of trace elements (Mg and Cu) and dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients presenting in a tertiary care hospital of South East Asia. *Int J Curr Res* 2016; 8: 26972-26975.
- Hussain F, Maan MA, Sheikh MA, Nawaz H, Jamil A. Trace elements status in type 2 diabetes. *Bangladesh journal of medical science* 2009; 8(3): 52-56.
- Ekin S, Mert N, Gunduz H, Meral I. Serum sialic acid levels and selected mineral status in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biological trace element research* 2003; 94(3): 193-201.
- Atalay H, Boyuk B, Guzel S, Altay M, Kiziler AR, Aydemir B. SERUM TRACE ELEMENTS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS. *Acta Medica* 2017; 33: 795.
- Masood N, Baloch GH, Ghori RA, Memon IA, Memon MA, Memon MS. Serum zinc and magnesium in type-2 diabetic patients. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19(8): 483-486.
- Quilliot D, Dousset B, Guerci B, Dubois F, Drouin P, Ziegler O. Evidence that diabetes mellitus favors impaired metabolism of zinc, copper, and selenium in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2001; 22(3): 299-306.
- Ahmed AM, Khabour OF, Awadalla AH, Waggiallah HA. Serum trace elements in insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes: a comparative study. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy* 2018; 11: 887.
- Zheng Y, Li X-K, Wang Y, Cai L. The role of zinc, copper and iron in the pathogenesis of diabetes and diabetic complications: therapeutic effects by chelators. *Hemoglobin* 2008; 32(1-2): 135-145.
- Viktorinova A, Tošerová E, Križko M, Ďuračková Z. Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Metabolism* 2009; 58(10): 1477-1482.
- Eva H, Akhter QS, Alam MK. Serum zinc and manganese levels in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Bangladesh Society of Physiologist* 2016; 11(2): 50-53.
- Kornhauser C, Garcia-Ramirez JR, Wrobel K, Pérez-Luque E-L, Garay-Sevilla M-E, Wrobel K. Serum selenium and glutathione peroxidase concentrations in type 2 diabetes mellitus patients. *Primary Care Diabetes* 2008; 2(2): 81-85.

Evaluation of Health Care Services Delivered to Syrian Refugees in a Tertiary Pediatrics Hospital Between 2013-2016

Bir Üçüncü Basamak Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesinde 2013-2016 Yılları Arasında Suriyeli Sığınmacılara Sunulan Sağlık Hizmetlerinin Değerlendirilmesi

Ali Güngör¹, Alkım Öden Akman¹, Cüneyt Karagöl¹, Mücahit Koçoğlu¹, Bahar Çuhacı Çakır², İlker Çetin³, Halil İbrahim Yakut¹

¹ Department of Pediatrics, University of Health Sciences,

Ankara Child Health and Diseases Hematology Oncology Training and Research Hospital, Ankara, TURKEY.

² Department of Social Pediatrics, University of Health Sciences, Ankara Child Health and Diseases Hematology Oncology Training and Research Hospital, Ankara

³ Department of Pediatric Cardiology, University of Health Sciences, Ankara Child Health and Diseases Hematology Oncology Training and Research Hospital, Ankara, TURKEY

Yazışma Adresi / Correspondence:

Ali Güngör

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Turkey

T: +90 312 596 00 00 E-mail: gungorali19@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 29.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 04.03.2019

Abstract

Objective	Millions of Syrian had to abandon their country due to the civil war and took refugee in neighboring countries. This refugee crisis is affecting the countries that accept immigrants in terms of health care service, economical, political and social issues. We aim to evaluate, density of the Syrian refugees in outpatient and emergency services, inpatient services, specific interventions, and investigations ordered between 2013 and 2016. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):46-51)
Materials and Methods	We tried to determine density of Syrian refugees among the patients who presented to the emergency department and outpatient clinics and the patients hospitalized in our hospital between 2013 and 2016. It was tried to determine the density of Syrian patients among the interventional procedures and specific investigations ordered in the pediatric sub-branches.
Results	Approximately 13,538 Syrian refugees presented to our hospital for examination, investigations and treatment between 2013 and 2016. The number of Syrian refugees who presented to our hospital increased to 8,540 in 2016 from 265 in 2013. The percentage of Syrian refugees in the ECG, Cerebral MRI and CT, Rhythm Holter and EEG tests and the number of Syrian refugees in the total number has increased over the years over the years 2013-2016. The rate of Syrian refugees involved in the hospital invoice raised to 6.63% in 2016 from 1.05% in 2013.
Conclusion	The crisis in Syria affects neighboring countries in many issues. Countries like Turkey which accept a large number of refugees should rearrange their health policies considering refugees. Further multicenter studies are needed to determine the impact of this immigration on health care system.
Keywords	refugee; child; Health Care Services

Öz

Amaç	Suriyede başlayan iç savaş sebebiyle milyonlarca Suriyeli ülkesini terk ederek komşu ülkelere sığınmıştır. Yaşanan bu sığınmacı krizi göç alan ülkeleri sağlık ve bakım hizmetleri, ekonomik, siyasi ve toplumsal birçok konuda etkilemektedir. Bu çalışmada hastanemizde 2013-2016 yılları arasında verilen poliklinik ve acil servis hizmeti, yatan hasta hizmeti, yapılan özellikli girişimler ile istenilen tetkiklerdeki Suriyeli sığınmacı yoğunluğu belirlenmeye çalışılmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):46-51).
Gereç ve Yöntem	2013-2016 yılları arasında hastanemizde acil servisi ve polikliniklere başvuran hastalar ile hastanemizde yatarak tedavi gören tüm hastalar içindeki Suriyeli sığınmacı yoğunluğu belirlenmeye çalışıldı. Hastanemizdeki pediatri yandallarında yapılan girişimsel işlemler ve özellikli tetkiklerdeki Suriyeli hastaların yoğunluğunu belirlemeye çalışıldı.
Bulgular	2013-2016 yılları arasında hastanemizde yaklaşık olarak 13538 Suriyeli sığınmacı muayene, tetkik ve tedavi amacıyla başvurmuştur. 2013 yılında hastanemize başvuran Suriyeli sığınmacı sayısı 265 iken 2016 yılında bu rakam 8540'a yükselmiştir. 2013-2016 yılları arasında hastanemizde yapılan ÖGD, KİA ve karaciğer biyopsisi ile EKO, Beyin MRG ve BT, Ritim holter ve EEG tetkiklerindeki Suriyeli sığınmacı sayısı ve toplam sayı içindeki Suriyeli sığınmacı yüzdesi yıllar içinde giderek artmıştır. 2013 yılında hastane faturasındaki Suriyeli sığınmacı oranı % 1,05 iken 2016 yılında bu oran % 6,63'e yükselmiştir.
Sonuç	Suriyede yaşanan kriz komşu ülkeleri birçok konuda etkilemektedir. Türkiye gibi fazla sayıda mülteci kabul eden ülkelerin sağlık politikalarını sığınmacıları göz önünde tutarak yeniden düzenlemesi gerekmektedir. Yaşanan bu göçün sağlık sistemi üzerine etkisini görmek için çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.
Anahtar Kelimeler	mülteci; çocuk; sağlık bakım hizmeti

INTRODUCTION

Millions of Syrian had to abandon their country due to the civil war that began in Syria in 2011. According to the United Nations data, 4 to 6 million Syrians have abandoned their country since 2011.^{1,2} The Syrian people who escaped from the conflicts have taken refugee, especially in Turkey; Lebanon, Jordan, Iraq and other neighboring countries. Turkey has declared to implement an “open door policy” for Syrian refugees and embraced the aggrieved people shortly after the civil war began.²⁻⁴ According to data of the United Nations High Commissioner for Refugees, Turkey is the country which harbors the largest number of Syrian refugees.²

This refugee crisis affects many countries, especially the countries that accept refugees, in terms of many health and care services, economic, political and social issues. Providing adequate health care services for refugees is a challenging issue for these countries in terms of economy and workload. Turkey, Lebanon and Jordan are the leading countries affected by this situation.⁴⁻⁸ Currently, 25% of the Lebanese population consists of Syrian refugees, and this crisis is now called the Syrian-Lebanese crisis in Lebanon.^{8,9}

The protection provided to the Syrians who took refugee in our country is the Temporary Protection according to the international literature.^{10,11} The Syrians who are taken to the status of “foreigners under temporary protection” by issuing and registering their ID card (foreign identification document) can benefit from several services including healthcare, education, temporary shelter and social aid.¹² Our country hosts more than 3 million Syrian refugees as of today, and it is known that so far, 25.919.750 outpatient services, 1.143.393 inpatient services, and 953.466 surgeries were carried out for the Syrian and Iraqi refugees. This increases both the health care costs of our country, and the workload of health workers.¹²⁻¹⁴

More than half of the Syrian population that has migra-

ted out of the country consists of women and children.^{3,15} Children are naturally the most affected by migration and war. While refugee children are exposed to many traumas such as war, violence, separation from family and abuse on one hand, their health is negatively affected and threatened by long-term migratory journeys, poor and inadequate nutrition, conditions with lack of hygiene and being deprived from preventive health services.¹⁵⁻¹⁸

The aim of this study was to evaluate the prevalence of Syrian refugees in outpatient and emergency services, inpatient services, special interventions and the investigations ordered between 2013-2016.

MATERIAL and METHOD

This study was conducted as a descriptive cross-sectional study to determine the density of Syrian refugees among the total presentations in a tertiary pediatric hospital. All patients who presented to the emergency department and outpatient clinics of our hospital between 2013 and 2016 were scanned through the registration system, and the density of Syrian refugees among the total presentations was tried to be determined. The number of patients hospitalized and treated in the inpatient services of our hospital between the same dates was determined and the density of the Syrian refugees among these patients was investigated. Among the interventional procedures and specific investigations ordered in the pediatric sub-branches between 2013 and 2016; the numbers of cerebral magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT), electroencephalography (EEG), esophagogastroduodenoscopy (EGD), rhythm holter, echocardiography (ECO), bone marrow aspiration (BMA), bone marrow biopsy and liver biopsy were determined. We tried to determine the density of Syrian patients in these investigations and procedures. This study was approved by University of Health Sciences, Ankara Child Health and Diseases Hematology Oncology Training and Research Hospital Institutional Review Board (12/09/2017-28).

Statistical Analysis: The descriptive categorical variables are expressed as number (n) and percentage (%). The results were evaluated using the 'Statistical Package for Social Sciences - SPSS 17' (Chicago, USA) software.

RESULTS

Approximately 2.200.478 patients admitted to the emergency department and outpatient clinics of our hospital for examination, investigations and treatment between 2013 and 2016. About 13.538 (0.62%) of these patients were Syrian refugees. Of Syrian refugees, 30.9% presented to the emergency department and 69.1% to the outpatient clinics. Approximately 68.000 patients have been hospitalized in the inpatient clinics of our hospital with 0.82 (n=555) of them being Syrian refugees. The number of Syrian refugees who presented to our hospital increased to 8540 in 2016 from 265 in 2013. Likewise, the number of Syrian refugees hospitalized in the inpatient services of our hospital raised to 492 in 2016 from 11 in 2013. A significant increase was found both in the number of Syrian patients who presented to our hospital, and the number of Syrian patients hospitalized in our hospital between 2013 and 2016. The

number and rate of Syrian refugees' presentations to our hospital between 2013-2016 are shown in Table 1.

Among the interventional procedures performed between 2013 and 2016 in pediatric sub-branches of our hospital; when the distribution of EGD, BMA, BMB and liver biopsy was examined, it was found that the number of Syrian refugees increased especially in 2015 and 2016. The distribution of Syrian refugees by the interventional procedures performed, and years is given in Table 2.

Among the procedures performed and investigations ordered between 2013 and 2016 in our hospital; cerebral MRI and CT, routine and sleep-activated EEG, rhythm holter, and echocardiography were included in this study. The number and rate of Syrian refugees in these procedures and investigations gradually increased between 2013 and 2016. While ECO was performed in 13 Syrian refugees in 2013, this number increased to 156 in 2016, and similarly the number of MRIs ordered for Syrian refugees raised to 128 in 2016 from only one in 2013. Table 3 shows the changes in the number and rate of Syrian refugees in

Table 1. The number and rate of Syrian refugees' presentations to our hospital between 2013-2016

Syrian Refugees	Total number of patients		Number of emergency service admission		Number of Polyclinic admission		Number of Inpatients	
	n	%	n	%	n	%	n	%
2013	265	0.06	73	0.06	192	0.06	11	0.08
2014	1297	0.23	493	0.40	804	0.19	5	0.03
2015	3436	0.59	1235	0.92	2201	0.49	47	0.27
2016	8540	1.42	2380	1.72	6160	1.33	492	2.82

Table 2. Distribution of Syrian refugees in interventional procedures by years

Syrian Refugees	Esophagogastroduodenoscopy		Bone marrow aspiration		Bone marrow biopsy		Liver biopsy	
	n	%	n	%	n	%	n	%
2013	-	-	8	2.20	2	4	-	-
2014	-	-	8	2.52	2	3.28	1	2.56
2015	4	0.57	15	4.27	5	5.81	4	7.84
2016	12	1.61	33	8.44	2	2.47	4	6.67

Table 3. Change in the number and rate of Syrian refugees in the investigations ordered between 2013-2016

Syrian refugees	ECO	Rhythm Holter	Routine EEG	Sleep Act. EEG	Cerebral CT	Cerebral MRI
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
2013	13 (0.10)	-	1 (0.03)	-	1 (3.85)	1 (0.03)
2014	43 (0.36)	2 (0.13)	11 (0.24)	-	2 (7.69)	14 (0.27)
2015	86 (0.76)	5 (0.34)	16 (0.51)	28 (0.73)	7 (9.72)	41 (0.92)
2016	156 (1.2)	5 (0.36)	64 (1.47)	91 (1.92)	11 (11)	128 (2.94)

ECO: Echocardiography EEG: Electroencephalography CT: Computed Tomography
 MRI: Magnetic Resonance Imaging

the investigations by years.

The total amount of invoices reported to the Social Security Institution by our hospital between 2013 and 2016 was approximately 221.551.752 Turkish liras (TL) (89.988.526 United States Dollar (USD)), with about 8.605.083 TL (3.495.159 USD) (3.88%) of this amount covered the health care services delivered to the Syrian refugees. The share of Syrian refugees in the annual invoice was 1.05% in 2013, while this rate increased to 6.63% in 2016. Similarly, health care costs for the Syrian refugees increased to approximately 4.260.110 TL (1.407.370 USD) in 2016 from about 465.865 TL (244.420 USD) in 2013. The costs of health care services that were delivered to the Syrian refugees increased over years, both in price and rate (Figure 1).

DISCUSSION

Millions of Syrian abandoned their country and took refuge in neighboring countries due to the civil war, which began in Syria. This migration that started in 2011, becomes gradually influential in countries that accept the refugees. Turkey, Lebanon and Jordan are the leading countries that host the largest number of refugees. One of the most important problems faced by countries that accept the refugees is health care services provided to the refugees.^{3,6,9} In a study conducted in Jordan, it was reported that the total expenditure of the Jordanian Ministry of Health for Syrian refugees between January 2013 and April 2013 was approximately 53 million USD, of which only 5 million USD of this amount was covered by the United Nations. This

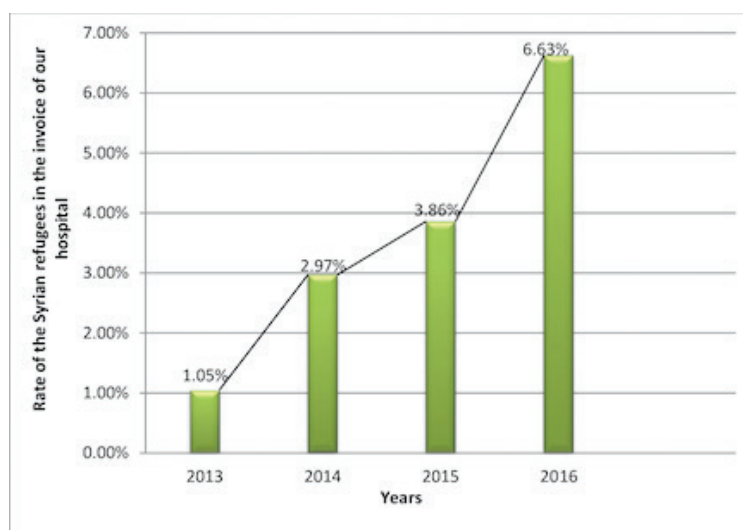


Figure 1. Change in the share of Syrian refugees in the invoice of our hospital between 2013 and 2016

negatively affected the budget of the Jordanian Ministry of Health, thus Jordanian economy.⁶ Likewise, Syrian refugees, who make up 25% of the Lebanese population, are adversely affecting economy and health care system of Lebanon.^{8,9} Our country has accepted the largest number of Syrian refugees. While the expenditure for Syrian refugees between April 2011 and November 2014 was 4.5 billion USD, today this amount is known to exceed 20 billion USD. Health care services constitute an important part of the expenditures.^{3,13}

Approximately 13.538 Syrian refugees presented to our hospital between 2013 and 2016 for examination, investigations and treatment. Of these patients, 555 received treatment on inpatient basis. The distribution of Syrian refugees among all patients admitted to our hospital increased gradually between 2013 and 2016. The number of Syrian refugees who received inpatient treatment increased significantly, especially in 2015 and 2016. Likewise, the number and rate of the Syrian refugees in EGD, BMA and liver biopsy, cerebral MRI and CT, rhythm holter and EEG examinations performed in our hospital between 2013 and 2016 increased gradually. While the amount of health care services delivered to Syrian refugees in our hospital was approximately 465.865 TL in 2013; this amount increased to 1.575.932 in 2014, 2.303.176 TL in 2015 and 4.260.110 TL in 2016. Health care services provided to Syrian refugees increased by about nine folds in 2016 compared to 2013. The reasons for the increase both in number and rate of Syrian refugees who presented to our hospital over the years can be explained as follows: First of all, Ankara where our hospital is located, is not a border province with Syria, thus the migration that started in 2011 was first felt at the border provinces and was then reflected on the other provinces of Turkey. Furthermore, since the Syrian refugees who settled in our country learned later that health care services provided for them were free of charge, the number of their visit to hospitals have increased by years. The registration of Syrian refugees has been carried out more regularly in recent years. The increased visits to pediatric

hospitals by Syrian refugees in recent two or three years could be accepted normal because of the fact that the Syrian refugees who migrated to and settled in our country have children here.^{13,19} However, studies have found that the prevalence of preventive health care and vaccination was low among Syrian refugees. The reasons for this have been reported as financial concerns, language problems, and problems in the registration processes.^{20,21} We believe that increasing the accessibility of primary health care services to Syrian refugees will reduce the frequency of presentations to tertiary healthcare institutions such as our hospital.

As the limitations of this study; it was conducted in a single center, and all interventional procedures and investigations performed in our hospital were not included. After citizenship numbers have been issued for Syrian refugees, the registration process has become more robust, so there may be shortcomings in records, especially before 2014.

In conclusion, crisis in Syria is affecting neighboring countries in many issues. Countries that accept a large number of refugees such as Turkey need to reorganize their health policies accordingly. The Syrian refugee crisis should be governed at the global level with international organizations and countries to share the burden of refugee flows with the primary receiving countries.

References

1. Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık, Afet ve Acil Durum Yönetimi Başkanlığı, https://www.afad.gov.tr/upload/Node/3925/xfiles/syrian-refugees-in-turkey-2013_baski_30_12_2013_tr.pdf 2013; [accessed 25.09.2018].
2. Syria Regional Refugee Response, Inter-agency Information Sharing Portal, <http://data.unhcr.org/syrianrefugees/regional.php> [accessed 16.08.2018].
3. Orhan O. Suriyeli Sığınmacıların Türkiye'ye Etkileri. Türkiye Ekonomik ve Sosyal Etüdler Vakfı Web sitesi. http://tese.org.tr/wp-content/uploads/2015/11/Suriyeli_Siginmacilarin_Turkiyeye_Etkileri.pdf [accessed 10.08.2018].
4. Zencir M, Davas A. Suriyeli Sığınmacılar ve Sağlık Hizmetleri Raporu. Türk Tabipler Birliği Web sitesi. <https://www.ttb.org.tr/kutuphane/signmacirpr.pdf> [accessed 10.08.2018].
5. Korkmaz AÇ. Sığınmacıların Sağlık ve Hemşirelik Hizmetlerine Yaratdığı Sorunlar. Sağlık ve Hemşirelik Yönetimi Dergisi. 2014;1:37-42.
6. Murshidi MM, Hijjawi MQ, Jeriesat S, Eltom A. Syrian refugees and Jordan's health sector. *Lancet* 2013;382:206-207.
7. Doocy S, Lyles E, Akhu-Zaheya L, Burton A, Burnham G. Health service access and utilization among Syrian refugees in Jordan. *Int J Equity Health*. 2016;15:108.
8. Blanchet K, Fouad FM, Pherali T. Syrian refugees in Lebanon: the search for universal health coverage. *Confl Health* 2016;10:12.
9. Refaat MM, Mohanna K. Syrian refugees in Lebanon: facts and solutions. *Lancet* 2013;382:763-764.
10. İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğü, http://www.goc.gov.tr/icerik3/gecici-korumanin-unsurlari_409_558_1095 [accessed 13.08.2018].
11. Ekmekci PE. Syrian Refugees, Health and Migration Legislation in Turkey. *J Immigr Minor Health* 2016;19:1434-1441.
12. Türk Tabipler Birliği, https://www.ttb.org.tr/kutuphane/signmacilar_rpr.pdf, [accessed 13.08.2018].
13. Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık, Afet ve Acil Durum Yönetimi Başkanlığı, https://www.afad.gov.tr/upload/Node/2373/files/Suriyeli_Siginmacilara_Yapilan_Yardimlar+6.pdf, [accessed 11.08.2018].
14. Doner P, Ozkara A, Kahveci R. Syrian refugees in Turkey: Numbers and emotions. *Lancet* 2013;382:764.
15. Çevik S. Suriye'den Türkiye'ye göçün etkileri. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2016;5:80-83.
16. Williams B, Cassar C, Siggers G, Taylor S. Medical and social issues of child refugees in Europe. *Arch Dis Child* 2016;101: 839-842.
17. ISSOP Migration Working Group. ISSOP position statement on migrant child health. *Child Care Health Dev* 2017.
18. Bilukha OO, Jayasekaran D, Burton A, Faender G, King'ori J, Amiri MA et al. Nutritional status of women and child refugees from Syria-Jordan, April-May 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014;63:638-639.
19. Karakaya E, Coşkun AM, Özerdoğan N, Yakıt E. Suriyeli Mülteci Kadınların Doğurganlık Özellikleri ve Etkileyen Faktörler: Kalitatif Bir Çalışma. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi* 2017;10:417-428.
20. Aygün O, Gökdemir Ö, Bulut Ü, Yaprak S, Güldal D. Bir Toplum Sağlığı Merkezi Örneğinde Sığınmacı ve Mültecilere Verilen Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinin Değerlendirilmesi. *TJFM&PC* 2016;10:6-12.
21. Kalkan O, Gülay M, Vatan İ, Engindeniz F, Bakış B, Mutlu M et al. Bursa İli Osmangazi İlçesinde İkamet Eden Suriyeli Göçmenlerin Temel Sağlık Durumlarının Değerlendirilmesi. In: 17. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi 2014, Edirne.

Long-Term Effects of Ultrasound-Guided Genicular Nerve Pulsed Radiofrequency on Pain and Knee Functions in Patients with Gonarthrosis.

Gonartroz Hastalarında Ultrason Eşliğinde Uygulanan Geniküler Sinir Pulsed Radyofrekans Tedavisinin Ağrı ve Diz Fonksiyonlarına Uzun Dönem Etkisi

Tolga Ergönerç¹, Serbülent Gökhan Beyaz²

¹ Sakarya University Education and Research Hospital,
Department of Anesthesiology and Reanimation, Sakarya, Turkey

² Sakarya University Faculty of Medicine,
Department of Anesthesiology and Algology, Sakarya, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Tolga Ergönerç

Sakarya University Education and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Sakarya, Turkey

T: +90 532 485 98 40 E-mail: tolgaergonenc@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 02.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 25.02.2019

Abstract

Objective	Osteoarthritis of the knee is the most common musculoskeletal disease in older adults which causes chronic knee pain. Pulsed radiofrequency (PRF) on genicular nerves (GN) has become increasingly popular in the treatment of chronic knee pain due to its long duration of action and non-destructive therapy. This study aimed to reveal the effects of ultrasound-guided PRF therapy on GN in patients with knee osteoarthritis (KOA). (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):52-58)
Materials and Methods	This longitudinal study included patients, who were diagnosed with grade 3 to 4 gonarthrosis according to the Kellgren-Lawrence classification which patients suffered from intractable knee pain, at least for six months despite conservative treatment. The ultrasound-guided PRF on GN (GPRF) was performed in those patients with a reduction of 50% or more visual analog scale (VAS) score after the diagnostic GN block (GNB). VAS and Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) scores were evaluated before, and 1, 3, 6 and 12 months after the procedure.
Results	Of the 293 patients included in the criteria, ultrasound-guided GPRF was administered to 232 patients who responded to GNB. While the mean VAS score of the patients before the GPRF was 6.77 ± 1.24 , the mean VAS scores at the 1st, 3rd, 6th and 12th months of the GPRF were 2.76 ± 1.14 , 2.94 ± 1.08 , 3.53 ± 0.64 , and 4.58 ± 0.75 , respectively. The mean WOMAC score of the patients before GPRF was 65.75 ± 14.15 , while the mean WOMAC score of the 1st, 3rd, 6th and 12th months after GPRF was 36.14 ± 13 , 36.52 ± 11.06 , 37.88 ± 10.86 , and 41.67 ± 10.84 , respectively.
Conclusion	Ultrasound-guided GPRF therapy in chronic knee pain which does not respond to conservative treatments reduces pain for at least 12 months and is effective improving knee functions.
Keywords	Gonarthrosis; pulsed radiofrequency; genicular nerve; knee pain

Öz

Amaç	Gonartroz, yetişkinlerde kronik diz eklem ağrısına neden olan en yaygın kas-iskelet sistemi hastalığıdır. Geniküler sinirlere radyofrekans uygulanması, uzun etki süresi ve dokuda destrüsyona yol açmaması nedeniyle kronik diz ağrısının tedavisinde giderek popüler hale gelmiştir. Çalışmamızda, konservatif tedavilere yanıt vermeyen, kronik diz ağrılı gonartroz hastalarında, geniküler sinirlere ultrason eşliğinde uygulanan pulsed radyofrekans tedavisinin (GPRF) uzun dönem ağrı ve diz fonksiyonlarına olan etkisini incelemeyi amaçladık. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):52-58).
Gereç ve Yöntemler	Çalışmaya, Kellgren-Lawrence sınıflamasına göre evre 3-4 gonartroz tanısı almış olan, en az 6 ay boyunca uygulanan konservatif tedavilere rağmen ağrılı geçmeyen hastalar dahil edildi. Geniküler sinirlere ultrason eşliğinde gerçekleştirilen tanısal blok ile VAS skoru %50 ve daha fazla azalan hastalara GPRF uygulandı. Hastaların VAS ve Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) skorları işlem öncesi, işlem sonrası 1, 3, 6 ve 12. ayda değerlendirildi.
Bulgular	Kriterleri karşılayan 293 hastadan, geniküler sinirlere ultrason eşliğinde uygulanan tanısal bloğa yanıt veren 232 hastaya GPRF uygulandı. Hastaların GPRF öncesi VAS skoru ortalaması 6.77 ± 1.24 iken GPRF sonrası 1, 3, 6 ve 12. ay VAS skoru ortalamaları sırasıyla 2.76 ± 1.14 , 2.94 ± 1.08 , 3.53 ± 0.64 , 4.58 ± 0.75 bulundu. Hastaların GPRF öncesi WOMAC skoru ortalaması 65.75 ± 14.15 iken GPRF sonrası 1, 3, 6 ve 12. ay WOMAC skoru ortalamaları sırasıyla 36.14 ± 13 , 36.52 ± 11.06 , 37.88 ± 10.86 , 41.67 ± 10.84 bulundu.
Sonuç	Konservatif tedavilere yanıt vermeyen gonartroza bağlı kronik diz eklem ağrısında, ultrason eşliğinde uygulanan GPRF tedavisi, en az 12 ay boyunca ağrıyı azaltmakta ve diz fonksiyonlarını iyileştirmekte etkilidir.
Anahtar Kelimeler	Gonartroz; pulsed radyofrekans; geniküler sinir; diz ağrısı

INTRODUCTION

Osteoarthritis of the knee is the most common musculoskeletal disease in older adults, and it often causes disability due to treatment difficulties. Chronic knee pain can negatively affect on quality of life by joint stiffness, functional limitations, and disturbance in sleep.¹

The treatment of knee osteoarthritis (KOA) requires an all-around approach, including noninvasive methods (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, physical therapy, and rehabilitation), minimally invasive methods (intra-articular corticosteroid or hyaluronate injections and genicular nerve procedures) and surgical procedures. Nonsteroidal anti-inflammatory (NSAI) drugs are often ineffective and may lead to serious adverse effects in the elderly population aged.² Corticosteroids administration into the joint space, provide pain control for 3-4 weeks. Hyaluronate, at best, may be as effective as NSAI drugs, and, in comparison with intra-articular corticosteroids, it has a delayed onset of effects and a longer-lasting benefit.³ Surgery should be considered for patients with advanced stage of KOA, but this may not be possible because of many fragile patients who are at high risk during surgery. The pulsed radiofrequency (PRF) of genicular nerves (GN), which are becoming increasingly popular in these patients or in patients who are not willing to undergo surgery, may be a good option. The PRF is a variation of conventional radiofrequency (CRF), which does not cause harmful effect on to the targeted tissue and it has neuromodulatory role with long duration of action.

The aim of this study was to investigate the effects of ultrasound-guided GPRF in patients with KOA, on both chronic pain and function of the knee.

MATERIALS and METHODS

Patient Selection

This longitudinal study included 293 patients 18 years of age or older who were diagnosed with grade 3 to 4 gonarthrosis (M17) according to the Kellgren-Lawrence

classification between November 2014 and March 2017.⁴

These patients suffered from intractable knee pain (Visual Analog Scale score ≥ 5) at least six months despite other treatments including, physiotherapy, systemic analgesics, and intra-articular injection (hyaluronic acids, corticosteroids). The information of patients was obtained from the hospital's electronic database after approval of the Sakarya University Faculty of Medicine Ethical Committee (71522473/050.01.04/61). The exclusion criteria was acute knee pain, prior knee surgery, rheumatologic diseases affecting the knee, progressive neurological disorders, intra-articular injection during the previous 3 months, radicular pain, anticoagulant treatments, pacemakers, and Implantable Cardioverter Defibrillator (ICD).

Diagnostic Genicular Nerve Block Technique

All procedures were performed in the operating room. The patient was placed in a supine position, and vital signs were monitored (electrocardiogram, noninvasive blood pressure, and peripheral oxygen saturation). The diagnostic genicular nerve block (GNB) was applied after the skin disinfection with ultrasound guidance (M5 Color Diagnostic Ultrasound System; Mindray, Shenzhen, China) using a 12 MHz linear transducer. The targets for diagnostic GNB included the superior lateral, the superior medial, and the inferior medial genicular nerves. To perform a superior medial genicular nerve block, a linear 12 MHz high-frequency ultrasound transducer was placed over the medial joint space in a sagittal orientation. The ultrasound transducer was moved proximally following the medial hyperechoic margin of the femur to identify the transition point of the medial femoral condyle for visualizing the superior medial genicular artery because of the superior medial genicular nerve close to the superior medial genicular artery. Color Doppler was then utilized to find the superior medial genicular artery. If the superior medial genicular artery cannot be visualized the ultrasound transducer was turned 90 degrees to provide a transversal view, perpendicular to the longitudinal femur axis.

This same procedure was repeated at the medial tibia and the lateral femur to target the inferior medial genicular artery and superior lateral genicular artery, respectively (Figure 1, 2). The ultrasound-guided GNB performed with 0.5% bupivacaine 3 ml each of the genicular nerve.

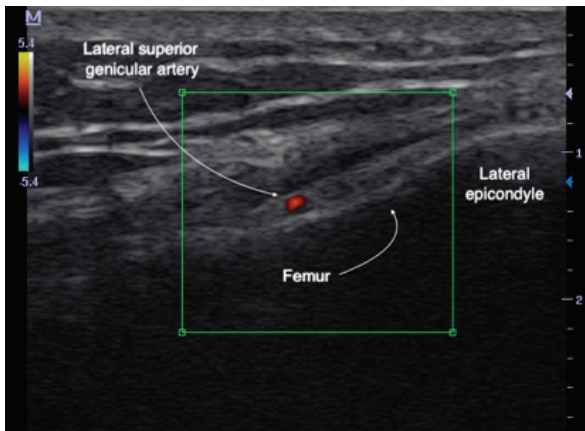


Figure 1. Color Doppler image demonstrating the superior lateral genicular artery (sagittal plane).

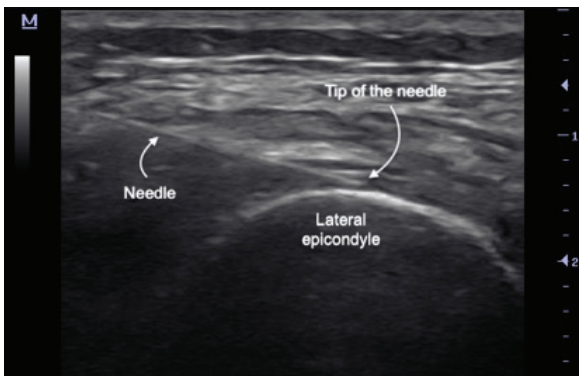


Figure 2. Ultrasound guided superior lateral genicular nerve block (axial plane)

Pulsed Radiofrequency Application Technique

The genicular nerve pulsed radiofrequency (GPRF) was performed in those patients with a reduction of 50% or more Visual Analog Scale (VAS) score after the diagnostic GNB. The ultrasound-guided GPRF was administered under operating room conditions while the patient was monitored in a supine position.

After the genicular arteries were visualized using the afore-

mentioned ultrasound technique the 22 G 5-mm active-tip 100-mm radiofrequency needle (SC-K; Top Neuropole, Tokyo, Japan) was advanced to each nerve sequentially using the in-plane approach under real-time ultrasound guidance. After proper needle tip placement was confirmed, sensorial stimulation was given at 50 Hz for 1 ms to identify the nerve position. With the sensory stimulation, paresthesia, pain, or discomfort at the knee was required to be less than 0.5 volts. In addition, the motor stimulus applied at 2 Hz for 1 ms and at least 1 volt to determine the absence of fasciculation. The GPRF treatment was applied for three cycles at 42 °C, 45 V, 2 Hz, and 20 ms, with a wide wave for 120 s (NeuroTherm, Middleton, MA, USA). VAS and Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) assessments of those patients that underwent the GPRF treatments were conducted postoperatively at the 1st month, 3rd month, 6th month, and 12th month follow-ups.⁵

Assessment of Pain and Functional Status

Before and after the GNB and GPRF applications, pain assessments were done using a VAS. The knee joint function and improvement of the quality of life was evaluated using the WOMAC. The WOMAC consists of three parts, pain, stiffness, and physical function, with a total of 24 questions. The WOMAC test has been proven validity in the Turkish language before.^{5,6} The test questions are scored on a scale of 0-4, which correspond to: None (0), Mild (1), Moderate (2), Severe (3), and Extreme (4). In the first part of the questionnaire, the patient is asked to rate the severity of the pain during different physical activities (during walking, using stairs, in bed, sitting or lying, and standing upright). The severity of joint stiffness is assessed in the second part based on the patient's perceived difficulty when walking after first waking and later in the day. The third part of questionnaire assesses to physical function with 17 items. Higher scores on the WOMAC indicate worse pain, stiffness, and functional limitations.

Statistical Analysis

In the data analysis, SPSS for Mac version 23.0 was used. The values were given as the mean±standard deviation (SD) in the statistical analysis. The demographic variables were compared using a t-test or chi-squared test for the continuous and categorical variables, respectively. The difference between the repeated measurements in the group was assessed using the Repeated Measures-ANOVA (RM-ANOVA). A p level of <0.05 was accepted for the statistical significance.

RESULTS

Between November 2014 and March 2017, diagnostic GNB was performed on 293 patients. A total of 259 patients had a positive response (at least 50% reduction in VAS score) to the diagnostic GNB. Of 259 patients with positive diagnostic GNB, 12 had on-going pain relief, and 247 had recurrent pain when they were assessed for GPRF, 6 had refused GPRF. Of 241 patients with scheduled GPRF treatment, 9 had decided to surgery in waiting for GPRF treatment, 232 had received GPRF treatment. The flowchart of the study is presented in Figure 3.

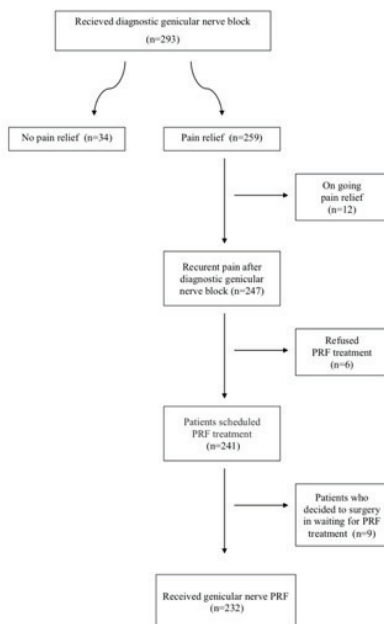


Figure 3. Flowchart of the study

The mean age of the patients was 61.97±10.49 years. The mean value of Body Mass Index (BMI) was 33.55±6.8. The number of patients with grade 3 according to Kellgren-Lawrence score was 177, and the number of patients with grade 4 was 116. The number of patients with affected right and left knee was 185, and 108 respectively. Demographic data and characteristics of these patients are shown in Table 1.

Table 1. Age, Sex, Body Mass Index, Side of The Affected Knee, and Grade of The Gonarthrosis in Patients

	Patients (n=293)
Age (years)	61.97±10.49
Sex (Male/female, n)	112/181
BMI (kg/m ²)	33.55±6.8
Kellgren Lawrence (grade 3/4)	177/116
Side (Right/left)	185/108
Age and BMI (Body Mass Index) values are given by mean average ± standard deviation and percentiles.	

The VAS and WOMAC total scores were measured before therapy and at the 1st, 3rd, 6th, and 12th months following treatment. While the mean VAS score of the patients before the GPRF was 6.77 ± 1.24, the mean VAS scores at the 1st, 3rd, 6th and 12th months of the GPRF were 2.76 ± 1.14, 2.94 ± 1.08, 3.53 ± 0.64, and 4.58 ± 0.75, respectively. The mean WOMAC score of the patients before GPRF was 65.75 ± 14.15, while the mean WOMAC score of the 1st, 3rd, 6th and 12th months after GPRF was 36.14 ± 13, 36.52 ± 11.06, 37.88 ± 10.86, and 41.67 ± 10.84, respectively. A significant improvement was seen in pain and physical functions at the 1st, 3rd, 6th, and 12th months after the GPRF procedure compared to the pre-treatment scores (Figure 4, 5). The VAS scores and WOMAC scores are shown in Table 2. No adverse event or complications such as hemorrhage, thermal wound, infection, sensory or motor loss in the procedure area were observed in the follow-up GPRF.

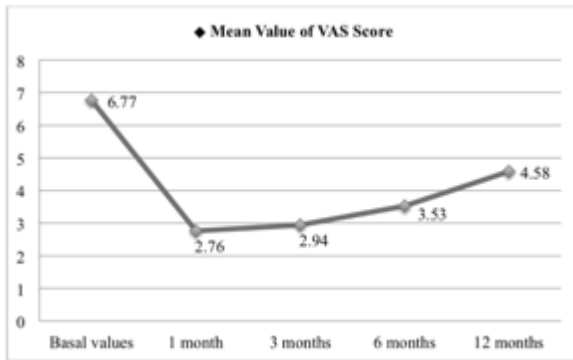


Figure 4. Mean Value of VAS Score

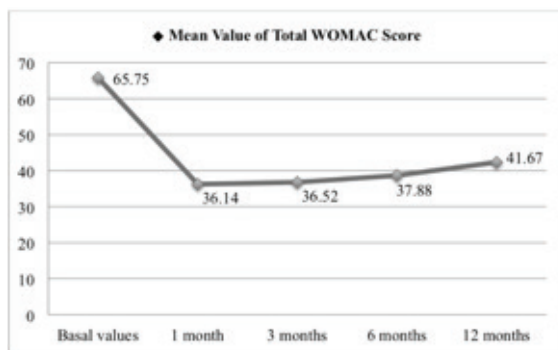


Figure 5. Mean Value of Total WOMAC Score

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the most extensive study showing the clinical efficacy of ultrasound-guided GPRF in KOA. In this study, we found that ultrasound-guided GPRF can reduce osteoarthritis-related knee pain and knee function in patients with Kellgren-Lawrence

classification grade 3 to 4. The patients experienced significant pain relief and functional improvement in the knee during the 12 month follow-up period. Furthermore, ultrasound-guided GPRF is a minimally invasive procedure for relieved the knee pain without any adverse effect. The procedure was performed with ultrasound guidance as it was safe in experienced hands, cost-effective, and reduced complications. With ultrasound guidance, vessels, periosteum, ligaments, tendons, and other structures can be visualized. Thanks to real-time imaging with ultrasound, the accuracy of the needle placement may increase. In contrast to the other radiological imaging techniques, ultrasound does not use or produce ionizing radiation.

The radiofrequency (RF) is used in different clinical conditions such as trigeminal neuralgia, cervicogenic headaches, and spinal pain.^{7,8} Recently, PRF has been applied in the pain management of knee osteoarthritis as a relatively new intervention. Both PRF and conventional radiofrequency (CRF) have been demonstrated to have similar effects on neuronal conduction. The advantages of PRF compared to CRF are that PRF tends to be less neuro-destructive and PRF does not cause irreversible tissue damage or long-lasting structural effects, neuritis-like reactions, motor deficits and the risk of deafferentation syndrome.⁹⁻¹¹ PRF therapy provides an analgesic effect on neuropathic pain by suppressing the nociception-induced release of excitatory

Table 2. Distribution of Visual Analog Scale, and Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index in Patients According to Months

	Pretreatment	1 st month	3 rd month	6 st month	12 th month
VAS	6.77±1.24*	2.76±1.14	2.94±1.08†	3.53±0.64	4.58±0.75
WOMAC Pain	13.09±4.55*	6.97±4.19	7.21±3.60†	7.89±3.01	9.84±3.15
WOMAC Stiffnes	4.79±1.73*	3.88±1.95	3.86±1.47	3.88±1.09	4.03±1.62
WOMAC Function	45.24±8.64*	23.85±10.17	23.98±9.33	24.61±9.36	26.12±7.73
WOMAC Total	65.75±14.15*	36.14±13	36.52±11.06†	37.88±10.86	41.67±10.84

VAS: Visual Analog Scale.

WOMAC: Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index.

*Differences compared with 1, 3, 6, and 12 months (p<0.001).

†Differences compared with 3, 6, and 12 months (p<0.001).

‡Differences compared with 6, and 12 months (p<0.001).

neurotransmitters.¹² Chronic knee pain in osteoarthritis is considered nociceptive pain. However, the neuropathic mechanism may also play a role in the pain of osteoarthritis.¹³ Hochman et al. reported that 34% of patients with osteoarthritis have a neuropathic symptom including burning, tingling, numbness, and pins and needles.¹⁴ Placebo-controlled studies showing that PRF is effective were performed in neuropathic pain.^{15,16} For all these reasons, PRF was preferred in our study.

Knowledge of knee joint innervation is essential for a successful RF treatment. The knee joint is innervated by the articular branches of the femoral, common peroneal, saphenous, tibial and obturator nerves. These articular branches are known as genicular nerves. They provide innervation to the capsule of the knee joint, as well as to the intra-articular and extra-articular ligaments.¹⁷

Genicular nerve RF could contribute to analgesia and muscle relaxation at the chronic knee pain. Choi et al. investigated fluoroscopic guided CRF of the genicular nerves. Their studies have shown that the CRF of the genicular nerves provided more than 50% relief in pain intensity in more than 50% of patients for 12 weeks and improvement in the knee function.¹⁸ Protzman et al. reported that the CRF of the genicular nerves branches provided the improvement in chronic knee pain after total knee replacement.¹⁹ In the reports of Choi et al. and Protzman et al. CRF was implemented three genicular nerves (superior-lateral, superior-medial, inferior-medial). Kesikburun et al. reported a significant reduction in VAS and WOMAC scores over time in their study of the efficacy of PRF treatment on nine patients with medial knee osteoarthritis.²⁰ In the report of Kesikburun et al. GPRF was implemented two genicular nerves (superior-medial, inferior-medial) because of the authors was the thought that these are the only two nerves clinically relevant in pain from KOA of the medial compartment.²⁰ Ahmed applied ultrasound-guided GPRF to three branches of genicular nerve on one patient with OA and reported a significant reduction of pain for

six months also improvement in neuropathic features.²¹ In our study, we applied GPRF to three branches of genicular nerve, and we found a significant decrease in the mean score of VAS and improvement in total WOMAC score in our one year follow-up.

The relatively high volume of local anesthetic administered for diagnostic GNB could have compromised selectivity of the block. Therefore, in this study, no more than 3 cc bupivacaine were applied to each nerve for the diagnostic GNB. This study has some limitations. The invasive pseudo interventional procedure was an ethical problem to the control group. Therefore, the main limitation of this study is the lack of a control group. The second limitation is a lack of assessment of knee joint proprioception after GPRF besides, although psychological factors may contribute to the perception of pain they were not evaluated in this study. The third limitation is the range of motion was not assessed in our study and there was no electrodiagnostics assessment as electromyography (EMG) for defining or excluding unwanted side effects of PRF.

CONCLUSION

This study has shown that chronic knee pain can be controlled for a long period of time, using ultrasound-guided GPRF in gonarthrosis. There was significant pain relief, along with a significant improvement in the knee joint function. Ultrasound-guided GPRF therapy in patients with gonarthrosis can be applied safely as a nondestructive method, and that it can be repeated, if necessary. There is a need for large series, long-term, randomized controlled trials to confirm our results.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

This study was presented as a oral presentation at the 5th Pain Congress with International Participation, November 15 - 18 2018, Antalya, Turkey.

References

1. Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*. 2011;377(9783):2115-2126.
2. Bannuru RR, Natov NS, Obadan IE, Price LL, Schmid CH, McAlindon TE. Therapeutic trajectory of hyaluronic acid versus corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2009;61(12):1704-1711.
3. Raynauld J-P, Buckland-Wright C, Ward R, Choquette D, Haraoui B, Martel-Pelletier J et al. Safety and efficacy of long-term intraarticular steroid injections in osteoarthritis of the knee: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2003;48(2):370-377.
4. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis*. 1957;16(3):494-502.
5. Tüzün EH, Eker L, Aytar A, Daşkapan A, Bayramoğlu M. Acceptability, reliability, validity and responsiveness of the Turkish version of WOMAC osteoarthritis index. *Osteoarthr Cartil*. 2005;13(1):28-33.
6. Basaran S, Guzel R, Seydaoglu G, Guler-Uysal F. Validity, reliability, and comparison of the WOMAC osteoarthritis index and Lequesne algofunctional index in Turkish patients with hip or knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol*. 2010;29(7):749-756.
7. Patel N, Gross A, Brown L, Gekht G. A Randomized, Placebo-Controlled Study to Assess the Efficacy of Lateral Branch Neurotomy for Chronic Sacroiliac Joint Pain. *Pain Med*. 2012;13(3):383-398.
8. Chua NHL, Vissers KC, Sluijter ME. Pulsed radiofrequency treatment in interventional pain management: mechanisms and potential indications a review. *Acta Neurochir (Wien)*. 2011;153(4):763-771.
9. Masala S, Fiori R, Raguso M, Morini M, Calabria E, Simonetti G. Pulse-Dose Radiofrequency for Knee Osteoarthritis. 2013:3-8.
10. Tun K, Cemil B, Gurcay AG, Gurcay AG, Kaptanoğlu E, Sargon MF, et al. Ultrastructural evaluation of pulsed radiofrequency and conventional radiofrequency lesions in rat sciatic nerve. *Surg Neurol*. 2009;72(5):496-500.
11. Mata J, Valenti P, Hernández B, Mir B, Aguilar JL. Study protocol for a randomised controlled trial of ultrasound-guided pulsed radiofrequency of the genicular nerves in the treatment of patients with osteoarthritis knee pain. *BMJ Open*. 2017;7(11):e016377.
12. Huang Y-H, Hou S-Y, Cheng J-K, Wu C-H, Lin C-R. Pulsed radiofrequency attenuates diabetic neuropathic pain and suppresses formalin-evoked spinal glutamate release in rats. *Int J Med Sci*. 2016;13(12):984-991.
13. Polat CS. Is There a Possible Neuropathic Pain Component in Knee Osteoarthritis? *Arch Rheumatol*. 2017;32(4):333-338.
14. Hochman JR, French MR, Birmingham SL, Hawker GA. The nerve of osteoarthritis pain. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(7):1019-1023.
15. Ke M, Yinghui F, Yi J, Xuehua H, Xiaoming L, Zhijun C, et al. Efficacy of pulsed radiofrequency in the treatment of thoracic postherpetic neuralgia from the angulus costae: a randomized, double-blinded, controlled trial. *Pain Physician*. 2013;16(1):15-25.
16. Makharia MY, Amr YM. Pulsed radiofrequency for chronic inguinal neuralgia. *Pain Physician*. 2015;18(5):E147-E155.
17. Manzano D, Jimenez F, Blasi M. Ultrasound-guided pain interventions in the knee region. *Tech Reg Anesth Pain Manag*. 2013;17(3):140-149.
18. Choi WJ, Hwang SJ, Song JG, Leem JG, Kang YU, Park PH, et al. Radiofrequency treatment relieves chronic knee osteoarthritis pain: A double-blind randomized controlled trial. *Pain*. 2011;152(3):481-487.
19. Protzman NM, Gyi J, Malhotra AD, Kooch JE. Examining the Feasibility of Radiofrequency Treatment for Chronic Knee Pain After Total Knee Arthroplasty. *PM&R*. 2014;6(4):373-376.
20. Kesikburun S, Yaşar E, Uran A, Adigüzel E, Yilmaz B. Ultrasound-Guided Genicular Nerve Pulsed Radiofrequency Treatment For Painful Knee Osteoarthritis: A Preliminary Report. *Pain Physician*. 2016;19(5):E751-9.
21. Ahmed A. Prolonged Pulsed Radiofrequency Ablation of Genicular Nerves of Knee for Intractable Pain from Knee Osteoarthritis : A Case Report. *J Pain Reli*. 2016;5(6):10-12

The Effects of N-Acetylcysteine on MMP-2 and MMP-9 Immune Activities in Testicular Tissue of Streptozotocin Induced Diabetic Rats

N-Asetilsistein'in Streptozotosin İle Oluşturulan Diyabetik Ratların Testis Dokusundaki MMP-2 ve MMP-9 İmmun Aktivitelerine Etkileri

Alper Yalçın

Adiyaman University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Adiyaman-TURKEY

Yazışma Adresi / Correspondence:

Alper Yalçın

Adiyaman University, Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Adiyaman-TURKEY

T: +90 416 223 16 90 E-mail: alperyalcin0171@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 06.12.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 28.02.2019

Abstract

Objective	This study was performed to investigate the effects of N-Acetylcysteine (NAC) on matrix metalloproteinases (Mmp-2 and Mmp-9) immunoreactivity in testicular tissue of diabetic rats. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):59-67)
Materials and Methods	28 male rats were allocated into four groups n (7); No treatment was applied to control group. Animals in the NAC alone group was treated with i.p.100 mg/kg NAC daily. Diabetes was induced upon injection of a single dose streptozocin 50 mg/kg intraperitoneally on diabetes group (DM). Following diabetes development, Diabetic + NAC groups were treated with i.p.100 mg/kg NAC daily. Oxidative damage was evaluated with Total Antioxidant Status (TAS) and Total Oxidant Status (TOS) activities while the testicular damage was determined by histopathological evaluation and immunohistochemical assessment of MMP-2 and MMP-9 at the testicular tissues.
Results	TAS levels were found to be increased in diabetic NAC-treated group animals whereas TOS, MMP-2 and MMP-9 levels were decreased in the same group. For the histological findings, there were no testicular changes in the NAC alone and control group whereas the alterations such as marked degeneration, vacuole formation and basement membrane thickening of tubules seminiferus contortus were observed in the testicular tissues of the DM group. But, in the treatment group, DM+NAC, these alterations were found to be comparatively decreased.
Conclusion	Our findings suggest that administration of NAC minimize testicular damage in diabetic rats and might be a potential candidate to reduce/eliminate the negative effects of diabetes on the testicular tissue.
Keywords	NAC, MMP2, MMP9, Testes, Diabetes

Öz

Amaç	Bu çalışma N-Asetilsistein'in (NAS), diyabetik ratların testis dokusunda metalloproteinazların (Mmp2-Mmp9) immün reaktivitesi üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):59-67).
Gereç ve Yöntemler	28 adet erkek rat 4 gruba ayrıldı (n:7). Kontrol grubu hayvanlarına herhangi bir uygulama yapılmadı. NAS grubundaki hayvanlara 30 günlük deney süresince her gün i.p. 100 mg/kg NAS verildi. Diyabet grubundaki (DM) hayvanlarda diyabeti oluşturmak için intraperitoneal (i.p.) tek doz 50 mg/kg streptozotosin uygulandı. Diyabet oluşumundan sonra DM + NAS grubuna 27 gün süre ile her gün i.p. 100 mg/kg NAS verildi. Oksidatif hasar, toplam antioksidan ve toplam oksidan aktivitelerinin ölçümü ile; testis hasarı ise testis dokusunun histopatolojisi ve Mmp2-Mmp9 immün reaksiyonlarının immunhistokimyasal değerlendirilmesi ile yapıldı.
Bulgular	Diyabetik ratlardaki düşük olan TAS seviyesinin, NAS uygulanan diyabetik ratlarda artmış olduğu saptandı. Diyabetik ratlarda artmış olan TOS, Mmp2 ve Mmp9'un NAS uygulaması ile azaldığı gözlemlendi. NAS uygulanan grupta testis dokusunun olağan histolojik yapısına sahip olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, DM grubunda göze çarpar bir şekilde dejenerasyon, vakuol oluşumu ve seminifer tübüllerin bazal membranında kalınlaşma gözlemlendi. DM ile karşılaştırıldığında, DM + NAS grubunda dokudaki hasarın belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi.
Sonuç	Bulgularımız NAS uygulamasının diyabetik ratlarda testis hasarını azalttığını ve diyabetin testis dokusu üzerindeki negatif etkilerini azaltma/elimine etmekte kullanılabileceğini göstermektedir.
Anahtar Kelimeler	NAS, MMP2, MMP9, Testis, Diyabet

INTRODUCTION

DM is a metabolic condition that causes any deficiency or disability in the mechanism of insulin.¹ In addition to disruption of the insulin mechanism, there are common disorders in carbohydrate, fat, and protein metabolism^{2,3} and therefore problems in other organs and systems.⁴⁻⁶ Male infertility is a serious complication of DM in addition to the other major organ and/or organ systems disorders.^{6,7} Adverse effects of diabetes mellitus on fertility occur at several different ways.^{8,9} Altered spermatogenesis, degenerative and apoptotic testicular changes, inconsistent glucose and testosterone levels, and also insufficient sexual physical behaviors were described both in diabetic men and animal models.¹⁰

The blood-testes barrier is essential for the development and maturation of germ cells.¹¹ MMPs are endopeptidases and may degrade the most proteinous components of the extracellular matrix (ECM) and basement membranes.¹² MMP-2 (gelatinase A) and MMP-9 (gelatinase B) involved in the functioning of the blood-testes barrier^{13,14} that are secreted by Sertoli and peritubular cells and these two cell types cooperate for deposition of ECM components in the basement membrane.^{15,16}

Besides endocrine disorders,¹⁷ oxidative stress is also an important factor in the pathogenesis of many chronic complications of diabetes.^{5,18-23} Among the targets of oxidative stress in diabetes are MMP-2 and MMP-9, which are susceptible to oxidative stress.²⁴ Changes in the blood-testis barrier in streptozotocin-induced diabetic rats adversely affect spermatogenesis.²⁵

NAC, a precursor of reduced glutathione (GSH), has been used in therapeutic practices.²⁶ Experimental studies suggest that NAC showed increased antioxidant capacity and depression of reactive oxygen species rate associated with increases of GSH levels.²⁷ GSH is the most important intracellular antioxidant.²⁸ NAC showed the ability to prevent the toxic effects of oxidative stress during diabetes and

have been proposed as a complementary treatment.²⁹⁻³² The mechanisms responsible for the beneficial effects of NAC have been associated to its antioxidant properties.³³⁻³⁵ Antioxidant treatments that relied on the effects of oxidative stress have reduced glycemic index and also complications of DM.^{36,37} Therefore, in this study, whether the contribution of NAC to prevent pathology in the blood-testis barrier, which is known to be damaged in diabetic rats was investigated by immunohistochemical, pathological and biochemical methods.

MATERIALS and METHODS

Chemicals and Test kits

Streptozotocin (STZ) (Sigma Chemical Co Louis Missouri), acetylcysteine (NACR, Basel Pharmaceutical Inc. Sakarya-Turkey), Total Oxidant and Antioxidant Status Test Kits (Rel Assay DiagnosticR, Gaziantep, Turkey), and analytical reagents and solvents (Sigma Aldrich® and Merck®) which used in all procedures were commercially purchased.

Animals, diets and experimental protocols

A total of 28 male Wistar Albino Rat (200-220 gr), 8-10 weeks of age, supplied by Adiyaman University Experimental Animal Production and Research Center were divided into four groups (n=7). After seven-days acclimatization in a room condition at which maintained 12 h light/12 h dark cycle at room temperature (25±3°C) with ad libitum standard rodent pellet diet and water, the experiment was started. First group was named as Control group and animals were maintained on rodent standard pellet diet and water ad libitum, without any treatment during 30 days of experimental period. The second group was called as DM group. Streptozotocin was dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer (pH: 4.5) and a single dose of STZ in 50 mg/kg ratio was administered to animals via i.p. route at the first day of the experiment. After 72 hours, blood samples were taken from the tail veins. Animals with glucose levels above 250 mg/dl were considered as diabetic. The third group was called DM+NAC group. Streptozotocin was dissolved

in 0.1 M sodium citrate buffer (pH: 4.5) and a single dose of STZ in 50 mg/kg ratio was administered to animals via i.p. route. After 72 hours, animals with blood glucose levels above 250 mg/dl were considered diabetic in samples taken from the tail vein. Following experimental diabetes, NAC was administered daily at a dose of 100 mg/kg via i.p. route until the end of the experiment. The animals in the fourth group, defined as the NAC group, were administered daily 100mg/kg NAC via i.p. route for the duration of the experiment. Glucose levels and body weights of all groups were measured and recorded regularly at the onset and at the end of the experiment. At the end of the experiment, rats in all groups were decapitated under ketamine (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) anesthesia.

Throughout the experiment, animals were processed according to the suggested ethical guidelines for the care of laboratory animals (Laboratory Animal Care Committee of Adiyaman University, protocol number: 2018/008). Blood samples were collected by cardiac puncture before decapitation under the anesthesia.

Tissue preparation and histopathologic examination

Animals were sacrificed after collecting the blood samples. Testes tissues were removed and fixed in buffered 10% formalin solution. Tissue samples were embedded in paraffin after routine procedures and then sectioned and stained with hematoxylin-eosin (H&E) and then stained sections were blindly analyzed by two experts. Mainly marked degeneration, vacuole formation and basement membrane thickening were scanned under a light microscope (Leica DM500 attached Leica DFC295 Digital Image Analyze System).

Immunohistochemical methods:

Streptavidin-biotin-peroxidase complex method was used with Thermo Scientific™ TP-015-HA commercial kit. Antibodies against Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2, Rabbit Polyclonal H-029-30, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., California, USA) and Matrix Metalloproteinase-9

(MMP-9, Rabbit Polyclonal, BS-4593R Bioss Inc., Massachusetts) with 1/200 dilutions. Positive and negative controls were made as recommended by the manufacturers. Sections were visualized with 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) chromogens and background colorized with Mayer's Hematoxylin. Sections were scanned under a light microscope (Leica DM500 attached Leica DFC295 Digital Image Analyze System). A histological score was created based on the prevalence of immunopositivity as 0.1:<25%, 0.4:26-50, %0.6:51-75%, 0.9:76-100%) and severity (0: no lesion, +0.5: very little lesion, +1: little lesion, +2: mild lesion, +3: moderate lesion). Histological scorer= Distribution x severity.

Biochemical analysis:

After the experimental period, blood samples were taken from animals by intracardiac puncture under general anesthesia and then centrifuged at 2500 rpm to separate sera for 5 minutes. The obtained sera were stored at -200C until analyzed. To evaluate the degree of damage, Serum Total Antioxidant Level (TAS), 38 and Total Oxidant Level (TAS), 39 were measured for judging the degree of damage based on previous studies, by using the Total Antioxidant Status Assay Test Kit (Rel Assay DiagnosticR, Gaziantep, Turkey) and the Total Oxidant Status Assay Test Kit (Rel Assay DiagnosticR, Gaziantep, Turkey) with auto analyzer (Olympus AU2700).

Statistical Methods

Statistical analysis was performed in SPSS 15.0 program. The normal distribution of the TAS, TOS and immune variables in the groups was evaluated by Kolmogorov Smirnov test. One-way variance-analysis was used for TAS, TOS and Immune variables between groups. Levene statistics were used for homogeneity test of variances. Tukey dual comparison test was used to determine the differences of groups of significant variables. Results were given as mean \pm SD. Significance level was accepted at least $P < 0.05$.

RESULTS

Beginning and final body weights of animals

When compared the beginning and final body weights of rats in all groups were evaluated; the final body weights of the Control and NAC groups were statistically higher than the beginning ($p < 0.05$). However, the body weights of DM and DM+NAC groups were statistically decreased compared to the beginning ($p < 0.05$). (Table 1).

Biochemical Findings

Blood-glucose levels: The beginning and final blood-glucose levels of the rats in all groups were compared and no changes were observed in the Control and NAC groups. However, blood-glucose levels in DM and DM+NAC groups were found to be significantly increased compared to the beginning ($p < 0.05$). (Table 2).

TAS and TOS levels: The level of TOS, which was significantly elevated in the DM group ($p < 0.05$), was close to each other in the Control, NAC, and NAC + DM groups ($p < 0.05$). A significant TAS level decrease was observed in DM group compared to DM + NAC group ($p < 0.05$) and also in DM+NAC group compared to Control and NAC groups ($p < 0.05$) (Table. 3).

Histopathological Findings

In microscopical examination of HE stained sections, normal histological testicular tissues were seen in the Control (Figure 1a) and NAC (Figure 1b) groups. When compared with the Control group, marked degeneration, vacuole formation and basement membrane thickening of tubules seminiferus contortus were observed in the DM group (Figure 1c). Compared with DM group, a marked decrease of

Table 1. Beginning and final body weights of animals (g).

	Control	NAC	DM	DM+NAC
Beginning body weights (g)	211.96±14.08	201.02±15,20	250.73±11.10	222.05±15.88
Final body weights (g)	268,17±8.68a	284,63±9,07a	179,27±6,48a	178,25±15,75a

Values are given as mean ± standard deviation.
a According to the beginning body weight ($p < 0.05$).

Table 2. Beginning and final blood-glucose levels of animals (mg/dl).

	Control	NAC	DM	DM+NAC
Beginning blood-glucose levels (mg/dl)	102,94±4.31	105,41±2.45	105.37±2.24	102.93±2.13
Final blood-glucose levels (mg/dl)	103.30±5.06	107,09±3.78	384.76±54.43a	374.44±53.77a

Values are given as mean ± standard deviation.
a According to the beginning blood-glucose levels, $p < 0.05$).

Table 3: Serum TAS and TOS levels and immunohistochemical localizations of MMP-2 and MMP-9 in testes tissues of animals.

	N	TOS, P* 0.000	TAS, P* 0.000	MMP-2, P* 0.008	MMP-9 P* 0.002
Control	7	17,41b±0,55	1,68a±0,10	1,41b±0,37	1,20b±0,30
NAC	7	17,63b±0,79	1,77a±0, 07	1,45b±0,33	1,20b±0,30
DM	7	22,29a±1,20	1,27c±0, 07	2,22a±0,62	1,97a±0,50
DM+NAC	7	18,53b±0, 92	1,49b±0, 09	1,84ab±0,43	1,45ab±0,32

^{abc}: Means within the same column with differing superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

*:One Way Anova

these lesions were observed in the DM+NAC group (Figure 1d).

Immunohistochemical Findings

Immunohistochemical investigations showed that both MMP-2 (Figure 2a-2d) and MMP-9 (Figure 3a-3d) immunoreactivity were especially localized in the seminiferous tubules in the testicular tissue. Granular-type cytoplasmic staining was observed both sertoli and in germ cells.

A significant elevation of both MMP-2 and MMP-9 levels were detected in DM group compared with the Control and NAC groups ($P < 0.05$). but this value was statistically insignificant. Although no statistically significant difference between DM and DM+NAC groups were observed. ($P < 0.05$) (Table 3), both MMP-2 and MMP-9 levels were decreased at DM + NAC groups compared to DM.

DISCUSSION

Arrangement of intercellular junctions and associated proteins are critically important in the movement of germ cells across the seminiferous epithelium in the unique design of spermatogenesis.⁴⁰ Sertoli cells are indispensable in supporting developing germ cells, and any damage to them leads to reduced support capabilities.^{41,42} Because of the deterioration of adhesion between the Sertoli cells and germ cells, the movement of germ cells within the seminiferous epithelium disrupt and early release of immature germ cells occur during differentiating of germ cells moving across the BTB and this is likely to cause infertility.^{40,43}

The permeability of BTB is affected by the cytokine-mediated,⁴⁴ and/or by protease-mediated corruption of junction proteins. MMPs, a group of proteases, can disrupt or regulate the different blood barriers (including blood-testes

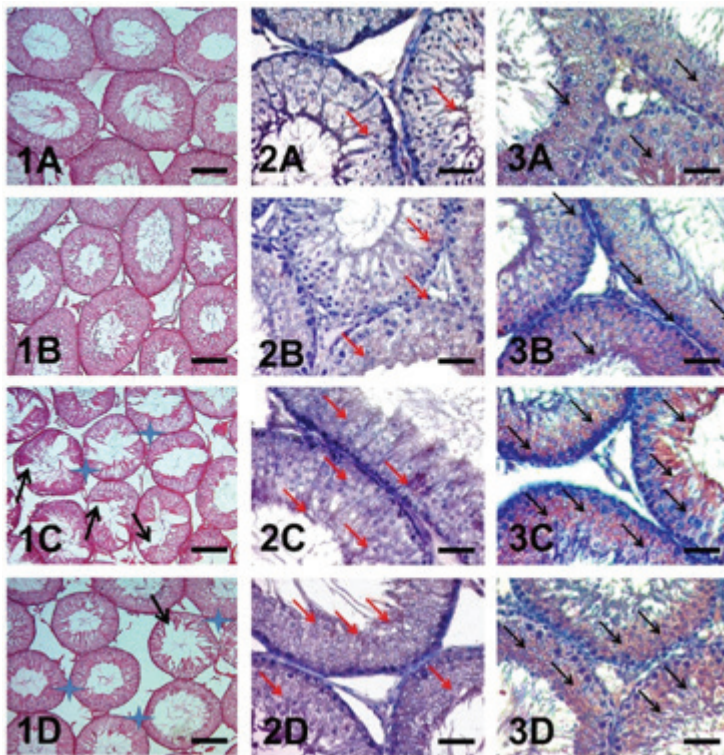


Figure 1A-D: Hematoxylin & Eosin stained testes. The scale bars represent 100 μm . A: Microscopical view of Control group. Normal testicular tissues. B: Microscopical view of NAC-treated group. Normal testicular tissue view. C: Microscopical view of DM group. Marked degeneration (black arrow) and basement membrane thickening (blue asterisk) of seminiferous tubules were observed in the DM group. D: Microscopical view of DM + NAC. A significant decrease of degeneration (black arrow) and basement membrane thickening (blue asterisks) of seminiferous tubules.

Figure 2A-D: MMP-2 immunoreactivity of testes tissues. The scale bars represent 25 μm . Tissues were stained with Streptavidin biotin peroxidase complex method with Mayer's Hematoxylin counterstain. AEC chromogen was used for visualization. A: Control group. B: NAC group. C: DM group. D: DM+NAC group.

Figure 3A-D: MMP-9 immunoreactivity of testes tissues. The scale bars represent 25 μm . Tissues were stained with Streptavidin biotin peroxidase complex method with Mayer's Hematoxylin counterstain. AEC chromogen was used for visualization. A: Control group. B: NAC group. C: DM group. D: DM+NAC group.

barrier) by degrading tight junction proteins.⁴⁵⁻⁴⁷

Matrix metalloproteinase-9 is essential for assessing semen quality⁴⁸ and MMP-2 regulates the migration of spermatogonia and spermatocytes.⁴⁹ MMP-2 activation in the testis contributes to the decreased supportive capacity of Sertoli cells by altering junctional connections between Sertoli cells and germ cells^{41,50} and such disruptions will cause initiating germ cell detachment.⁴¹ In an *in vivo* study MMP-2-induced germ cell detachment inhibited by pretreatment with a MMP-2 inhibitor.⁴²

Decreases in tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) expression in Sertoli cells led to MMP-2 activation.⁴² Activated MMP-2 may alter the microenvironment in the adluminal compartment and further lead to the remodeling of tight junctions at the BTB between adjacent Sertoli cells. Finally, activated MMP-2 may directly breaks laminin/integrin complexes at apical ectoplasmic specializations (ESs) between Sertoli cells and spermatids and further contribute to the release of these cells into the lumen.⁴¹

Immunoreactivity of MMP-2 and MMP-9 explained by researchers in mice,⁵¹ rats⁵² and dogs.⁴⁸ MMP-2 has been reported to be localized in apical ESs that are mainly associated with the heads of prolonged spermatids.⁵² In dogs, MMP-2 immunoreactivity was described in head of elongate spermatid, residual body and the Sertoli cell and MMP-9 immunoreactivity was defined in cytoplasm of spermatocyte, round spermatid and residual body.⁴⁸ Same to researchers intra- or extra tubular immunoreactivity were detected testes tissues of rats in immunohistochemical staining. These more frequently cytoplasmic immunopositivity were seen more intense in diabetic animals. Although they did not decrease to the extent of the control levels, these values were significantly decreased in NAC-treated diabetic animals.

According to the results obtained in the study, the high

MMP-2 and MMP-9 levels in diabetic animals are not compatible with the results of some studies, but there is no discrepancy. Because, in experimental and in field studies in which MMP levels are detected, especially in diabetics, differences are observed in serum and tissue levels, in different tissues, in active and passive form, and in the method used to determine. For example, significantly elevated MMP-9 was measured in the sera of diabetic patient 53 and increased levels of activated MMP-2 and MMP-9 from the retinas of diabetic patients had been reported.⁴ A significant reduce was described the activity of latent MMP-2, active MMP-2 and MMP-9 in diabetic testes by using different techniques and decreases in MMP-2 and MMP-9 have been associated with testopathy.⁵⁴ When the literature on the subject is viewed collectively, the detrimental effects of both increases and decreases of MMPs levels are damaging for the total health of the organism. Therefore, the steady-state balance levels are essential for leading a healthy life.

Oxidative stress associated testicular damages has been described both in diabetic rats and humans. Testicular oxidative stress, induced by both oxygen and nitrogen free radicals, cause MMPs activation and this irregular MMPs and TIMPs are adversely affect the construction of the multi-layered epithelium and cytoskeleton of germ cells.^{24,55,56} In our study, elevated TOS and decreased TAS levels in diabetic animals returned to normal course with NAC treatment. In parallel with the increase of oxidative stress, MMP-2 and MMP-9 levels were high in the diabetic animals and these levels decreased with NAC administration. TAS levels increased with NAC administration, whereas MMP-2 and MMP-9 immunoreactivities decreased.

In conclusion; in our study, it was observed that the evident decrease in body weights of diabetic animals were not prevented by NAC treatments and similarly increased blood glucose levels in diabetic animals were not affected by NAC applications. But, NAC application caused a decrease in elevated MMP-2 and MMP-9 levels which elevated with diabetes. These findings suggest that NAC might be a po-

tential candidate to reduce/eliminate the negative effects of diabetes especially on male fertility on the testes health.

Acknowledgements

The author declares that they have no conflict of interest.

References

- Agbaje IM, Rogers DA, McVicar CM, McClure N, Atkinson AB, Mallidis C, et al. Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod Oxf Engl* 2007;22:1871-1877.
- Hasselbaink DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Van der Vusse GJ. Ketone bodies disturb fatty acid handling in isolated cardiomyocytes derived from control and diabetic rats. *Biochem J* 2003;371:753-760.
- Jeejeebhoy KN, Chu RC, Marliss EB, Greenberg GR, Bruce-Robertson A. Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation, in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1977;30:531-538.
- Das A, McGuire PG, Eriqat C, Ober RR, DeJuan E, Williams GA, et al. Human diabetic neovascular membranes contain high levels of urokinase and metalloproteinase enzymes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:809-813.
- Mallidis C, Agbaje IM, Rogers DA, Glenn JV, Pringle R, Atkinson AB, et al. Advanced glycation end products accumulate in the reproductive tract of men with diabetes. *Int J Androl* 2009;32:295-305.
- Melendez-Ramirez LY, Richards RJ, Cefalu WT. Complications of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:625-640.
- Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994;331:1428-1436.
- Ficher M, Zuckerman M, Fishkin RE, Goldman A, Neeb M, Fink PJ, et al. Do endocrines play an etiological role in diabetic and nondiabetic sexual dysfunctions? *J Androl* 1984;5:8-16.
- Steger RW, Rabe MB. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N* 1997;214:1-11.
- Jangir RN, Jain GC. Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Curr Diabetes Rev* 2014;10:147-157.
- Mital P, Hinton BT, Dufour JM. The blood-testis and blood-epididymis barriers are more than just their tight junctions. *Biol Reprod* 2011;84:851-858.
- Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev* 2000;14:2123-2133.
- Longin J, Le Magueresse-Battistoni B. Evidence that MMP-2 and TIMP-2 are at play in the FSH-induced changes in Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 2002;189:25-35.
- Siu MKY, Lee WM, Cheng CY. The interplay of collagen IV, tumor necrosis factor- α , gelatinase B (matrix metalloproteinase-9), and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the basal lamina regulates Sertoli cell-tight junction dynamics in the rat testis. *Endocrinology* 2003;144:371-387.
- Fritz IB, Tung M, Ailenberg M. Proteases and antiproteases in the seminiferous tubules. In: Russell LD, Griswold MD (eds.). *The Sertoli Cell*. Clearwater, FL: Cache River Press, 1993. p.217-235.
- Skinner MK. Cell-cell interactions in the testis. *Endocr Rev* 1991;12:45-77.
- La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. *J Androl* 2012;33:145-153.
- Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev* 2008;4:46-54.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;19:257-267.
- Karimi J, Goodarzi MT, Tavilani H, Khodadadi I, Amiri I. Relationship between advanced glycation end products and increased lipid peroxidation in semen of diabetic men. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;91:61-66.
- Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int Suppl* 2000;77:S26-30.
- Piconi L, Quagliaro L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1144-1149.
- Wiernsperger NF. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab* 2003;29:579-585.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-839.
- Alves MG, Martins AD, Cavaco JE, Socorro S, Oliveira PF. Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers* 2013;1:e23992.
- Hurst GA, Shaw PB, LeMaistre CA. Laboratory and clinical evaluation of the mucolytic properties of acetylcysteine. *Am Rev Respir Dis* 1967;96:962-970.
- Gibson KR, Neilson IL, Barrett F, Winterburn TJ, Sharma S, MacRury SM, et al. Evaluation of the Antioxidant Properties of N-acetylcysteine in Human Platelets: Prerequisite for Bioconversion to Glutathione for Antioxidant and Antiplatelet Activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:319-326.
- Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg BH. The systemic availability of oral glutathione. *Eur J Clin Pharmacol* 1992;43:667-669.
- Ho E, Chen G, Bray TM. Supplementation of N-acetylcysteine inhibits NF κ B activation and protects against alloxan-induced diabetes in CD-1 mice. *FASEB J* 1999;13:1845-1854.
- Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, et al. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes* 1999;48:2398-2406.
- Masha A, Brocato L, Dinatale S, Mascia C, Biasi F, Martina V. N-acetylcysteine is able to reduce the oxidation status and the endothelial activation after a high-glucose content meal in patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest* 2009;32:352-356.
- Xia Z, Liu M, Wu Y, Sharma V, Luo T, Ouyang J, et al. N-acetylcysteine attenuates TNF- α -induced human vascular endothelial cell apoptosis and restores eNOS expression. *Eur J Pharmacol* 2006;550:134-142.
- Rigotti A, Miettinen HE, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. *Endocr Rev* 2003;24:357-387.
- Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. *Pharmacol Ther* 2014;141:150-159.
- Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta* 1830;2013:4117-4129.
- Mohasseb M, Ebied S, Yehia MAH, Hussein N. Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *J Physiol Biochem* 2011;67:185-194.
- Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother* 2005;59:365-373.
- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37:277-285.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
- Russell LD, Peterson RN. Sertoli cell junctions: morphological and functional correlates. *Int Rev Cytol* 1985;94:177-211.
- Yao P-L, Lin Y-C, Richburg JH. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate-induced disruption of junctional complexes in the seminiferous epithelium of the rodent testis is mediated by MMP2. *Biol Reprod* 2010;82:516-527.
- Yao P-L, Lin Y-C, Richburg JH. TNF α -mediated disruption of spermatogenesis in response to Sertoli cell injury in rodents is partially regulated by MMP2. *Biol Reprod* 2009;80:581-589.
- Gray KJ, Engelmann UH, Johnson EH, Fishman IJ. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (Cytoxan) therapy. *J Urol* 1986;136:497-500.
- Lui W-Y, Lee WM. Molecular mechanisms by which hormones and cytokines regulate cell junction dynamics in the testis. *J Mol Endocrinol* 2009;43:43-51.
- Navaratna D, McGuire PG, Menicucci G, Das A. Proteolytic degradation of VE-cadherin alters the blood-retinal barrier in diabetes. *Diabetes* 2007;56:2380-2387.
- Rejzkerker A, Kooij G, van der Pol SMA, Khazen S, Dijkstra CD, de Vries HE. Diapedesis of monocytes is associated with MMP-mediated occludin disappearance in brain endothelial cells. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 2006;20:2550-2552.
- Yang Y, Estrada EY, Thompson JE, Liu W, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab* 2007;27:697-709.
- Warinrak C, Wu J-T, Hsu W-L, Liao J-W, Chang S-C, Cheng F-P. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in canine testis, epididymis and semen. *Reprod Domest Anim Zuchtthg* 2015;50:48-57.
- Longin J, Guillaumot P, Chauvin MA, Morera AM, Le Magueresse-Battistoni B. MT1-MMP in rat testicular development and the control of Sertoli cell proMMP-2 activation. *J Cell Sci* 2001;114:2125-2134.
- Chen H, Lam Fok K, Jiang X, Chan HC. New insights into germ cell migration and survival/apoptosis in spermatogenesis: Lessons from CD147. *Spermatogenesis* 2012;2:264-272.
- Barone R, Pitruzzella A, Marino Gammazza A, Rappa F, Salerno M, Barone F, et al. Nandrolone decanoate interferes with testosterone biosynthesis altering blood-testis barrier components. *J Cell Mol Med* 2017;21:1636-1647.

52. Siu MKY, Cheng CY. Interactions of proteases, protease inhibitors, and the beta1 integrin/laminin gamma3 protein complex in the regulation of ectoplasmic specialization dynamics in the rat testis. *Biol Reprod* 2004;70:945-964.
53. Maxwell PR, Timms PM, Chandran S, Gordon D. Peripheral blood level alterations of TIMP-1, MMP-2 and MMP-9 in patients with type 1 diabetes. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 2001;18:777-780.
54. Zhang Q, Liu H-R, Ying H-J, Dai D-Z, Tang X-Y, Dai Y. Strontium fructose 1,6-diphosphate alleviates early diabetic testopathy by suppressing abnormal testicular matrix metalloproteinase system in streptozocin-treated rats. *J Pharm Pharmacol* 2009;61:229-236.
55. Mallidis C, Agbaje I, Rogers D, Glenn J, McCullough S, Atkinson AB, et al. Distribution of the receptor for advanced glycation end products in the human male reproductive tract: prevalence in men with diabetes mellitus. *Hum Reprod Oxf Engl* 2007;22:2169-2177.
56. Tang X-Y, Zhang Q, Dai D-Z, Ying H-J, Wang Q-J, Dai Y. Effects of strontium fructose 1,6-diphosphate on expression of apoptosis-related genes and oxidative stress in testes of diabetic rats. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc* 2008;15:251-256.

Can Successful Outcomes be Achieved Using the Single-Row Rather Than the Double-Row Technique for Repair of a Rotator Cuff Tear?

Rotator Manşet Yırtığı Onarımı İçin Çift Sıra Tamir Tekniği Yerine Tek Sıra Tamir Tekniği Kullanılarak Başarılı Sonuçlar Elde Edilebilir Mi?

H. Çağdaş Basat¹, Mehmet Armangil², Yener Yoğun³

¹ Ahi Evran University Faculty of Medicine, Orthopedics and Traumatology Department, KIRSEHIR

² Ankara University Faculty of Medicine, Orthopedics and Traumatology Department, Hand Surgery Unit, ANKARA

³ Orthopedics and Traumatology Department, Etimesgut Şehit Sait Ertürk State Hospital, ANKARA

Yazışma Adresi / Correspondence:

H. Çağdaş Basat

Ahi Evran University Faculty of Medicine, Orthopedics and Traumatology Department Kırşehir, Turkey

T: +90 505 772 14 89 E-mail: cagdasbasat@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.11.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 14.01.2019

Abstract

Objective	To compare the outcomes of patients grouped according to the intraoperative size of the anteroposterior tear treated using double- or single-row repair techniques. (<i>Sakarya Med J 2019, 9(1):68-73</i>)
Materials and Methods	We examined the outcomes of 112 patients who met our inclusion/exclusion criteria by using the preoperative and postoperative Constant scores. We divided the patients treated using single- or double-row techniques into 4 groups based on the intraoperative size of the anteroposterior tear, including both the supraspinatus and infraspinatus tears. Further, we divided the patients in these 4 groups into two additional subgroups treated using single- and double-row techniques.
Results	The single-row group included 64 patients and the double-row group included 48 patients. The mean follow-up time for the single- and double-row groups was 35.61 and 33.46 months, respectively. We observed a significant improvement in the outcomes of patients in the single- and double-row groups. The preoperative and postoperative Constant scores of patients in the single-row groups were 35.96 and 81.23, respectively (p<0.001). The preoperative and postoperative Constant scores of patients in the double-row groups were 31.60 and 74.31, respectively (p<0.001). Patients with an intraoperative tear size of 1-3 cm treated using the single-row technique showed better outcomes than those treated using the double-row technique (postoperative Constant scores 81.22 and 71.86, respectively; p=0.005).
Conclusion	Thus, the single-row repair technique was used successfully in patients with supraspinatus and infraspinatus tears ranging from 1-3 cm.
Keywords	constant score; double row; single row; size of the anteroposterior tear; rotator cuff tear; rotator cuff repair

Öz

Amaç	Cerrahi sırasındaki rotator manşetteki anteroposterior yırtık ölçüsüne göre oluşturulan gruplardaki tek sıra ya da çift sıra tamir yöntemi ile opere edilen hastaların klinik sonuçlarını karşılaştırmak. (<i>Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):68-73</i>).
Gereç ve Yöntemler	Dâhil etme ve etmeme kriterlerine uyan 112 hastanın cerrahi öncesi ve sonrası sonuçları Constant Skoru kullanılarak değerlendirildi. Hem supraspinatus hem de infraspinatus yırtığına aynı anda sahip olan, tek sıra ya da çift sıra tamir yöntemi ile ameliyat edilen hastalar cerrahi sırasında saptanan anteroposterior yırtık ölçüsüne göre 4 gruba ayrıldı. Ayrıca bu 4 grup çift sıra ve tek sıra olmak üzere 2 alt gruba daha ayrıldı.
Bulgular	Hastaların 64'ü tek sıra, 48'i çift sıra grubu içindedir. Ortalama takip süresi tek sıra grubu ve çift sıra grubu için sırası ile 35.61 ve 33.46 aydır. Hem tek sıra hem de çift sıra grubundaki hastaların sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı ilerleme saptandı. Tek sıra grubunda cerrahi öncesi ve sonrasındaki Constant skorları sırası ile 35.96 ve 81.23 olarak saptandı (p<0.001). Çift sıra grubunda cerrahi öncesi ve sonrasındaki Constant skorları sırası ile 31.60 ve 74.31 olarak saptandı (p<0.001). Cerrahi sırasında yırtık ölçüleri 1 cm ile 3 cm arasındaki grupta yer alan hastalardan tek sıra tekniği ile tedavi edilen hastaların sonuçlarının çift sıra tekniği ile tedavi edilenlere göre daha iyi olduğu saptandı. (Cerrahi sonrasında Constant skorları sırası ile 81.22 ve 71.86 olarak saptandı, p=0.005).
Sonuç	Cerrahi öncesi AP yırtık ölçüleri 1 cm ile 3 cm arasında hem supraspinatus hem de infraspinatus yırtığının ikisine de sahip olan hastalarda tek sıra tamir uygulaması başarılı bir şekilde uygulanmıştır.
Anahtar Kelimeler	constant skor; tek sıra; çift sıra; anteroposterior yırtık ölçüsü; rotator manşet yırtığı; rotator manşet tamiri

INTRODUCTION

With the technological improvements in arthroscopic instruments, arthroscopic repair has been increasingly used over the open technique for repair of the rotator cuff tear.¹⁻⁴ To date, however, no consensus has been established about the preferred technique for rotator cuff tendon tears.⁴⁻⁷ Biomechanical studies have shown that the double-row repair technique is superior to the single-row repair technique in the extent of footprint coverage, strength of the repaired tendon, gap formation, pressure under the repaired tendon, and the number of cycles to failure, and to date, no clinical differences have been observed between the double- and single-row repair techniques.^{4, 5, 8-11}

Previous studies indicate that factors such as the shape of the tear, preoperative anteroposterior (AP) size of the tear, fatty degeneration of the tendons, the tendon quality and age have been evaluated to decide whether the double- or single-row technique should be used for repair of the rotator cuff tear.^{2,12-17} However, the most important factor for selecting an appropriate suture technique for avoiding damage to the rotator cuff has not been established thus far.^{1,3,4,7,9-11,16,18} The double-row repair is recommended, particularly for tears greater than 3 cm. No clinical differences are observed between the single- and double-row repair techniques for tears smaller than under 3 cm.^{5,6,8,19,20} This study aimed to evaluate the results of patients grouped according to the intraoperative sizes of the AP tear undergoing rotator cuff repair by using the single- or double-row techniques.

MATERIALS and METHODS

Our study was approved by our institutional review board (No: 17-1124-18) and informed consent forms were obtained from all participants before commencement of the study. This study is a descriptive cross-sectional study. The inclusion criteria were as follows: 1) persistent pain despite 6 months of conservative treatment and 2) full-thickness tear, including both the supraspinatus and the infraspinatus tendons. The exclusion criteria were as follows: 1)

presence of shoulder injuries such as instability, glenohumeral arthritis, 2) presence of an irreparable or a partial rotator cuff tear, 3) presence of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis, 4) a history of shoulder surgery, 5) presence of an active infection at the shoulder joints, 6) presence of a neurologic deficit, and 7) having a teres minor and/or a subscapularis tear.

A total of 287 patients underwent arthroscopic rotator cuff repair at our clinic from January 2010 to November 2017. Supraspinatus and infraspinatus tears were present in 112 (39%) patients. The remaining patients were excluded from the study because of infraspinatus, supraspinatus, and subscapularis tears (n=93, 32.40%), only supraspinatus tear (n=60, 20.91%), supraspinatus and subscapularis tears (n=20, 6.97%), and only infraspinatus tears (n=2, 0.69%). Single-row repair and double-row repair was performed in 64 (57.14%) and 48 (42.85%) patients, respectively.

We divided the patients in our study into 4 groups according to Cofield's classification of rotator cuff tears by measuring the intraoperative size of the AP tear using a ruler during the arthroscopic surgery.^{21,22} Subsequently, patients in these 4 groups were divided into two subgroups as a single- and double-row repair group (Table 1). We evaluated the Constant score of the patients and duration before the operation to the last follow-up at least 6 months after the surgery (Table 2 and 3). A minimal clinically important difference (MCID) for the Constant score has been used to assess the success of the treatment of patients with a rotator cuff tear^{23, 24}, and an improvement of 10.4 points in the Constant score is required for a minimum significant clinical difference.²³

All operations were performed by the senior surgeon in a modified beach chair position. The single-row technique was performed using one, two, or three 4.5-mm titanium anchors. The double-row technique was performed using one, two, or three anchors for medial row fixation and one or two knotless anchors for lateral row fixation. If subacro-

Table 1: Demographics characteristics of patients

	Single-row repair	Double-row repair	p value	Total
Age (mean±sd)	59.07±8.60	60.85±7.64	0.130*	59.84±8.22
Gender F/M	47/17	37/11	0.659**	84/28
Mean follow-up time (mean±sd)	35.61±19.91	33.46±18.74	0.286*	34.69±19.36
Cuff repair	64 (57.14%)	48 (42.85%)		112 (100%)
Acromioplasty	57 (58.76%)	40 (41.23%)		97 (100%)
Tenotomy	36 (53.73%)	31 (46.26%)		67 (100%)
Tenodesis	10 (52.63%)	9 (47.36%)		19 (100%)
AC joint resection	5 (62.5%)	3 (37.5%)		8 (100%)
Preoperative tear size				
<1 cm	2 (50%)	2 (50%)		4 (100%)
1-3 cm	59 (72.83%)	22 (27.16%)		81 (100%)
3-5 cm	3 (11.11%)	24 (88.88%)		27 (100%)
>5 cm	0	0		0

* Student t-test, ** chi-square test, AC: acromioclavicular, sd: standard deviation

Table 2: Relationship between the Constant scores of patients in the single- and double-row subgroups

AP Tear Size Group	<1 cm			1-3 cm			3-5 cm		
	S	D	p	S	D	p	S	D	p
Pre-CS	38.50±4.95	29.00±1.41	0.060*	35.98±13.89	33.09±13.34	0.201*	34.00±3.46	30.46±6.92	0.198*
Post-CS	68.50±0.71	89.50±2.12	0.003**	81.22±9.16	71.86±15.28	0.005**	90.00±1.73	75.29±11.58	0.020**

*Student t-test, S: single row, D: double row, p: p value, Pre-CS: preoperative Constant score, Post-CS: postoperative Constant score, AP: anteroposterior
 Values are expressed as mean±standard deviation
 ** indicates a significant p value

Table 3: Relationship between the Constant scores of patients in the single- and double-row groups

	Preoperative	Postoperative	p value
Single-row			
Constant score	35.96±13.37	81.23±9.28	p<0.001 **
Double-row			
Constant score	31.60±10.25	74.31±13.54	p<0.001 **
p value	0.031**	0.008**	

* Student t test, Values are expressed as mean±standard deviation, ** indicates a significant p value

mial impingement was observed after cuff repair, we performed acromioplasty. Biceps tenotomy or tenodesis was performed if we observed biceps tendonitis, synovitis, or superior labrum from anterior to posterior (SLAP) lesions, and we performed acromioclavicular (AC) joint resection

for symptomatic arthrosis (Table 1).

After the surgery, all patients used a Velpeau bandage for 4 weeks. The patients performed passive pendulum exercises on postoperative day 1. The patients were encouraged

to do these exercises 5 times a day for 10 min. After 4 weeks, all patients were given a predetermined physiotherapy program. Strengthening exercises were initiated between week 8 and week 12. Sporting activities were not allowed until postoperative month 6.

Statistical analysis: Continuous variables were expressed as mean standard deviations (SD) and nominal variables were expressed as frequencies and percentages (%). Statistical analysis of two independent and dependent groups was performed using the paired t-test and independent t-test, respectively. The chi-square test was used to compare qualitative data between the two groups. The significance was set at $p < 0.05$. Analyses were performed using the Number Cruncher Statistical System (NCSS) 2007 (Kaysville, Utah, USA).

RESULTS

The single-row group included 64 patients (women, 47 and men, 17), and the double-row group included 48 patients (women, 37 and men, 11). The mean age of patients in the single- and double-row groups was 59.07 ± 8.60 years (range 39-70) and 60.85 ± 7.64 years (range 48-74), respectively. The mean follow-up time of the patients in single- and double-row groups was 35.61 ± 19.91 months (range 6.90-79.91) and 33.46 ± 18.74 months (range 7.33-73), respectively (Table 1). The Constant scores of the patients in single- and double-row groups were measured according to the intraoperative size of the AP tear (Table 2).

We observed a significant difference in the preoperative (35.96 ± 13.37 and 31.60 ± 10.25) and postoperative (81.23 ± 9.28 and 74.31 ± 13.54) Constant shoulder scores ($p < 0.001$) of the single- and double-row groups, respectively (Table 3). In addition, the postoperative Constant score of the single-row group was significantly different from that of the double-row group ($p = 0.008$). However, one patient in the double-row group had a lower postoperative Constant score than the preoperative score (from 63 to 29 points), and the symptoms of this patient showed no improvement

during the follow-up. Moreover, the Constant score improved from 39 to 41 points in a patient in the double-row group. Apart from these patients, all patients in the single- and double-row groups (100% and 95.83%, respectively) showed a more than 10-point improvement in the Constant scores.

We observed a significant difference in the postoperative Constant scores between the single- and double-row subgroups (68.50 ± 0.71 and 89.50 ± 2.12 , respectively) in patients with an intraoperative AP tear smaller than 1 cm ($p = 0.003$). Patients with an intraoperative AP tear smaller than 1 cm in the double-row subgroup had better outcomes than those in the single-row subgroup (Table 2). Moreover, patients in the single- and double-row subgroups with an intraoperative AP tear measuring 1-3 cm and those with AP tear measuring 3-5 cm showed a significant difference in the postoperative Constant scores ($p = 0.005$ and $p = 0.020$, respectively). The patients with AP tear measuring 1-3 cm and those with AP tear measuring 3-5 cm in the single-row subgroups (81.22 ± 9.16 and 90 ± 1.73 , respectively) had better outcomes than those in the double-row subgroups (71.86 ± 15.28 and 75.29 ± 11.58 , respectively) (Table 2).

DISCUSSION

We evaluated the functional scores of patients with a rotator cuff tear repaired using a single-row or a double-row repair technique. We observed significant improvements in the scores of the patients after surgery with both techniques. Our results were consistent with those reported previously.^{1-5,7,8,11,19} Given the MCID, 100% of patients in the single-row group and 95.8% of patients in the double-row group showed significant improvements after the surgery. Our results were similar to those reported by Nicholas et al.¹¹ The results of the study by Nicholas et al. showed a significant improvement of 89% in the American Shoulder and Elbow Surgeons Shoulder (ASES) score in 36 patients treated using single- or double-row techniques.

Our results of repair using the single- or double-row technique based on the intraoperative size of the AP tear of the rotator cuff were different from those reported previously.^{5-8,19,20} Our results showed that patients with a tear size >1 cm in the single-row group had a better Constant score than those in the double-row group. However, patients with a tear size <1 cm in the double-row group had better Constant scores than those in the single-row group. Carbonel et al.⁸ analyzed 160 patients undergoing arthroscopic cuff repair during a period of two years, and they did not observe any significant difference in the Constant scores of patients with tear a size 1-5 cm in the single- and double-row groups. The results of a study by Park et al.¹⁹ in patients with a tear size >3 cm showed that patients in the double-row group had better outcomes than those in the single-row groups; however, no significant difference was observed in the single- and double-row groups in the case of patients with a tear size <3 cm. The results of a meta-analysis performed by Spiegl et al.⁴ showed no significant difference in the outcomes of patients with small- and medium-size tears treated using double- and single-row techniques, whereas a significant difference was observed in patients with large or massive tears. Our study had 64 patients in the single-row group and 48 in the double-row group. We divided the patients further into subgroups for analyzing the effect of the intraoperative AP tear size on the Constant scores; however, the number of patients in each subgroup, particularly the subgroups of patients with a tear size smaller than 1 cm and those with a tear size of 3-5 cm, was not sufficient for statistical evaluation. The differences between our results and those reported previously may be attributed to the lack of a sufficient number of patients in each subgroup. However, we observed a significant difference in the outcomes of the subgroup of patients with tear size 1-3 cm in the double- and single-row groups, and patients in the single-row group had better outcomes. Thus, our results showed that single-row repair was successful in patients with a rotator cuff tear measuring 1-3 cm.

Our study had a few limitations. The number of the patients in each group was not sufficient for statistical evaluation, particularly the subgroups of patients with tear size <1 cm and 3-5 cm. Although we observed meaningful statistical differences in these subgroups, they were not sufficient to deem our results significant. Further, since this was a retrospective study, it may be associated with a bias during patient selection.

Consequently, our results showed that patients with an intraoperative tear of 1-3 cm, including the supraspinatus and infraspinatus tendons, could be successfully treated using the single-row repair technique.

References

1. Kim YK, Moon SH and Cho SH. Treatment outcomes of single- versus double-row repair for larger than medium-sized rotator cuff tears: the effect of preoperative remnant tendon length. *Am J Sports Med* 2013; 41: 2270-2277. DOI: 10.1177/0363546513499000.
2. Tudisco C, Bisicchia S, Savarese E, et al. Single-row vs. double-row arthroscopic rotator cuff repair: clinical and 3 Tesla MR arthrography results. *BMC Musculoskelet Disord* 2013; 14: 43. DOI: 10.1186/1471-2474-14-43.
3. Xu C, Zhao J and Li D. Meta-analysis comparing single-row and double-row repair techniques in the arthroscopic treatment of rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg* 2014; 23: 182-188. DOI: 10.1016/j.jse.2013.08.005.
4. Spiegel UJ, Euler SA, Millett PJ, et al. Summary of Meta-Analyses Dealing with Single-Row versus Double-Row Repair Techniques for Rotator Cuff Tears. *Open Orthop J* 2016; 10: 330-338. DOI: 10.2174/1874325001610010330.
5. Chen M, Xu W, Dong Q, et al. Outcomes of single-row versus double-row arthroscopic rotator cuff repair: a systematic review and meta-analysis of current evidence. *Arthroscopy* 2013; 29: 1437-1449. DOI: 10.1016/j.arthro.2013.03.076.
6. Grasso A, Milano G, Salvatore M, et al. Single-row versus double-row arthroscopic rotator cuff repair: a prospective randomized clinical study. *Arthroscopy* 2009; 25: 4-12. DOI: 10.1016/j.arthro.2008.09.018.
7. Hantes ME, Ono Y, Raoulis VA, et al. Arthroscopic Single-Row Versus Double-Row Suture Bridge Technique for Rotator Cuff Tears in Patients Younger Than 55 Years: A Prospective Comparative Study. *Am J Sports Med* 2018; 46: 116-121. DOI: 10.1177/0363546517728718.
8. Carbonel I, Martinez AA, Calvo A, et al. Single-row versus double-row arthroscopic repair in the treatment of rotator cuff tears: a prospective randomized clinical study. *Int Orthop* 2012; 36: 1877-1883. DOI: 10.1007/s00264-012-1559-9.
9. Grimberg J, Diop A, Kalra K, et al. In vitro biomechanical comparison of three different types of single- and double-row arthroscopic rotator cuff repairs: analysis of continuous bone-tendon contact pressure and surface during different simulated joint positions. *J Shoulder Elbow Surg* 2010; 19: 236-243. DOI: 10.1016/j.jse.2009.09.006.
10. Lorbach O, Bachelier F, Veas J, et al. Cyclic loading of rotator cuff reconstructions: single-row repair with modified suture configurations versus double-row repair. *Am J Sports Med* 2008; 36: 1504-1510. DOI: 10.1177/0363546508314424.
11. Nicholas SJ, Lee SJ, Mullaney MJ, et al. Functional Outcomes After Double-Row Versus Single-Row Rotator Cuff Repair: A Prospective Randomized Trial. *Orthop J Sports Med* 2016; 4: 2325967116667398. DOI: 10.1177/2325967116667398.
12. Jo CH, Shin WH, Park JW, et al. Degree of tendon degeneration and stage of rotator cuff disease. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2017; 25: 2100-2108. DOI: 10.1007/s00167-016-4376-7.
13. Kang Y, Lee GY, Lee JW, et al. Texture Analysis of Torn Rotator Cuff on Preoperative Magnetic Resonance Arthrography as a Predictor of Postoperative Tendon Status. *Korean J Radiol* 2017; 18: 691-698. DOI: 10.3348/kjr.2017.18.4.691.
14. Kuzel BR, Grindel S, Papandrea R, et al. Fatty infiltration and rotator cuff atrophy. *J Am Acad Orthop Surg* 2013; 21: 613-623. DOI: 10.5435/JAAOS-21-10-613.
15. Mall NA, Tanaka MJ, Choi LS, et al. Factors affecting rotator cuff healing. *J Bone Joint Surg Am* 2014; 96: 778-788. DOI: 10.2106/JBJS.M.00583.
16. Miyazaki AN, Santos PD, Sella GD, et al. Evaluation of the functional results after rotator cuff arthroscopic repair with the suture bridge technique. *Rev Bras Ortop* 2017; 52: 164-168. DOI: 10.1016/j.rboe.2016.05.008.
17. Ohzono H, Gotoh M, Nakamura H, et al. Effect of Preoperative Fatty Degeneration of the Rotator Cuff Muscles on the Clinical Outcome of Patients With Intact Tendons After Arthroscopic Rotator Cuff Repair of Large/Massive Cuff Tears. *Am J Sports Med* 2017; 45: 2975-2981. DOI: 10.1177/0363546517724432.
18. Lee SH, Kim JW, Kim TK, et al. Is the arthroscopic suture bridge technique suitable for full-thickness rotator cuff tears of any size? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2017; 25: 2138-2146. DOI: 10.1007/s00167-016-4415-4.
19. Park JY, Lhee SH, Choi JH, et al. Comparison of the clinical outcomes of single- and double-row repairs in rotator cuff tears. *Am J Sports Med* 2008; 36: 1310-1316. DOI: 10.1177/0363546508315039.
20. Zhang Q, Ge H, Zhou J, et al. Single-row or double-row fixation technique for full-thickness rotator cuff tears: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e68515. DOI: 10.1371/journal.pone.0068515.
21. Yel M and Araz M. [Classification of rotator cuff tears]. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2003; 37 Suppl 1: 77-82.
22. Cofield RH. Rotator cuff disease of the shoulder. *J Bone Joint Surg Am* 1985; 67: 974-979.
23. Kukkonen J, Kauko T, Vahlberg T, et al. Investigating minimal clinically important difference for Constant score in patients undergoing rotator cuff surgery. *J Shoulder Elbow Surg* 2013; 22: 1650-1655. DOI: 10.1016/j.jse.2013.05.002.
24. Roy JS, MacDermid JC and Woodhouse LJ. Measuring shoulder function: a systematic review of four questionnaires. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 623-632. DOI: 10.1002/art.24396.

Exposure of Students to Bullying in A Secondary School and Evaluation of Related Factors

Bir Orta Okulda Öğrencilerin Zorbalığa Maruziyeti ve İlgili Faktörlerin Değerlendirilmesi

Ersin Nazlıcan¹, Gonca Gül Çelik², Muhsin Akbaba¹, Ramazan Azim Okyay³,

Burak Kurt⁴, Ayşegül Yolga Tahiroğlu²

¹ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Adana

² Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Psikiyatrisi Anabilim Dalı, Adana

³ Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

⁴ Kastamonu Merkez Toplum Sağlığı Merkezi

Yazışma Adresi / Correspondence:

Burak Kurt

Hepkebirler Mah. Cumhuriyet Cad. No:64 (Eski Sağlık Müdürlüğü Binası) Merkez/KASTAMONU

T: +90 533 661 05 33 E-mail: kurtburak@msn.com

Geliş Tarihi / Received : 28.08.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 15.01.2019

Abstract

Objective	Bullying that influences health and many health related behaviors in adolescences can lead to negative changes on their behaviors even in the later periods of life. The aim of this study is to evaluate the cases of exposure to bullying, depression, anxiety state, relations with the family and school success among the students in a middle school in Adana. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):74-83)
Materials and Methods	This cross-sectional study was carried out among middle school students at 6th, 7th and 8th grade in the city of Adana. The survey form applied to the students included socio-demographic attributes, Child Depression Scale, STAI Scale, California Bullying Victimization Scale, Family Assessment Scale and Connors Teacher Rating Scale.
Results	The number of students at 6th, 7th and 8th grade was 53 (44,5%), 29 (24,4%) and 37 (31,1%) respectively . 33 of the students (27,7%) in the study were victims of peer bullying. Students who were subject to violence at home, at lower year levels and with non-graduate mothers were more exposed to bullying. The ones exposed to bullying were detected to have high levels of depression anxiety and hyperactivity.
Conclusion	School bullying is an issue which is common all over the world and should not be underestimated. This study has ascertained that children exposed to bullying have high levels of anxiety and incidence of depression, also these children were found to be more hyperactive.
Keywords	Students; Depression; Bullying

Öz

Amaç	Ergenlerde sağlık ve birçok sağlıkla ilgili davranışları etkileyen zorbalık, yaşamın sonraki dönemlerinde bile davranışlarda olumsuz değişikliğe neden olabilir. Bu çalışmanın amacı, Adana'da ki ortaokul öğrencilerinde zorbalık, depresyon, kaygı durumu, aileyle ilişkiler ve okul başarısı ile ilgili olguların değerlendirilmesidir. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):74-83).
Gereç ve Yöntemler	Kesitsel tipteki bu çalışma, Adana ilinde 6., 7. ve 8. sınıflarda ortaokul öğrencileri arasında yürütülmüştür. Öğrencilere uygulanan anket formu, sosyodemografik özellikler, Çocuk Depresyon Ölçeği, Durumluk Kaygı Ölçeği, Kaliforniya Zorbalık Mağduriyet Ölçeği, Aile Değerlendirme Ölçeği ve Öğretmenlik Derecelendirme Ölçeğidir.
Bulgular	6., 7. ve 8. sınıflı öğrencilerinin sayısı sırasıyla 53 (% 44,5), 29 (% 24,4) ve 37 (% 31,1) idi. Araştırmada 33 öğrenci (% 27,7) akran zorbalığı kurbanıydı. Evde şiddete maruz kalan, daha düşük sınıfta okuyan ve anneleri okul bitirmemiş olan öğrenciler, zorbalığa daha çok maruz kalmıştı. Zorbalığa maruz kalanlarda yüksek düzeyde depresyon, kaygı ve hiperaktivite saptanmıştır.
Sonuç	Okul zorbalığı, tüm dünyada yaygın olan ve göz ardı edilmemesi gereken bir konudur. Bu çalışma, zorbalığa maruz kalan çocukların yüksek düzeyde kaygı ve depresyon sıklığı taşıdığını ve bu çocukların daha hiperaktif olduklarını tespit etmiştir.
Anahtar Kelimeler	Öğrenciler; Depresyon; Zorbalık

INTRODUCTION

Bullying is a topic with a wide coverage on TV, newspaper and social media and remains on the agenda of both Turkey and the world. Having an impact on health and many health related behaviors in adolescences, bullying can cause negative changes on people's behaviors on the forthcoming years. With this respect, bullying is a public health problem.¹ According to Olweus; bullying at school is described as a vulnerable child's continuous exposure to aggressive behaviors of one or more students.² Bullying can be not only physical but also psychological.³

It is possible to divide bullying to four types in general. The first is physical (pushing, slapping, attacking with a dangerous tool, pull one's hair or ears, any kind of physical violence on the body with the aim of threatening, attacking with weapon or knife, pranking); the second is verbal (mocking, nicknaming, sniping, swearing, leaving verbal offending notes); the third is emotional (cast out of the group, belittlement, discrimination, damaging property, unfriendly approach on purpose) and the fourth is sexual bullying (sexually explicit words, molesting and disturbing by touch). The one who bullies can be an individual as well as a group.⁴

People acting aggressively are called bully while the ones who are exposed to bullying are described as victim or aggrieved.^{5,6} Some studies also mention about a third party referred as bully-victim who acts aggressively at one time and gets bullied at another.⁷

When looked at the literature in the light of studies done so far, it is observed that bullied children are not self-confident and assertive; have low self-esteem and are cast out by their friends; do not claim their own rights, show socially insufficient behaviors; have negative sense of self; are depressed and anxious.⁸⁻¹² On the other hand, the children who bully others are considered to act aggressively, give damage on purpose, have high self-esteem and low anxiety; however, similarly to the victims, they might also

be alienated from their friends.¹³⁻¹⁵ The children who bully and get bullied have lower academic success than those who are not involved in these.¹⁶

The aim of this study is to evaluate the cases of exposure to bullying, depression, anxiety state, relations with the family and school success among the students in a middle school in Adana.

MATERIALS and METHODS

Study Design: This cross sectional study was conducted among 6th, 7th and 8th grade middle school students in the city of Adana, Turkey between the months of September- October, 2013. The University of Cukurova granted Ethical approval to carry out the study. (Date 08/23/2013, no. 22/10) Written parental permission was received before the application of survey on the students and surveys were applied to those whose families allowed. The survey was accomplished by reaching 119 students (85%) out of 140. The students filled out the questionnaires and scales based on their declaration, accompanied by school counselors in their classrooms. Credentials were not asked from the students. After a short conversation, they were informed that there would be some questions about themselves and the challenges they faced at school. It was especially pointed out that this was not an exam or test and the questions did not have true or false answers. Besides, the students were assured that their answers were confidential. Following the survey, they were thanked for their cooperation. The survey form applied to the students included socio-demographic attributes, Child Depression Scale, STAI Scale, California Bullying Victimization Scale, Family Assessment Scale and Connors Teacher Rating Scale.

Children's Depression Inventory: Developed by Kovacs, this scale is used to measure the level of depression on children. It is a self-rated scale and can be applied to children aged between 6 and 17 and adolescents. CDI contains 27 items in total and each item contains 3 sentences to choose from by evaluating the last two weeks. Each sen-

tence set contains statements indicating depression symptoms. The inventory can be filled out by reading out for the child or being read by the child himself/herself. The child is asked to evaluate his/her last two weeks and check the most suitable sentence for himself/herself among 3 options. The answers are scored as 0, 1, 2. Depression score is obtained by summing up these scores. The highest possible score is 54. High level of total score means the high severity of depression level. The cut off score is accepted as 19. Its customization in our country was done by Öy (1990).¹⁷

State-Trait Anxiety Inventory (STAI-I, STAI-II): Developed by Spielberger and his friends, this test can be applied to children aged over 14. Adaptation of the scale to Turkey, reliability and validity have been done by Öner and Le Compte. State Anxiety Inventory determines how an individual feels at a certain state and under certain circumstances while Trait Anxiety Inventory identifies how an individual feels regardless of situation and circumstances. It is a self-report test, consisting of 20 questions to measure state and trait anxiety. State Anxiety Inventory is quite sensitive to analyzing the emotive reactions that shows instant changes. Found on the second part of inventory with 20 items again, Trait Anxiety Inventory aims to measure the continuity of anxiety usually inclined by a person. Score range is between 20 (low anxiety) and 80 (high anxiety). Scores at 36 and below indicate absence of anxiety, scores between 37 and 42 suggest mild anxiety, scores of 43 and above refer to high level of anxiety. In general, higher levels of state and trait anxiety scores suggest higher levels of anxiety and it is also stated that persons with scores above 60 are required to receive professional support.¹⁸⁻¹⁹

California Bullying Victimization Scale (CBVS): Constructed by Felix and his friends, this is a self-report scale used to assess bullying victimization among middle school students. Adaptation of the scale to Turkish, study of reliability and validity were done by Atik. CBVS includes seven items of victimization: gossip spread behind; being kept out of the group or being ignored, being hit, pushed or get-

ting physical harm, being threatened, property's being stolen or damaged, exposure to sexual comments, jokes and harassments. The pupils assess how often they or anyone at school experience these cases on a five point scale (1 = Never, 2 = Once in the past month, 3 = 2 or 3 times in the past month, 4 = About once a week, and 5 = Several times a week). Then, in order to understand power imbalance, the pupils are asked on a three point scale if the people who bully them are more popular, more successful or stronger. In the following questions, students are asked to give information about when and where the bullying occurred. The criterion for categorization of bullied students is 2-3 times a month or more. The non-victim students are those who have never experienced being a victim. Peer victims are students experiencing at least one victimization at any frequency but not reporting power imbalance. As for bullied victims, they refer to students who experience at least 2-3 times of victimization per month and report at least one power imbalance.²⁰

Family Assessment Scale: Developed by Brown University and Butler Hospital within the frame of Family Research Program, this scale is used with the aim of revealing if the family fulfils their functions about which subjects. Validity and reliability tests were done by Epstein, Baldwin and Bishop in 1983 and it is known that this scale was adapted to Turkish by Bulut. The scale includes 7 sub-dimensions as problem solving, communication, roles, affective responsiveness, sufficient involvement, behavior control and general functions. Scale items point at healthiness like "Family members acts in a tolerant way towards each other" or unhealthiness like "At home, we don't share our troubles, worries with each other". Scores vary from 1 (healthy) to 4 (unhealthy). Score average above 2 refers to unhealthiness in family functions and average point below 2 means healthiness in family functions.²¹

Conners Teacher Rating Scale (CTRS-28): This is a 28 item scale developed by Conners (1969) for teachers to rate students' in-class behaviors. Validity and reliability analy-

sis of CTRS was done by Dereboy and his friends (1997) in our country. Questions are answered by teachers on a 4 option Likert scale. Options of “never”, “rarely”, “very Often” and “always” are scored as “0”, “1”, “2” and “3” respectively. As for sub scales, there are eight questions for Attention Deficit/ Passiveness, seven questions for Hyperactivity and eight questions for Conduct Disorder. If the total score is found above 18 for Lack of Attention/Passiveness, above 16 for Hyperactivity and above 18 for Conduct, the child may be said to have ADHD.²²⁻²⁴

Statistical analysis : In our study, we assessed with the help of CBVS if the students were prone to bullying or not. Students were divided into two groups as bullied and non-bullied. These two groups were analyzed in terms of their socio-demographic attributes and their relations with other scales used in the study.

Data management and computations of descriptive statistics of the survey were performed using SPSS 19.0 for Windows software. Pearson chi-square, Fisher’s exact test was applied to assess the results. The level of statistical significance was accepted as $p < 0.05$.

Ethical considerations: Prior to the study, permission has been taken from Ethics Committee of Faculty of Medicine, Cukurova University.

RESULTS

Out of 119 students participating the study, 56 (47,1 %) were female and 63 (52,9 %) were male. Average age was 13.1 ± 0.9 (min=12, max=15). While average age of the female students was 12.9 ± 0.8 , average age of male students was 13.2 ± 0.9 . There was a difference in the average age of male and female students. ($p=0,026$)

53 students in the study were at 6th grade class (44,5%) , 29 were at 7th grade and 37 were at 8th grade. Socio-demographic attributes of these students are shown in Table 1.

Table 1. Socio-demographic attributes of the students (n=119)		
Socio-demographic Attributes	Number	Percent
Mother’s Education		
Illiterate	7	5.9
Literate	1	0.8
Elementary School	61	51.2
High School	34	28.6
College	16	13.4
Father’s Education		
Illiterate	4	3.4
Literate	2	1.7
Elementary School	46	38.6
High School	38	31.9
College	29	24.4
Mother’s Occupation		
Housewife	79	66.4
Civil Servant	21	17.6
Laborer	11	9.3
Tradeswoman	8	6.7
Father’s Occupation		
Civil Servant	41	34.5
Self-employed	35	29.4
Laborer	20	16.8
Unemployed	12	10.1
Tradesman	11	9.2
House Status		
Rent	62	52.1
Own	57	47.9
Economic Status		
Bad	8	12.6
Fair	46	38.7
Good	50	42.0
Very good	15	6.7
Family type		
Parents together	115	96.6
Parents divorced	4	3.4
Total	119	100.0

When students were asked about their success in lessons, 13 (10,9%) of them were very successful, 92 (77,3%) were

successful and 14 (11,8%) were unsuccessful, they said. 23 students (19,3%) were working during summer holiday and 5 students (4,2%) were working both during summer and school period. 3 students (2,5%) mentioned that they were smoking, 70 students (58,8%) said one of their parents was smoking. 16 students (13,4%) also said that their fathers are drinking alcohol.

When they were asked if they see physical violence at home, 3 students (2,5%) said they were subject to it and 2 (1,7%) said their mother was exposed to it.

Our study revealed that 33 students (27, 7%) were victims of peer bullying. Symptoms of depression were seen in 19 students (16, 0%). According to state scale of STAI, 37 students had high level of anxiety while trait scale of STAI found high levels of anxiety in 60 students (50, 4%). 17 students had attention deficit, 5 students (4,2%) had hyperactivity and 4 students (3,4%) had conduct disorder. The gender distribution in the results of scales used in the study is shown in Table 2.

When we compared being bullied with socio-demographic

Table 2. Distribution of scale scores by gender							
Scale Result	Female		Male		Total		χ^2, p value
	Nr.	%*	Nr.	%*	Nr.	%**	
CBVS							
Non-bullied	37	43.0	49	57.0	86	72.3	$\chi^2=2,027$
Bullied	19	57.6	14	42.4	33	27.7	p=0.155
CDI							
Depressed	44	44.0	56	56.0	100	84.0	$\chi^2=2,352$
Non depressed	12	63.2	7	36.8	19	16.0	p=0.125
FAS							
Healthiness in family functions	55	48.7	58	51.3	113	95.0	$\chi^2=2,343$
Unhealthiness in family functions	1	16.7	5	83.3	6	5.0	p=0.126
STAI -State							
Absence of anxiety	24	40.0	36	60.0	60	50.4	$\chi^2=7,234$
Mild anxiety	16	72.7	6	27.3	22	18.5	p=0.027
Severe anxiety	16	43.2	21	56.8	37	31.1	
STAI - Trait							
Absence of anxiety	9	31	20	69	29	24.4	$\chi^2=4,3109$
Mild anxiety	17	56.7	13	43.3	30	25.2	p=0.116
Severe anxiety	30	50.0	30	50.0	60	50.4	
Conners Attention Deficit							
Absence of AD	50	49.0	52	51.0	102	85.7	$\chi^2=1,102$
Presence of AD	6	35.3	11	67.7	17	14.3	p=0.294
Conners Hiperactivity							
Absence of Hyperactivity	56	49.1	58	50.9	114	95.8	$\chi^2=4,639$
Presence of Hyperactivity	0	0.0	5	100.0	5	4.2	p=0.031
Conners Conduct							
Absence of Conduct Disorder	56	48.7	59	51.3	115	96.6	$\chi^2=3,679$
Presence of Conduct Disorder	0	0.0	4	100.0	4	3.4	p=0.055
* row percentage **column percentage CBVS: California Bullying Victimization Scale CDI: Children's Depression Inventory FAS: Family Assessment Scale STAI: State-Trait Anxiety Inventory							

attributes, it was detected that lower class students were more subject to bullying ($p < 0,05$). Exposure to bullying was seen more in students who had non-graduate mother and those who had domestic violence against themselves or their mother ($p < 0,05$). There was not a meaningful correlation between exposure to bullying, father' education, parents' occupation, status of house and economic status ($p > 0,05$). (Table 3)

When we compared exposure to bullying with other scales, we identified that bullied children were more depressed, had higher levels of anxiety and hyperactivity ($p < 0,05$). On the other hand, there was not a meaningful correlation found between exposure to bullying and unhealthiness in family functions, Conners attention deficit and Conners conduct disorder. ($p > 0, 05$) (Table 4)

Table 3. Comparison of exposure to bullying and socio-demographic variables							
	Female		Male		Total		χ^2, p value
	Nr.	%*	Nr.	%*	Nr.	%**	
Class Grade							
6th grade	23	43.4	30	56.6	53	44.5	$\chi^2=12.493$
7th grade	6	20.7	23	79.3	29	24.4	$p=0.02$
8th grade	4	10.8	33	89.2	37	31.1	
Mother's Education							
Non-graduate	5	62.5	3	37.5	8	6.7	$\chi^2=5.173$
Graduate	28	25.2	83	74.8	111	93.3	$p=0.023$
Father's Education							
Non-graduate	1	16.7	5	83.3	6	5.0	$\chi^2=0.386$
Graduate	32	28.3	81	71.7	113	95.0	$p=0.534$
Mother's Occupation							
Housewife	19	24.1	60	75.9	79	66.4	$\chi^2=1.589$
Working	14	35.0	26	65.0	40	33.6	$p=0.208$
Father's Occupation							
Unemployed	2	16.7	10	83.3	12	10.1	$\chi^2=0.815$
Working	31	29.0	76	71.0	107	89.9	$p=0.367$
House Status							
Rent	19	30.6	43	69.4	62	52.1	$\chi^2=0.548$
Own	14	24.6	43	75.4	57	47.9	$p=0.459$
Economic Status							
Bad	1	12.5	7	87.5	8	6.7	$\chi^2=2.054$
Fair	15	32.6	31	67.4	46	38.7	$p=0.561$
Good	12	24.0	38	76.0	50	42.0	
Very good	5	33.3	10	66.7	15	12.6	
Domestic violence							
Violence towards my mother or me	4	80.0	1	20.0	5	4.2	$p=0.021$
No violence towards my mother or me	29	25.4	85	74.6	114	95.8	

Table 4. Comparison of exposure to bullying and scale sores							
	Not Bullied		Bullied		Total		χ^2, p value
	Sayı	%*	Sayı	%*	Sayı	%**	
CDI							
Depressed	77	77.0	23	23.0	100	84	$\chi^2=6,995$
Non depressed	9	47.4	10	52.6	19	16	p=0.008
FAS							
Healthiness in family functions	80	70.8	33	29.2	113	95.0	$\chi^2=2.425$
Unhealthiness in family functions	6	100.0	0	0.0	6	5.0	p=0.119
STAI -State							
Absence of anxiety	54	90.0	6	10.0	60	50.4	$\chi^2=19.299$
Mild anxiety	11	50.0	11	50.0	22	18.5	p<0.001
Severe anxiety	21	56.8	16	43.2	37	31.1	
STAI - Trait							
Absence of anxiety	25	86.2	4	13.8	29	24.4	$\chi^2=7,071$
Mild anxiety	24	80.0	6	20.0	30	25.2	p=0.029
Severe anxiety	37	61.7	23	38.3	60	50.4	
Conners Attention Deficit							
Absence of AD	73	71.6	29	28.4	102	85.7	$\chi^2=0.175$
Presence of AD	13	76.5	4	23.5	17	14.3	p=0.676
Conners Hiperactivity							
Absence of Hyperactivity	85	74.6	29	25.4	114	95.8	
Presence of Hyperactivity	1	20.0	4	80.0	5	4.2	p=0.021
Conners Conduct							
Absence of Conduct Disorder	82	71.3	33	28.7	115	96.6	$\chi^2=1.588$
Presence of Conduct Disorder	4	100.0	0	0.0	4	3.4	p=0.208
CBVS: California Bullying Victimization Scale CDI: Children's Depression Inventory FAS: Family Assessment Scale STAI: State-Trait Anxiety Inventory							

DISCUSSION

School bullying is an issue which is common all over the world and should not be underestimated. In various studies, It is possible to come across with findings that ratios of both bully and victim (students exposed to peer bullying) reach to 50% 25. The researches done in the last 30 years set forth that bullying is a serious threat on the healthy development of children and it has reached to severe levels at schools. Piskin (2005) summarizes below the ratios he found in his scanning related to the prevalence of bullying and victimization worldwide:

Ratios of victim students are 30% in Australia, 28-40 % in Italy, 04-36 % in England, 15-30% In Greece, 20-22% in Portugal, 21% In Canada, 10% in USA, 10% in Norway. Bullying student ratios are found to be 20% in England, 15-20% in Italy, 6% in Greece, 12% in Canada, 13% in USA, 7% in Norway and varies between 11% and 50% in Turkey. This ratio is found to be 27,7% in our study.²⁵ Our study indicates that the prevalence of bullying in Turkey is close to and even more than in these countries.

Victims are more sensitive and touchy than other students. They have some common characteristics such as weak communication and having the ability to solve problem²⁶⁻²⁸. As a result of interviews with parents of male victims, Olweus determined that these victims were identified with prudence and susceptibility since their childhood²⁶. Due to these characteristics accompanied with physical weakness, they have difficulty in standing out and showing themselves in peer groups. These are important reasons, contributing to their victimization. At the same time, continuous exposure to harassment of their peers increase their feelings of anxiety and insecurity. It also causes negative self-assessment to become further negative.^{27,28} The findings of our study that bully victims have hyperactivity and high anxiety levels support these studies. In addition, the fact that we more frequently encounter exposure to bullying in students at lower classes can be linked to physical weaknesses of these students.

Following their reviews on literature; Dake, Price and Teljohann summarize the attributes of victims as following:

- They fall into depression.
- They have suicidal ideas.
- They feel lonely.
- They have low self-esteem.
- They are anxious.
- They confront psychiatric problems.
- They have eating disorders.
- They are less popular than other children.
- They spend most of their time alone.
- They have parents who provides very few opportunities to control social status.
- They have parents who are less responsible and less supportive.
- They come from cruel and bad home environment.
- They have problems of abuse.
- Their social adaptation is weak.
- Their attachment with school is weak.
- Their absence rates are high.²⁹

In our study, non-graduate mother and presence of violence amongst family were risk factors for exposure to bullying. This situation also seems in accordance with the current literature. According to McNamar, children in victim status usually come from over protective and watchful families. These parents believe that their children are worried and defenseless. They try to prevent any kind of conflict their children might confront as far as possible because they think their children cannot overcome these problems. However, by keeping them out of conflicts constantly, these parents indeed hinder their children's learning conflict solving skills. Researchers believe that families' attitude of overprotecting their children is both the reason and the result of being exposed to bullying.^{2,30,31}

In order to prevent peer bullying at schools, with a team work including all personnel (executives, teachers and psychological advisors), parents and also students; school counselling service can develop an effective prevention program by giving trainings on awareness about bullying to all it may concern.³² The focus should be not only on the persons in roles of bully and victim but also persons in other roles during the process of bullying. A small try might cause a big impact.

The approach in avoidance of peer bullying should be in the way of assessment, prevention and intervention. Assessment as the first step should include observation, interview, socio-metric measurements, surveys, teacher comments and self-assessment of bullies. The stage of assessment should be planned meticulously and conducted by professionals such as executives, psychological counselors, teachers and psychologists.³³

Regarding bullying processes that the students are exposed to, it is beneficial to receive help from social service officers so that teachers and parents become aware of them and provide solutions.³⁴ If the bullied person were an adult, no one would pay much attention to the bullying. However the victim's being a child requires the help of adults and instructors. Interviews with parents, effective communica-

tion, special attention of parents and teachers will have an impact on prevention of tyrannous behaviors.³⁵

In this study, high levels of anxiety, high incidence of depression and also more hyperactivity have been found amongst bullied children. School bullying is a common problem over the world which should not be underestimated. The main reason why school bullying is deemed as such important is the nature of its results. A bullied child will be alienated from the school where the bullying takes place, will live in fear and anxiety, will be absent from school in every possible situation, thus his success will fall and he will adopt violent methods. In addition, it seems inevitable that they might also have different psychological issues. For these reasons, large scale social projects are needed to be devised in order to prevent violence in schools.

DECLARATIONS

Ethics approval and consent to participate: The University of Cukurova granted Ethical approval to carry out the study. (Date 08/23/2013, no. 22/10) Written parental permission was received before the application of survey on the students and surveys were applied to those whose families allowed.

Consent for publication: This article is original, has not already been published in a journal, and is not currently under consideration by another journal. All authors of the manuscript have read and agreed to its content and are accountable for all aspects of the accuracy and integrity of the manuscript in accordance with ICMJE criteria.

Availability of data and material: The datasets used are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

Funding: This study was not supported by a funding or a

scholarship.

Authors' contributions: EN designed methodology and statistical analysis & editing of manuscript, GGÇ and AYT designed survey form and collected data, MA supervised the research and did editing and reviewing of manuscript, RAO and BK did editing and reviewing of manuscript.

Acknowledgements: Authors are grateful and would like to thank all students and their families who collaborated in this research.

References

1. Brown DW, Riley L, Butchart A, Kann L. Bullying among youth from eight African countries and associations with adverse health behaviors. *Pediatric Health*. 2008;2(3):289-299.
2. Volk AA., Dane AV, Marini ZA. What is bullying? A theoretical redefinition. *Developmental Review*, 2014;34(4): 327-343.
3. Fleming LC, Jacobsen KH. Bullying among middle-school students in low and middle income countries. *Health Promotion International*. 2010;25(1):73-84.
4. Çetinkaya S, Nur N, Ayyaz A, Özdemir D, Kavakcı Ö. Sosyoekonomik durumu farklı üç ilköğretim okulu öğrencilerinde kriz zorbalığının depresyon ve benlik saygısı düzeyiyle ilişkisi. *Anatolian Journal of Psychiatry* 2009; 10:151-158
5. Newman D, Horne A, Bartolomucci C. *Bully Busters: A teacher's manual*. Champaign, IL: Research Press, 2000.
6. Cook CR., Williams KR, Guerra NG, Kim TE, Sadek S. (2010). Predictors of bullying and victimization in childhood and adolescence: A meta-analytic investigation. *School psychology quarterly*, 2010;25(2): 65.
7. Andreou E. Bully/Victim problems and their association with coping behaviour in conflictual peer interactions among school-age children. *Educ Psychol* 2001; 21:59-66.
8. Reijntjes A, Kamphuis JH, Prinzie P, Boelen PA, van der Schoot M, Telch, M. J. Prospective linkages between peer victimization and externalizing problems in children: A meta-analysis. *Aggressive Behavior*, 2011;37: 215-222.
9. Kochenderfer-Ladd B, Skinner K. Children's coping strategies: Moderators of the effects of peer victimization? *Dev Psychol* 2002;38: 267-278.
10. Schwartz D, Forver J, Chang L ve ark. Victimization in South Korean children's peer groups. *J Abnorm Child Psychol*. 2002;30:113-125.
11. Marsh HW, Parada RH, Yeung AS ve ark. Aggressive school trouble makers and victims: A longitudinal model examining the pivotal role of self-concept. *J Educ Psychol* 2001;93: 411-419.
12. Prinstein MJ, Boergers J, Vernberg EM. Overt and relational aggression in adolescents: Social psychological adjustment of aggressors and victims. *J Clin Child Psychol* 2001;30: 479-491.
13. Cole, J., Cornell, C. M., Dewey G., Sheras, P. Identification of School Bullies by Survey Methods., *Professional School Counseling*, 10962409, 2006;9,(4)305-319 Harper Collins
14. Salmivalli C. Bullying and the peer group: A review. *Aggression and violent behavior*, 2010;15(2): 112-120.
15. Schwartz, D. (2000). Subtypes of victims and aggressors in children's peer groups. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 2000;28:181-192.
16. Pekel-Uludağlı, N., Uçanok, Z. (2005). Akran Zorbalığı Gruplarında Yalnızlık ve Akademik Başarıları ile Sosyometrik Statüye Göre Zorba-Kurban Davranış Türleri, *Türk Psikoloji Dergisi*, 2005;20 (56):77-92
17. Öy B. Çocuklar için depresyon ölçeği: geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *Türk Psikiyatri Dergisi* 1991; 2:132-136.
18. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory*. California: Consulting Psychologists Press, Palo Alto, 1970, p. 23-49.
19. Öner N, Le Compte A. *Durumluk Sürekli Kaygı Envanteri El Kitabı*, İstanbul, Boğaziçi Üniversitesi Yayınları 1983, s: 1-26.
20. Atik G. Ortaokul Öğrencilerinin Mağduriyetinde Etkili Olan Öğrenci ve Okul Düzeyi Faktörleri: Ekolojik Bir Bakış Açısı. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Rehberlik ve Psikolojik Danışmanlık Doktora Tezi 2013.
21. Bulut, I. *Aile Değerlendirme Ölçeği El Kitabı*. Ankara: Özgünel Matbaası, 1990.
22. Connors CK. A teacher ratings scale for use in drug studies with children. *Am J Psychiatry*. 1969;126:884-888.
23. Şener Ş, Dereboy Ç, Dereboy F, et al. Connors Öğretmen Derecelendirme Ölçeği Türkçe Uyarlaması-1. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi*. 1995;2:131-141.
24. Dereboy Ç, Şener Ş, Dereboy F, et al. Connors Öğretmen Derecelendirme Ölçeği Türkçe Uyarlaması-2. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi*. 1997;4:10-18.
25. Pişkin, M. (2005). Okulda Akran Zorbalığı. Ankara Valiliği İl Millî Eğitim Müdürlüğü Özel Eğitim Rehberlik ve Psikolojik Danışma Hizmetleri Bölümü "Okullarda Şiddet" Paneli. Ankara, 2005.
26. Olweus, D. Sweden. In P. K. Smith, Y. Morita, J. Junger-Tas, D. Olweus, R. Catalano & P. Slee (Eds.), *The nature of school bullying: A cross national perspective* (pp. 7-27). London and New York: Routledge, 1999.
27. Salmon, G., Jones, A., and Smith, D.M. Bullying in school: Self-reported anxiety and self-esteem in secondary school children. *British Medical Journal*, 1998;317, (7163) 924-5.
28. Glew, G., Rivara, F. and Feudtner, C. (2000). Bullying: Children hurting children. *Pediatrics in Review*, 2000;21: 183-190.
29. Dake, J.A., Price, J.H. and Telljohann, J.K. The nature and extent of bullying at school. *Journal of Scholl Health*, 2003;73(5): 173-181.
30. McNamara, B., & McNamara, F. *Keys to dealing with bullies*. Hauppauge, NY: Barron's, 1997.
31. Smokowski, P.R. and Kopasz, K.H. Bullying in school: an overview of types, effects, family characteristics and intervention strategies. *Children & Schools*, 2005;27: 101- 110.
32. Alikışifoğlu, M. Akran istismarı, *Türk Pediatri Arşivi Dergisi* 2011;46: 31-34.
33. Crothers, L. M. and Levinson, E. M. Assessment of bullying: a review of methods and instruments, *Journal of Counseling & Development*, 2004, p.496-503.
34. Mishna, F., Scardello, I., Pepler, D. ve Wiener, J. Teachers' Understanding of Bullying. *Canadian Journal of Education* 2005;28 (4), 718-738.
35. Şahin, M., Demirağ, S., Aykaç, F. (2009), "Ana sınıfı öğretmenlerinin akran zorbalığı ile ilgili algıları", *Sakarya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi* 2009;17:1-16.

Lazer Mikrodiseksiyon Tekniği İle Yaralanan Periferik Duyusal Nöronlar Üzerinde Nörotrofin-3 ve Nörotrofin-4/5'in Rejeneratif Etkilerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Regenerative Effects of Neurotrophin-3 and Neurotrophin-4/5 on Peripheral Sensory Neurons Injured with Laser Microdissection Technique

Ramazan Üstün^{1,2}, Elif Kaval Oğuz²

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sinirbilim Araştırma Birimi, Van

Yazışma Adresi / Correspondence:

Ramazan Üstün

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zeve Kampüsü, VAN

T: +90 507 930 92 99 E-mail: ramazanustun@yyu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 04.12.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 29.01.2019

Öz

Amaç	Nörotrofin ailesinin önemli üyelerinden Nörotrofin-3 (NT3) ve Nörotrofin-4/5'in (NT4/5), mikroskop kontrollü lazer mikrodiseksiyon tekniğiyle, aksion kesisi (aksotomi) oluşturulmuş dorsal kök gangliyon (DRG) nöronlarının hayatta kalma yeteneğini etkileyip etkilemediğini araştırmak. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):84-91)
Gereç ve Yöntem	Balb/C ırkı yetişkin farelerden anestezi altında ve aseptik koşullarda DRG çıkartıldı, DRG'lerden de nöron kültürü hazırlandı. Hücre ekiminden 48 saat sonra kültürler, NT3 (50 ng/ml), NT4/5 (50 ng/ml) ve NT3+NT4/5 kombinasyonu ile muamele edildi. Nöritler gövdeden 200 µm uzaklıkta lazer ışını ile aksotomi edildi. Nöronların ölü-canlı ayrımı için propidyum iyodür (PI) alım testi uygulandı. Nöronlar zaman aralıklı floresan mikroskopik görüntüleme sistemi ile görüntülendi.
Bulgular	PI, ölü hücrelerin çekirdeğini floresan mikroskobu altında parlak kırmızı gösterdi. Tüm deney grupları, kontrol grubuna göre 24.ve 48. saatlerde hasarlı nöronların hayatta kalma oranlarında önemli artış gerçekleştirdi (p<0,001). En fazla hayatta kalma oranı NT3+NT4 grubunda, sonra sırasıyla NT3, NT4 ve kontrol gruplarında görüldü (p<0,001). Hayatta kalma oranları 48. saatte 24. saate göre azalma gösterse de bu azalma istatistiksel olarak önemsizdi.
Sonuç	NT3+NT4/5 kombinasyonu, NT3 (50 ng/ml) ve NT4/5 (50 ng/ml), in vitro aksotomi hasarı modelinde yaralı DRG nöronlarının hayatta kalma oranlarını artırmaktadır. Sunulan veriler, nörotrofik faktörlerin periferik sinirlerin mekanik yaralanmalarında terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.
Anahtar kelimeler	Dorsal kök gangliyon; duyuşal nöron; aksotomi; Nörotrofin-3; Nörotrofin-4/5

Abstract

Objective	To investigate whether of Neurotrophin-3 (NT3) and Neurotrophin-4/5 (NT4/5), important members of the neurotrophin family, affect the survival ability of dorsal root ganglion (DRG) neurons that had axonal injury induced by axotomy with a microscope-controlled laser microdissection technique. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):84-91)
Materials and Methods	DRGs were harvested from Balb/C adult mice under anesthesia and aseptic conditions. DRG neuron culture was prepared. After culturing the DRG neurons for forty-eight hours, the cultures were treated with NT3 (50 ng/ml), NT4 / 5 (50 ng/ml) and NT3+NT4/5 combination. Neurites were axotomized at 200 µm distance from the perikaryon with the microscope-controlled laser beam. A propidium iodide (PI) uptake test was performed to determine the dead-alive distinction of neurons. Neurons were visualized with a time-lapse fluorescent microscopic imaging system.
Results	PI shows the dead cells' nucleus as bright red under the fluorescence microscope. All experimental groups showed a significant increase in axotomized-neurons' survival rates at 24th and 48th hours compared to control group (p<0,001). It was determined that the highest survival rate was in NT3 + NT4 group, then NT3, NT4 and control groups respectively (p<0,001). Although the survival rates decreased at the 48th hour, compared to that at 24th hour, this decrease was statistically insignificant though.
Conclusion	Combination of NT3+NT4/5, NT3 (50 ng/ml) and NT4/5 (50 ng/ml) increased the survival rate of DRG neurons in vitro axotomy injury model. The data presented suggested that neurotrophic factors appears to have therapeutic potential in the mechanical injury of peripheral nerves.
Key words	Dorsal root ganglion; sensory neuron; axotomy; Neurotrophin-3; Neurotrophin-4/5

GİRİŞ

Periferik sinir sisteminde kümelenen nöron toplulukları gangliyon olarak adlandırılır. Gangliyonlar, etrafları sıkı bağ dokuyla sarılı nöron ve glia hücrelerinden oluşan yuvarlak yapılardır.¹ Duyu ve otonom gangliyon olarak iki grupta sınıflandırılırlar. Duyu gangliyonu grubunda yer alan dorsal kök gangliyonlar (DRGs) komşu iki ver-tabra arkı arasında yerleşiktir. Bu gangliyonlarda yer alan nöronların temel görevi farklı duyu reseptörlerince üretilen sinyalleri merkezi sinir sistemine iletmektir.²

Periferik sinir yaralanmaları sıklıkla zayıflatıcı motor ve duysal bozukluklara neden olur. Cerrahi teknik ve re-konstrüktif seçeneklerde önemli gelişmelere rağmen, so-nuçlar genellikle zayıftır. Günümüzde periferik sinir hasa-rının tedavisi ne yazık ki yoktur.³

Nörotrofik faktörler, nöronal gelişim, nöronların hayatta kalması, proliferasyon, farklılaşma, myelinizasyon, akso-nal büyüme ve sinaptik plastisite gibi pek çok süreçte gö-rev alırlar. Nörotrofik faktörlerin rejenerasyona da katkıda buldukları bilinmektedir.^{4,5} Nörotrofin ailesinin en iyi bilinen üyeleri; sinir büyüme faktörü (NGF), beyin köken-li büyüme faktörü (BDNF), nörotrofin-3 (NT3) ve nöro-trofin-4/5 (NT4/5)'tir. Bunlara ilaveten sitokin ailesi olarak bilinen lösemi inhibe edici faktör (LIF), sillier nörotro-fik faktör (CNTF), glial hücre kökenli faktör (GDNF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) de primer duyu nöron-larının gelişimine ve yaşamlarının devamına katkıda bulu-nan diğer moleküllerdir.⁶

Genellikle iskelet kasında sentezlenen nörotrofin ailesinin bir üyesi olan NT3'ün aynı zamanda motor nöronların ge-lişimine de katkısı olduğu da bilinmektedir. NT3'ün veya onun reseptörü olan Tropomyosin receptor kinase C'nin (TrkC) ekspresyonunda meydana gelen kusurlar şiddetli duyu hasarlarına neden olurlar. NT3 geni olmayan fareler-de ileri derecede hareket kusurları meydana gelirken; bu hayvanların duyu ve sempatik nöronlarında önemli mik-tarda kayıpların olduğu gözlenir.⁷ NT3'ün aynı zamanda

embriyonik DRG nöronlarının canlılığının korunmasın-da da teşvik edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.⁸ NT4 memeli nörotrofini iki grup tarafından klonlandığından dolayı NT-4 veya NT-5 olarak adlandırılmış, ancak daha yaygın NT 4/5 olarak anılmaktadır.⁹

Bu çalışmada; fare DRG nöron kültürlerinde, mikroskop kontrollü lazer mikrodiseksiyon tekniği kullanılarak, akso-nal uzantıları hassas lazer ışını ile kesilen nöronların hayatta kalma kabiliyetini, NT3 ve NT4/5'in etkileyip et-kilemediğinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney hayvanları

Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvan-ları Araştırma Ve Uygulama Merkezi'nden sağlanan 6-8 haftalık Balb-C ırkı fareler kullanıldı. Deney hayvanlarının bakımı, beslenmesi ve kullanımına ilişkin tüm prosedür-ler, Avrupa Birliği Konseyinin Hayvan Deneyleri Direktifi 86/609/ECC uyarınca, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Ku-rulu tarafından onaylandı. Fareler intaperitoneal ketamin uygulamasıyla (40mg/kg) anestezi edildi, servikal transek-siyonla öldürüldü. DRG'ler aseptik koşullarda, stereo mik-roskop altında çıkarıldı. Gangliyonlar, hücre kültürü yapı-lıncaya kadar soğuk RPMI 1640 vasatında bekletildi.^{10,11}

Hücre kültürünün hazırlanması

Enzimatik parçalamaya kolajenaz ile başlandı, HBSS ile yıkandı, tripsin ile enzimatik ayrıştırma gerçekleştirildi. Mekanik ayrıştırma gangliyonların tiriturasyonuyla ya-pıldı. Medyuma DNaz eklendi, 50 Hz frekansta ajitasyon işlemleri yapıldı. Santrifüj ile ayrılan hücreler çöktürüldü, pellet NBA, FCS ve tripsin inhibitörü ile muamele edildi, percoll gradienti ile nöronlar diğer hücrelerden ve doku kalıntılarından ayrıldı. Elde edilen nöronlar, NBA içinde 600 µl süspansiyon olarak bir gün öncesinde Poly-L-Lysi-ne ve laminin ile kaplanan petri kaplarına ekildi. hücreler tabana tutunduktan sonra medyum NBA ile 1,5 ml hacme tamamlandı, nöron kültürleri %5 CO2 ayarlı 37 0C sıcaklık, %100 nem sağlanan etüvde, 48 saat inkübasyona bira-

kıldı.^{10,11}

Nöronlarda canlılıkların doğrulanması

Hücre Kültürü medyumuna propidyum iyodür (7.5 µM) eklendi. Propidyum iyodür alım testi ile çekirdeği boyanmış, floresan mikroskopta parlak kırmızı renk veren hücreler ölü, boyanmayan hücreler canlı kabul edildi (şekil 1).

Aksotomi (akson kesisi) modelinin oluşturulması

Aksotomi için canlı nöronlar seçildi. Ayrıca canlı nöronların membranlarının deforme olmamasına, kabarcık, vakuol veya boncuklu nevitler gibi stres belirtileri göstermemesine özen gösterildi (Şekil 2a). Aksotomi için nöritlerin boyunun en az 200 µm, en kalın, en uzun nöritler olmalarına dikkat edildi (Şekil 2a). Aranılan özellikler zaman aralıklı mikroskop sisteminde (Cell Observer-Zeiss) seçildi (Şekil 2a). Aksotomi işlemi, ultraviyole (UV) lazer ünite ataçmanlı, özel invert mikroskop sistemi ile gerçekleştirildi (Şekil 2b). Bu sistem PALM Microlaser Teknolojisi ve LPMC sisteminden oluşmaktadır, sistemde lazer üretici ünite, motorize invert mikroskop (Axiovert 200M) ve kontrolleri sağlayan özel yazılımlı (RoboLPC) bilgisayar bulunmaktadır. Mikroskopta bulunan lazer ünitesi 337

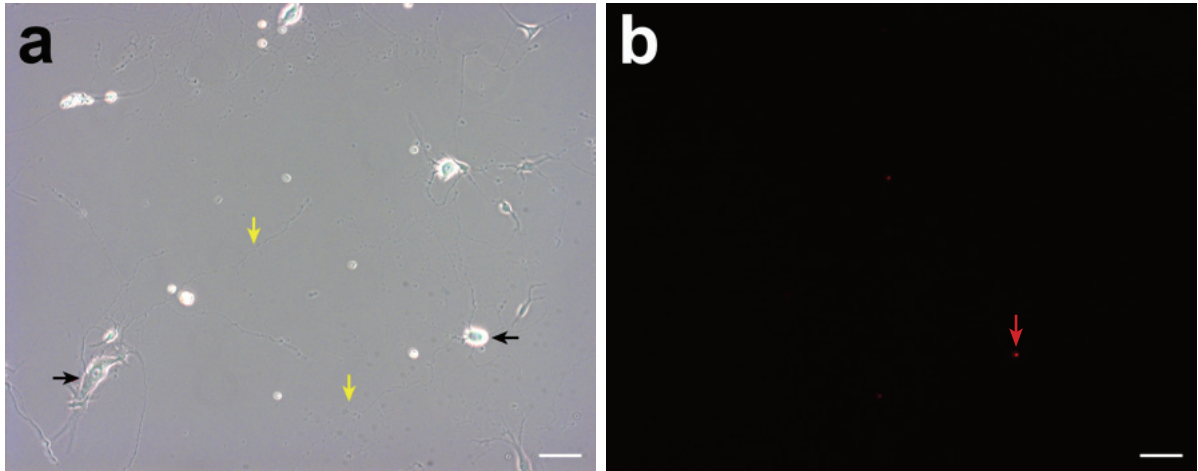
nm dalga boyunda, her biri 3 ns süren ve yaklaşık olarak 300 µJ enerji salan darbeler üretmektedir. Lazer mikrodiseksiyon sistemiyle aksotomi yapmak için 63X kuru faz kontrast objektif (Achromplan N.A. 0.75, Zeiss Almanya), lazer ışını, mikroskobu ve mikroskoba bağlı olan CCD kamerası kontrol eden bilgisayar sistemi kullanıldı.^{11,12} (Şekil 2b)

Aksotomi yapılan nöronlara tedavi amaçlı nörotrofinlerin uygulanması

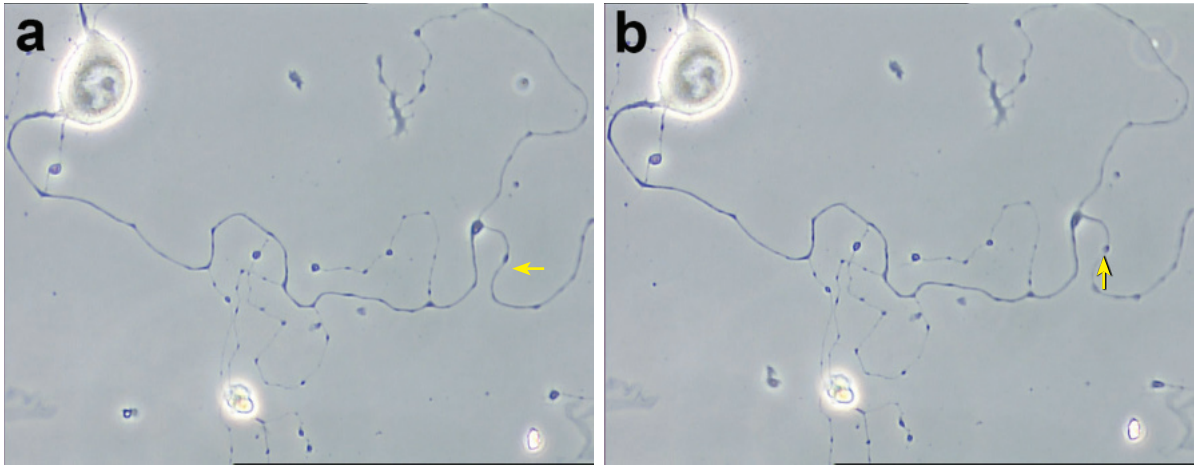
Yaralı nöronları tedavi etmek için deney gruplarına sırasıyla; NT3 (50 ng/ml), NT4/5 (50 ng/ml) ve NT3 (50 ng/ml)+NT4/5 (50 ng/ml) kombinasyonu eklendi, kontrol grubuna hiç birşey eklenmedi. Seçilen nöronların aksonları gövdeden 200 µm uzaklıktan kesildi (Şekil 2b).

Hücre takip ve görüntüleme

Aksotomi sonrası kültürler, canlı hücre (Cell Observer-Zeiss) görüntüleme (zaman aralıklı mikroskopi) sistemine transfer edildi. Görüntüleme 20X büyütme objektifle yapıldı. Sistem motorize bir invert mikroskop (Axiovert 200M) ile tüm fonksiyonların kontrol edilip programlanabildiği bilgisayar ve yazılımından oluşmaktadır. Mik-



Şekil 1. Aksotomi öncesinde nöronların ölü-canlı olduklarının tespiti. (a) Hücrelerin faz-kontrast mikroskop görüntüsü. Siyah oklar canlı DRG nöronlarını gösteriyor, sarı oklar nöron gövdesinden 200 µm uzaklıkta nörit mesafesini gösteriyor. (b) Kırmızı floresan mikroskobik görüntü. Kırmızı floresan görüntü a resminde siyah okla gösterilen nöronların ölü olmadıklarını doğruluyor. Kırmızı ok, ölü satelit hücrelerini gösteriyor. Skala bar: 50 µm



Şekil 2. Lazer mikrodiseksiyon sisteminde DRG nöronunun 63X büyütme objektifde görüntüsü. (a) aksotomi öncesi görüntü, sarı ok aksotomi yapılacak alanı gösteriyor. (b) aksotomi sonrası görüntü, sarı ok aksotomi yapılan alanı gösteriyor.

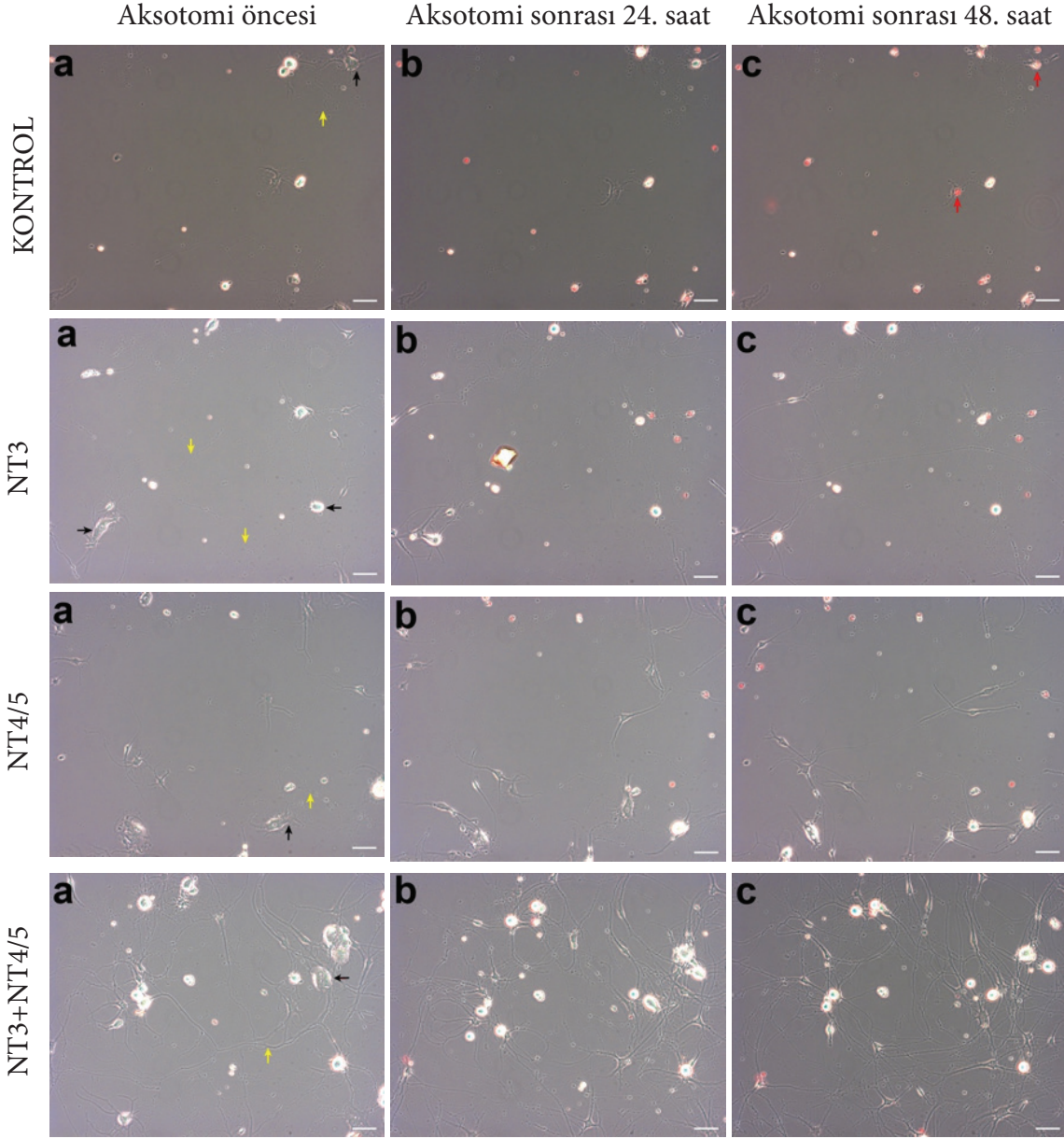
roskop üzerinde bulunan dijital kamerayla görüntüler bilgisayar ortamına aktarılabilir. Tabla üzerinde bulunan ve preparatın yerleştirildiği inkübasyon kutusu destek üniteler sayesinde hücreler için fizyolojik koşullar sağlanmaktadır (37 °C, %5 CO₂, nem). Sistemde kullanılan bilgisayar programı (Axiovision 3.1) mikroskobun tüm fonksiyonlarının bilgisayar ortamında düzenlenebilmesine olanak sağlamaktadır. Görüntülenen pozisyonlar özel bir formatla (zvi) depolanır ve bu görüntüler birleştirilerek film haline getirilebilir (24). Çalışmada görüntülemeler sırasıyla aksotomi öncesi (Şekil 3a), aksotomiden 24 saat (Şekil 3b) ve 48 saat (Şekil 3c) sonra gerçekleştirildi. Aksotomi uygulanmış hasarlı nöronların hayatta kalma oranları % olarak hesaplandı.¹³ (Şekil.4)

İstatistiksel Analiz

İstatistik hesaplamalar ve analizler için SPSS MINITAB paket programı kullanılmıştır. Görüntü analizleri 24. ve 48. saatlerde gerçekleştirildi. Gruplar arası farkın belirlenmesi amacıyla oran karşılaştırılması Z testi ile yapıldı. Çalışmada elde edilen sonuçlar tanımlayıcı istatistik olarak ortalama±standart sapma kullanılarak özetlendi ve istatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak alındı.

BULGULAR

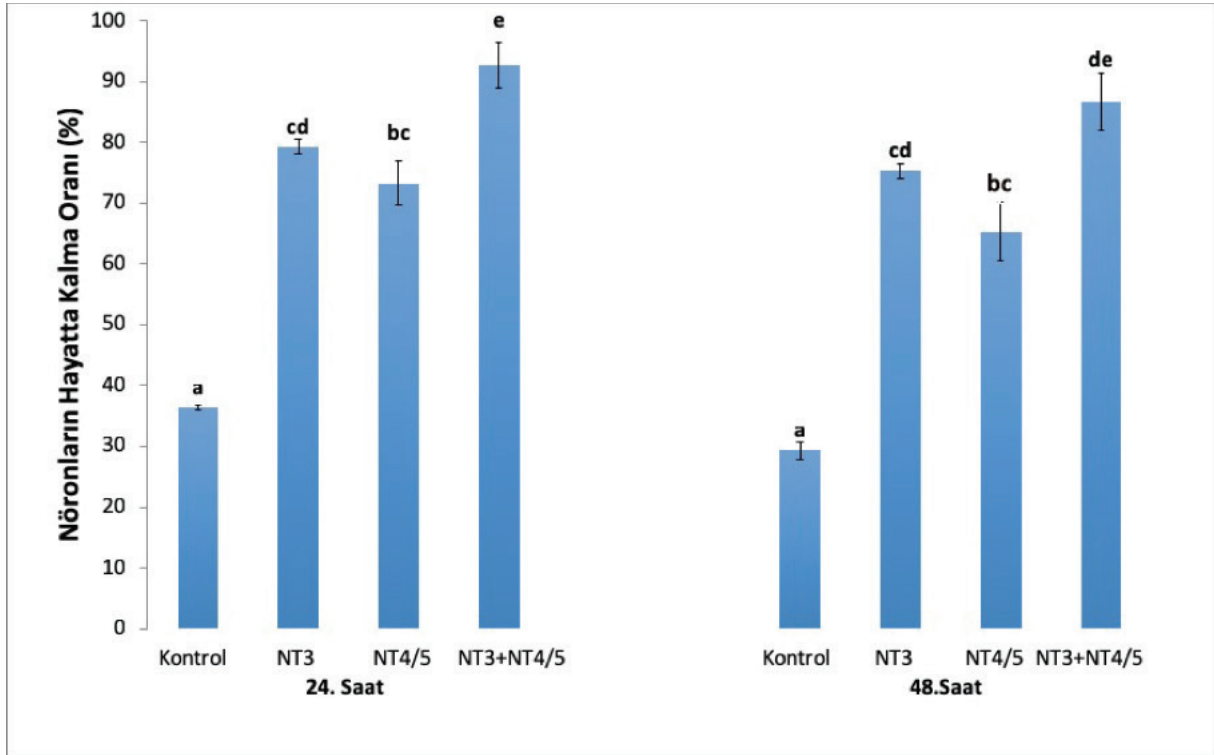
Aksonal yaralanma modeli oluşturmak için seçilen DRG nöronlarının, aksotomi öncesinde (inkübasyondan 48 saat sonra) canlı oldukları ve nöritlerini uzattıkları doğrulandı (Şekil 1). DRG nöronlarının aksonal yaralanma modeli, lazer mikro diseksiyon tekniğiyle başarıyla oluşturuldu (Şekil 2). Kontrol (aksotomi), NT3 (50 ng/mL), NT4/5 (50 ng/mL) ve NT3+NT4/5 gruplarında hücrelerde ölüm-canlılık oranları, zamana (aksotomi ve tedavi uygulamasının 24. ve 48. saatlerinde) bağlı olarak incelendi (Şekil 3). Yaralı nöronların hayatta kalma oranları tedaviden 24 saat sonra; Kontrol grubunda %36.73 (18/49), NT3 deney grubunda %80.39 (41/51), NT4/5 deney grubunda %74.00 (37/50), NT3+NT4/5 deney grubunda %94.44 (51/54) belirlendi. Tedaviden 48 saat sonra; Kontrol grubunda %28.57 (14/49), NT3 deney grubunda %76.47 (39/51), NT4/5 deney grubunda %64.00 (32/50), NT3+NT4/5 kombinasyonu deney grubunda %88.88 (48/54) saptandı (Şekil 4). Hem 24. saatte hem de 48. saatte deney grupları (NT3, NT4/5, NT3+NT4/5) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nöronların hayatta kalma oranlarında istatistiksel olarak önemli artış sağlandı (p<0,001) (Şekil 4). Deney grupları arasında yapılan karşılaştırmada NT3+NT4/5 kombinasyon grubunun, NT4/5 grubundan olan farkı hem 24.saatte (Z = 2,94; P = 0,003) hem de 48.saatte önemliydi. (Z =



Şekil 3: Yaralı nöronların tedaviye verdikleri yanıtlar. (a) Aksotomi öncesi faz-kontrast+kırmızı floresan (birleştirilmiş) görüntüler. (b) Aksotomi sonrası 24. saat birleştirilmiş görüntüler. (c) Aksotomi sonrası 48. saat birleştirilmiş görüntüler. Siyah oklar canlı nöronları, sarı oklar aksotomi yapılacak noktaları, kırmızı oklar ölen nöronları gösteriyor. Skala bar: 50 µm.

-3,10 ; $P = 0,002$). Yine NT3+NT4/5 kombinasyon grubunun, NT3 grubundan olan farkı 24.saatte önemliydi ($Z = 2,20$ $P = 0,027$), fakat 48.saatdeki farkı önemli değildi ($Z = 1,70$ $P = 0,090$). NT3 ile NT4/5 grupları arasında her iki

zaman diliminde de istatistiksel fark yoktu. Hayatta kalma oranları 48. Saatte, 24. saate göre azalma gösterse de bu azalma istatistiksel olarak önemsizdi.



Şekil 4. Aksotomi hasarlı nöronların hayatta kalma oranları. Aksonal yaralanmadan ve tedavi uygulamasından 24 saat ve 48 saat sonra hasarlı nöronların hayatta kalma oranları. Farklı harfler istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

TARTIŞMA

Hücre Kültürü; Araştırılan konuya ilişkin daha sınırlı bilgi ve veri sunsa da hücre kültüründen alınan sonuçlar diğer fizyolojik değişkenlerden uzak olduğundan in vivo çalışmalara kıyasla daha optimize edilmiştir. Bu avantajı dolayısıyla hücre kültürü çalışmaları in vivo ve faz çalışmalarına geçişte ilk basamak olarak kabul görmüştür.^{14,15}

Günümüzde etkin olarak uygulanan çok çeşitli sinir hasar modelleri mevcuttur. Bunlardan en yaygın kullanılanları siyatik sinir, optik sinir, omurilik kesileri ve kortikal yaralama gibi in vivo hasar modelleridir.^{16,17} In vivo modeller her ne kadar nöronal hasara karşı cevapları açıklamaya yardımcı olsa da yeterli değildir. Halbuki sinir hasarlarına karşı moleküler ve hücresel tepkilerin ve mekanizmaların aydınlatılmasında in vitro metodlar daha etkin kullanılmaktadır. Kültür ortamlarında uygulanabilen birçok in vitro hasar modeli bulunmaktadır; bunlardan bazıları

mikro bıçaklar, makaslar, bistüriler, cam kapillerler gibi malzemelerle mekanik hasar oluşturma modelleridir.¹⁸ Bu çalışmada uygulanan mikrolazer ışını ile aksotomi hasar modeli; daha kolay, etkin, kontrol edilebilir ve kesin bir uygulama olmakla birlikte yeni ve özgün bir tekniktir. Sistemik olarak nörit kesiminde ilk kez Higgins ve arkadaşları tarafından kullanılan bu yöntem de UV lazer ile hedeflenen nöritlerin kesimi in vitro ortamda yapılmıştır.^{12,13} Bu çalışmada rutin olarak kullanılan bir yöntem olan laser mikrodiseksiyon mikroskobu ile hassas ve etkin bir şekilde aksotomi gerçekleştirilmiştir.¹¹

Sinir sisteminin işlevini sağlıklı yürütebilmesi için merkezi ve periferik sinir sistemindeki nöronal bağlantıların özgün ve doğru bir şekilde kurulması gerekir. Sinir sisteminin bu görevlerini yerine getirmesinde etkili olan nörotrofik faktörler nöronların yaşam süresine, büyümesine, morfolojik değişikliklerine, nöronlar arası sinyal iletimine ve

hayatta kalmasına etki ederler.¹⁹ Nörotrofik faktör ailesinin üyeleri olan NT3 ve NT4/5'in merkezi ve periferik sinir sistemi nöronlarının canlılıklarını sürdürmelerine ve rejenerasyonlarına katkıda bulunduğu bilinmektedir.²⁰ NT3'ün kültürü yapılan dorsal kök gangliyon hücrelerinin %60'ından fazlasında canlılığın korunmasını teşvik ettiği ve trigeminal mezensefalik nukleustaki proprioseptif nöronlar gibi normalde NGF'e duyarlı olan duyu nöronlarından bazılarını kurtardıkları saptanmıştır.^{21,22} Her ne kadar NT3'ün proprioseptif duyu nöronlarını seçici olarak kurtardığı bilirse de aynı zamanda yenidoğan farenin aksotomi hasarlı motor nöronlarının canlılığının devamında da destekleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir.²³ NT4/5'in ise dopaminerjik nöronların korunmasında aktif rol oynadığı gösterilmiştir.²⁴ Ayrıca, NT4/5'in oksidatif stresin oluşturduğu hasarı azalttığı ve bu etkiye karşı korunmada aktif rol oynadığı, trkB reseptörüne bağlandığı, spinal motor nöronların ve farklı populasyonlarda yer alan duyu nöronlarının hayatiyetini de arttırdığı bildirilmiştir.²⁵

Bu çalışmada aksotomi hasarına maruz kalan yaralı DRG nöronlarının hayatta kalmalarına, NT3 ve NT4/5'in katkıda buldukları ilk kez ortaya konmuştur. Nörotrofik faktörlerin etkileri, kendi aralarında karşılaştırıldığında NT3'ün koruyucu etkisi 24. ve 48. Saatlerde NT4/5'e göre daha yüksek eğilim gösterse de aralarında istatistiksel bir fark bulunamadı. Bununla birlikte NT3+NT4/5 kombinasyonunun 24. Saatte koruyucu etkisi, NT3 ve NT4/5'in bireysel tedavilerine göre önemli oranda yüksekti, 48. saatte ise NT4/5'e göre yüksekti. NT3'ün bireysel etkisini büyük bir afiniteyle Tirozin kinaz C reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği, daha az afiniteyle Tirozin kinaz A ve Tirozin kinaz B reseptörleri üzerinden gerçekleştirdiği bildirilmiştir.²⁶ Buna mukabil NT4/5'in etkisini Tirozin kinaz B reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği rapor edilmiştir.²⁷ NT3+NT4/5 kombinasyonunun daha yüksek nöronal sağ kalım sağlaması, bu yeteneğin iki farklı yolak üzerinden sağlanmış olabileceğini işaret etmektedir. Trk reseptörlerine bu nörotrofinlerin bağlanması, otfosforilasyona ve aşağı akım sinyal kaskadlarının aktivasyonuna yol açar. Bu

yolaklar da nöronal sağkalımda, aksonal büyümede ve sinaptik plastisitede önemli rollere sahiptir.²⁶

SONUÇ

Deney ve kontrol gruplarındaki yaralı DRG nöronları, hayatta kalma oranları bakımından aksotomi sonrası 24. ve 48. saatlerde karşılaştırıldı. Deney (NT3, NT4/5 ve NT3+NT4/5 kombinasyon) gruplarının hayatta kalma oranları, kontrol grubundan hem 24. hem de 48. saatlerde daha yüksekti. Deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldı, NT3+NT4/5 kombinasyon grubunun hayatta kalma oranı NT4/5 grubundan hem 24. hem de 48. saatlerde daha yüksekti. NT3+NT4/5 kombinasyon grubunun hayatta kalma oranı NT3 grubundan sadece 24. saatte daha yüksekti. NT3'ün koruyucu etkisi NT4/5'e göre daha yüksek eğilim gösterse de aralarında istatistiksel bir fark yoktu. NT3 ve NT4/5 nörotrofik faktörlerinin aksotomi sonrasında yaralı nöronların hayatta kalmasını önemli oranda arttırdıkları, bu nörotrofik faktörlerin kombinasyon tedavisinin sinerji oluşturdukları ilk kez bu çalışmada ortaya konuldu. Sunulan veriler, nörotrofik faktörlerin periferik sinirlerin mekanik yaralanmalarında terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir, daha ileri araştırmalara gereksinim vardır.

Kaynaklar

- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum S, Hudspeth AJ. *Principles of neural science*. 5th ed. New York, NY ; London: McGraw-Hill; 2013. I, 1709 p. p.
- de Luca AC, Faroni A, Reid AJ. Dorsal Root Ganglia Neurons and Differentiated Adipose-derived Stem Cells: An In Vitro Co-culture Model to Study Peripheral Nerve Regeneration. *Journal of Visualized Experiments*. 2015;96.10.3791/52543.
- Tuffaha SH, Budihardjo JD, Sarhane KA, Khusheim M, Song D, Broyles JM, et al. Growth Hormone Therapy Accelerates Axonal Regeneration, Promotes Motor Reinnervation, and Reduces Muscle Atrophy following Peripheral Nerve Injury. *Plast Reconstr Surg*. 2016;137(6):1771-80.
- Gordon T. The role of neurotrophic factors in nerve regeneration. *Neurosurg Focus*. 2009;26(2):E3.
- Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(8):603-14.
- Xiao N, Le QT. Neurotrophic Factors and Their Potential Applications in Tissue Regeneration. *Arch Immunol Ther Ex*. 2016;64(2):89-99.
- Ernfors P, Lee KF, Kucera J, Jaenisch R. Lack of neurotrophin-3 leads to deficiencies in the peripheral nervous system and loss of limb proprioceptive afferents. *Cell*. 1994;77(4):503-12.
- Funakoshi H, Frisen J, Barbany G, Timmusk T, Zachrisson O, Verge VM, et al. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol*. 1993;123(2):455-65.
- Berkemeier LR, Winslow JW, Kaplan DR, Nikolics K, Goettel DV, Rosenthal A. Neurotrophin-5 - a Novel Neurotrophic Factor That Activates Trk and Trkb. *Neuron*. 1991;7(5):857-66.
- Üstün R, Oğuz EK. Degenerative effect of Ankaferd Blood Stopper® on mice peripheral sensory neurons <I>in vitro</I>. *Folia Neuropathologica*. 2018;56(1):67-74.
- Ustun R, Oğuz EK, Seker A, Korkaya H. Thymoquinone protects DRG neurons from axotomy-induced cell death. *Neurol Res*. 2018:1-8.
- Cengiz N, Ozturk G, Erdogan E, Him A, Oğuz EK. Consequences of neurite transection in vitro. *J Neurotrauma*. 2012;29(15):2465-74.
- Ozturk G, Cengiz N, Erdogan E, Him A, Oğuz EK, Yenidunya E, et al. Two distinct types of dying back axonal degeneration in vitro. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2013;39(4):362-76.
- Helmrich A, Barnes D. Animal cell culture equipment and techniques. *Methods Cell Biol*. 1998;57:3-17.
- Merten OW. Introduction to animal cell culture technology-past, present and future. *Cyto-technology*. 2006;50(1-3):1-7.
- Geuna S. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. *Journal of Neuroscience Methods*. 2015;243:39-46.
- Tzekov R, Quezada A, Gautier M, Biggins D, Frances C, Mouzon B, et al. Repetitive mild traumatic brain injury causes optic nerve and retinal damage in a mouse model. *J Neuro-Pathol Exp Neurol*. 2014;73(4):345-61.
- Geuna S, Raimondo S, Fregnan F, Haastert-Talini K, Grothe C. In vitro models for peripheral nerve regeneration. *Eur J Neurosci*. 2016;43(3):287-96.
- Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:677-736.
- Takeda M, Suzuki Y, Obara N, Tsumekawa H. Immunohistochemical detection of neurotrophin-3 and-4, and their receptors in mouse taste bud cells. *Arch Histol Cytol*. 2005;68(5):393-403.
- Maisonpierre PC, Belluscio L, Squinto S, Ip NY, Furth ME, Lindsay RM, et al. Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science*. 1990;247(4949 Pt 1):1446-51.
- Hohn A, Leibrock J, Bailey K, Barde YA. Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family. *Nature*. 1990;344(6264):339-41.
- Li L, Oppenheim RW, Lei M, Houenou LJ. Neurotrophic agents prevent motoneuron death following sciatic nerve section in the neonatal mouse. *J Neurobiol*. 1994;25(7):759-66.
- Hyman C, Juhasz M, Jackson C, Wright P, Ip NY, Lindsay RM. Overlapping and Distinct Actions of the Neurotrophins Bdnf, Nt-3, and Nt-4/5 on Cultured Dopaminergic and GABAergic Neurons of the Ventral Mesencephalon. *Journal of Neuroscience*. 1994;14(1):335-47.
- Lingor P, Unsicker K, Krieglstein K. GDNF and NT-4 protect midbrain dopaminergic neurons from toxic damage by iron and nitric oxide. *Exp Neurol*. 2000;163(1):55-62.
- Keefe KM, Sheikh IS, Smith GM. Targeting Neurotrophins to Specific Populations of Neurons: NGF, BDNF, and NT-3 and Their Relevance for Treatment of Spinal Cord Injury. *Int. J. Mol. Sci*. 2017, 18(3), 548.
- Malin SA, Davis BM. Postnatal Roles of GDNF Family Members in Nociceptors Plasticity. *Sheng Li Xue Bao*. 2008; 60(5):571-8.

Zoledronik Asidin Meme Kanseri Alt Tiplerinde Terapötik Etkisinin Değerlendirilmesi

Assessment of The Therapeutic Effects of Zoledronic Acid on Breast Cancer Subtypes

Gamze Güney Eskiler¹, Asuman Devenci Özkan¹, Cemil Bilir², Süleyman Kaleli¹

¹ Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

² Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Gamze Güney Eskiler

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Korucuk Mahallesi Konuralp Bulvarı No:81/1 Korucuk Kampüsü, Adapazarı/Sakarya

T: +90 264 295 43 08 E-mail: gamzeguney@sakarya.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 11.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 25.01.2019

Öz

Amaç Meme kanseri kadınlarda en sık görülen ve farklı alt tiplere ayrılan heterojen bir kanser türüdür. Bu nedenle, meme kanseri alt tiplerine özgü tedavi yaklaşımları dikkat çekmektedir. Mevcut çalışmada, kemik metastazı görülen kanser tiplerinin tedavisinde klinikte kullanılan ve anti-proliferatif ve anti-metastatik etkiye sahip olduğu bilinen bir bifosfonat inhibitörü zoledronik asidin (ZOL)'ün, iki farklı meme kanseri alt tipinde [MCF-7 (luminal A) ve MDA-MB-231 (triple negatif)] ve insan göbek kordonu veni endotel hücrelerinde (HUVEC) terapötik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):92-102)

Gereç ve Yöntem ZOL'ün (10-100 µM) sitotoksik ve apoptotik etkisi WST-1, Annexin V ve hücre siklusu analizleri ile belirlenmiştir. Ayrıca ZOL'ün, hücrelerde ve nükleusta neden olduğu morfolojik değişimler sırasıyla akridin oranaj (AO) ve DAPI boyaması ile görüntülenmiştir.

Bulgular ZOL'ün MCF-7 hücrelerine göre, MDA-MB-231 hücrelerinde daha fazla anti-proliferatif etkiye ve erken ve geç apoptotik ölüme neden olduğu analiz edilmiştir (p<0.05). Özellikle 50 ve 100 µM ZOL uygulanan hücrelerde G0/G1 fazında hücre miktarının anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır (p<0.05). Bunun yanı sıra, ZOL uygulanan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde, hücre membran bütünlüğünde bozulma ve kromatin yoğunlaşması gözlemlenmiştir. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda ZOL'ün HUVEC hücrelerinde toksik etkiye neden olduğu belirlenmiştir.

Sonuç Sonuç olarak, ZOL'ün farklı meme kanseri alt tiplerinde potansiyel terapötik etkiye sahip olduğu belirlenmekle birlikte, MDA-MB-231 hücrelerinde, MCF-7 hücrelerine göre daha fazla sitotoksik etkiye ve apoptotik ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak, ZOL'ün meme kanseri alt tipine bağlı olarak değişen terapötik etkisine neden olan moleküler mekanizmaların ve ideal uygulama protokolünün belirlenmesine yönelik detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler Meme kanseri; meme kanseri alt tipleri; zoledronik asit; apoptoz.

Abstract

Objective Breast cancer is a heterogeneous type of cancer with many subtypes and is the most common cancer among women. It is noteworthy that breast cancer subtype-based treatment options have attracted great attention. In the present study, we aimed to investigate the therapeutic effect of a bisphosphonate inhibitor zoledronic acid (ZOL), which is a clinically used in the treatment of cancer types with bone metastases and has been found to exert anti-proliferative and anti-metastatic effects, on two different subtypes of breast cancer [MCF-7 (luminal A) and MDA-MB-231 (triple negative)] and human umbilical vein endothelial cell (HUVEC). (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):92-102)

Materials and Methods The cytotoxic and apoptotic effect of ZOL (10-100 µM) were determined by WST-1, Annexin V and cell cycle analysis. In addition, changes in cell morphology and nucleus after treatment with ZOL were observed by acridine orange (AO) and DAPI staining, respectively.

Results ZOL caused more anti-proliferative effect and early and late apoptotic death in MDA-MB-231 cells compared with MCF-7 cells (p<0.05). The cell population in G0/G1 phase was significantly increased after treatment with especially 50 and 100 µM ZOL (p <0.05). Additionally, the loss of cell membrane integrity and chromatin condensation were observed in MCF-7 and MDA-MB-231 cells treated with ZOL. However, ZOL had a toxic effect on HUVEC cells at higher concentrations.

Conclusion In conclusion, although ZOL has a potential therapeutic effect on different subtypes of breast cancer, ZOL causes more cytotoxic effects and apoptotic death in MDA-MB-231 cells than MCF-7 cells. However, further studies are needed to determine the molecular mechanisms underlying the therapeutic effect of ZOL depending on subtypes of breast cancer and the optimal schedule and dose of ZOL.

Key words Breast cancer; Breast cancer subtypes; Zoledronic acid; Apoptosis

GİRİŞ

Meme kanseri dünya genelinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada gelen ve kadınlarda en sık görülen kanser tipidir.^{1,2} Meme kanserinin genomik, epigenetik, transkripsiyonel ve proteomik analizler sonucunda farklı klinik, morfolojik, histopatolojik ve prognostik özelliklere sahip olduğu ve bu nedenle tedaviye farklı yanıt gösteren heterojen kompleks bir hastalık olarak belirtilmektedir.^{3,4} Dolayısıyla, meme kanserinin alt tipine özgü hedefli ilaçların geliştirilmesi ve/veya klinikte uygulanması, hastanın tedaviye yanıtında, prognozunda ve bireysel hedefli tedavi seçeneklerinin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir.⁵⁻⁸ Meme kanseri ile ilişkili ölüm nedenleri arasında diğer kanser tiplerine göre meme kanseri hücrelerinin başta akciğer, karaciğer ve kemik olmak üzere yüksek metastatik potansiyele sahip olmaları temel rol almaktadır.^{9,10} Kemik metastazı metastatik hücreler tarafından osteoklast temelli kemik rezorpsiyonunun uyarılmasını sağlayarak kemiklerde osteolize, kırılma eğilimine ve kırılmaya yatkınlığa neden olmaktadır. Zoledronik asidin (ZOL) yer aldığı bifosfonatlar osteoklast temelli kemik rezorpsiyonu inhibitörleridir ve bu nedenle kemik hastalıkları, postmenopozal osteoporoz ve kemik metastazı görülen kanser tiplerinin tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. Bifosfonatların ana hedefi osteoklastlar olmasına rağmen, son yıllarda yapılan ön-klinik ve klinik çalışmalarda bifosfonatların anti-kanser aktiviteleri üzerine odaklanılmaktadır.¹⁰⁻¹³

Azot içeren bifosfonatlardan biri olarak ZOL'ün farklı kanser tiplerinde anti-proliferatif, anti-metastatik ve anti-angiyojenik etkiye sahip olduğu literatürde belirtilmektedir.¹⁴⁻¹⁸ ZOL'ün meme kanseri tedavisinde etkisinin araştırıldığı ön-klinik ve klinik araştırmalar incelendiğinde, ZOL'ün meme kanseri alt tipine, uygulanan doz ve süresine bağlı olarak değişen terapötik etkisinin belirlendiği farklı sonuçlar mevcuttur.¹⁹⁻²¹ Ayrıca, in vitro çalışmalarda ZOL'ün meme kanseri hücrelerinde apoptotik ölüme neden olduğu belirlenmesine rağmen, ölüme neden olan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.^{22,23}

Bu kapsamda mevcut çalışmanın amacı, ZOL'ün iki farklı meme kanseri alt tipinde [MCF-7 (östrojen reseptörü pozitif (ER+), progesteron reseptörü pozitif (PR+), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 negatif (HER2-) ve MDA-MB-231 (ER-, PR-, HER2-)] uygulanan konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak değişen terapötik etkisinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hücre Kültürü

Mevcut çalışmada, bir in vitro araştırması olduğu için, hormon duyarlı meme kanseri hücre hattı olarak MCF-7 ve hormon duyarsız, triple negatif meme kanseri hücre hattı olarak MDA-MB-231 hücreleri kullanılmıştır. Bunun yanı sıra olarak insan göbek kordonu veni endotel hücresi (HUVEC) kontrol hücre hattı olarak kullanılmıştır. Hücreler ATCC (American Type Culture Collection, ABD)'den ticari olarak temin edilmiştir. MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücre hatlarının Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM, Sigma-Aldrich, ABD) besiyerine %10 Fetal Sığır Serumuna (FBS, Gibco, Invitrogen, ABD) ve %1 Penisilin-Streptomisin (Sigma-Aldrich St ABD) eklenerek 37°C'de, %95 nem ve %5CO₂ içeren etüv içerisinde kültüre edilmesi sağlanmıştır.

Sitotoksite Analizi

ZOL (Novartis, İsviçre) 10 mM stok solüsyon elde edilecek şekilde hazırlandıktan sonra deneyler gerçekleştirilinceye kadar alikotlanarak -20°C'de saklanmıştır. MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücreleri her bir kuyuya 2x10⁴ hücre olacak şekilde 96'lı kuyucuklu kültür plakalarına ekildikten 24 saat sonra, hücrelere 10, 25, 50 ve 100 µM ZOL eklenerek hücreler 24 ve 48 saat boyunca etüvde inkübe edilmiştir. Belirlenen inkübasyon sürelerinin sonunda, her bir kuyuya 10 µL WST-1 (Proliferation Colorimetric Reagent WST-1, BioVision, ABD) reaktifi eklendikten sonra, 96'lı kuyucuklu kültür plakaları 37°C'de 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Son olarak, hücrelerin mikropiplaka okuyucu (Allsheng, Çin) ile 450 nm'de absorbans değerleri okutulularak hücre canlılığı analizi gerçekleştiril-

miştir. Her bir deney 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Annexin V Analizi

MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde ZOL'ün apoptotik etkisi Muse Annexin V & Dead Cell Assay (Millipore, Almanya) kullanılarak analiz edilmiştir. MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücreleri 6 kuyulu plakalara 1 x 105 kuyu/hücre olarak ekildikten 24 saat sonra, 10, 25, 50 ve 100 µM ZOL ile 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, hücreler 5 dakika boyunca 2000 x g'de santrifüj edilerek, iki kez soğuk fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. Sonrasında, her bir deney grubu Annexin V & Dead Cell Assay kiti ile boyanarak, oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildikten sonra Muse® Cell Analyzer (Millipore, Almanya) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

Hücre Siklusu Analizi

ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde hücre siklusu üzerindeki etkisini analiz etmek için Muse Cell Cycle Kit (Millipore, Almanya) kullanılmıştır. MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücreleri 6 kuyucuklu plakalara 5 x 105 kuyu/hücre olarak ekildikten 24 saat sonra, 10, 25, 50 ve 100 µM ZA ile 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücreler %70 soğuk etil alkol ile fikse edilerek 3 saat boyunca -20°C'de bekletilmiştir. Fikse edilen hücreler soğuk PBS ile iki kez yıkanarak santrifüjlenmiştir (5 dk/ 2000 x g). Sonrasında, toplanan hücreler 30 dakika boyunca karanlıkta Muse Cell Cycle Kit (Millipore, Almanya) ile inkübe edilerek, Muse® Cell Analyzer (Millipore, Almanya) ile analiz edilmiştir.

Akridin Oranj ve DAPI Boyama

ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimlerin görüntülenmesi için akridin oranj (AO) (Sigma-Aldrich, ABD) ve nükleus morfolojisindeki değişimlerin görüntülenmesi için DAPI (Sigma-Aldrich, ABD) boyaması gerçekleştirilmiştir. Hücreler 6 kuyucuklu plaka içerisinde her bir kuyuya 5 x 105 hücre olacak şekilde ekildikten 24 saat sonra, 10, 25, 50 ve

100 µM ZOL ile 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücreler oda sıcaklığında 15 dakika boyunca %4 paraformaldehid ile fikse edilerek karanlık koşullarda 30 dakika boyunca AO (100 mg/ml) veya 5 dakika boyunca DAPI (5 mg/ml) ile boyanmış ve PBS ile üç kez yıkanmıştır. Son olarak, görüntüler EVOS FL Hücre Görüntüleme Sistemi (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, ABD) yardımıyla elde edilmiştir.

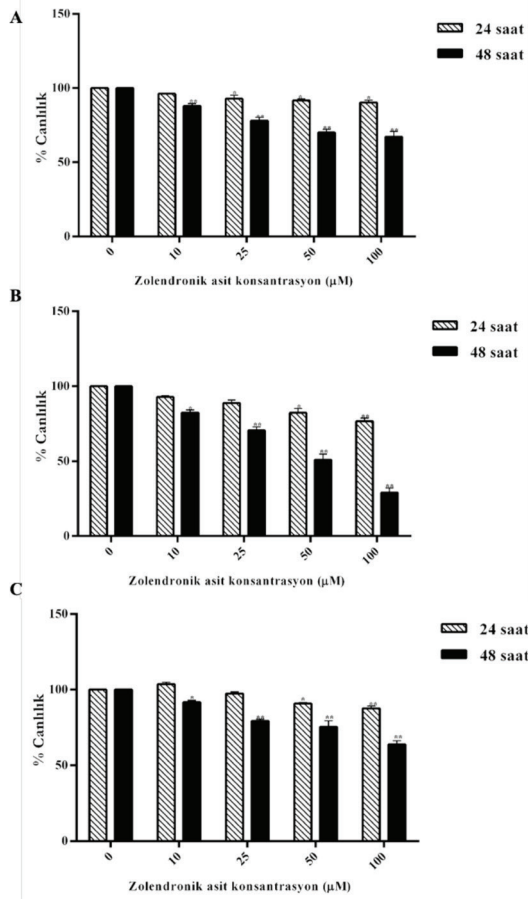
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için GraphPad Prism 6 (La Jolla, CA, ABD) programı kullanılmıştır. Bütün deneyler en az 3 tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiş olup, doza bağlı ölüm oranlarının, toplam apoptotik hücre ve hücre siklusundaki hücre miktarlarının karşılaştırılmasında Post Hoc (Tukey) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. *p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

ZOL'ün Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücre hatlarında sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi için WST-1 analizi gerçekleştirilmiştir ve elde edilen bulgular Şekil 1'de özetlenmiştir. 24 ve 48 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda ZOL uygulanan hücrelerde canlılık oranlarının doza ve zamana bağlı olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi (p<0.05). 48 saat boyunca 10 µM ZOL uygulanan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde canlılık oranları sırası ile %87,88±1,73 ve %82,47±1,73 iken, 100 µM ZOL uygulandığında hücrelerde canlılık oranlarının anlamlı bir şekilde sırasıyla %67,15±3,68 ve %29,05±3,11'e azaldığı analiz edildi (p<0.01). 48 saat boyunca 10 ve 100 µM ZOL uygulanan HUVEC hücrelerinde ise canlılık oranı sırası ile %91,73±1,24 ve %63,75±2,50 olarak belirlendi. Sonuç olarak, ZOL'ün MCF-7 hücrelerine göre, MDA-MB-231 hücrelerinde daha fazla anti-proliferatif etkiye neden olduğu belirlenmiştir. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda ZOL'ün HUVEC hücrelerinde toksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

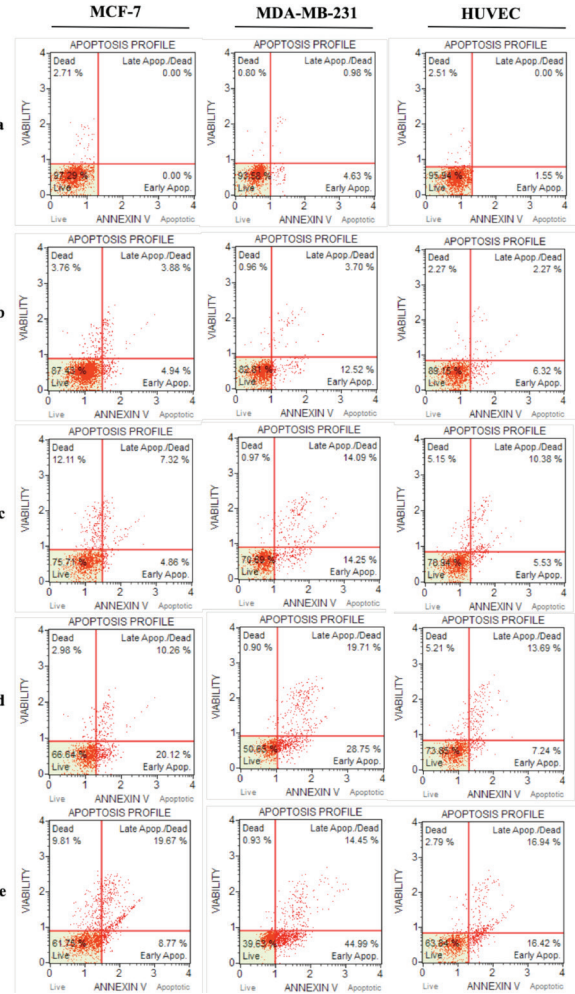


Şekil 1. ZOL'ün (A) MCF-7, (B) MDA-MB-231 ve (C) HUVEC hücrelerinde anti-proliferatif etkisinin belirlenmesi. Farklı konsantrasyonlarda ZOL (10, 25, 50 ve 100 µM) uygulanan hücrelerde 24 ve 48 saat için canlılık yüzdeleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

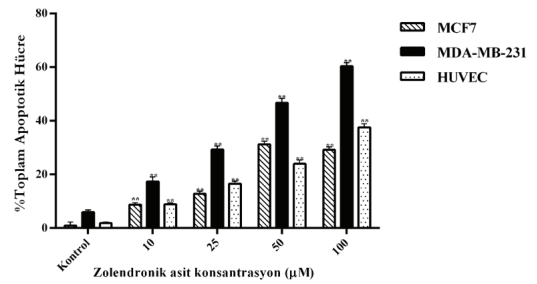
ZOL'ün Apoptotik Etkisinin Belirlenmesi

ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde apoptotik etkisi incelendiğinde, uygulanan doza bağlı olarak özellikle toplam apoptoz yüzdelerinde anlamlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0.01$, Şekil 2). 10 µM ve 100 µM ZOL'ün MCF-7 hücrelerinde apoptotik etkisi incelendiğinde, kontrol grubu ($00,00 \pm 1,34$) ile karşılaştırıldığında, hücrelerde toplam apoptoz oranı sırasıyla $8,82 \pm 0,66$ ve $28,44 \pm 1,07$ iken, MDA-MB-231 hücrelerinde bu oranların sırasıyla kontrol grubuna göre ($5,61 \pm 0,78$),

2a



2b



Şekil 2. 48 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda ZOL uygulanan MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde apoptotik ölümün değerlendirilmesi. (2a) (a) Kontrol, (b) 10 µM, (c) 25 µM, (d) 50 µM ve (e) 100 µM ZOL'ün hücrelerde apoptotik etkisi Annexin V analizi ile değerlendirilmiştir. (2b) ZOL'ün hücrelerde toplam apoptotik etkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

%16,22±1,64 ve %59,44±1,27'e arttığı belirlendi ($p<0.01$). HUVEC hücrelerinde ise, kontrol grubu (1,83±0,39) ile karşılaştırıldığında, 10 μM ve 100 μM ZOL uygulanması sonucunda, hücrelerde toplam apoptoz oranları sırasıyla %8,92±0,47 ve %37,56±1,32 olarak tespit edildi. Sonuç olarak, ZOL'ün hem MCF-7 hem de MDA-MB-231 hücrelerinde apoptotik ölüme neden olduğu ancak MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre daha fazla oranda erken ve geç apoptotik ölüme artışa neden olduğu analiz edilmiştir ve elde edilen bulgular WST-1 analizinden elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

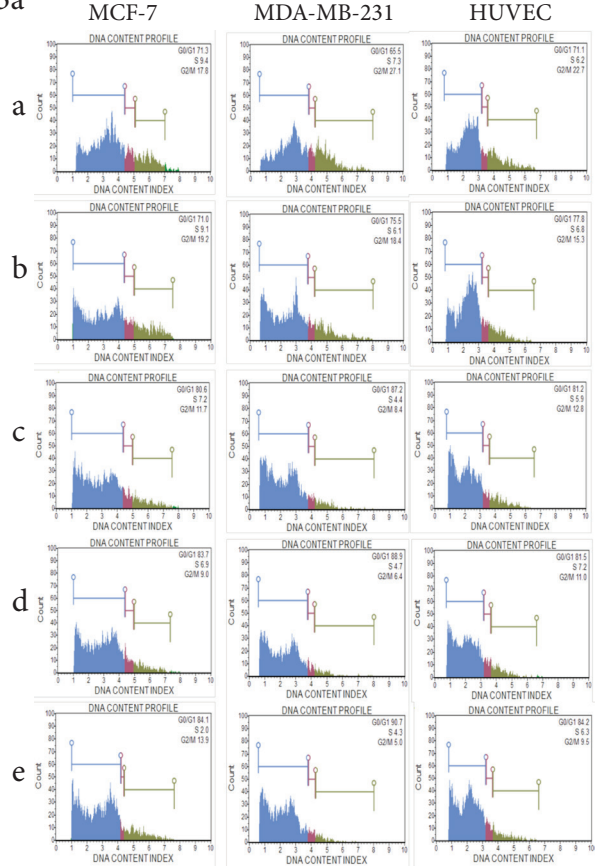
ZOL'ün Hücre Siklusu Üzerinde Etkisinin Belirlenmesi

ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde hücre siklusu üzerinde etkisinin belirlenmesi amacıyla hücre siklusu analizi gerçekleştirilmiş ve elde edilen bulgular Şekil 3'de özetlenmiştir. 48 saat boyunca 10 μM ve 100 μM ZOL uygulanan MCF-7 hücrelerinde kontrol grubu (%71,30±0,92) ile karşılaştırıldığında G0/G1 fazında hücre miktarı sırası ile %71,00±0,79 ve %84,10±0,64 olarak belirlenmesine rağmen, MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol grubu (%65,50±1,34) ile karşılaştırıldığında, G0/G1 fazında hücre miktarının sırası ile %75,60±0,99 ve %90,70±0,21'e arttığı analiz edildi ($p<0.01$). HUVEC hücrelerinde ise, kontrol grubu (%71,10±1,41) ile karşılaştırıldığında, 10 μM ve 100 μM ZOL uygulanan hücrelerde G0/G1 fazında hücre miktarının sırasıyla %77,80±1,70 ve %84,20±1,56'e arttığı belirlendi ($p<0.01$). Sonuç olarak, özellikle yüksek konsantrasyonlarda ZOL uygulanan hücrelerde G0/G1 fazında hücre miktarında anlamlı bir şekilde artış olduğu tespit edilmiştir.

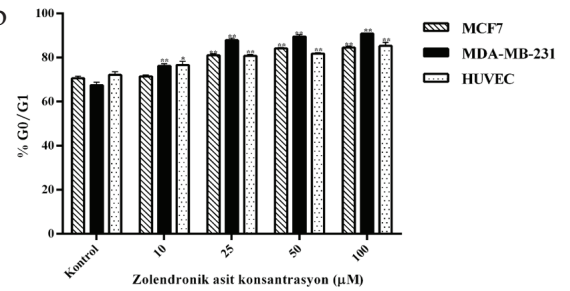
Hücre Morfolojisindeki Değişimlerin Görüntülenmesi

Farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimler AO boyaması ile görüntülenmiştir (Şekil 4). MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde ZOL'ün artan konsantrasyonuna bağlı olarak hücrelerde apoptotik ölümün arttığı görüntüldü. ZOL uygulanan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, hücre membran bütünlüğünde bozulma, kromatin yoğunlaşması ve hücre ve/veya sitoplazmik küçülmeler olduğu gözlemlendi.

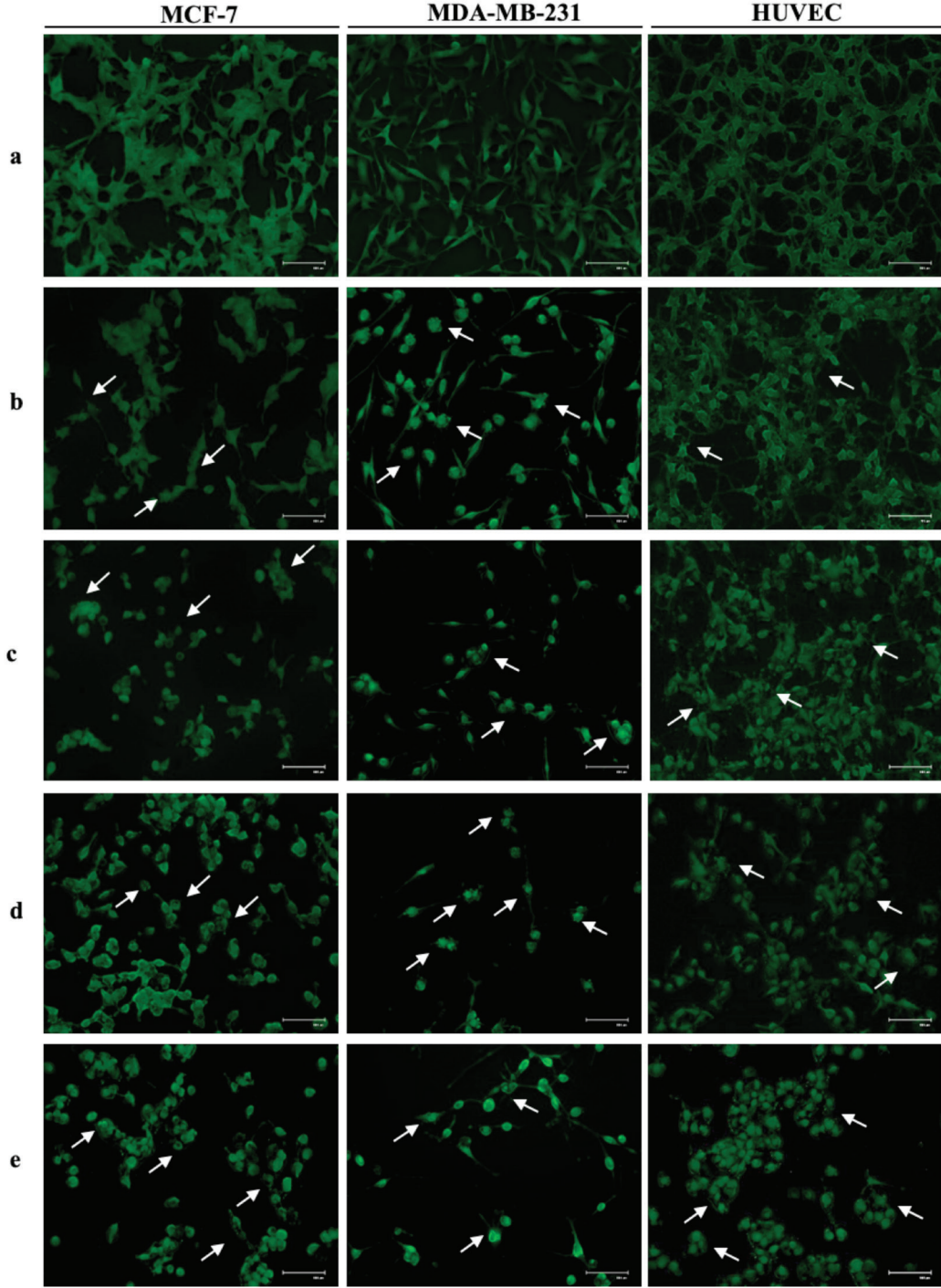
3a



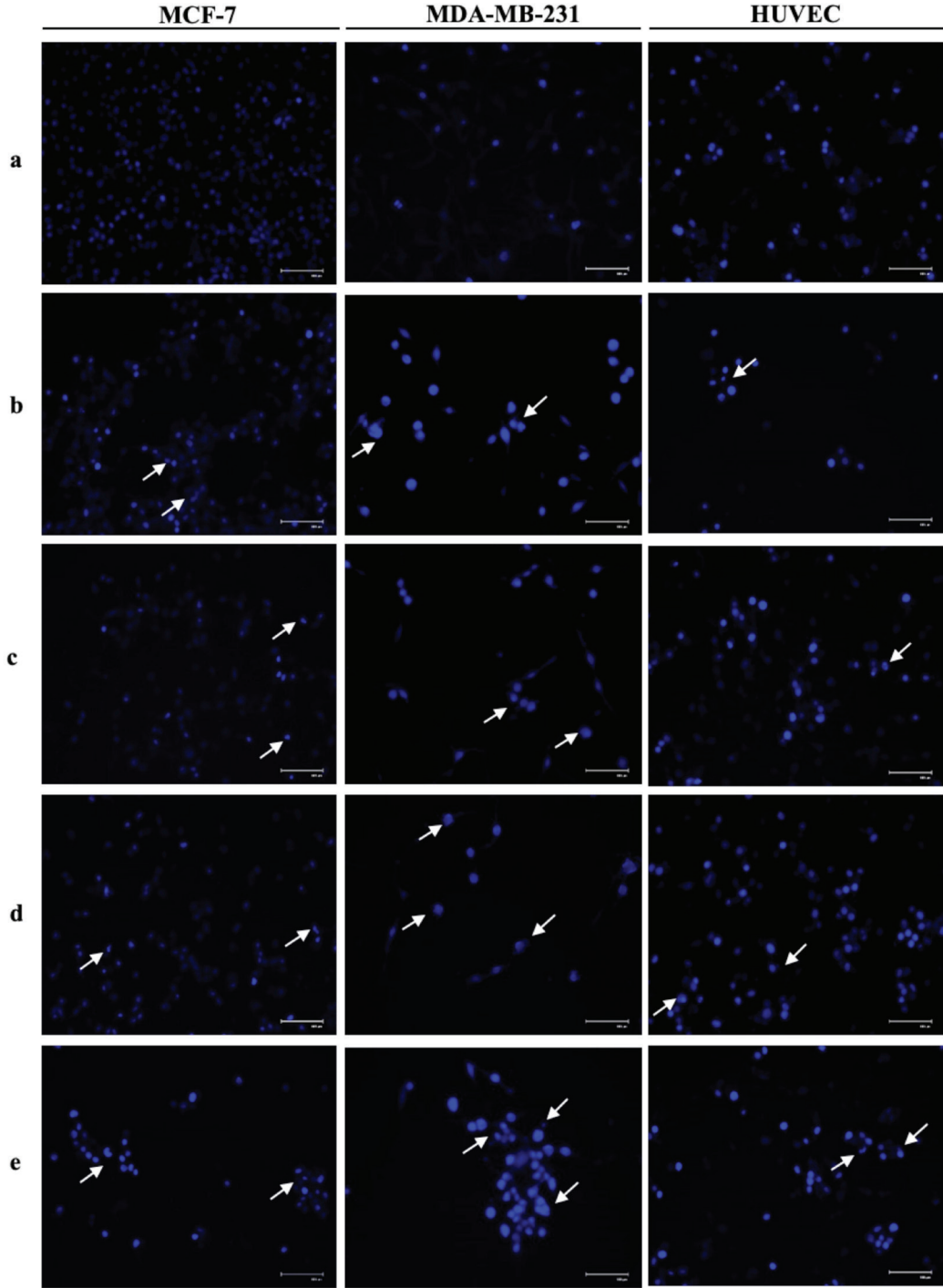
3b



Şekil 3. 48 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde hücre siklusu üzerinde etkisinin değerlendirilmesi. (3a) (a) Kontrol, (b) 10 μM , (c) 25 μM , (d) 50 μM ve (e) 100 μM ZOL'ün hücrelerde etkisi hücre siklusu analizi ile değerlendirilmiştir. (3b) ZOL'ün neden olduğu G0/G1 fazında hücre miktarında artış kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (* $p<0.05$, ** $p<0.01$).



Şekil 4. Farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimlerin AO boyaması ile görüntülenmesi. (a) Kontrol, (b) 10 µM, (c) 25 µM, (d) 50 µM ve (e) 100 µM ZOL.



Şekil 5. Farklı konsantrasyonlarda ZOL uygulanan MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde nükleus morfolojilerinin DAPI boyaması ile görüntülenmesi. (a) Kontrol, (b) 10 µM, (c) 25 µM, (d) 50 µM ve (e) 100 µM ZOL

Ayrıca, özellikle 50 ve 100 µM ZOL uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde apoptotik cisimcikler ve nükleer fragmentasyon belirlenmesine rağmen, MCF-7 hücrelerinde apoptotik hücrelerin yanı sıra nekrotik hücreler de tespit edildi. HUVEC hücrelerinde ise 10 µM ZOL uygulanmasından itibaren hücrelerin genel morfolojik yapısını kaybettiği ve apoptotik cisimcikler ve nükleer hasar belirlendi.

Ayrıca belirlenen konsantrasyonlarda (10, 25, 50 ve 100 µM) ZOL uygulanan MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde nükleus morfolojileri DAPI boyaması ile görüntülenmiştir (Şekil 5). ZOL'ün artan konsantrasyonuna bağlı olarak hücrelerde kromatin yoğunlaşması ve nükleus fragmentasyonu olan apoptotik hücreler gözlemlendi. Sonuç olarak, ZOL'ün MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre daha fazla apoptotik ölüme neden olduğu ancak yüksek konsantrasyonlarda HUVEC hücrelerinde de toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Mevcut çalışmada, ZOL'ün farklı meme kanseri alt tiplerinde kontrol hücre hattı ile karşılaştırmalı olarak potansiyel terapötik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, ZOL'ün MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre daha fazla sitotoksik etkiye ve apoptotik ölüme neden olmasıyla birlikte yüksek konsantrasyonlar da kontrol hücrelerinde toksik etkisi tespit edilmiştir.

ZOL potansiyel üçüncü nesil bir bifosfonat inhibitörüdür ve son yıllarda meme kanseri hastalarında klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Ön-klinik çalışmalarda ZOL'ün kanser hücrelerinde doğrudan ve dolaylı olarak anti-proliferatif etkisi in vitro ve in vivo belirlenmiştir. ZOL'ün farklı kanser tiplerinde doğrudan etkisi uygulanan doza ve zamana bağlı olarak hücrelerde neden olduğu sitotoksik etkiye ve apoptotik ölüme dayanmaktadır. Dolaylı etkisi ise, kanser hücrelerinin proliferasyonu için uygun ortamı sağlayan kemik mikroçevresinde etkisine bağlıdır.^{16,21,24}

Klinik faz çalışmalarında (ABCSG12, AZURE, Z-Fast,

ZO-Fast, NATAN, SUCCESS, SWOG 0307, ZEUS, RADAR, STAMPEDE Study 2419) ise, adjuvan tedavi olarak ZOL'ün meme, prostat ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarında genel olarak hastaliksız sağ kalım süresinde etkili olduğuna dair sonuçlar mevcuttur.^{16,24-26} Örneğin, ABCSG12 klinik denemesinde, ZOL'ün premenopozal I/II evre meme kanseri hastalarında endokrin tedavi ile birlikte uygulandığında hastaliksız sağ kalım süresinde artış sağladığı belirtilmektedir. Ancak, AZURE klinik denemesinde standart tedaviye ek olarak ZOL uygulanmasının premenopozal II/III evre meme kanseri hastalarında hastaliksız sağ kalım süresinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, ABCSG12 ve AZURE klinik denemelerinde ZOL'ün adjuvan kemoterapi olarak uygulama protokollerinin ve farklı hasta kriterlerinin olması dolaylı farklılıklar mevcuttur. Bu nedenle, ZOL'ün kanser tedavisinde ideal kullanımı hasta alt gruplarının, ZOL'ün farmakokinetik özellikleri ile uyumlu olarak anti-tümör mekanizmalarının ve ideal kombin tedavi olarak uygulanacağı kemoterapi ajanlarının belirlenmesine bağlıdır.²⁶⁻²⁸ Bunun yanı sıra, ZOL'ün anti-tümör etkisinin maksimum seviyede olması için, osteoporoz ve kemik metastazı olan hastalarda önerilen uygulama protokolünün optimize edilmesine de gerek duyulmaktadır.^{29,30}

Farklı konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde (24-168 saat) ZOL'ün (6.25-100 µM), farklı kanser tiplerinde (meme, prostat, mesane ve akciğer kanseri, hepatoselüler karsinoma ve multipl miyelom) terapötik etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur.¹⁶⁻¹⁸ Ancak, kanser tipi ve özelliklerine bağlı olarak ZOL'ün etkin konsantrasyon ve uygulama süresinin değiştiği ve kontrol hücrelerinde etkisinin belirlendiği çalışma sayısının literatürde sınırlı olmasından dolayı, mevcut çalışmada iki farklı alt tipte meme kanserinde ZOL'ün potansiyel terapötik etkisi araştırılmıştır.

Literatürde belirlendiği gibi^{20,21}, mevcut çalışmada farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün (10,25, 50 ve 100 µM) 24 ve 48 saat boyunca MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hü-

relerinde sitotoksik etkisi araştırılmış ve ZOL'ün uygulanan doza ve zamana bağlı olarak MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde hücre proliferasyonunu anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, özellikle 48 saat boyunca 100 µM ZOL uygulanan HUVEC hücrelerinde ZOL'ün toksik etkisi ve hücrelerde apoptotik ölüme ve G0/G1 fazında artışa neden olduğu analiz edilmiştir. Ayrıca, MDA-MB-231 hücrelerinin MCF-7 hücrelerine göre ZOL'a karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ancak, Senaratne ve ark.¹⁹ çalışmalarında MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde bifosfonatların benzer bir şekilde etki gösterdiğini tespit etmiştir. Diğer yandan, Toni ve ark. (2012), MCF-7 (ER+,PR+, HER2-), SK-BR-3 (ER-, PR-,HER2+), MDA-MB-231 ve BRC-230 (ER-, PR-, HER2-) hücrelerinde 12,5, 25 ve 50 µM ZOL'ün 24, 48, 72, 96, 144 ve 168 saat boyunca etkisini araştırdıklarında çalışmalarında, triple negatif meme kanseri hücrelerinin (MDA-MB-231 ve BRC-230) hormon reseptör (HR)+ (MCF-7) ve HER2+ (SK-BR-3) meme kanseri hücrelerine göre ZOL'e karşı daha duyarlı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, KRAS ve BRAF mutasyonu taşıyan MDA-MB-231 hücrelerinin, BRAF, KRAS ve HRAS değişimi olmayan BRC-230 hücrelerine göre ZOL'e karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. MCF-7 ve SK-BR-3 hücrelerinin ZOL'e karşı daha az duyarlı olmasının ise sırasıyla kaspaz-3'ün eksprese olmaması ve yüksek HER2 ekspresyonu sonucu RAS yolağının aktivitesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, ZOL'ün farklı alt tipte meme kanseri hücrelerinde G0/G1 fazında hücre miktarında artışa ve apoptotik ölüme neden olduğu ve bu ölümün triple negatif meme kanseri hücrelerinde RAS ekspresyonunda (~10 kat) azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.²¹ Wilson ve ark.³¹ 48 saat boyunca 50 µM ZOL uygulanan MDA-MB-231, MDA-MB-436, T47D ve MCF-7 hücrelerinde tripan mavi boyaması sonucunda, ZOL'ün triple negatif meme kanseri hücrelerinde (MDA-MB-231, MDA-MB-436) anti-proliferatif etkiye sahip olduğunu ancak, T47D ve MCF-7 hücrelerinde canlılık oranlarında ZOL'ün anlamlı bir azalmaya neden olmadığını belirtmişlerdir.

ZOL'ün meme ve prostat kanseri hücrelerinde apoptotik etkisinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Jagdev ve ark.³², 72 saat boyunca 0,1, 1, 10 ve 100 µM ZOL uygulanan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde canlılık oranlarının anlamlı bir şekilde azaldığını ve ZOL'ün hücrelerde apoptotik ölüme neden olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, 0,1 µM ve 1 µM ZOL'ün MCF-7 hücrelerinde apoptotik ölüm de anlamlı bir artışa neden olmazken, 10 µM ZOL'ün hücrelerde 4 kattan daha fazla apoptotik ölüme neden olduğunu analiz etmişlerdir. Ayrıca, 0,1, 1,10 µM ZOL'ün MDA-MB-231 hücrelerinde daha az oranda apoptotik ölüme neden olmasına rağmen, 100 µM ZOL uygulanan hücrelerde 15 kat apoptotik ölüme artış olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer yandan Lan ve ark.,²⁴ 48 ve 72 saat boyunca 0,1, 1, 10, 50 ve 100 µM ZOL'ün MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde etkisini inceledikleri çalışmalarında, özellikle 72 saat boyunca 50 ve 100 µM ZOL'ün MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde canlılık oranlarında anlamlı bir azalmaya ve özellikle 50 µM ZOL'ün hücrelerde G0/G1 ve S fazında artışa ve apoptotik ölüme neden olduğunu belirtmişlerdir.¹⁰ Gschwantler-Kaulic ve ark.³³ postmenapozal meme kanseri hastalarında ZAN'ın hastaliksız sağ kalım üzerinde etkisini belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, hormonal çevreyi taklit etmek için estradiol ile birlikte ZOL'ün MCF-7, T47D ve MDA-MB-231 hücrelerinde etkisini belirlemişlerdir. Sonuç olarak, 6 gün boyunca 2,25, 6,25 ve 10,25 µM ZOL uygulanan hücrelerde ZOL'ün hücrelerde G0/G1 ve S fazında hücre miktarında artışa ve apoptotik ölüme neden olduğunu ve ZOL'ün hormon durumundan bağımsız olarak anti-kanser etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, ZOL'ün anti-kanser etkisinin MDA-MB-231 hücrelerinde estradiolden bağımsız bir şekilde gerçekleştiğini ancak MCF-7 ve T47D hücrelerinde estradiolün ZOL'ün anti-proliferatif ve pro-apoptotik etkisini önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir. Prostat kanserinde ise, Mani ve ark.ZOL'ün (5, 10, 25, 50 ve 100 µM) 24, 48 ve 72 saat boyunca PC-3, DU-145 ve LNCaP prostat kanseri hücrelerinde anti-proliferatif ve proapoptotik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir³⁴ (100 µM ZOL'ün etki düzeyi; PC-3 > DU-145 > LNCaP).

Ayrıca 100 µM ZOL'ün PC-3 ve DU-145 hücrelerinde erken apoptoza neden olmasına rağmen, LNCaP hücrelerinde geç apoptoza neden olduğunu tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada, farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve HUVEC hücrelerinde apoptotik etkisi hem kantitatif hem de kalitatif olarak analiz edilmiştir. Sonuç olarak, ZOL'ün MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre daha fazla oranda G0/G1 fazında hücre miktarına ve apoptotik ölüme neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, apoptoz ile ilişkili karakteristik değişimler ve nükleus morfolojileri de görüntülenerek elde edilen veriler desteklenmiştir. Ancak literatür de ZOL'ün meme kanserinde farklı konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde etkisinin araştırılmasından dolayı 10,19-21,31-33, ideal uygulama protokolünün (doz ve uygulama süresinin) ve hücrelerde apoptotik ölüme yol açmasına neden olan moleküler mekanizmaların belirlenmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ

Mevcut çalışmada farklı konsantrasyonlarda ZOL'ün farklı alt tiplerde meme kanseri ve kontrol hücrelerinde etkisinin değerlendirilmesi ile literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır. Sonuç olarak ZOL'ün triple negatif meme kanserinde daha etkin olmasıyla birlikte kontrol hücrelerinde toksik etkisi belirlenmiştir. Ancak, ZOL'ün apoptotik etkisine neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına ve ideal uygulama protokolünün (etkin konsantrasyonu ve uygulama süresi) belirlenmesine yönelik detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Kaynaklar

1. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA oncology* 2017; 3(4):524-548.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68(6):394-424.
3. Heiser LM, Sadanandam A, Kuo WL, Benz SC, Goldstein TC, Ng S, et al. Subtype and pathway specific responses to anticancer compounds in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109:2724-2729.
4. Sonnenblick A, Fumagalli D, Sotiriou C, Piccart M. Is the differentiation into molecular subtypes of breast cancer important for staging, local and systemic therapy, and follow up? *Cancer Treat Rev* 2014; 40:1089-1095.
5. Sharp A, Harper-wynne C. Treatment of advanced breast cancer (ABC): The expanding landscape of targeted therapies. *J cancer Biol Res* 2014; 2:1-5.
6. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: How special are they? *Mol Oncol* 2010; 4:192-208.
7. Eroglu A, Çiçek E. Meme kanserinde moleküler alt tiplere göre cerrahi tedavi yaklaşımları. *Yeni Tıp Dergisi* 2014; 31(2): 83-87.
8. Eliyatkin N, Yalcin E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. *J Breast Heal* 2015; 11:59-66.
9. Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: From dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009; 9:274-284.
10. Lan YC, Chang CL, Sung MT, Yin PH, Hsu CC, Wang KC, et al. Zoledronic acid-induced cytotoxicity through endoplasmic reticulum stress triggered REDD1-mTOR pathway in breast cancer cells. *Anticancer Res* 2013; 33(9):3807-3814.
11. Winter MC, Holen I, Coleman RE. Exploring the antitumour activity of bisphosphonates in early breast cancer. *Cancer Treat Rev* 2008; 34:453-475.
12. McClung M, Harris ST, Miller PD, Bauer DC, Davison KS, Dian L, et al. Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday. *Am J Med* 2013; 126:13-20.
13. Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2002; 359:2018-2026.
14. Neville-Webbe HL, Coleman RE. Bisphosphonates and RANK ligand inhibitors for the treatment and prevention of metastatic bone disease. *Eur J Cancer* 2010; 46:1211-1222.
15. Bosch-Barrera J, Merajver SD, Menendez JA, Van PC. Direct antitumour activity of zoledronic acid: preclinical and clinical data. *Clin Transl Oncol* 2011; 13:148-155.
16. Guise TA. Antitumor effects of bisphosphonates: promising preclinical evidence. *Cancer Treat Rev* 2008; 34 Suppl 1:19-24.
17. Green J, Lipton A. Anticancer properties of zoledronic acid. *Cancer Invest* 2010; 28:944-957.
18. Zekri J, Mansour M, Karim SM. The anti-tumour effects of zoledronic acid. *J bone oncol* 2014; 3(1):25-35.
19. Senaratne SG, Pirianov G, Mansi JL, Arnett TR, Colston KW. Bisphosphonates induce apoptosis in human breast cancer cell lines. *Br J Cancer* 2000; 82(8):1459-1468.
20. Busch M, Rave-Frank M, Hille A, Dühmke E. Influence of clodronate on breast cancer cells in vitro. *Eur J Med Res* 1998; 3(9):427-431.
21. Ibrahim T, Mercatali L, Sacanna E, Tesi A, Carloni S, Ulivi P, et al. Inhibition of breast cancer cell proliferation in repeated and non-repeated treatment with zoledronic acid. *Cancer Cell Int* 2012; 12(1):48.
22. Almubarak H, Jones A, Chaisuparat R, Zhang M, Meiller TF, Schepher MA. Zoledronic acid directly suppresses cell proliferation and induces apoptosis in highly tumorigenic prostate and breast cancers. *J Carcinog* 2011; 10: 2.
23. Senaratne SG, Colston KW. Direct effects of bisphosphonates on breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2012; 4:18-23.
24. Santini D, Virzi V, Fratto ME, Bertoldo F, Sabbatini R, Berardi R, et al. Can we consider zoledronic acid a new antitumor agent? Recent evidence in clinical setting. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(1):46-54.
25. Coleman R, Cameron D, Dodwell D, Bell R, Wilson C, Rathbone E, et al. Adjuvant zoledronic acid in patients with early breast cancer: final efficacy analysis of the AZURE (BIG 01/04) randomised open-label phase 3 trial. *The lancet oncology* 2014; 15(9): 997-1006.
26. Steinman RA, Brufsky AM, Oesterreich S. Zoledronic acid effectiveness against breast cancer metastases-a role for estrogen in the microenvironment?. *Breast Cancer Res* 2012; 14(5): 213.
27. Gnani M, Mlineritsch B, Stoeger H, Luschin-Ebengreuth G, Heck D, Menzel C, et al. Adjuvant endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal women with early-stage breast cancer: 62-month followup from the ABCSG-12 randomised trial. *Lancet Oncol* 2011; 12:631-641.
28. Coleman RE, Marshall H, Cameron D, Dodwell D, Burkinshaw R, Keane M, et al. Breast-cancer adjuvant therapy with zoledronic acid. *N Engl J Med* 2011; 365:1396-1405.
29. Hershman DL, McMahon DJ, Crew KD, Cremers S, Irani D, Cucchiara G, et al. Zoledronic acid prevents bone loss in premenopausal women undergoing adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(29):4739-4745.
30. Zhao X, Xu X, Guo L, Ragaz J, Guo H, Wu J, et al. Biomarker alterations with metronomic use of low-dose zoledronic acid for breast cancer patients with bone metastases and potential clinical significance. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124(3):733-743.
31. Wilson C, Ottewill P, Coleman RE, Holen I. The differential anti-tumour effects of zoledronic acid in breast cancer—evidence for a role of the activin signaling pathway. *BMC cancer* 2015; 15(1):55.
32. Jagdev SP, Coleman RE, Shipman CM, Rostami-H A, Croucher PJ. The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *Br J Cancer* 2001; 84(8):1126.
33. Gschwantler-Kaulich D, Weingartshofer S, Grunt TW, Mairhofer M, Tan Y, Gamper J, et al. Estradiol impairs the antiproliferative and proapoptotic effect of Zoledronic acid in hormone sensitive breast cancer cells in vitro. *PLoS one* 2017; 12(9): e0185566.
34. Mami J, Vallo S, Barth K, Makarević J, Juengel E, Bartsch G, et al. Zoledronic acid influences growth, migration and invasive activity of prostate cancer cells in vitro. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2012; 15(3):250.

Eczacıların Akılcı İlaç Kullanımını ile İlgili Yaklaşımları

Pharmacy's Approaches to Rational Drug Use

Celal Alpdoğan¹ ORCID ID 0000-0001-7657-7090, Selma Altındış² ORCID ID 0000-0003-2805-5516

¹ Sakarya Üniversitesi, İşletme Enstitüsü, Sağlık Yönetimi AD,

² Sakarya Üniversitesi, İşletme Fakültesi, Sağlık Yönetimi, Sakarya, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Selma Altındış

Sakarya Üniversitesi, İşletme Fakültesi, Sağlık Yönetimi

T: +90 264 295 43 08 E-mail: altindis@sakarya.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 24.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 04.03.2019

*Bu çalışma Sakarya Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Sağlık Yönetimi Bilim Dalında Celal Alpdoğan tarafından yürütülmüş yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Öz

Amaç	Akılcı ilaç kullanımı (AİK), ilaç tedavisinin etkili, güvenli, ekonomik uygulanması yanı sıra ilaç kullanım paydaşlarının rasyonel davranmasını gerektiren bir süreçtir. Hastaya ilacın kullanımını tarifleyen eczacılar da süreçte etkin yerde bulunmaktadır. Bu çalışmada Sakarya ilinde faaliyet gösteren eczacıların akılcı ilaç kullanımına ilişkin bilgi düzeyi, tutum ve davranışlarının ölçülmesi amaçlanmıştır. (Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):103-112)
Gereç ve Yöntem	Bu amaç için tanımlayıcı ve kesitsel bir araştırma planlanmış olup katılmayı kabul eden 163 serbest çalışan eczacıdan veriler bir anket formu ile toplanmıştır. Veriler daha sonra SPSS istatistik programında değerlendirilmiştir.
Bulgular	Çalışmaya katılan eczacıların %55.3'ü erkek, %44.7'si kadındır. Eczacıların %35.8'ü ile en çok dahil olduğu yaş aralığı 30-39'dur. Eczacıların %57.9'u 15 yıl ve üzeri mesleki tecrübeye sahip olduğunu ve %96'sı eczanesinde 4 ve altı çalışanı olduğunu belirtmiştir. Eczacıların bilgi almak için en sık başvurdukları bilgi kaynakları ;%99.3 oranla RxMediaPharma (İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı), %43.7 oranla internet kaynakları ve %29.8 ile meslektaşları olduğu sonucuna varılmıştır. Eczacıların reçetelerde en çok karşılaştığı sorunlar %78.9 ile okunaksız el yazısıdır. Hastaların eczacılara en çok danıştıkları konu, ilacın aç veya tok karına alınmasıdır (%71.6). Eczacıların %67.1'i belirli aralıklarla ilaçların saklama koşullarının kontrol edildiğini, %32.9'u ise uyarı ve kalibrasyon sistemi ile otomatik kontrol edildiğini belirtmiştir. Ayrıca eczacılar, %73.5'i ilaçla ilgili etkileşim fark ettiklerinde hekimi bilgilendirdiklerini belirtmişlerdir. Eczacılara gelen her 100 reçetenin 27'sinde antibiyotik olduğu ve her 100 reçeteden 49'unda da ağrı kesici olduğu saptanmıştır.
Sonuç	Sonuçta eczacıların, reçetelenen ilacın uygun kullanılmasına ilişkin hastanın bilgilendirilmesi, yönlendirilmesi ve uyumunu artıracak şekilde motive edilmesi konularında sorumluluklarının olduğu açıktır.
Anahtar kelimeler	Akılcı İlaç Kullanımı, Eczacılar, reçete

Abstract

Objective	Rational drug use is a process that requires effective, safe, economic implementation of drug treatment as well as rational behavior of drug use sides. The pharmacists who describe the use of the drug are also in the most effective place in the process. In this study, it was aimed to measure the level of knowledge, attitudes and behaviors of pharmacists working in Sakarya province on rational drug use. (Sakarya Med J 2019, 9(1):103-112)
Materials and Methods	A descriptive and cross-sectional study was planned for this purpose. Data from 163 self-employed pharmacists who agreed to participate in the study were collected with a questionnaire. The data were then evaluated in the SPSS statistical program.
Results	55.3% of the pharmacists participating in the study were male and 44.7% were female. 35.8% of pharmacists are the most involved age range is 30-39. 57.9% of the pharmacists stated that they have 15 years or more of professional experience and 96% of them had 4 or six employees in the pharmacy. The most frequently used sources of information for pharmacists were RxMediaPharma (Interactive Drug Information Source) with 99.3%, internet resources with 43.7% and colleagues with 29.8%. The most common problems encountered by pharmacists in prescriptions are illegible handwriting with 78.9%. The most frequently consulted subject of patients to pharmacists was that to take the drug on an empty or full stomach (71.6%). 67.1% of the pharmacists stated that the storage conditions of the drugs were checked periodically and 32.9% of them were controlled automatically with the warning and calibration system. In addition, pharmacists stated that 73.5% of the patients were informed about the drug. It was found that 27 of the 100 prescriptions to the pharmacists were antibiotics and 49 out of every 100 prescriptions were painkillers.
Conclusion	As a result, it is clear that pharmacists have a responsibility for informing the patient about the proper use of the prescribed medication and for motivating them to increase their orientation and enhance their compliance.
Key words	Rational Drug Use, Pharmacists, prescription.

GİRİŞ

Akılcı ilaç kullanımı (AİK), ilaç tedavisinin etkili, güvenli olmasının yanı sıra ekonomik bir biçimde uygulanmasına da imkan tanıyan, başta hekimler ve hemşireler olmak üzere, eczacılar, hükümetler, hasta/yakınları ve toplum olmak üzere pek çok paydaşın rasyonel davranmasını gerektiren bir süreçtir. İlacın rasyonel kullanımını ise ilacın doğru zaman, belirtilen şekil ve dozda kullanımını gerektirir.^{1,2} Bu süreç, birçok paydaşın yanı sıra eczacılara da birçok sorumluluk yüklemektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre AİK, "hastaların ilaçları klinik ihtiyaçlarına uygun şekilde, kişisel gereksinimlerini karşılayacak dozlarda, yeterli zaman diliminde, kendilerine ve topluma en düşük maliyette almalarını sağlayan kurallar bütünü"dür.³

AİK'ında bazı ilkelere uygun hareket etmek son derece önemlidir. Bunlar; etkinlik, güvenilirlik, uygunluk ve maliyettir. Hekimle hasta arasındaki iletişimin doğru şekilde sağlanıp tedavi sürecinin kişiselleştirilmesiyle ilaç etkinliğine; belirlenen tedavi metodunun ve reçetelenen ilacın hastanın yaşı, kilosu, hastalık durumu ve tedavi sürecine uygun ilaç ya da ilaçları seçerken var olan patolojik durumu, ilacın olası yan etkileri, hastanın hastalık geçmişi, gebelik, emzirme vs gibi bazı fizyolojik özelliklerinin yanı sıra bazı gündelik yaşam durumlarını dikkate alınması ilaç uygunluğuna; gerek hasta bütçesine gerekse de topluma en az maliyetli olan ilaçların tercih edilmesiyle maliyete; hastaya doğru tedavinin uygulanıp, doğru ilacın seçilmesi, ilacın ortaya çıkarabileceği olası yan etkilere karşı hastanın yakından takip edilmesi ve ortaya çıkan reaksiyonların hekime bildirilerek yan etki geri bildirim yapılması, ilaç güvenliliğine büyük katkı sağlanacaktır. Kısaca güvenilirlik ilkesi gereği ilacın ortaya çıkarabileceği olası yan etkilerin en düşük düzeyde tutulması ve ilacın kişisel ve toplumsal maliyetlerinin minimum düzeyde olacak şekilde seçilmesi akılcı ilaç kullanımının önemli aşamalarındandır.⁴⁻⁶

DSÖ'nün tanımında da vurgulandığı gibi doğru teşhis,

doğru tedavi, doğru ilaç ve talimatlara uygun ilaç kullanımı çok önemlidir. Aynı zamanda hekimin ve eczacının hastanın uyumunu artıracak talimatları, tedavi ve ilaç kullanımı ile ilgili bilgileri anlaşılır şekilde hastaya aktarması AİK'nın temel ilkelerindedir. Tüm bunların yanında topluma ve hastaya çıkarılan maliyetleri azaltacak şekilde uygun saklama koşulları ve kolay tedarik sürecinin sağlanması, ilgili diğer paydaşlar yanı sıra eczacının da sorumluluğunda olan akılcı ilaç kullanımının önemli alanlarıdır.^{3,7,8}

Doğru tedavi sürecinin başlaması için doğru reçetelemeyle birlikte hastanın bilgilendirilmesi, akılcı ilaç kullanımında gerek hekimin gerekse de eczacıların önemli rolleri arasındadır. Ayrıca hastanın kendi tedavisini yürütmek istediği durumlarda danışacağı ilk sağlık personeli eczacılardır. Bu süreçte eczacı, hastayı doğru ilaç tedarik süreci ve doğru kullanımı konusunda yönlendirmelidir.⁸ Bu noktada reçetenin kontrol edilip varsa yanlışlıkların tespiti sorumluluğu da eczacıya aittir. Eczacıların akılcı ilaç kullanımı sürecindeki rolünün önemini ortaya çıkaran diğer bir durumda tezgah üstü ilaçların satışına ilişkindir. Bu ilaçlar, hekim müdahalesi gerektirmeyen hastalıkların tedavisinde, sadece eczacının tavsiyesiyle, kısa bir süre içinde kullanılan ve belirlenen sınırlı endikasyonlarda etkili oldukları kabul edilen ilaçlardır.³

Sonuç olarak, eczacının tedavi sürecinde son basamak olması nedeniyle reçetelenen ilacı hastaya temin edip nasıl kullanılacağına dair bilgilendirme ve hastanın uyumunu artırmak rolü AİK'de son derece önemlidir.³ Dolayısıyla eczacının tutum ve davranışlarının akılcı ilaç kullanımını destekleyecek nitelikte olması önemlidir. Bu çalışmada; eczacıların AİK hakkındaki bilgi düzeylerinin ölçülmesi, tutum ve davranışlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan izin alınmıştır.

Sakarya ilindeki serbest eczacıların akılcı ilaç kullanımına yönelik bilgi düzeyi, tutum ve davranışlarına ilişkin veriler ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Veri toplam aracı olarak araştırma amacına uygun olarak Sağlık Bakanlığı İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Akılcı İlaç Şube Müdürlüğü'nün hastanelerde akılcı ilaç kullanımını değerlendirmek üzere oluşturduğu anketlerden eczacılara yönelik olarak hazırlanan "Hastane Eczacılarını Değerlendirme Formu" kullanılmıştır. Anket formunun yapısı değerlendirildiğinde ilk altı soru ile katılımcıları tanımlayan sorulara yer verilmiştir. Bu doğrultuda eczanede çalışan eczacının cinsiyeti, yaşı, eğitim düzeyi ve mesleki tecrübe yılı gibi genel tanımlayıcı soruların yanı sıra, eczanenin konumu ve eczanede çalışan kişi sayısı gibi eczanenin faaliyetini ortaya koyan genel sorular da yöneltilmiştir.

Anketin ikinci bölümünde eczacıların akılcı ilaç kullanımı konusunda bilgi, tutum ve davranışlarını ölçme ve değerlendirilmesine ilişkin soruların yer almaktadır. Araştırma sonucundan elde edilen veriler SPSS 20.0 paket programı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

Bu araştırmanın ana kütlesi, Sakarya ilinde faaliyet gösteren serbest eczacılardan oluşmaktadır. Faaliyette bulunan 274 eczacının tümüne ulaşılması amaçlanmış ancak çeşitli nedenlerle (ankete katılmada isteksizlik, eczacının eczanede bulunmaması vb.) bazı eczacılar ankete katılım göstermemiş dolayısıyla da ankete katılmayı kabul eden 163 eczacıya ulaşılarak yüz yüze görüşmeler neticesinde araştırma gerçekleştirilmiştir. Eksik veri içermesi nedeniyle 11 anket formu değerlendirme dışı bırakılarak çalışma, ankete katılmaya kabul eden 152 eczacıdan toplanan verilerle gerçekleştirilmiştir.

Verilerin analizinde anketin birinci bölümünde yer alan sosyo-demografik özellikler yanı sıra eczanenin konumu, yardımcı personel sayısı, yardımcı personel tecrübesi, Türkiye Farmakovijilans Merkezi (TÜFAM)'ne yan etki bildirimi, eczacının başvurduğu bilgi kaynakları, ilaç bilgi düzeyleri, eczanenin saklama koşulları, hastaların danış-

tığı konular, reçetelerde karşılaşılan sorunlar, ilaç vermede sorunlara yol açan nedenler, ilaç kullanımı hakkında bilgi verme, hangi hastalıklarda reçetesiz ilaç alma talep durumları gibi AİK'e ilişkin verilere ait yüzde, frekans, aritmetik ortalama, standart sapma hesaplanmıştır. Eczacıların AİK'na yönelik bilgi tutum ve davranışlarının, yaş, cinsiyet, mesleki tecrübe, çalışan yardımcı personel sayısı, yardımcı personelin mesleki tecrübesine göre anlamlı fark gösterip göstermedikleri ki-kare analizi ile hesaplanmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya katılan eczacıların %55.3'ü erkek, %44.7'si kadındır. Katılımcıların %90,7'si lisans düzeyinde bir eğitime sahip olup, yaş ortalaması değişiklik göstermekle beraber %35.8 ile en çok 30-39 yaş aralığına mensuptur. Katılımcıların mesleki tecrübe süreleri değerlendirildiğinde 15 yıl ve altı mesleki tecrübeye sahip katılımcı oranı %57.9 iken, 15 yıl üzeri mesleki tecrübeye sahip katılımcıların oranı %42.1'dir. Ayrıca katılımcıların %96'sı eczanesinde 4 ve altı çalışana sahipken, %4'ü ise 4 üzeri çalışana sahip eczanelerdir. Çalışmaya katılan eczanelerin %55.3'ü hastane, aile hekimliği vb. bir sağlık kuruluşunun çevresinde faaliyet gösterirken, diğer eczaneler %44.7'lik orana sahiptir. Araştırmada yer alan eczacıların sosyo-demografik özellikleri ve akılcı ilaç kullanımına yönelik düşünceleri Tablo 1'de verilmiştir.

Katılımcıların %41,6'sının iki çalışana sahip olduğu, yaklaşık dörtte birinin ise 3 çalışana sahip olduğu görülmektedir. 8 çalışana sahip olan eczane sayısı yalnızca bir iken 6 çalışana sahip olan eczane sayısı iki, 5 çalışana sahip olan çalışan sayısı ise üçtür.

Katılımcılar, ilaç ile ilgili bilgi almak için başvurdukları bilgi kaynaklarının neler olduğuna yönelik verdikleri cevaplar değerlendirildiğinde ankete katılan eczacıların çoğunun RxMediaPharma'ya başvurduğu saptanmıştır. Eczacıların bilgi almak için en çok başvurduğu diğer kaynakların sırasıyla internet, meslektaşlar ve farmakoloji kitaplarıdır.

Özellikler	Seçenekler	f	%
Çalışılan Kurum	Hastane Çevresi Eczanesi	48	31,6
	Aile Hekimliği Eczanesi	36	23,7
	Diğer	68	44,7
Cinsiyet	Kadın	68	44,7
	Erkek	84	55,3
Eğitim Düzeyi	Lisans	137	90,7
	Yüksek Lisans	14	9,3
Yaş	20-29	34	22,5
	30-39	54	35,8
	40-49	41	27,2
	50-59	16	10,6
	60 ve üzeri	6	4
Mesleki Tecrübe (Yıl)	1-7	54	35,5
	8-14	34	22,4
	15-21	39	25,7
	22-28	14	9,2
	29 ve üzeri	11	7,2
Eczanede Çalışan Kişi Sayısı	1	23	15,4
	2	62	41,6
	3	36	24,2
	4	22	14,8
	5	3	2,0
	6	2	1,3
	7	0	0
	8	1	0,7

Eczacıların ilaçlara yönelik bilgi düzeylerine ilişkin bulgular değerlendirildiğinde (Tablo 2), katılımcıların büyük çoğunluğunun, % 92.8'i (%69.1 ile iyi, %23.7 ile çok iyi,) endikasyonlar hakkındaki bilgi düzeylerini iyi ve çok iyi olarak değerlendirdikleri saptanmıştır.

Kontrendikasyonlar hakkındaki bilgi düzeyleri için ise katılımcıların %52.6 'sı orta, %39.5 ise iyi olarak değerlendirdiği saptanmıştır. Ayrıca eczacıların %50'si ilaçların yan etkileri hakkındaki bilgi düzeylerini orta olarak değerlendirirken, %42.8'i iyi olarak nitelendirmiştir. İlaçların kullanımı sırasında diğer ilaç ya da besinlerle etkileşimi ile ilgili bilgi düzeylerini iyi ve çok iyi değerlendiren katılımcı

sayısı 97 (%63.9)'dir. İlaçlara ilişkin uyarı ve önlemler konusunda katılımcıların %55.3'ü bilgi düzeylerini iyi, %26.3'ü çok iyi şeklinde değerlendirmişlerdir. İlaçların gebelik, pediatri, yaşlılara yönelik özel durumları hakkındaki bilgi düzeylerini ise katılımcıların %45.4'ü iyi ve %19.7'si çok iyi olduğunu belirtmişlerdir. İlaçların biyoeşdeğerlilik hakkındaki bilgi düzeylerini değerlendiren katılımcılardan 74 (%48.7) eczacı iyi, 20'si (13.2) çok iyi, 4 (%1.3)'ü ise kötü ve çok kötü düzeyde bilgi sahibi olduklarını belirtmişlerdir.

Katılımcı eczacıların reçetede hastanın halen kullandığı ilaç(lar) ile ilgili bir etkileşim fark edildiğinde büyük ço-

Bilgi Düzeyi	Çok Kötü	Kötü	Orta	İyi	Çok İyi	Ort.
	%	%	%	%	%	
Endikasyonlar	1,3	-	5,3	69,1	23,7	4,14
Pozoloji ve Uygulama Şekli	0,7	-	9,9	57,9	31,6	4,20
Farmakolojik Özellikleri	1,3	0,7	13,2	57,9	27	4,09
Kontrendikasyonlar	1,3	2,0	52,6	39,5	4,6	3,44
Yan Etkiler	0,7	2,0	50	42,8	4,6	3,49
İlaçların Etkileşimleri (ilaç/besin)	0,7	3,9	31,6	46,1	17,8	3,76
Uyarılar, Önlemler	2	2	14,5	55,3	26,3	4,02
Özel Durumlar (gebelik, pediatri vb.)	2,0	0,7	32,2	45,4	19,7	3,80
Biyoeşdeğerlik	1,3	1,3	35,5	48,7	13,2	3,71

ğunluğu (%73,5) hekimle konuşup gerekli düzeltmeleri yaptırma yolunu seçerken, eczacıların %22,5'i ise hastayı söz konusu durum ile ilgili bilgilendirerek gerekli düzenlemelerin yapılması yolunu tercih ettiğini bildirmiştir. Hekimin yazdığı reçeteyi aynı şekilde sorgulamadan veren katılımcı oranının ise sadece %2,6 (4 eczacı) olduğu gözlenmiştir.

Arştırmada katılımcı eczacıların reçetelerle ilgili en çok karşılaştığı sorun %78.9 ile “okunaksız el yazısı” olduğu belirlenmiştir. Katılımcıların en az karşılaştığı sorunların ilki %46.3 ile “ilacın kullanım süresinde hata yapılması”, ikincisi %44.7 ile “ilacın dozunda hata yapılması” olduğu görülmüştür.

Temmuz 2012 tarihinden itibaren uygulanmaya başlanan e-reçete uygulaması bu sorunun giderilmesi ve okunaksız el yazısından ortaya çıkan AİK yanlışlarının giderilmesi açısından önemli bir adım olmuştur. Ancak eczacıların verdiği cevaplara bakılırsa, uygulamanın Sakarya ilinde verimli bir şekilde uygulanmadığı ve ortaya çıkan sorunların giderilmesinde yeterli olmadığı anlaşılmaktadır.

Katılımcı eczacıların ilaç vermede sorun yaşamalarına yol açan nedenlere ilişkin bulgular incelendiğinde katılımcı eczacıların ilaç vermede sorun yaşamalarına yol açan nedenler içinde büyük çoğunluğu (%54,3) “okunaksız re-

çetenin”, yaklaşık dörtte birinin ise (%23.4) “benzer isim ilaçlarının oluşturduğu” belirlenmiştir (tablo 3).

İlaç Vermede Sorunlara Yer Açan Nedenler	Cevaplar	
	Frekans	%
Okunaksız reçete	146	54,3
Reçetede ilaç sayısının fazlalığı	5	1,9
Eczanedeki yoğun iş temposu	35	13,0
Eleman sayısının az olması	20	7,4
Benzer ilaç isimleri	63	23,4
Toplam	269	100,0

Sorunların günlük ortalama kaç kez yaşandığının sorulduğu sorunun cevapları değerlendirilmiş ve belirtilen sorunların günlük ortalama 5.06 kez ortaya çıktığı ifade edilmiştir.

Eczacıların hastalar tarafından kendilerine en çok danışılan durumlara ait verdikleri cevaplara göre (Tablo 4) Hastalar tarafından eczacılara en çok danışılan konu ise 4.57 ortalama ve %71.6 ile en çok danışılan konu “ilacın aç veya tok karnına alınması”, en çok danışılan ikinci konu 4.24 ortalama ile ilacın dozuna ilişkin sorular olurken, hastalar tarafından en az danışılan konu 2.66 ortalama ile ilacın uy-

Tablo 4. Hastalar Tarafından En Çok Danışılan Konular

Danışılan Durum	En Az	2	3	4	En Çok	To (f)
	%	%	%	%	%	
İlacın aç veya tok karnına alınması	2	1,4	5,4	19,6	71,6	148
İlacın dozu	0,7	5,6	14,7	27,3	51,7	143
İlacın alınma sıklığı	1,3	6	20,7	40	32	150
İlacın uygulama süresi	3,9	17,8	26,3	31,6	17,8	148
İlacın uygulama yolu	16,8	35,6	22,8	14,8	10,1	149

gulama yolu olmuştur.

Akılcı ilaç kullanımında hastaların eczacıdan reçetesiz ilaç talep durumu sorusuna ilişkin cevapları incelendiğinde hastaların günlük müstahzar adı belirterek reçetesiz ilaç alma sayılarının ortalama olarak 44,33 olduğu saptanmıştır.

Eczacıların hastanın uyumunu artırmak amacıyla hastalara ilaç kullanımı hakkında bilgi verip vermemelerine yönelik sorulara verdikleri yanıtlara ilişkin bulgular değerlendirildiğinde %91,9'unun reçetesiz ürün alımlarında hastalara ilaç kullanımı hakkında bilgi verdiklerini, belirtmişlerdir. Reçetesiz ürün alımlarında hastalara temin etmek istedikleri ilaçların ne için istediklerini soran katılımcı eczacı sayısı 97 (%64,7) olduğu belirlenmiştir. Hiç sormayan katılımcı eczacıların oranı ise %12'dir (Tablo 5).

Ayrıca eczaneden ilaç temininde bulunan kişilere "Akılcı İlaç Kullanımı" konusunda 44 (%31,7) katılımcı eczacı bilgi verdiğini belirtmektedir (tablo 5). Tablo 5'te görüldüğü gibi eczacıların sadece %2,1'i özel saklama koşulu gerektiren ilaçların teslimi sırasında, saklama koşulu ile

ilgili bilgi verme ve özen gösterme konusunda uyarıda bulunmadığını beyan etmiştir. Hemen hemen eczacıların tamamı (%97,9) bu konuda hastaları bilgilendirdiklerini söylemiştir.

Eczacıların AİK sürecinde hastanın uyumunun artırması ve AİK sürecinin doğru bir şekilde işlemesi için hekimle işbirliği içinde olması gerekmektedir. Eczacının bu yöndeki tutum ve davranışlarını ölçmeye yönelik eczacının hasta için yapılan hatalı veya ilaç etkileşimi içeren istemler için hastanın hekimi ile iletişime geçip geçmediği sorusu yöneltilmiş ve katılımcıların yaklaşık %98'i (147) hasta için yapılan hatalı veya ilaç etkileşimi içeren istemler için hastanın hekimi ile iletişime geçtiğini belirtmiştir.

Eczanede saklama koşullarının takibine yönelik bulgular değerlendirildiğinde katılımcıların büyük çoğunluğu (%67,1) saklama koşullarının takibini; belirli aralıklarla, sorumlu kişiler tarafından anlık ölçümler yapıp kayıt edilerek gerçekleştirirken %32,9'u ise uyarı sistemi olan ve kalibrasyon takibi yapılan elektronik cihazlarla sürekli takip edilerek yapıldığını belirtmişlerdir.

Tablo 5. Eczacılara Hastalar tarafından ilaç Kullanımı ile ilgili Sorulan Sorular

	F	%	F	%	F	%	F	%
Reçetesiz ilaç Kullanımında Hastalara İlaç Kullanımı Hakkında Bilgi Verme	137	91,9	-	-	12	8,1	149	100
Hastalara Temin Etmek İstedikleri İlaçları Ne İçin İstediklerini Sorma	97	64,7	18	12	35	23,3	150	100
Akılcı İlaç Kullanımı Üzerine Bilgi Verme	44	31,7	30	21,6	65	46,8	139	100
Saklama Koşuluna Ait Bilgi Verme	143	97,9	-	-	3	2,1	146	100

Son olarak reçetelerde günlük antibiyotik, analjezik, enjeksiyonluk ilaç yazılma adedi ve reçete başına ortalama ilaç sayısına ilişkin bulgular değerlendirilmiş ve reçetelerde reçete başına ortalama ilaç sayısının 3,24 ilaç olduğu belirlenmiştir (Tablo 6).

Ayrıca reçetelerde her 100 adet reçetenin ortalama 49,81'inde analjezik (ağrı kesici), her 100 adet reçetenin içerisinde ortalama olarak 28,99 enjeksiyonluk ilaç, her 100 adet reçetenin içerisinde ortalama olarak 27.01 antibiyotik yer aldığı saptanmıştır. Antibiyotik kullanımının

	f	Ortalama	Min.	Max.
Reçetelerde Günlük Antibiyotik Yazılma Adedi	149	27,01	5	90
Reçetelerde Günlük Analjezik İlaç Alma Sayısı	149	49.81	10	100
Reçetelerde Günlük Enjeksiyonluk İlaç Alma Sayısı	149	28.89	1	70
Reçetelerde Reçete Başına Ortalama İlaç Sayısı	149	3.24	2	4

hala beklenenden yüksek olduğu görülmektedir. Bunun birçok nedeni olabilir. Ancak reçete yazımında ve isteminde hala toplumda akılcı antibiyotik kullanımına yönelik yeterli bilincin oluşmadığı söylenebilir.

TARTIŞMA

Akılcı ilaç kullanımı; hasta, hekim, eczacı, sağlık personeli (hemşire, hasta bakıcı vb.) ve hasta yakını gibi pek çok paydaşı yakından ilgilendiren ve tedavi sürecinin verimliliğini artırıp toplumsal maliyetini minimize etmeyi amaçlayan politikalar bütünüdür. AİK eczacılar, birçok önemli paydaş içinde yer alır. Eczacılar, hem hekimin reçetelediği ilacın hastaya doğru kullanım talimatlarını belirterek teminini hem de hastanın tedavi sürecinde ilaç kullanımının kontrolünü sağlaması açısından AİK sürecinde önemli role sahiptir. Ayrıca ilaç tedarik ve muhafaza sürecinde de AİK politikaları çerçevesinde önemli sorumluluk ve yükümlülükleri vardır.

Çalışmada AİK bünyesinde değerlendirebileceğimiz eğitim programlarına ilişkin olarak katılımcı eczacıların %47.7'sinin daha önce hiç hizmet içi eğitim almadığı sonucuna ulaşılmıştır. Ankete katılan eczacıların ortalama mesleki deneyim süresinin 11 yıl olduğu dikkate alındığında eczacılara yönelik hizmet içi eğitimlerin yetersizliği dikkat çekmektedir. Doğukan'ın önemli diğer bir paydaş olan hekimler üzerinde yaptığı çalışmada katılımcı hekim-

lerin %88.4'inin AİK kapsamında eğitim almadıklarını belirterek ve sadece %53.2'sinin AİK hakkındaki bilgi düzeylerini yeterli gördüklerini dile getirmişlerdir.⁹

Çalışmamızda eczacıların ilaçlara yönelik bilgi düzeylerini değerlendirilmesi istendiğinde eczacıların yarıdan fazlasının bilgi düzeylerini iyi olarak tarif ettikleri görülmektedir. Bu tutum eczacıların eğitim almayı gerekli görmemelerinin önemli bir nedeni şeklinde değerlendirilebilir. Ancak bu tutumun lisans eğitimi çok önce tamamlayan eczacıların, teorik bilgilerinin güncellenmesi ve uygulanan yeni sağlık politikalarından yeterince haberdar olmamalarına neden olacağını düşündürmektedir.

Eczacıların AİK sürecinde hastanın ilaç kullanımıyla ilgili karşılaştığı önemli sorunlardan biri, hastanın hastalık geçmesine uygun ilacın verilmemesi durumu ve ilaçla ilgili yaşanan olumsuz geri bildirimlerdir. Böyle bir durumda eczacıların büyük çoğunluğu doğru hareket ederek hastayı hekimine yönlendirdiğini ifade etse de yan etki bildiriminde bulunma oranları oldukça düşüktür. 2015 yılında hiç bildirimde bulunmadığını bildiren eczacı oranı %95 iken, 2016 yılında bu oran %91'dir. Kamuoyunun ilaçların olumsuz etkilerinin geri bildirildiği bir sistemin varlığından haberdar olmamaları bu durumun önemli bir sebebi olabilir.

Eczacıların gelen reçetelerde en çok karşılaştığı sorunlardan biri “ilacın kullanım süresi ve dozu ile ilgili hastaya yetersiz ve yanlış bilgi verilmesidir. Bu sorunun giderilmesine yönelik hekimlerle mülakatlar gerçekleştirilerek eksikliğin tespit edilmesi ve eğitimlerin düzenlenmesi önerilebilir. Chareonkul ve arkadaşlarının çalışmasında hastaların doğru dozaj bilgisinin % 45 ile 65 aralığında olduğu ve ilaç uygulamasına yönelik talimatların %30 ile %70 aralığında doğru bir şekilde uygulandığı sonucuna varılmıştır.¹⁰ Şahingöz ve Balcı'nın çalışmasına katılan hemşirelerin hastalık halinde %37,8'inin hekime danıştığını ve %53'ünün hekim tarafından verilen ilacın tamamıyla kullanmadıklarını, hastalık belirtisi geçtiği zaman bıraktıklarını ve %60,5'i kendisine iyi gelen ilacı başkalarına önerdiklerini ifade etmişlerdir.¹¹

Eczacıların dile getirdiği diğer bir sorun, reçetelerin okunaksız yazılmasıdır. Bu durum literatürle uyumludur. Şermet tarafından İstanbul'daki eczacılar üzerinde yapılan çalışmada da eczacının en çok karşılaştığı sorunların başında okunaksız el yazısı ve ilacın dozu ile ilgili hatalar yer almaktadır.¹² Okunaksız el yazısından kaynaklanan sorunların giderilmesi için e-reçete uygulaması, Sağlık Bakanlığı tarafından ulusal çapta başlatılmıştır.

Hastalar tarafından eczacılara danışılan konuların başında ilacın kullanım şekli, dozu, uygulama süresi gelmektedir. Bu da hastaların AİK'ında önemli bir paydaş olan hekimler tarafından bu konularda yeterli düzeyde bilgilendirmediğini gösterebilir. Eczanelerden reçetesiz ilaç alma sayısı günlük ortalama 44'tür. Reçetesiz ilaç alan hasta ile reçeteli ilaç alan hasta tarafından eczacıya yöneltilen sorular benzerlik göstermektedir. Bu durum yine hasta-hekim iletişimindeki eksikliklere dikkat çekebilir. Hekimlerin günlük baktığı hasta sayılarının yüksek olması ve hastaya yeterli zamanı ayıramaması nedeniyle hekim-hasta iletişiminin sınırlı olmasına ve AİK sürecinin düzgün işlememesine neden olduğu söylenebilir. Chareonkul ve arkadaşlarının Kamboçya'daki üç sağlık merkezinde hastalara yazılan reçetelerin analiz edilmesi sonucu akılcı ilaç kullanımı ile

ilgili bazı çıkarımlara vardığı çalışmasında; analiz edilen 330 reçeteden elde edilen sonuçlar, reçete başına ortalama ilaç sayısının 2.35 olduğunu ve reçetelerin büyük bir kısmının, istenmeyen ilaç etkileşimleri ile sonuçlanabilecek iki veya daha fazla ilaç içerdiğini göstermektedir. Hastaların reçete yazanlar ve dağıtıcılar ile harcadığı zamanın sınırlı olduğu: danışma süresi ve satın alma süresinin yaklaşık 4 dakika ile sınırlı kaldığı tespit edilmiştir.¹⁰ Desta ve arkadaşlarının Etiyopya'da birincil sağlık basamaklarında akılcı ilaç kullanıma yönelik yaptıkları araştırmada, ortalama konsültasyon süresi 5 ile 6 dakika arasında değişirken, dağıtım süresi 1.5 ile 2 dakika arasında değişmektedir. Her iki hasta bakım göstergesi de hasta memnuniyetini genel sağlık hizmetine ve hastaya önemli doz talimatları hakkında hasta bilgisini etkilemek için yeterli olduğu belirtilmiştir. Reçete başına düşen ilaç sayısının iki veya daha fazla ilacı içerdiği ve bunların ilaçların istenmeyen ilaç etkileşimlerine yol açabileceği belirtilmiştir.¹³ Çalışmamızda ise farklı olarak reçete başına ortalama ilaç sayısının 3,24 ilaç olduğu belirlenmiştir.

AİK sürecinde hekim-eczacı-hasta üçlüsünün arasındaki iletişimin sorgulandığı soruda, ankete katılanların %97,4'ü reçetelenen ilaçla ilgili karşılaştığı sorunlar karşısında hekimle iletişime geçtiğini ifade etmiştir. Çalışmaya verilen cevaplar literatürle uyumludur. Anket çalışmasının sürdürülmesinde karşılaşılan önemli kısıtlardan biri eczacının eczanede bulunmamasıdır. Bu durumda eczacının hastayı AİK çerçevesinde bilgilendirmesi, hekime geri bildirim yapabilmesi ve olası geri bildirimlerin yan etki sistemine girişinin sağlanmasının önündeki engellerden biridir.

AİK sürecinde eczacıların en önemli görevlerinden biri hastaların uyumunu artırmaya yönelik tedavi süreci ve ilaç kullanımına dair bilgi vermesidir. Sakarya'daki eczacılara yöneltilen sorulara verilen cevaplar değerlendirildiğinde eczacıların hem reçeteli hem de reçetesiz ilaç alımlarında hastaya ilacın kullanım süresi, dozu ve saklama koşulları hakkında büyük ölçüde bilgilendirildiği sonucuna varılmıştır. Bu durumda Sakarya'daki çalışmaya katılan eczacı-

ların AİK sürecinde hastayı bilgilendirmeye yönelik bilinç düzeyinin yüksek olduğu söylenebilir.

AİK sürecinde eczacının sorumluluğunda olan diğer bir konu ilaçlara uygun saklama koşullarının sağlanması ve kontrolünün yapılmasıdır. Sakaryada ankete katılan eczacıların üçte biri saklama koşullarını teknolojiden faydalanarak pratik şekilde yaparken, üçte ikisi hala kendisinin belli aralıklarla kontrol ettiğini ve kayıt altına aldığını ifade etmiştir. Bu durum eczacının iş yükünü artıran ve büyük oranda zamanını alan zahmetli bir iştir. Ancak hem iş yükünün azaltılması hem de kontrollerde yapılan hataları en aza indirmek adına eczacıların teknolojiye uyum sağlanması gerektiği söylenebilir.

Enjeksiyonluk ilaç ve antibiyotik içeren reçete sayısının, toplam reçete sayısına oranı, ülkenin akılcı ilaç kullanımına ilişkin bilinç düzeyini ortaya koyan ve DSÖ ile INRUD tarafından kabul edilen önemli bir ölçüttür.¹² Çalışmaya katılan eczacılar, günlük reçetelenen antibiyotik oranını %27, enjeksiyonluk ilaç oranını %29 olarak rapor etmiştir. Bu durum toplumda AİK bilinç düzeyini ortaya koyan önemli bir ölçüttür. Şermet tarafından İstanbul'daki eczacılar üzerinde yaptığı çalışmasında reçetelenen antibiyotik oranı %40.7 olarak, enjeksiyonluk ilaç oranı %13.2 olarak belirtilmiştir.¹² Chareonkul vd.'nin çalışmasında da hastaların antibiyotik kullanımı %66 ile %100 aralığında değişmekte ve yüksek bir oranı temsil etmektedir¹⁰. Şahingöz ve Balcı'nın hemşirelerle yaptığı çalışmada, ankete katılan hemşirelerin %92'sinin hekime başvurmadan ağrı kesici kullandıkları; %65,2'sinin hekime danışarak antibiyotik kullandıkları sonucuna ulaşılmıştır.¹¹

Sağlık Bakanlığı'nın son yıllarda akılcı ilaç kullanımı ile ilgili yürüttüğü en önemli çalışma antibiyotik kullanımına karşı toplum bilincini artırmak ve gereksiz antibiyotik kullanımını azaltmaktır. Bu politika çerçevesinde 1 Ocak 2017 tarihinden itibaren reçetesiz antibiyotik kullanımı satışı yasaklanarak akılcı olmayan antibiyotik kullanımının önüne geçilmeye çalışılmaktadır.

Sonuç olarak akılcı ilaç kullanımında paydaşlar içinde yer alan eczacılar, hastaya ve topluma yüklenen gerek ekonomik gerekse de sosyal maliyetini azaltacak şekilde reçetelenen ilacın uygun kullanılmasına ilişkin hastayı bilgilendirilmesi, yönlendirilmesi ve hastanın uyumunu artıracak şekilde hastayı eğitmesi gibi bir takım önemli sorumlulukları vardır. Bu sorumlulukları yerine getirmede kolaylık sağlaması açısından eczacılarla yapılan yüz yüze görüşmeler neticesinde akılcı ilaç kullanımına ilişkin eczacıların bazı görüş ve önerilerine ulaşılmıştır. Bunlar:

- Akılcı ilaç kullanımı hakkında halkın bilinç düzeyinin artırılması: Bunun için kamu spotlarıyla halkın bilinçlendirilmesi sağlanabilir. Ayrıca uzman tavsiyesinden uzak, komşu-arkadaş tavsiyesiyle alınan ilaç kullanımına karşı halkın bilinçlendirilmesi, böylece eczacının muhatap olduğu hastanın bilgi ve bilinç düzeyinin artırılması eczacıya düşen görev ve sorumluluğun hafifletilmesi sağlanabilir.
- Eczanede sistem kaynaklı sorunların çözülmesi:
- Diğer paydaşların da AİK konusunda sorumluluklarını yerine getirmesi: Eczacıların AİK hakkında tutum ve davranışlarının sorgulandığı anket sonucunda eczacılar tarafından hekimlerin büyük kısmının ilaç konusunda hastayı bilgilendirmediği, hastanın hastalık geçmişi ve alerji öyküsünün yeterince sorgulamadığı ve hastaya endikasyon dışı ilaç yazıldığı belirtilmiştir. Bu durumda eczacı ve hastanın AİK hakkında bilinç ve bilgi düzeyinin artırılması yanı sıra hekimlere de yönelik eğitimlerin gerekli olduğu söylenebilir.
- Çalışmada nöbet günlerinde aşırı iş yoğunluğunda yeteri kadar personel bulunamadığı için AİK sürecine yönelik yeterli bilgi verilemediği dile getirilmiştir. O halde nöbet günleri için çalışan eczane sayısının artırılması bu sorunun giderilmesi açısından önemlidir.

Kaynaklar

1. Yorulmaz F. Reçeteleme Kusurları Halk Sağlığını Olumsuz Etkiliyor. *TTB Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*. 2003; 12(6): 218-221.
2. Yılmaztürk A. Türkiye'de Dünyada Akılcı İlaç Kullanımı. *Kastamonu Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*. 2013; 2(2):42-49.
3. Toklu HZ. Eczacılık Uygulamalarında Akılcı İlaç Kullanımı. *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics*, 2015; 3(1): 74-83.
4. Akıcı A, Uğurlu Ü, Gönüllü N, Oktay Ş, Kalaça S. Pratisyen Hekimlerin Akılcı İlaç Kullanımı Konusunda Bilgi ve Tutumlarının Değerlendirilmesi. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 2002; 11(7): 253-257.
5. Eşkezan E. Akılcı İlaç Kullanımı. I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı İlaç Kullanımı Sempozyumu, 14 Ocak 1999, İstanbul, s.9-20.
6. Gelal A. Yaşlılarda Akılcı İlaç Kullanımı", *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics*. 2015; 3(1):57-64.
7. Toklu HZ, Akıcı A, Uysal MK, Dülger GA. Akılcı İlaç Kullanımı Sürecinde Hasta Uyuncuna Hekim ve Eczacının Katkısı. *Türk Aile Hekimliği Dergisi*. 2010; 14(3):139-145.
8. Toklu HZ ve Dülger GA. Akılcı ilaç kullanımı ve Eczacının Rolü. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2011; 15: 89-93.
9. Doğukan MN. Ankara İli Keçiören Sağlık Grup Başkanlığı'na Bağlı Birinci Basamak Sağlık Kuruluşlarında Çalışan Hekimlerin Akılcı İlaç Kullanımı Konusunda Bilgi ve Tutumlarının Değerlendirilmesi", *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2008.
10. Chareonkul C, Khun VL, Boonshuyar C. Rational drug use in Cambodia: study of three pilot health centers in Kampong Thom Province. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2002; 33(2):418-424.
11. Şahingöz M ve Balcı E. Hemşirelerin Akılcı İlaç Kullanımı. *TAF Preventive Medicine Bulletin*. 2013; 12(1):57-64.
12. Şermet S. Akılcı İlaç Kullanımında Dış Hekimi ve Eczacının Rolü. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 2008.
13. Desta Z, Abula T, Beyene L, Fantahun M, Yohannes AG, Ayalew S: Assessment of Rational Drug Use and Prescribing in Primary Health Care Facilities in North West Ethiopia. *East African Medical Journal*. 1997; 74(12):758-763

The Relationship Between the Presence of Early Repolarization Pattern and the Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Stable Coronary Artery Disease

Stabil Koroner Arter Rahatsızlığı Olan Hastalarda Erken Repolarizasyon Patern Varlığı ile Koroner Arter Hastalığının Ciddiyeti Arasındaki İlişki

Serhat Karaman¹, Kayıhan Karaman², Abuzer Coşkun³

¹ Department of Emergency Medicine, Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine, Tokat, Turkey

² Department of Cardiology, Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine, Tokat, Turkey

³ Department of Emergency Medicine, Sivas State Hospital, Sivas, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Serhat Karaman

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Ana Bilim Dalı, Tokat 60100, Tokat, Türkiye

T: +90 505 400 1506 E-mail: drserhatkaraman@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.02.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 26.02.2019

Abstract

Objective Although early repolarization pattern (ERP) has been recognized as a benign variant, in recent studies have shown that it is associated with life-threatening arrhythmias. There are different studies demonstrated that there is a strong relationship between life-threatening arrhythmias and the severity of coronary artery disease (CAD). In this study, we aimed to determine whether Gensini Score (GS) values are higher in patients with ERP. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):112-119)

Materials and Methods Totally 110 patients with ERP and 90 control subjects were enrolled to the study. GS was calculated for each patient. p values < 0.05 were considered significant

Results GS was significantly higher in the ERP patients compared with the control group (19.5±20.2 vs 2.15±4.1; p<0.001). There was significant correlation between GS and age (r=0.507, p<0.001). GS was an independent predictor of ERP in multivariate logistic regression analysis (OR=0.655, 95% CI= 0.557-0.769, p<0.001). In addition to, age and low-density lipoprotein cholesterol were independent predictors associated with GS in linear regression analysis (OR=0.370, 95% CI=0.085-0.655, p=0.011 and OR= -0.094, 95% CI= (-0.176-0.013), p=0.024, respectively).

Conclusions An increase in the severity of CAD may be shown as a mechanism that leads to the emergence of ERP.

Keywords Early repolarization pattern; Gensini score; Stable Coronary Artery Disease

Öz

Amaç Erken repolarizasyon paterni (ERP) iyi huylu bir varyant olarak kabul edilmesine rağmen, son zamanlarda yapılan çalışmalarda hayatı tehdit eden aritmilerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hayatı tehdit eden aritmi ve koroner arter hastalığının (KAH) şiddeti arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösteren farklı çalışmalar vardır. Bu çalışmada, ERP'li hastalarda Gensini Skoru (GS) değerlerinin daha yüksek olup olmadığını belirlemeyi amaçladık. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):112-119)

Gereç ve Yöntemler Çalışmaya ERP'li toplam 110 hasta ve 90 kontrol grubu alındı. Her hasta için GS hesaplandı. p< 0.05 anlamlı kabul edildi.

Bulgular GS, ERP'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (19.5±20.2 ve 2.15±4.1; p<0.001). GS ile yaş arasında anlamlı ilişki vardı (r= 0.507, p< 0.001). GS, çok değişkenli lojistik regresyon analizinde bağımsız bir ERP belirleyicisidir (OR= 0.655, %95 CI= 0.557-0.769, p<0.001). Ek olarak, yaş ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolü, lineer regresyon analizinde GS ile ilişkili bağımsız öngörücülerdi (OR= 0.370, %95 CI= 0.085-0.655, p= 0.011 ve OR= -0.094, %95 CI= (-0.176-0.013), sırasıyla p= 0.024).

Sonuçlar KAH'nın ciddiyetindeki artış, ERP'nin ortaya çıkmasına yol açan bir mekanizma olarak gösterilebilir.

Anahtar Kelimeler Erken repolarizasyon paterni; Gensini skoru; Stabil Koroner Arter Hastalığı

INTRODUCTION

Early repolarization pattern (ERP) is characterized by a J-point (between the end of the QRS complex and the beginning of the ST segment) elevation of at least one mm in two contiguous leads with a “notching” type appearance or a “slurring” in the inferior, lateral, or inferolateral leads on a surface electrocardiogram (ECG).¹ It has been recognized as a benign variant, especially in healthy young male subjects, although recent studies have shown that ERP is associated with an increased risk of cardiovascular death and sudden cardiac death (SCD).²⁻⁵ However, few studies have investigated the relationship between atherosclerotic heart disease and ERP. These studies have investigated the association between ERP and the risk of ventricular tachycardia (VT)/ventricular fibrillation (VF) and SCD in patients with acute coronary syndrome and have suggested that ERP might increase the risk of VT/VF.^{6,7}

Different studies confirmed a strong and consistent association between life-threatening arrhythmias and coronary artery disease (CAD).^{8,9} Gensini Score (GS) is used to determine the extent and severity of CAD. GS is a scoring system which is primarily calculated based on the involved artery, the extent of atherosclerosis, and the existence of collateral.¹⁰ The aim of this study was to determine whether the GS value is higher in patients with ERP compared patients without ERP.

MATERIALS and METHODS

Study Design

The present study is a cross-sectional descriptive study.

Study Population

A total of 200 patients with stable angina pectoris (110 patients with ERP [55 men; mean age, 60.0±8.0 years] and 90 patients without ERP in the control group [41 men; mean age, 58.4±8.9]) who were admitted to the cardiology clinic and emergency services department from March 2012 to December 2017 were included in the study. The patients were included in the study when they presented to the car-

diology clinic for the first-line control. All patients recruited for the study had objective signs of ischemia (treadmill exercise or myocardial single-photon emission computed tomography [SPECT]) and were referred for coronary angiography. Patients presenting with acute myocardial infarction, a history of PCI or coronary artery bypass grafting, end-stage renal disease, cardiomyopathies, moderate to severe valvular heart diseases, heart failure, atrial fibrillation, complete right or left bundle branch block, channelopathies, including long QT syndrome, Brugada Syndrome, and malignancy were excluded from the study. Patients taking medications known to have effect on QT interval, such as tricyclic antidepressants, β -blockers, calcium channel blockers or antiarrhythmics were also excluded. Patients with hypertension were under the treatment of angiotensin converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers. Approval was obtained from the local ethics committee for this study, and complied with the Declaration of Helsinki.

Electrocardiographic and Echocardiographic Examination

Twelve-lead ECGs were obtained from all subjects in a supine position at a paper speed of 25 mm/sec and a calibration of 10 mm/mV. ECGs were obtained by the same investigator using the same ECG recorder (Nihon Kohden ECG-9020K, Japan). Baseline ECGs were simultaneously evaluated in random order by two experienced cardiologists for the presence of ERP. ERP was defined as elevation of the J point (ie, the junction of the QRS complex and ST-segment) by 0.1 mV above the baseline with either QRS slurring or notching in the inferior leads (II, III, and aVF), the lateral leads (I, aVL, and V4 to V6), or both.

All echocardiography examinations (General Electric Vivid S5, Milwaukee, WI, USA) were performed by an experienced cardiologist in all subjects using a 2.5–3.5 MHz transducer in the left decubitus position. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was assessed using Simpson's method.

Coronary Angiography and Severity and Extent of Coronary Artery Disease

All patients underwent selective right and left coronary angiography through the right femoral artery using the standard Judkins technique with a MEGALIX Cat plus 125/40/90-121 GW model angiography device (Siemens Artis Zee, Forchheim, Germany). Iohexol 350/100 was used as a contrast agent, and approximately 6–8 ml of the contrast medium was injected manually for each exposure. The coronary arteries were imaged in the right and left oblique position using cranial and caudal angulations. The severity and extent of coronary atherosclerosis in patients was assessed using the GS, which grades the narrowing of the lumen of the coronary arteries as 1 for 1%-25% narrowing, 2 for 26%-50% narrowing, 4 for 51%-75% narrowing, 8 for 76%-90% narrowing, 16 for 91%-99% narrowing, and 32 for total occlusion. This score is then multiplied by a factor that takes into account the importance of the lesion's position in the coronary arterial tree; for example: 5 for the left main coronary artery, 2.5 for the proximal left anterior descending (LAD) coronary artery or proximal left circumflex (LCX) coronary artery, 1.5 for the mid-region of LAD, and 1 for the distal LAD or mid-distal region of the LCX. The GS was expressed as the total of the scores for all coronary arteries.

Statistical Analysis

All tests were performed by using PASW Statistics (SPSS 18.0 for Windows, Inc., Chicago, IL, USA). Continuous variables were expressed as mean±standard deviation, and the qualitative variables were expressed as a percentage or ratio. Compliance of the variables with normal distribution was assessed using the Kolmogorow-Smirnov test. Continuous variables were compared between groups using either the Student's t-test or the Mann-Whitney U test, depending on the variable's compliance with the normal distribution. For the qualitative variables, the chi-square test was used. Pearson correlation test was used for exploring the correlation state of some variables. Multivariate linear regression analysis was used to analyze independent predictors of GS. Multivariate logistic regression analysis was used to identify the independent predictors of ERP and independent variables that differed significantly in the univariate analyses ($p < 0.1$). A p value of less than 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Demographic and other characteristics of the ERP and control groups are shown in Table 1. There was no statistically significant difference between the ERP and the control groups with respect to age, gender, glucose, creatinine,

Table-1: Baseline characteristics, laboratory and echocardiographic parameters of the study groups

Age, years	60.2±8.1	58.8±8.9	0.225
Male, n (%)	69 (62.7)	42 (46.7)	0.059
Systolic BP, mmHg	110.2±11.4	111.±9.4	0.330
Creatinin, mg/dL	0.88±0.39	0.88±0.35	0.868
Glucose, mg/dL	92.8±9.4	90.1±8.4	0.451
Total cholesterol, mg/dL	168.2±66.7	174±50.9	0.462
LDL cholesterol, mg/dL	100.2±40.4	106.2±36.0	0.269
LVEF, (%)	63.5±4.7	63.3±5.2	0.458
Magnesium, mg/dL	2.18±0.43	2.12±0.38	0.329
Calcium, mg/dL	9.28±0.65	9.17±0.53	0.198
Sodium, mmol/L	138.7±4.1	138.9±4.2	0.716
Potassium, mmol/L	4.52±0.54	4.38±0.60	0.084
Gensini score	19.5±20.2	2.15±4.1	<0.001

BP: blood pressure; LDL: low-density lipoprotein; LVEF: left ventricular ejection fraction. Numerical variables with a normal distribution were presented as mean±standard deviation, or n (%).

LVEF, total cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol values. In addition, there was no significant difference between the groups in terms of electrolytes, such as sodium, potassium, calcium, and magnesium (Table 1). GS was significantly higher in the ERP patients compared with the control group (19.5 ± 20.2 vs 2.15 ± 4.1 ; $p < 0.001$) (Fig. 1). Pearson's correlation test was used to determine the variables associated with the GS. Pearson's correlation analysis revealed positive relationship between GS and age ($r = 0.507$, $p < 0.001$), male sex ($r = 0.215$, $p = 0.002$). However, there was no correlation among GS, systolic blood pressure, serum glucose, serum creatinin, total cholesterol, and LDL cholesterol.

Univariate and multivariate logistic regression analyses for the predictors of ERP in the study population are presented in Table 2. In the univariate analysis, potassium level and GS were associated with ERP. Variables with a p value less than 0.1 in univariate analysis were included in the multivariate model. Multivariate logistic regression analysis demonstrated that the GS was an independent predictor of ERP (OR=0.654, 95% CI=0.556-0.769, $p < 0.001$). In addition, age and LDL cholesterol were independent predictors associated with GS in linear regression analysis (OR=0.370, 95% CI=0.085-0.655, $p = 0.011$ and OR= -0.094, 95% CI= (-0.176-0.013), $p = 0.024$, respectively) (Table 3).

Table-2: Univariate and multivariate analysis for the predictors of ERP

	Univariate analysis		Multivariate analysis*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Age	0.980 (0.948-1.013)	0.224	-	-
Magnesium	0.709 (0.356-1.412)	0.328	-	-
Calcium	0.735 (0.460-1.174)	0.198	-	-
Sodium	1.013 (0.946-1.084)	0.714	-	-
Potassium	0.649 (0.396-1.063)	0.086	0.729 (0.385-1.380)	0.331
Gensini score	0.655 (0.557-0.769)	<0.001	0.654 (0.556-0.769)	<0.001

CI: confidence interval; ERP: early repolarization pattern; OR: odds ratio.
 *Variables with a $p < 0.1$ in univariate analysis were included in the multivariate model.

Table 3: Linear regression analysis for the predictors of Gensini score

	Linear regression analysis	
	OR (95% CI)	p
Male sex	3.370 (-1,543-8.282)	0.178
Age	0.370 (0.085-0.655)	0.011
Total cholesterol	0.040 (-0.019-0.100)	0.183
LDL cholesterol	-0.094 (-0.176-0.013)	0.024

CI: confidence interval; LDL: low-density lipoprotein; OR: odds ratio.

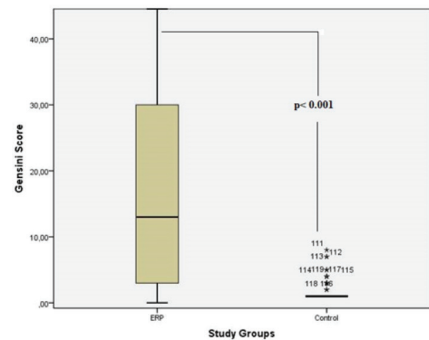


Figure 1: Mean Gensini values between the study groups

DISCUSSION

In the present study, it was demonstrated that the GS is increased in patients with ERP when compared to those in subjects without ERP. In addition, GS was an independent predictor of ERP. Thus, these findings suggest that an increase in the GS might worsen the stage of myocardial repolarization.

ERP is characterized by a prominent elevation of the J-point between the end of the QRS complex and the beginning of the ST segment on surface ECG.¹ ERP has a range of 1-13% in the general population, depending on age (predominant in young adults), race (predominant in black populations), and sex (predominant in males).¹¹ Although ERP is considered a benign ECG finding, current studies have shown that it increases the risk of ventricular arrhythmia and SCD.¹²⁻¹⁴ The underlying pathophysiologic mechanism of ERP remains elusive and most likely has a complex structure. Experimental studies suggest that J-point elevation indicates increased transmural distribution of myocardial repolarization which contributes a susceptibility to ventricular arrhythmias.¹⁵ The second possible mechanism is the dysregulation of the autonomic nervous system, and autonomic tone may play an important role in the formation of VTs associated with ERP. The reason for this is that many events have been shown to occur during an increased vagal tone, such as while sleeping or post-meal.¹⁶

Under certain conditions known to affect the distribution of myocardial repolarization, such as ischemic heart disease, patients with ERP may be at an increased risk of arrhythmia.¹⁷ Atherosclerosis is a systemic disease associated with inflammation, and there is a strong relationship between atherosclerosis and endothelial dysfunction. Endothelial dysfunction may lead to fluctuations in microvascular resistance. Atherosclerotic CAD caused by endothelial dysfunction may lead to ischemia and, in turn, to circulatory disturbances at the microvascular level

during the ongoing process.^{18,19} Myocardial repolarization parameters may be affected by ischemia as a result of the extent and severity of CAD.⁸ The GS was established to expose the severity and extent of coronary atherosclerosis. Many studies have demonstrated the relationship between myocardial repolarization and coronary atherosclerosis; however, to our knowledge, there are not yet sufficient data about the relationship between ERP and the severity of coronary atherosclerosis.

The QT interval encompasses both depolarization and repolarization, whereas the Tpeak and Tend (Tp-e) interval represents transmural dispersion of myocardial repolarization.^{20,21} Previous studies have investigated the relationship between CAD and myocardial repolarization. It has been shown that a prolonged QT dispersion (QTd) is associated with an increased risk of dangerous ventricular arrhythmias in patients with CAD.²² Goodhart et al.²³ found that revascularization in chronic total occlusion (CTO) resulted in a decrease in QTd, which was sustained at six months and also associated with improved global left ventricular function. On the other hand, in a study by Cetin et al.⁹, it was found that the Tp-e interval decreased after successful percutaneous CTO revascularization. These studies suggest that patients with increased CAD severity have an increased electrical imbalance in their myocardium.

J waves, including ERP, are associated with the occurrence of lethal arrhythmic events in patients with Brugada syndrome, ischemic heart disease, and hypertrophic cardiomyopathy.^{24,25} Recently, some researchers have investigated the relationship between ERP and cardiovascular events. Tikkanen et al.²⁶ have shown that patients with ERP have a higher risk of having ischemic events and ischemic VF. In another study, Rudic et al.⁶ have suggested that ERP seems to be associated with VTs in the setting of acute myocardial infarction. In addition to this information, ERP may point to peri-infarction block, which would indicate latent ischemic heart disease. Therefore, ERP should prompt

clinicians to consider latent ischemic heart disease before attributing the J-point elevation to a primary electrical abnormality.²⁷ However, there is currently no study investigating the relationship between CAD severity and ERP.

Study Limitations

Our study had some limitations. First, our study was single centered and included a small number of patients. Therefore, statistical power was limited. The results should be verified in a larger prospective cohort study. Second, because we did not have other ambulatory Holter measures, such as heart rate variability and heart rate turbulence, we could not investigate the relationship between the autonomic nervous system and ERP. Third, we did not have data on cardiac event rates for this study because we could not follow the study population for prospective arrhythmic events. Further comprehensive studies should be conducted with a larger number of patients and a longer follow-up time to increase the consistency of our results.

Conclusion

The increased severity of CAD is associated with an increased risk of ventricular arrhythmias. An increase in the severity of CAD may be indicative of a mechanism that leads to the formation of ERP by causing deterioration in the distribution of ventricular repolarization.

Potential Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Sources of Funding

There were no external funding sources for this study.

Study Association

This study is not associated with any thesis or dissertation work.

References

1. Macfarlane PW, Antzelevitch C, Haissaguerre M, Huikuri HV, Potse M, Rosso R, et al. The early repolarization pattern: A Consensus Paper. *J Am Coll Cardiol.* 2015;66:470-477.
2. Klatsky AL, Oehm R, Cooper RA, Udaltsova N, Armstrong MA. The early repolarization normal variant electrocardiogram: Correlates and consequences. *Am J Med.* 2003;115:171-177.
3. Haissaguerre M, Derval N, Sacher F, Jesel L, Deisenhofer I, de Roy L, et al. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *N Engl J Med.* 2008;358:2016-2023.
4. Rosso R, Kogan E, Belhassen B, Rozovski U, Scheinman MM, Zeltser D, et al. J-point elevation in survivors of primary ventricular fibrillation and matched control subjects: Incidence and clinical significance. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:1231-1238.
5. Patel RB, Ilkhanoff L, Ng J, Chokshi M, Mouchli A, Chacko SJ, et al. Clinical characteristics and prevalence of early repolarization associated with ventricular arrhythmias following acute ST elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2012;110:615-620.
6. Rudic B, Veltmann C, Kuntz E, Behnes M, Elmas E, Konrad T, et al. Early repolarization pattern is associated with ventricular fibrillation in patients with acute myocardial infarction. *Heart Rhythm.* 2012;9:1295-1300.
7. Ali Diab O, Abdel-Hafez Allam RM, Mohamed HG, Mohamed TR, Abel-Hafeez Khalid S. Early repolarization pattern is associated with increased risk of early ventricular arrhythmias during acute ST segment elevation myocardial infarction. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2015;20:474-480.
8. Taşolar H, Ballı M, Çetin M, Otlu YÖ, Altun B, Bayramoğlu A. Effects of the coronary collateral circulation on the Tp-e interval and Tp-e/QT ratio in patients with stable coronary artery disease. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2015;20(1):53-61.
9. Cetin M, Zencir C, Cakici M, Yildiz E, Tasolar H, Ballı M, et al. Effect of a successful percutaneous coronary intervention for chronic total occlusion on parameters of ventricular repolarization. *Coron Artery Dis.* 2014;25(8):705-712.
10. Gensini GG. The coronary artery disease scoring and retrieval system of Gensini. In: Gensini GG, Editor. *Coronary arteriography.* New York, NY: Futura Pub. Co.;1975. p.271-274.
11. Miyazaki S, Shah AJ, Haissaguerre M. Early repolarization syndrome – a new electrical disorder associated with sudden cardiac death –. *Circ J.* 2010;74(10):2039-2044.
12. Gussak I, Antzelevitch C. Early repolarization syndrome: clinical characteristics and possible cellular and ionic mechanisms. *J Electrocardiol.* 2000;33:299-309.
13. Shu J, Zhu T, Yang L, Cui C, Yan GX. ST-segment elevation in the early repolarization syndrome, idiopathic ventricular fibrillation, and the Brugada syndrome: cellular and clinical linkage. *J Electrocardiol.* 2005;38:26-32.
14. Furukawa Y, Yamada T, Morita T, Iwasaki Y, Kawasaki M, Kikuchi A, et al. Early repolarization pattern associated with sudden cardiac death: long-term follow up in patients with chronic heart failure. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2013;24:632-639.
15. Benito B, Guasch E, Rivard L, Nattel S. Clinical and mechanistic issues in early repolarization of normal variants and lethal arrhythmia syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56:1177-1186.
16. Takagi M, Aihara N, Takaki H, Taguchi A, Shimizu W, Kurita T, et al. Clinical characteristics of patients with spontaneous or inducible ventricular fibrillation without apparent heart disease presenting with J wave and ST segment elevation in inferior leads. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2000;11:844-848.
17. Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Hayashi M, Noguchi Y, Sato A, et al. Early repolarization is an independent predictor of occurrences of ventricular fibrillation in the very early phase of acute myocardial infarction. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:506-513.
18. Thenappan T, Ali Raza J, Movahed A. Aortic atheromas: current concepts and controversies—a review of the literature. *Echocardiography.* 2008;25:198-207.
19. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006;27:2588-2605.
20. Antzelevitch C. T peak-T end interval as an index of transmural dispersion of repolarization. *Eur J Clin Invest.* 2001;31:555-557.
21. Karaman K, Karayakali M, Arisoy A, Akar I, Ozturk M, Yanik A, et al. Is There any Relationship Between Myocardial Repolarization Parameters and the Frequency of Ventricular Premature Contractions? *Arq Bras Cardiol.* 2018;110(6):534-541.
22. Zareba W, Moss AC, le Cessie S. Dispersion of ventricular repolarization and arrhythmic cardiac death in coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1994;74:550-553.
23. Goodhart DM, Hubacek J, Anderson TJ, Duff H, Barbeau G, Ducas J, et al. TOSCA investigators. Effect of percutaneous coronary intervention of nonacute total coronary artery occlusions on QT dispersion. *Am Heart J.* 2006;151:529.e1-529.e6.
24. Antzelevitch C, Yan GX, Ackerman MJ, Borggreffe M, Corrado D, Guo J, et al. J-wave syndromes expert consensus conference report: emerging concepts and gaps in knowledge. *J Arrhythm.* 2016;32(5):315-339.
25. Tsuda T, Hayashi K, Konno T, Sakata K, Fujita T, Hodatsu A, et al. J waves for predicting cardiac events in hypertrophic cardiomyopathy. *JACC Clin Electrophysiol.* 2017;3(10):1136-1142.
26. Tikkanen JT, Wichmann V, Junttila MJ, Rainio M, Hookana E, Lappi OP, et al. Association of early repolarization and sudden cardiac death during an acute coronary event. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:714-718.
27. Antzelevitch C, Yan GX. J wave syndromes. *Heart Rhythm.* 2010;7:549-558.

Sakarya İlindeki Herediter Nöropati Hastalarının Demografik, Klinik ve Elektrofizyolojik Özellikleri

Demographic, Clinical and Electrophysiological Characteristics of The Hereditary Neuropathy Patients in Sakarya

Dilcan Kotan¹, Aslı Aksoy Gündoğdu², Murat Alemdar³

¹ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

² Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

³ Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, Sakarya, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Aslı Aksoy Gündoğdu

Namık Kemal Mah, Kampüs Cad No:1, 59030 Süleymanpaşa/Tekirdağ

T: +90 544 378 62 55 E-mail: asliaksoy_84@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 01.03.2019

Çalışmamız 15. Ulusal Sinir Bilim Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur.

Öz

Amaç	Herediter nöropatiler; periferik sinir sisteminde, demyelinizasyon ve/veya akson kaybına yol açan, ilerleyici bir hastalık grubudur. Herediter nöropatiler genellikle ailesele olmakla birlikte, sporadik olgular da nadiren görülebilir. Çalışmamızda Sakarya ilindeki herediter nöropatili olguların, demografik, klinik ve elektrofizyolojik özellikleri araştırılmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):120-124)
Gereç ve Yöntem	Bu çalışmaya, merkezimize 2011-2016 yılları arasında başvuran, herediter sensorimotor nöropati (HSMN) tanısı alan 26 hasta dahil edildi. Bu hastalara ait veriler; yaş, cinsiyet, hastalık başlangıç yaşı, başvuru yakınmaları, akraba evliliği, klinik ve elektrofizyolojik bulgular, ailesele ve genetik özellikler açısından retrospektif olarak incelendi.
Bulgular	Kliniğimizde takip edilen 26 hastanın 13'ü (%50) erkekti. Yaş ortalaması 41±12,29 iken hastalık bulgularının başlangıç yaş ortalaması 23,26±13,7 idi. Elektrofizyolojik incelemeler, 9 hastada aksonal, 12 hastada demyelinizan ve 5 hastada mikst formda bir hasarı göstermekteydi. Genetik incelemelerde, 5 hastada heterozigot PMP 22 delesyon ve 2 hastada PMP 22 duplikasyonu tespit edildi. Böylece, 5 hasta Charcot Marie Tooth (CMT)-1A, 2 hasta herediter basınca duyarlı polinöropati (HNPP) tanısı alırken, diğer 19 hasta ise tiplendirilemeyen herediter nöropati olarak değerlendirildi.
Sonuç	Son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki yeni gelişmeler şimdiye kadar pek çok sınıflandırılmamış herediter nöropati tipinin tanınmasına yönelik önemli kazanımlar sağlamıştır. Çalışmamızda, Türkiye'de genotip değerlendirmesi yapılabilen demyelinizan tip olguların Sakarya ilindeki fenotipik özellikleri değerlendirilmiş ve literatürle kıyaslanmıştır.
Anahtar kelimeler	Herediter duyuşal ve motor nöropati; Charcot Marie Tooth hastalığı; klinik; genetik

Abstract

Objective	Hereditary neuropathies are a group of progressive disease that leads to demyelination and / or loss of axons in the peripheral nervous system. Although hereditary neuropathies frequently occurs in familial form, sporadic cases are rarely seen. In our study, demographic, clinical, and electrophysiological characteristics of hereditary neuropathy patients in Sakarya province were investigated. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):120-124)
Materials and Methods	Totally 26 registered patients who were diagnosed as hereditary sensorimotor neuropathy (HSMN) between 2011 and 2016 were recruited for this study. The data of these patients were analyzed retrospectively in terms of age, gender, age at symptoms onset, referral complaints, consanguineous marriage, clinical and electrophysiological findings, familial and genetic features.
Results	Of the 26 patients followed up in our clinic, 13 (50%) were male. The mean age of the patients was 41±12,29, while the mean age of the symptoms onset was 23,26±13,7. Electrophysiological examinations showed axonal neuropathy in 9, demyelinating neuropathy in 12, and mixed neuropathy in 5 cases. Genetic studies revealed heterozygous PMP 22 deletion in 5 cases and PMP 22 duplication in 2 cases. Therefore, 5 cases were diagnosed as Charcot Marie Tooth (CMT)-1A, 2 cases were diagnosed as hereditary pressure sensitive polyneuropathy (HNPP), while other 19 cases were evaluated as unclassified hereditary neuropathy.
Conclusion	Recent advances in the field of molecular biology have provided significant development in recognition of many unclassified types of hereditary neuropathies. In our study, the phenotypic characteristics of demyelinating type cases which can be genotyped in Turkey of Sakarya province was evaluated and compared with the literature.
Key words	Hereditary sensory and motor neuropathy; Charcot Marie Tooth disease; clinical; genetics

GİRİŞ

En yaygın genetik geçişli nöromusküler hastalık olan herediter nöropatiler; periferik sinir sisteminde, motor ve duyuşal lifleri etkiler, progresif seyir gösterir ve mortalitesine kıyasla özürlülük oranı yüksek olan bir hastalık grubudur. Belirtileri genellikle ilk dekada başlayıp yavaş progresyon gösterir ve üçüncü dekada belirginleşir. Peroneal sinir inervasyonlu kasların ön planda etkilendiği, distal ve simetrik yerleşimli motor zaaf, duyuşal tutulum, azalmış derin tendon refleksleri, distal atrofi, pes cavus, bilateral düşük el-ayak gibi morfolojik deformiteler hastalığın başlıca fenotipik özellikleridir.^{1,2}

Hastalık tanısı, klinik bulgular, aile öyküsü, elektrofizyolojik ve genotipik özellikler yardımıyla konulmaktadır. Henüz spesifik bir tedavisi olmayan bu hastalıkta aile bireylerinin de genetik yönden incelenmesi önerilir. Klinik özellikler açısından oldukça homojen bir yapı gösteren bu hastalık grubu için kalıtsal açıdan aynı durum söz konusu değildir. Birçok olgu ailesel geçiş gösterse de, de-novo mutasyon taşıyan sporadik olgularla da sıklıkla karşılaşmaktadır. Herediter sensorimotor nöropati (HSMN) veya Charcot Marie Tooth (CMT) olarak adlandırılan bu grup hastalığın, en sık rastlanan ve otozomal dominant (OD) olarak geçen, demiyelinizan özellikteki CMT 1A formuna Peripheral Myelin Protein 22 (PMP 22) geninin kodlandığı 17 p11.2-12 bölgesindeki duplikasyon yol açmaktadır. Diğer CMT formları (CMT2, CMTX, herediter basınca duyarlı polinöropati - HNPP) daha nadir görülmektedir. CMT; OD, otozomal resesif (OR) ve X'e bağlı geçiş paterni sergileyebilmektedir.³ Bu yazıda, Sakarya ilindeki herediter sensorimotor nöropati hastalarının demografik, klinik ve kalıtsal özellikleri incelenmiş ve sonuçlar günümüz literatüründeki bilgiler ışığında tartışılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Nöromusküler hastalıklar polikliniğimizde 2011-2016 yılları arasında HSMN tanısı ile takip etmekte olduğumuz hastalara ait dosyalar incelendi. Çalışma, tanımlayıcı bir araştırma olup elektrofizyolojik inceleme ile distal simet-

rik polinöropati tespit edilen, demiyelinizan/aksonal hasarı olan hastaların klinik bulguları ve genetik özellikleri analiz edildi. Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Helsinki Deklerasyonu 2008 prensiplerine uygun olarak yapılmıştır. Tüm hastaların kraniyal ve spinal görüntülemeler yardımıyla diskopati, siringomiyeli gibi olası tanıları ekarte edildi. Yaş, cinsiyet, sigara kullanım öyküsü, hastalık başlangıç yaşı, başvuru yakınmaları, hastalığın ilerleyiş paterni, ebeveynlerinde akraba evliliği varlığı, aile öyküsü, biyokimyasal laboratuvar değerleri, ayrıntılı sistemik ve nörolojik muayene bulguları, elektromiyografik (EMG) özellikleri kaydedildi. Ailelerin pedigri analizleri oluşturularak olası genetik geçiş özellikleri tespit edildi. Sporadik özellikteki hastalar arasında tanısı şüpheli olanlar için serolojik inceleme ile anti gangliozid panel antikorları çalışıldı. Hastalardan ve aile bireylerinden alınan periferik venöz kan örnekleri etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içerikli tüpler ile Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Nörodejenerasyon Araştırma Laboratuvarına yönlendirilerek, herediter nöropatlere ilişkin en sık rastlanan mutasyon olan PMP22 duplikasyon/delesyonu açısından araştırıldı. Elde edilen verilerin kaydedilmesi ve analizi SPSS 18.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) bilgisayar paket programı ile yapıldı. Tanımlayıcı özellikler sayı, yüzdelik ve ortalama değerler olarak gösterildi.

BULGULAR

Çalışmaya herediter nöropati tanılı 26 (13 erkek, %50) hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalamaları 41±12,29 (15-63) iken, hastalığın başlangıç yaşı ortalama 23,26±13,7 idi (Tablo 1). Başvuru şikayetleri açısından incelediğimizde; izole alt ekstremitte güçsüzlüğü olan 5 hasta, üst ve alt ekstremitte güçsüzlüğü olan 19 hasta, duyuşal yakınması olan 7 hasta ve belirgin yürüyüş bozukluğu olan 1 hasta mevcuttu. Bu klinik bulgulara ek olarak, 12 hastada ağrı, 10 hastada kramp, 6 hastada distal ekstremitelerde karınca lanma, 3 hastada idrar retansiyonu, 4 hastada ise tremor yakınması vardı. Dismorfik özellikler açısından incelendiğinde, 15 hastada pes-cavus, 3 hastada pes-planus, 12 has-

Tablo 1: Herediter nöropatili hastaların cinsiyetlere göre demografik, elektrofizyolojik ve genetik geçiş özellikleri

	ERKEK	KADIN	TOPLAM
Cinsiyet (%)	13 (%50)	13 (%50)	26
Yaş (ort± SS)	39,76±13,73	42,23±11,09	41±12,29
Semptom başlangıç yaşı (ort± SS)	20,46±14,28	26,07±13,04	23,26±13,7
Sigara kullananlar (%)	5 (%19,2)	2 (%0,7)	7 (%26,9)
Elektrofizyolojik bulguları olanlar (%)	13 (%50)	13 (%50)	26
Aksonal/Demiyelinizan/Mikst (%)	3 (%23) / 6 (%46.1) / 4 (%30.7)	6 (%46.1) / 6 (%46.1) / 1 (%7.6)	9 (%34.6) / 12 (%46.1) / 5 (%19.2)
Ailesel geçiş paterni gösterenler (%)	9 (%34,6)	10 (%38,4)	19 (%73)
OD/OR/X (%)	5 (%55.5) / 3(%33.3) / 1 (%11.1)	6(%60) / 4 (%40) / 0 (%0)	11 (%57.8) / 7 (%36.8) / 1(%5.2)
Ailelerde tespit edilen olgu sayısı (%)	26 (%59,1)	18 (%40,9)	44

Ort: ortalama, SS: standart sapma
OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif, X: X'e bağlı geçiş

tada çekiç parmak, 4 hastada kubbe damak, üçünde skoloz, dördünde pençe el ve dokuzunda düşük ayak tespit edildi. Kas atrofisi; belirgin şekilde 17 hastada mevcuttu. Yürüyüş şekli 21 hastada belirgin stepaj tarzında iken, 1 hastada ataksi şeklinde idi.

Sporadik olarak 7 hasta tespit edildi. On dokuz hastada ise benzer aile öyküsü tespit edildi. Hastaların ailelerinde 34 erkek ve 25 kadın olmak üzere 59 birey değerlendirildi. Aile taramasında toplamda 44 (26 erkek, 18 kadın) herediter nöropatili olgu tespit edildi. Aile öyküsü olan hastaların pedigrisi incelendiğinde 11 hastada OD, 7 hastada OR ve 1 hastada mitokondriyal özellikte geçiş gözlemlendi (Tablo 1). Hastalarımız arasında anne-baba akrabalığı olan 14 hasta mevcuttu (1. Derece: 8 (%30,8), 2. Derece: 2 (%7,7), 3. Derece: 4 (%15,4)).

Elektrofizyolojik incelemeler; 9 hastada aksonal hasarı, 12 hastada demiyelinizan hasarı ve 5 hastada mikst formda bir hasarı göstermekteydi (Tablo 1). Genetik incelemelerde, 5 hastada PMP 22 heterozigot delesyon, 2 hastada PMP 22 duplikasyonu tespit edildi. Böylece, 5 hasta CMT-1A, 2 hasta HNPP ve diğer 19 hasta tiplendirilemeyen herediter nöropati olarak değerlendirildi. Yutma veya solunum güçlüğü yaşayan hasta saptanmadı. Hastaların demografik,

elektrofizyolojik ve genetik geçiş özellikleri tabloda özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Herediter nöropatilerin tanısı ve sınıflaması hastaların klinik, genetik ve elektrofizyolojik özelliklerinin etraflıca değerlendirilmesine bağlıdır. Bu nedenle hastalık şüphesi olan bireylerden ayrıntılı öz ve soygeçmiş bilgisi alınmalı; nörolojik muayene, EMG ve genetik incelemeleri titizlikle yapılmalıdır. Herediter nöropatiler içerisinde OD geçiş gösterip, demiyelinizan özellikli formu CMT1, aksonal özellikli formu CMT2, X'e bağlı geçiş gösteren demiyelinizan form CMTX, OR geçiş gösteren form CMT4, erken ve ağır başlangıçlı grup ise CMT3 olarak sınıflandırılmıştır.3 Bu ayırmda özellikle median sinir ileti incelemesi baz alınmış ve sinir ileti hızının <38m/sn olması demiyelinizan patern (OD geçişte CMT1, OR geçişte CMT4), >38m/sn olması aksonal patern (CMT2), iki değer arasında olması (25-45m/sn) ise ara form olarak kabul edilmiştir.⁴⁻⁶ CMT ailesinin %70'i demiyelinizan karakterdedir ve bu grubun yaklaşık %70'ini CMT1A oluşturmaktadır.1 CMT 1A; OD geçiş sergileyen, 17p11.2 kromozomu üzerindeki PMP22'yi kodlayan genin duplikasyonu neticesinde ortaya çıkmakta, tüm demiyelinizan formların %60-90'ı ve tüm CMT'lerin %40-50'sini oluşturmaktadır. Aynı kromozom

üzerinde duplikasyon yerine delesyon oluşması halinde ise HNPP ortaya çıkmaktadır. OD geçiş gösteren bu hastalıkta tekrarlayan sinir basıları veya tekrarlayan travmalara yanıt olarak ağrısız, tekrarlayıcı kuvvet ve/veya duyu kayıpları oluşur.⁷⁻⁹ Çalışmamızda 9 hasta aksonal hasarı, 12 hasta demiyelinizan hasarı, 5 hasta ise mikst formda bir hasarı göstermekteydi. Demiyelinizan özellikteki 2 hastada duplikasyon, 5 hastada ise delesyon tespit edildi.

Herediter nöropatiler, distal, simetrik motor ve duysal kayıplar ve çeşitli dismorfik bulgular ile karakterize bir hastalık grubudur.² Alt ekstremite tutulumu çok daha sık ve ağır düzeydedir bu nedenle çoğu zaman yürüme güçlüğü ilk semptom olarak görülmektedir.¹ Bu tablonun yol açtığı başlıca dismorfik bulgular; çekiç parmak, pes cavus, düşük ayak ve ince şampanya kadehi şeklini anımsatan ayak bilekleridir.³ Fenotipik ve elektrofizyolojik özellikler hastalığın tanısı için yeterli olmasına rağmen, sınıflama yapabilmek için ailesel geçiş paternine uygun genetik testlere öncelik verilmelidir. Sporadik formlar için öncelikle edinsel nedenler dışlanmalı, sonrasında sıklık sırasına göre genetik testlere yönelinmelidir.¹⁰ CMT 1a olarak sınıflanan 2 hastamızda pes kavus ve çekiç parmak deformitesi yanısıra alt ekstremiteelerde belirgin olan distal zaaf ve peroneal atrofi gözlemlendi. Duysal yakınmalar 7 olguda varken 1 olguda muayenede hipoestezi, vibrasyon duysusu bozuktu ve derin tendon refleksleri tüm olgularda kaybolmuştu. EMG ile distal simetrik, aksonal / demiyelinizan özellikte olan 7 sporadik hastanın 4'ünde edinsel nedenleri dışlamak amacıyla serolojik testlerden yararlanıldı.

Progresif distal simetrik güçsüzlüğe neden olan bu hastalık, bireylerin sosyal hayatları ve mesleki faaliyetlerini etkilemektedir. Bu nedenle genetik danışmanlık, semptomatik tedaviler ve sekonder komplikasyonları önlemeye yönelik çalışmalar (cerrahi işlemler, kontrendike ilaçlardan kaçınmak gibi) ile hayatı kolaylaştırıcı yaklaşımlar hastalar için önem taşımaktadır.³ Dünyada ekzom analizi ile son yıllarda pek çok yeni mutasyon tanımlanmış, bö-

lelikle bu hastalığa moleküler biyologların ilgisi daha da artmıştır. Herediter nöropati ile ilişkili olduğu bilinen 80 gende 1000' den fazla mutasyon olduğu düşünülmektedir.¹¹ Özellikle son dönemde birçok farklı ülkede yapılan çalışmalarda, hastalığa en sık neden olan mutasyonlar PMP22, GJB1, MPZ, MFN2 olarak tespit edilmiştir.^{5,12} Maliyetin yüksek olması nedeniyle çoğu hastanın genetik açıdan araştırılması mümkün olamamakta ve ülkemizde herediter nöropatiler arasında demiyelinizan formların genetik incelemesi yapılabilmektedir.

Sonuç olarak, Sakarya ili herediter nöropati tanılı olguların büyük çoğunluğunun aksonal yıkım ve demiyelinizasyonun birlikte gözlemlendiği mikst formda periferik sinir hasarına sahip olduğu tespit edildi. Literatürdeki bilgilerle uyumlu olarak çoğu ailesel geçiş göstermekteydi. Nörolojik muayene bulguları, dismorfik özellikleri ve elektrofizyolojik özellikleriyle herediter nöropati tanısı alan hastalarımızın tanıları %26,9 oranında genetik testlerle kesinleştirilebilmiş, geri kalan hastalarımız ise moleküler değerlendirme aşamasında beklemektedir. Bizim çalışmamızda, laboratuvar imkanlarımızın kısıtlılığı nedeniyle genetik inceleme PMP22 geniyle sınırlı kaldı. Hastalarımızın yaklaşık dörtte birinde PMP22 gen mutasyonu saptanmış olup, bu oran literatüre kıyasla düşüktü.¹³ Genetik alanda çalışmaların artması ve teknolojik gelişmeler ile gün geçtikçe hastalık hakkında bilgimiz artmaktadır. Klinisyenin hastalığın spesifik fenotipik, klinik ve elektrofizyolojik bulgularına hakim olması, herediter nöropatilerin değerlendirilmesindeki yeri ve önemini korumaktadır.

Kaynaklar

1. Bertorini, Tullio E. *Neuromuscular disorders treatment and management. Part 13.* Lloyd T.E., Chaudhry V, *Treatment and management of hereditary neuropathies* 2011, p.195-196.
2. Dyck PJ, Chance PF, Lebo R, Carney AJ. *Hereditary Motor and Sensory Neuropathies.* In: Dyck PJ et al, editors. *Peripheral Neuropathy.* Philadelphia: WB Saunders 1993, p. 1116-1117.
3. Bird TD. *Charcot-Marie-Tooth Hereditary Neuropathy Overview.* In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, editors. *Gene Reviews TM [Internet].* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; Initial Posting: September 28, 1998; Last Revision: September 1, 2016.
4. Nicholson G, Myers S. *Intermediate forms of Charcot-Marie-Tooth neuropathy: a review.* *Neuromolecular Med* 2006; 8: 123-130.
5. Gess B, Schirmacher A, Boentert M, Young P. *Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes in a German neuromuscular center population.* *Neuromuscul Disord.* 2013; 23 :647-51.
6. Pareyson D, Scafoli V, Laura M. *Clinical and electrophysiological aspects of Charcot-Marie-Tooth disease.* *Neuromolecular Med* 2006; 8: 3-22.
7. Matsunami N, Smith B, Ballard L, Lensch MW, Robertson M, Albertsen H, et al. *Peripheral myelin protein-22 gene maps in the duplication in chromosome 17p11.2 associated with Charcot-Marie-Tooth 1A.* *Nat Genet.* 1992;1(3):176-9.
8. Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slaugenhaupt S, Pentao L, Guzzetta V, Trask BJ, et al. *DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A.* *Cell.* 1991;66:219-32.
9. *Inherited Peripheral Neuropathies Mutation Database.* <http://www.molgen.ua.ac.be/cmt.mutations/Mutations/Default.cfm>.
10. Rossor AM, Evans MR, Reilly MM. *A practical approach to the genetic neuropathies.* *Pract Neurol.* 2015; 15:187-198.
11. Reilly MM. *Sorting out the inherited neuropathies.* *Pract Neurol* 2006; 7: 93-105.
12. Siskind CE, Panchal S, Smith CO, Feely SM, Dalton JC, Schindler AB, et al. *A review of genetic counseling for Charcot Marie Tooth disease (CMT).* *J Genet Couns.* 2013; 22: 422-36.
13. Vallat JM, Mathis S, Funalot B. *The various Charcot-Marie-Tooth diseases.* *Curr Opin Neurol.* 2013; 26: 473-80.

Relationship Between Epicardial Fat Thickness and Cardioversion Success in Patients with Atrial Fibrillation

Atriyal Fibrilasyon Hastalarında Epikardiyal Yağ Kalınlığı ile Kardiyoversiyon Başarısı Arasındaki İlişki

Savaş Özer¹, Mürsel Şahin², Merih Kutlu³

¹ Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Medicine Department of Cardiology, Rize, Turkey

² Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Cardiology, Trabzon, Turkey

³ Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Cardiology, Trabzon, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Savaş Özer

Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Medicine Department of Cardiology, Rize, Turkey

T: +90 537 488 04 80 E-mail: savasozer87@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 22.11.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 01.03.2018

This study was produced from the doctoral thesis prepared by the first author under the supervision of the third author

Abstract

Objective	Epicardial fat tissue is known to be arrhythmogenic. In this study we aimed to evaluate if this arrhythmogenic effect affects cardioversion (CV) success in patients with atrial fibrillation (AF). (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):125-130)
Materials and Methods	We studied 100 AF patients treated with CV in order to restore sinus rhythm. Patients were divided into two groups; Group 1 patients were successfully restored sinus rhythm and group 2 were failed to restore sinus rhythm. Demographic characteristics of study population, standard 2 dimensional Doppler and tissue Doppler echocardiographic findings were recorded.
Results	There were 94 patients (59.5±14.1, years) in group 1 and 6 patients (59±8.7, years) in group 2. There were no differences between the two groups in terms of patient demographics. Basic echocardiographic parameters such as left atrial diameter, left ventricular diameter, septal thickness, ejection fraction, and left ventricular mass index were also similar between two groups. Epicardial fat thickness (EFT) was higher in group 2 patients (p=0.002).
Conclusion	Increased epicardial fat thickness found to be related with reduced CV success rates in the AF patients.
Keywords	Epicardial fat thickness; atrial fibrillation; cardioversion

Öz

Amaç	Epikardiyal yağ dokusunun aritmogenik etkileri bilinmektedir. Bu çalışmada bu aritmogenik etkinin kardiyoversiyon (KV) başarısı üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):125-130).
Gereç ve Yöntem	Çalışmaya sinüs ritminin sağlanması amacıyla KV uygulanan 100 atriyal fibrilasyon (AF) hastası alınmıştır. Hastalar iki gruba ayrıldı; sinüs ritmi sağlanan hastalar grup 1, sağlanamayan hastalar grup 2 olarak değerlendirildi. Çalışma popülasyonunun karakteristik özellikleri, standart 2 boyutlu ekokardiyografik ölçümler ve doku doppler ölçümleri kaydedildi.
Bulgular	Grup 1'de 94 (ortalama yaş 59,5±14,1) grup 2'de 6 (ortalama yaş 59±8,7) hasta vardı. Temel hasta özellikleri açısından gruplar arasında fark yoktu. Sol atriyum çapı, sol ventrikül çapları, septal duvar kalınlıkları, ejeksiyon fraksiyonu ve sol ventrikül kitle indeksi gibi ekokardiyografik parametreler açısından her iki grup benzerdi. Epikardiyal yağ kalınlığı (EYK) grup 2 hastalarda daha yüksekti (p=0,002).
Sonuç	Artmış EYK, AF hastalarında KV başarı oranlarında azalma ile ilişkili bulunmuştur.
Anahtar Kelimeler	Epikardiyal yağ kalınlığı; atriyal fibrilasyon; kardiyoversiyon

INTRODUCTION

Atrial fibrillation (AF) is the most common and leading type of arrhythmia responsible for hospitalization. AF is frequently related with structural and functional changes in myocardial tissue.¹ Epicardial fat membrane is a metabolically active tissue. Epicardial fat tissue is the brown lipid tissue present between epicard and visceral pericard.² It has been known that epicardial fat tissue is responsible from the release of inflammatory cytokines, growth factors and adipocytokines such as matrix metalloproteases (MMP) which are believed to be the cause of AF. Activin-A was shown to cause fibrosis in the atriums due to its pro-fibrotic effects. It has been shown that epicardial fat thickness (EFT) causes atrial fibrosis by increasing the production of extracellular matrix and transforming fibroblasts to myofibroblasts by releasing inflammatory cytokines and adipokines.³ Studies have shown that the two most important adipokines causing atrial fibrosis are activin-A and MMP.^{3,4} Among MMPs, especially increase in the activities of MMP-2 and MMP-7 is found to be related with fibrosis.⁴ There are studies which showed that the increase in EFT can cause an increase in AF risk with the mentioned mechanisms.^{5,6}

In this study, we aimed to evaluate the effect of EFT on cardioversion (CV) success in patients with AF. The results of this study will provide insight if EFT could predict CV success and could be used for determining treatment strategies of AF patients.

MATERIALS and METHODS

Study Population

This observational, single center, cross sectional research was performed in Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Cardiology between 2014 and 2016 years with 203 AF patients with planned CV for restoring sinus rhythm. Electrical CV applied to patients who did not return to sinus rhythm after 24 hours amiodarone infusion. After ruling out 103 patients for several reasons, remaining 100 patients were included

in the study. Demographic properties of all patients were recorded.

Study inclusion criteria was all patients who underwent CV for AF.

Study exclusion criteria were moderate or severe heart valve disease, heart valve replacement, congenital heart disease, hypertrophic cardiomyopathy, presence of permanent pacemaker, left ventricular ejection fraction (LVEF) less than %50, untreated thyroid disorders and those under 18 years old.

Ethics committee approval certificate was taken from Karadeniz Technical University Faculty of Medicine scientific research ethics committee on 26.04.2016.

Transthoracic Echocardiography

Study population were evaluated before CV procedure by transthoracic echocardiography (TTE), (Vivid 7, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norway). LVEF, dimensions of heart chambers and EFT measurements were recorded. A vertical line drawn from right ventricular free wall to aortic annulus in parasternal long axis image was used for determining the correct place for EFT measurement. Average of three measurements at the end of systole were used.⁷ Left ventricular mass index was determined by using Devereux formula. LVEF was measured by modified bip-lane Simpson's method from apical 4 and 2 chamber views.

Statistical Analysis

The descriptive statistics of the continuous variables obtained in the study were given as mean \pm SD. The normality of the numerical variables was determined by the 1-sample Kolmogorov-Smirnov test. Student t test was used to compare normally distributed variables, and Mann-Whitney U test was used to compare non-normally distributed variables. Chi-square test was used to calculate the categorical variables and described as percentages. Statistical significance level is accepted as $p < 0.05$. SPSS 21.0 statistical program was used for data analysis.

RESULTS

Between 2014 and 2016 years, 203 AF patients were planned CV (medical or electrical) for restoring sinus rhythm. Due to several reasons, 58 patients with LVEF <%50, 23 patients having moderate or severe valvular heart disease, 4 patients with permanent pacemakers, 8 patients with heart valve replacement, 7 patients with hypertrophic cardiomyopathy and 3 patients who did not want to participate in the study, a total of 103 patients were excluded from the study. Patients were divided into two groups as group 1; sinus rhythm restored and group 2; sinus rhythm couldn't be restored . There were 94 patients in group 1, and 6 patients in group 2. Mean age in group 1 was 59.5±14.1 and 59±8.7 in group 2 (p=0.93). Clinical and demographical properties of study patients are shown in Table 1.

Patients in the study were also evaluated by AF types; %64 of patients was paroxysmal, %31 was persistent and %6 was long persistent AF. Among the 6 patients who did not

return to sinus rhythm with CV, 1 had paroxysmal and 5 patient had long persistent AF. When the AF groups in the study compared with each other in terms of CV success, the group with long persistent AF had the lowest success rates (p<0.001) (Table 2).

There were no statistically significant differences between group 1 and group 2 for other TTE parameters, except right ventricular (RV) diameter, left ventricular posterior wall (PW) thickness and EFT. RV diameters and left ventricular PW thicknesses of patients in group 1 was higher compared to patients in group 2 and EFT of patients in group 2 was higher compared to group 1 (p=0,02; p=0,01; p=0,002). Basal TTE parameters of patients are shown in Table 3.

Table 1. Clinical and Demographic Characteristics of cardioversion process successful and non-successful patient groups

	Successful CV patients (n=94)	Unsuccessful CV patients (n=6)	P
Age (years)	59.5±14.1	59±8.7	0.93
Female,n (%)	50 (%53.2)	4 (%66.7)	0.52
BMI (kg/m ²)	30.1±5.9	32.1±5.1	0.29
Hypertension,n (%)	51 (%54.3)	4 (%66.7)	0.55
Diabetes Mellitus,n (%)	14 (%14.9)	0 (%)	NA
Smoking,n (%)	11 (%11.7)	2 (%33.3)	0.17
Stroke/TIA history,n (%)	5 (%5.3)	1 (%16.7)	0.31
Heart failure,n (%)	10 (%10.6)	0 (%)	NA
CHA2DS2-VASc score	2±1.7	2±1.3	0.81

CV: Cardioversion, BMI: Body mass index, TIA: Transient Ischemic Attack

Table 2. Cardioversion success rates by AF Type

Type of AF	Successful CV patients (n=94)	Unsuccessful CV patients (n=6)	P
Paroxysmal AF (%)	63 (%67)	1 (%17)	<0.001
Persistent AF (%)	31 (%33)	0 (%0)	
Long persistent AF (%)	0 (%0)	5 (%83)	

AF: Atrial fibrillation, CV: Cardioversion

Table 3. Transthoracic Echocardiography Parameters of cardioversion process successful and non-successful patient groups

	Successful CV patients (n=94)	Unsuccessful CV patients (n=6)	P
LVEF (%)	62.2±4.5	60.3±3.7	0.21
LVSD (mm)	31.5±4.2	33.3±4.1	0.29
LVDD (mm)	47.9±4.2	48±5.2	0.95
LA (mm)	40±4.9	43.2±3.8	0.12
IVS (mm)	11.2±1.5	10.3±0.5	0.18
PW (mm)	10.5±1.3	9.7±0.5	0.01
LVMI (gr/m2)	98.2±21.5	83.3±9.3	0.07
DT (msn)	180.3±35.5	180.7±37.5	0.84
RV (mm)	34.8±3.4	31.5±2.7	0.02
RA (mm)	39.7±4.3	38.8±2.1	0.64
TAPSE	22±3.9	19.8±1.6	0.14
sPAP (mmHg)	26.1±9.2	22.3±3.6	0.34
Epicardial fat (mm)	2.37±1.0	4.17±1.33	0.002

CV: Cardioversion, LVEF: Left ventricular ejection fraction, LVSD: Left ventricular systolic diameter, LVDD: Left ventricular diastolic diameter, LA: Left atrium, IVS: Interventricular septum, PW: Posterior wall, LVMI: Left ventricular mass index, DT: Deceleration time, RV: Right ventricle, RA: Right atrium, TAPSE: Tricuspid annular plane systolic excursion, sPAP: Systolic pulmonary artery pressure

DISCUSSION

In this study, we investigated the effect of EFT on CV success in the AF patients who were planned to restore sinus rhythm. There were no statistically significant differences in terms of demographic properties of patients who returned to sinus rhythm (group 1) and those who did not return to sinus rhythm (group 2). Except RV diameter, left ventricular PW thickness and EFT, there were no statistically significant differences between group 1 and group 2 among TTE parameters. When compared with group 1 and group 2, RV diameters and left ventricular PW thicknesses were higher in group 1 and EFT was higher in group 2.

Although studies have shown that EFT is related with AF, there is not enough evidence about the effect of the increased EFT on CV success in the AF patients. This study was performed to investigate whether changes in EFT affects CV success in patients with AF.

Several studies have been performed to investigate the relationship between epicardial fat tissue and AF.⁸⁻¹² In Framingham study, after other risk factors related to AF were adjusted, total epicardial fat tissue was found to be related with AF.¹³ Batal et al. investigated 169 AF patients with coronary artery disease and found that EFT measured with computerized tomography (CT) was independently related to AF aside from body mass index (BMI) and left atrium (LA) diameter.⁹ It has been found that the increase in EFT increases AF risk. Chekakie et al. showed that after adjusting BMI, LA diameter and other conventional risk factors, there is a relation between EFT and AF. In another study that EFT was measured with cardiac magnetic resonance imaging,⁸ Wong et. al found that the increase in EFT was related with the prevalence and severity of AF.¹²

Iacobellis et al. and Nagashima et. al, found that increase in EFT is related to chronic or persistent AF.^{10,11} In our study, EFT was higher in the group with long persistent AF compared to persistent and paroxysmal AF groups. Out of 6

patients that sinus rhythm can not be achieved, 5 of them had long persistent AF and the EFT of these patients were found to be statistically higher than other patient groups and this finding is consistent with other studies.

Jadranka et al. measured epicardial fat volume of AF patients with CT that radiofrequency ablation performed and found that increase in epicardial fat tissue decreases the success of AF ablation procedure and was related with early relapse of AF.¹⁴ Our study results also support these findings that EFT is closely related with AF and resistance to treatment strategies.

In our study we found that EFT thickness were higher in unseccesful cardioversion group statistical significantly. This result suggests that EFT thickness measurement, which will be easy and take less time during the measurement of routine echocardiographic parameters, may give an idea about the success of CV procedure in AF patients. Thus, we consider that patients with higher risk of relapse and failure of CV procedure measurement of EFT may be beneficial in reducing the procedures rate and related hospitalization.

Limitations

Low patient numbers included in the study and numerical differences between study groups were important limitations. Similar distrubution of several risk factors which are accepted to form tendency towards AF between the groups, reduced the disadvantage of patient number.

CONCLUSION

An increase in epicardial fat tissue thickness was found to be associated with the success of CV procedure. In conclusion, this study suggests that EFT may be associated with CV success and may be used as a promising parameter in evaluating the treatment approach of the patient before CV. Due to small number of patients in our study, larger studies are needed.

References

1. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, et al. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2016;50(5):e1-e88.
2. Iacobellis G, Bianco AC. Epicardial adipose tissue: emerging physiological, pathophysiological and clinical features. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2011;22(11):450-7.
3. Venteclef N, Guglielmi V, Balse E, Gaborit B, Cotillard A, Atassi F, et al. Human epicardial adipose tissue induces fibrosis of the atrial myocardium through the secretion of adipo-fibro-kines. *European heart journal*. 2015;36(13):795-805a.
4. Boixel C, Fontaine V, Rucker-Martin C, Milliez P, Louedec L, Michel JB, et al. Fibrosis of the left atria during progression of heart failure is associated with increased matrix metalloproteinases in the rat. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;42(2):336-44.
5. Shin SY, Yong HS, Lim HE, Na JO, Choi CU, Choi JI, et al. Total and interatrial epicardial adipose tissues are independently associated with left atrial remodeling in patients with atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular electrophysiology*. 2011;22(6):647-55.
6. Hatem SN, Sanders P. Epicardial adipose tissue and atrial fibrillation. *Cardiovascular research*. 2014;102(2):205-13.
7. Iacobellis G, Willens HJ, Barbaro G, Sharma AM. Threshold values of high-risk echocardiographic epicardial fat thickness. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2008;16(4):887-92.
8. Al Chekakie MO, Welles CC, Metoyer R, Ibrahim A, Shapira AR, Cytron J, et al. Pericardial fat is independently associated with human atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;56(10):784-8.
9. Batal O, Schoenhagen P, Shao M, Ayyad AE, Van Wagoner DR, Halliburton SS, et al. Left atrial epicardial adiposity and atrial fibrillation. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology*. 2010;3(3):230-6.
10. Iacobellis G, Zaki MC, Garcia D, Willens HJ. Epicardial fat in atrial fibrillation and heart failure. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2014;46(8):587-90.
11. Nagashima K, Okumura Y, Watanabe I, Nakai T, Ohkubo K, Kofune M, et al. Does location of epicardial adipose tissue correspond to endocardial high dominant frequency or complex fractionated atrial electrogram sites during atrial fibrillation? *Circulation Arrhythmia and electrophysiology*. 2012;5(4):676-83.
12. Wong CX, Abed HS, Molaei P, Nelson AJ, Brooks AG, Sharma G, et al. Pericardial fat is associated with atrial fibrillation severity and ablation outcome. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;57(17):1745-51.
13. Thanassoulis G, Massaro JM, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Levy D, Ellinor PT, et al. Pericardial fat is associated with prevalent atrial fibrillation: the Framingham Heart Study. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology*. 2010;3(4):345-50.
14. Stojanovska J, Kazerooni EA, Sinno M, Gross BH, Watcharotone K, Patel S, et al. Increased epicardial fat is independently associated with the presence and chronicity of atrial fibrillation and radiofrequency ablation outcome. *European radiology*. 2015;25(8):2298-309.

Comparison of Effects of Three Distinct Stress Models on Anxiety- and Depression-Related Behaviors in Female Rats

Dişi Sıçanlarda Üç Farklı Stres Modelinin Anksiyete ve Depresyon Benzeri Davranışlara Etkilerinin Karşılaştırılması

Zafer Sahin¹, Aynur Koc², Raviye Ozen Koca³, Hatice Solak³, Alpaslan Ozkurkculer³, Pinar Cakan⁴, Z. Isik Solak Gormus³, Selim Kutlu³

¹ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

² Department of Physiology, Faculty of Medicine, Hitit University, Corum, Turkey

³ Department of Physiology, Meram Faculty of Medicine, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

⁴ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Zafer Şahin

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, 61080 Türkiye

T: +90 462 377 77 55 E-mail: zafersahin@ktu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 09.10.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 13.02.2019

This study was partly presented as conference paper at the 43rd National Congress of Physiology, September 07–10, 2017, Pamukkale University, Denizli, Turkey.

Abstract

Objective	The aim of the present study was to compare the effects of three distinct stress protocols on anxiety/depression-related behaviors in adult female rats. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):131-140)
Materials and Methods	Adult Wistar rats were randomly divided into four groups (n=8/ group) as control, immobilization stress-1 (daily 45 minutes) immobilization stress-2 (daily twice 45 minutes) and social isolation (rats were housed in a metabolic cage). Stress protocols were performed for a period of 10 days. When the animals were in diestrus, anxiety and depression-like behaviors were evaluated by the open field test and forced swimming test, respectively. Anxiety and depression tests were repeated after a 10-day rest period.
Results	In the open field test, a percentage of time spent in the central area was lower in the immobilization stress-2 and social isolation (p<0.05) groups and total distance was lower in the immobilization stress-1 (p<0.01) and the social isolation groups (p<0.05). Rearing score was lower in the social isolation group (p<0.05). Swimming behaviors were lower (p<0.01), and immobility durations were higher (p<0.05) in the immobilization stress-1 and social isolation groups. In the second tests, time spent in the central area was lower in the immobilization stress-1 (p<0.05) and the immobilization stress-2 (p<0.01) groups. Swimming behaviors were lower and immobility behaviors were higher in the immobilization stress-1 group (p<0.001) and the social isolation group (p<0.01 and p<0.001, respectively).
Conclusion	We suggest that depression-like behaviors are more dominant in the immobilization stress-1 and social isolation groups of adult female rats because the depression-related results of these two groups are valid both after the stress period and after the rest period.
Keywords	immobilization stress; social isolation; depression; anxiety; female rat.

Öz

Amaç	Mevcut çalışmada yetişkin dişi sıçanlarda üç farklı stres protokolünün anksiyete/depresyon benzeri davranışlara etkisinin kıyaslanması amaçlanmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):131-140).
Gereç ve Yöntemler	Yetişkin Wistar sıçanlar kontrol, immobilizasyon stresi-1 (günlük 45 dakika) immobilizasyon stresi-2 (günlük iki kez 45 dakika) ve sosyal izolasyon (metabolik kafeste) olarak rastgele dört gruba ayrıldı (n=8/grup). Stres protokolleri 10 gün boyunca uygulandı ve anksiyete ve depresyonla ilişkili davranışlar, hayvanlar döstrüs dönemindeyken, açık alan ve zorunlu yüzmeye testi ile değerlendirildi. Anksiyete ve depresyon testleri 10 günlük dinlenme süresinden sonra tekrarlandı.
Bulgular	Açık alan testinde, merkez alanda geçirilen zaman immobilizasyon stresi-2 ve sosyal izolasyon gruplarında azaldı (p<0.05). Toplam kat edilen mesafe immobilizasyon stresi-1 (p<0.01) ve sosyal izolasyon (p<0.05) gruplarında daha düşüktü. Sosyal izolasyon grubunun şahlanma davranışı (p < 0.05) kontrol grubuna göre düşüktü. Immobilizasyon stresi-1 ve sosyal izolasyon gruplarında yüzmeye davranışı azalırken (p < 0.01), immobilizasyon davranışı kontrol grubuna göre artış göstermişti (p < 0.05). İkinci testlerde, merkezi alanda geçirilen süre immobilizasyon stresi-1 ve immobilizasyon stresi-2 gruplarında daha düşüktü (p < 0.05 ve p < 0.01). Immobilizasyon stresi-1 (p < 0.001) ve sosyal izolasyon gruplarında (p < 0.01) yüzmeye davranışı azalırken, immobilizasyon süresi kontrole kıyasla artmıştı (p < 0.001).
Sonuç	Immobilizasyon stresi-1 ve metabolik kafeste sosyal izolasyon protokolü uygulanan yetişkin dişi sıçanlarda depresyon benzeri davranışların daha baskın olduğu söylenebilir çünkü her iki grupta da depresyonla ilişkili bulgular hem stres sonrası hem de dinlenme periyodu sonrası geçerlidir.
Anahtar Kelimeler	immobilizasyon stresi; sosyal izolasyon; depresyon; anksiyete; dişi sıçan

Introduction

Although stress is an integral part of life, constantly or intensive stress has a major influence on our sense of well-being or mood, as well as physiological functions.¹ Stressful events, acute or chronic, can induce an increase in cortisol (corticosterone in rodents) in the body. This elevation in plasma cortisol (or corticosterone) level is a result of activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.² The HPA activation is started with the release of corticotropin-releasing hormone from the paraventricular nucleus in the hypothalamus, causing the secretion of adrenocorticotrophic hormone from the anterior pituitary gland, which in turn stimulates the release of cortisol/corticosterone from the adrenal glands.^{3,4} If the stress remains heightened, it can cause increased anxiety or mood disorders such as major depression, bipolar depression. Therefore, constant or repeated stress is accepted to quicken or worsen the mood disorders and anxiety disorders.^{5,6}

World Health Organization estimates that 4.4% of the global population suffers from depression, and 3.6% from anxiety disorder based on data for 2015. Moreover, both diseases are more common among females than males.⁷ The socio-economic costs of these disorders are relevant; for instance, their prevalence in the prime of life for reproductive-aged women in developed countries results in combined mortality and morbidity estimates much greater than any other health problems.⁸ All of these facts require that notable efforts be made to understand anxiety and depression pathophysiology for treatment. For this purpose, animal experiments are an essential method for improving our knowledge of these disorders, as well as their pharmacological treatment.⁹ The fact is taken into account that men and women not only respond in opposite directions to the same stressful event but also respond differently to controllability and antidepressant treatments.¹⁰ As related to anxiety and depression, although gender differences in these disorders have been recognized in humans, the great majority of studies on the antidepressant and anxiolytic drugs have focused on male rodents as experimental

models.^{7,11,12} For this reason, it may be beneficial to use female rats in experiments to assess the effects of stress on depression and anxiety-like behaviors.¹³

Many animal stress models for triggering of depression or anxiety-like behavior have been developed and used frequently to evaluate the anti-stress activity of compounds. Immobilization, restraint, electric shock, and social isolation stress are commonly employed models for inducing stress in rodents.¹⁴ Immobilization/restraint stress is one of the most popular experimental models used to assess the stress-induced physiological alterations and anti-stress activity of pharmacological agents in animals.^{15,16} Although immobilization and restraint stress procedures are considered as similar or equivalent, the immobilization stress model may be a more intense stressor than the restraint stress model.^{14,17} There are various time periods ranging from 5 to 30 days to induce chronic immobilization stress of varying degree in rats and mice.¹⁷ Another important stress model is social isolation in the rodents because mice and especially rats are social animals.¹⁸ Therefore, the long-term single housing of rats causes a social isolation stress with some physiological and behavioral abnormalities. There are many reports on the relationship between metabolic cage housing and social isolation stress in rodents.¹⁸⁻²¹ Metabolic cages are frequently used for measurement of total intake of food and water as well as excretion of urine and feces in small rodents.¹⁸ Therefore, these cages are widely used in metabolism and pharmacological studies. However, metabolic cages and the studies performed with them require the use of grid flooring, an absence of bedding substrate, single housing, and a smaller-than-usual living space area.²² Recently, we reported that long-term metabolic cage housing causes a social isolation stress with increased anxiety and depression-related behaviors in male rats.¹⁸

To the best of our knowledge, there is currently no study on the comparison of the effects of immobilization stress and social isolation stress in female rats. We hypothesized

that the chronic immobilization stress and social isolation stress may cause behavioral abnormalities and these effects may continue after stress application. Therefore, we aimed to compare the effects of immobilization stress-1 (45 minutes for a period of 10 days), immobilization stress-2 (45 minutes twice a day for a period of 10 days), and social isolation stress (single housing in metabolic cages for 10 days), as well as 10-day rest period after stress conditions on anxiety and/or depression-like behaviors in adult female rats.

MATERIAL and METHODS

All experimental procedures in the present study were approved by the Local Ethical Committee of Necmettin Erbakan University and animals were treated in accordance with the national and international laws and policies on the care and use of experimental animals.

Animals

Thirty-two adult female Wistar albino rats weighing 280-320 g (KONÜDAM Experimental Medicine Application and Research Center of Necmettin Erbakan University, Konya) were used in this study. The rats were housed under standard light/darkness schedule (12-h light/12-h dark cycle), at constant temperature ($21\pm 1^\circ\text{C}$) and humidity ($55\pm 5\%$) with free access to pelleted food and tap water.

Experimental protocols

Rats were randomly divided into four groups (n=8 for each group) as control, immobilization stress-1 (45 minutes daily for a period of 10 days), immobilization stress-2 (45 minutes twice a day for a period of 10 days), and social isolation (single housing in metabolic cages for 10 days). Anxiety and depression tests were performed after the stress protocols. Subsequently, the animals were taken for 10-day of the rest period, and during this period, the animals were housed in their normal groups as at the beginning of the experiments. That is, nothing has been done in the immobilization groups and the rats in the metabolic cage are housed in groups in the normal cages. Anxiety

and depression tests were repeated after this term.

All behavioral tests and sacrifice were performed when the rats were in diestrus. Sexual cycle period of the animals was determined by vaginal smear.

By the end of the last open field test and the forced swimming test, the rats were fasted overnight but the water was given ad libitum. Trunk blood samples were obtained by decapitation for analysis of serum corticosterone levels. The serum samples were stored at 20°C until the analysis.

Immobilization stress and social isolation procedures

For immobilization stress, our own method that was modified from previous studies^{23,24} was used. The rats were placed in cylinder apparatuses in two different sizes, which were suitable for their body volumes: $5\text{ cm} \times 22\text{ cm}$, and $5.5\text{ cm} \times 22\text{ cm}$ dimensions (Figure 1). These cylinders were made from a transparent Plexiglas. There were ventilation holes in the walls of these apparatuses in the parts surrounding the animal body. The same holes were also present at the front of the head section. This plastic front section was designed to prevent head movement and was adjustable to the length of the animal body. At the back of the cylinder was lockable and perforated sliders for allowing the tail of rats to stay out. After the animals were placed in the apparatus, the head section could be moved backward from 22 cm down to 8 cm with the aid of a slider, according to the length of the animal. Thus, the cylinder-shaped collapsed area ensured the immobilization of both the animal limbs and head movements.



Figure 1. An overview of the application of immobilization stress by the transparent plexiglass apparatus.

For social isolation stress, the rats were individually housed in metabolic cages for 10 days (Figure 2). This procedure was performed by using commercial metabolic cages (220 mm in diameter × 120 mm tall, Tecniplast, Buguggiate VA, Italy).

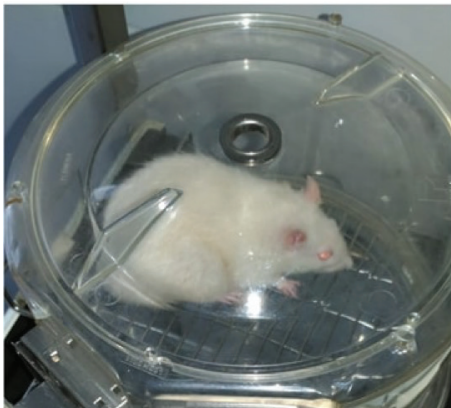


Figure 2. An overview of the social isolation conditions in the metabolic cage.

Anxiety and depression tests

Anxiety and depression-related behaviors were evaluated by the open field test and forced swimming test after stress protocols and rest term. The open field test is generally used to determine anxiety-related behavior in rodents.²⁵ The test was performed between 9.00 and 11.00 am. The rats were placed in the center of a square-box test apparatus (80×80×30 cm, black Plexiglas) and tracked by a video tracking system (Ethovision 11, Netherlands) for a period of 300 seconds. On the software screen, the platform surface was divided into the center and edge regions. Scores of distance traveled (cm), mean velocity (cm/s), time spent in the central area (s), and mobility frequency were analyzed by the Ethovision software. Rearing and grooming behaviors were manually scored by using the video records in the software.¹⁸

The forced swimming test, first described by Porsolt et al.²⁶, is widely used to analyze depression-like behaviors of rodents. This test was performed according to our previously developed protocols.^{18,27} For the pretest session,

animals were individually placed for 15 min into Plexiglas cylinders (49 cm height, 25 cm diameter) containing 39 cm of water (27±1 °C). 24 h after the pretest session, the forced swimming test was performed. The total duration of the swimming, climbing and immobility behaviors was analyzed by the Ethovision XT11 video tracking system for a period of 300 seconds.

Corticosterone analysis

Serum corticosterone levels were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to previous methods with some modifications.¹⁸ Briefly, corticosterone-bovine serum albumin (1 µg/mL), as the stock solution, was diluted with carbonate buffer (pH 9.6), and this solution (200 µl/well) was transferred into a 96-well microtiter plate (Nunc, Roskilde, Denmark). After overnight incubation at +4 °C, the plate was washed with washing buffer and blocking buffer (200 µl/well) was added for 120 min at 37 °C. The plate was washed, and serum samples or standards (50 µl/well) were preincubated with primary antibodies (50 µL/well) for 45 min at 37°C and then were transferred into coated plates for competition with antigens on the solid phase for 30 min at 37 °C. After washing, biotinylated goat anti-rabbit IgG (100 µl/well) coated wells were incubated for 30 min at 37 °C. The plate was washed again, 100 µl/well streptavidin-peroxidase solution (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) coated wells were incubated for 15 min at 37 °C. After washing, tetramethylbenzidine substrate (150 µl/well) was added, and the plate was incubated in the dark for 10 min. Stop solution (50 µl/well, sulfuric acid 10%) was added, and the absorbance was measured at 450 nm using a microplate reader (Biotek, Synergy HT, USA). A dynamic range of the assays was between 10-2000 ng/ml. Intra- and inter-assay coefficients of variations were below 10 %.

Statistical analyses

All results were expressed as mean ±SEM. The data were analyzed with the SPSS statistical program (version 23.0 for Windows, licensed for Karadeniz Technical Univer-

sity, Turkey). The Shapiro-Wilk test was used in all cases to test for normality of the data set, the homogeneity of variances was evaluated using Levene test and the results were found to be nonparametric. Therefore, differences between groups were assessed using the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney U test. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

RESULTS

Table-1 shows results obtained from the open field test after 10-day stress application. Total distance and velocity scores were generally lower in the stress groups than the control group. However, values of the total distance were found to be statistically lower in the immobilization stress-1 and social isolation groups compared with the control group ($p=0,008$ and $p=0,042$, respectively). In addition, the velocity score of the immobilization stress-1 group was statistically lower than the control group ($p=0,036$). A percentage of time spent in the central area was significantly lower in the immobilization stress-2 and social isolation groups

compared to the control group ($p=0,040$ and $p=0,046$, respectively). A total mobility of the immobilization stress-1 group ($p=0,043$), and rearing score of the social isolation group ($p=0,034$) were lower than the control group. Grooming frequency was higher in the immobilization stress-1 group, but it did not reach to statistical significance.

Scores of the swimming, climbing and immobility behaviors in the forced swimming test after 10-day stress application are presented in Figure 3. Duration of the swimming behavior was lower in the immobilization stress-1 ($36,66\pm5,65$ s) and social isolation ($45,71\pm6,85$ s) groups compared with the control group ($70,83\pm8,50$ s, $p=0,004$ and $p=0,009$, respectively). There was no significant difference in the climbing durations between groups. Duration of the immobility behavior was generally higher in the stress groups than the control group. However, immobility scores were found to be significantly higher in the immobilization stress-1 ($182,77\pm13,96$ s) and social isolation ($179,28\pm10,54$ s) groups compared with the control group

Table 1: Results of the open field test after 10-day stress application

	Control	Immobilization stress-1	Immobilization stress-2	Social isolation
Total distance (cm)	2125,06±46,67	1564,53±91,34 b	1902,96±140,11	2066,74±47,49 a
Velocity (cm/s)	7,09±0,15	5,21±0,30 a	6,34±0,46	6,88±0,15
Time spent in the central area (%)	13,28±1,42	11,82±2,26	7,42±0,94 a	7,32±3,44 a
Mobility frequency	272,00±20,61	163,01±18,64 a	266,03±26,06	282,80±24,38
Rearing frequency	20,81±2,33	17,80±3,46	18,51±2,18	13,40±2,94 a
Grooming frequency	2,27±0,86	4,11±0,89 a	2,83±0,47	2,42±1,24

Values plotted are mean±S.E.M (n= 8 for each group).a; $P < 0.05$, and b; $P < 0.01$ compared to the control group.

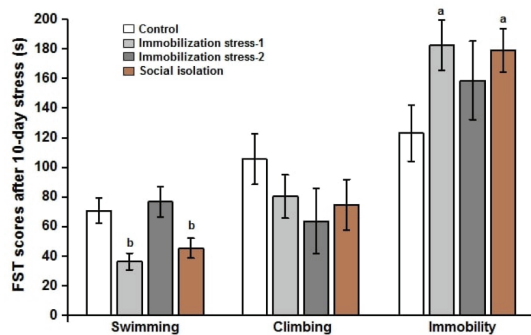


Figure 3. Scores of the forced swimming test after 10-day stress application.

Results are plotted as mean ± S.E.M. a: $p < 0.05$, b: $p < 0.01$ vs. control group. n=8 for each group. FST: Forced Swimming Test

(123,33±11,94 s, p=0,019 and p=0,025, respectively).

Table-2 shows results obtained from the open field test after 10-day of the rest period. Total distance and velocity scores were found to be statistically lower in the immobilization stress-2 group compared with the control group (p=0,045 and p=0,043, respectively). A percentage of time spent in the central area was significantly lower in the immobilization stress-1 and the immobilization stress-2 compared to the control group (p=0,022 and p=0,008, respectively). A total mobility of the immobilization stress-1 group was lower than the control group (p=0,036). There

was no significant alteration in the frequencies of rearing and grooming behaviors between the stress groups and the control group.

Scores of the swimming, climbing and immobility behaviors in the forced swimming test after 10-day rest period are presented in Figure 4. In the immobilization stress-1 (53,88±7,25 s) and social isolation (65,21±6,11 s) groups, duration of the swimming behavior was lower than the control group (101,71±11,56 s, p=0,000 and p=0,006, respectively). There was no significant alteration in the scores of climbing behavior between the stress groups and the

Table 2: Results of the open field test after 10-day of rest period

	Control	Immobilization stress-1	Immobilization stress-2	Social isolation
Total distance (cm)	1840,15±105,32	1580,38±166,76	1364,93±170,56 a	1805,27±142,96
Velocity (cm/s)	6,13±0,35	5,26±0,55	4,55±0,56 a	6,01±0,47
Time spent in the central area (%)	12,10±3,26	5,48±1,05 a	3,63±1,84 b	9,46±2,49
Mobility frequency	200,42±18,51	160,22±20,33	126,57±23,38 a	229,25±26,19
Rearing frequency	13,28±2,32	13,88±2,33	15,28±3,42	20,62±2,69
Grooming frequency	2,01±0,65	3,20±0,33	2,26±0,43	1,50±0,32

Values plotted are mean±S.E.M (n= 8 for each group).a; P < 0.05, and b; P < 0.01 compared to the control group.

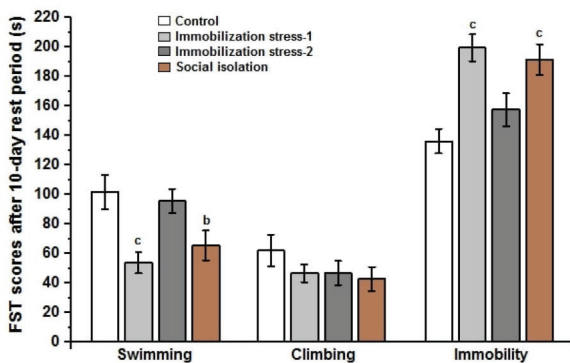


Figure 4. Scores of the forced swimming test after 10-day stress application.

Results are plotted as mean ± S.E.M. b: p < 0.01, c: p < 0.001 vs. control group. n=8 for each group. FST: Forced Swimming Test

control group.

Values of the immobility behavior were generally higher in the stress groups than the control group. However, immobility behavior durations were found to be significantly higher in the immobilization stress-1 (199,44±9,05) and social isolation (191,42±10,36) groups compared with the

control group (136,14±10,36, p=0,000 and p=0,000, respectively).

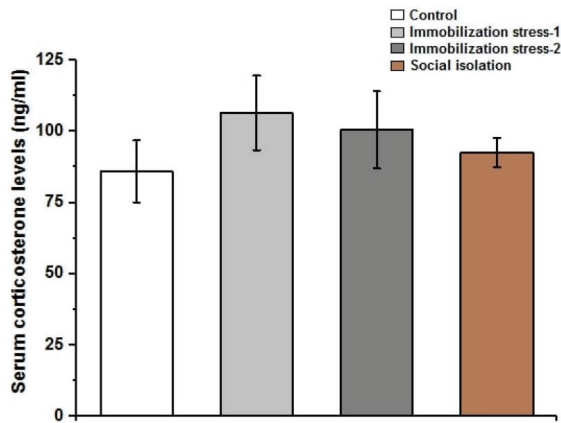


Figure 5. Serum corticosterone levels (ng/ml). Results are plotted as mean \pm S.E.M. (n=8 for each group).

Serum corticosterone levels of the stress groups and the control group are presented in Figure 5. The serum corticosterone concentrations were generally higher in the stress groups, but these elevations did not reach to statistical significance.

DISCUSSION

The present study emphasizes the results of three different stress protocols on anxiety and depression behaviors in adult female rats. Regarding the anxiety-like behavior, a percentage of time spent in the central area was found to be lower in the immobilization stress-2 and social isolation groups in the open field test. When animals leave an open space, they may prefer edge areas as a result of increased anxiety due to the new environment. This is a behavioral reflection of a vague uneasiness in the animals. Therefore, a decrease in the time spent in the central area in the open field test is accepted as a sign of increased anxiety.^{28,29} However, after 10-day of the rest period, scores of the time spent in the central area was lower in immobilization stress-1 and immobilization stress-2 groups. This result may indicate that this effect is weakened in the social isolation group after a 10-day rest period following social isolation in the metabolic cage. However, it can be said that this effect continues in the immobilization stress-2

group. In the immobilization stress-1 group, the score of the time spent in the central area did not differ from the control group after 10-day stress application, but this score was significantly lower than the control group after 10-day rest period. This interesting result may be a reflection of the psychophysiological changes that occur after severe stress or traumatic conditions in the body. One of them is post-traumatic stress disorder, which can be triggered by some physical stress models such as immobilization/restraint stress, underwater/forced swim paradigms, or a combination of multiple stressors.^{30,31} Therefore, both the effect of immobilization stress and the forced swimming test (the pretest session and test steps) after stress period may be related to this finding. We also determined locomotor activity or exploratory behavior-like parameters such as total distance, mobility frequency, mean velocity, and rearing frequency. Analysis of these behaviors may give some clues on anxiety or depression, because the emotional state may affect locomotor and related behaviors.³² Anxiolytic agents help to overcome the fear-caused inhibition of exploratory behaviors, while anxiogenics reduce these parameters.³³ In our experiment, scores of the total distance, mobility frequency, mean velocity, and mobility frequency were lower in the immobilization stress-1 group, and scores of the total distance and rearing frequency were lower in the social isolation group. In the second test, the values of the total distance and mean velocity in the social isolation group were at the same level as the control group. It is known that housing on the grid floor can cause hypersensitivity and pain in the feet of rats.¹⁸ Therefore, these two different results can be explained that 10-day housing on the grid floor in the metabolic cage causes foot hypersensitivity or pain, and 10-day rest period eliminates this hypersensitivity. Scores of the total distance, mobility frequency, and mean velocity were found to be lower in the immobilization stress-2 group. However, rearing frequency of this group did not differ from the control rats. The rearing behavior is accepted as an exploratory behavior type in the rodents.³⁴ A reduction in this behavior is accepted as a result of the high anxiety or fear because this case also

means a decrease in the self-control of coping with dangers or novel stimuli. Therefore, it is expected to be accompanied by a decrease in the percentage of time spent in the central area and a decrease in the rearing frequency in an anxious rodent.²⁹ For this reason, we conclude that scores of the rearing frequency and other exploratory locomotor activities in the immobilization stress-2 group are not compatible with the increased anxiety-induced behaviors. This is also true for the immobilization stress-1 group. Since behavioral tests are performed in the diestrus period, the differences in the time interval until the determination of this period may also lead to such nonspecific findings. We must emphasize that the difficulties in standardizing the variables related to female animals as well as the experimental protocol are among the limitations of our study.

A reduction in the exploratory locomotor activities may reflect an emotional disturbance in rats. However, it is an interesting result that these reductions in the second open field test occurred only in the immobilization stress-2 group. The rats in this group were exposed to immobilization stress 45 minutes twice a day for a period of 10 days. This condition may have resulted in the formation of adaptation to repeated stress in animals. Therefore, stress adaptation in this group may also be valid for the second tests. In a study was reported that another important consideration in behavioral research is the number of test repetitions performed in an animal, because these repeats may lead to reduced exploratory locomotor activities in the open field test due to habituation.³⁵ The habituation or adaptation phenomenon is considered as a form of simple non-associative learning, in which the volume of the response to a specific stimulus decreases with repeated exposure to this stimulant.³⁶ Unfortunately, we used only the open field test to evaluate the anxiety-like behaviors in this study. Using other anxiety tests, such as elevated plus maze test or light-dark box test, could be more useful to eliminate such possibilities.

Regarding our results associated with depression-related

behaviors, durations of the swimming behavior were lower and scores of immobility behavior were higher in the immobilization stress-1 and social isolation groups. The same findings for these groups were valid for the second forced swimming test after 10-day rest period following immobilization and social isolation stress procedures. The forced swimming test is used to determine depressive-like behavior and is based on the assumption that immobility behavior.³⁷ Therefore, increased immobility duration may be interpreted as reflecting a state of behavioral despair.^{27,37} It is known that swimming and immobility behaviors are affected by a wide range of antidepressant treatments.^{27,38,39} We also evaluated the corticosterone levels at the end of the experiments. The serum corticosterone concentrations were generally higher in the immobilization stress-1, immobilization stress-2 and social isolation groups than the control group, but these elevations did not reach to statistical significance. Moreover, there are many reports on the high corticosterone levels and social isolation stress in metabolic cages.^{18,40} In our current experiment, we performed 10-day social isolation stress using the metabolic cage in female rats. Following the behavioral tests, the rats were subjected to a 10-day rest period. After this term, the behavioral tests were repeated and the animals were decapitated. Unfortunately, the serum corticosterone was only measured at the end of the experiments. On the other hand, it would be more useful to measure corticosterone level after each application step. In a 14-day immobilization stress study was reported that plasma corticosterone was elevated at 1 and 7 days but not at 14 days.⁴⁰ This data indicates that the corticosterone level may change in a time-dependent manner even under stress conditions.

Our main focus is the definition of an effective depression and/or anxiety-model in the female rats. Therefore, a protocol including stress and rest period was performed in this study because we consider that the rest period is important to determine the effectiveness of the applied stress in animals. In the second test after 10-day the rest period, we observed that essential anxiety-related behaviors such

as decreased time spent in the central area and reduced rearing frequency did not continue in a stable manner in any of the groups. In a study was reported that 10-day of chronic immobilization stress increase anxiety-like behavior in the open field test in rats.⁴¹ This report is compatible with our results of the open field test after 10-day stress application. However, we determined that this effect weakened in both the immobilization stress groups and social isolation group after 10-day rest period.

Regarding our results on the depression-related behaviors, the scores of the swimming behavior and immobility behavior significantly altered in the immobilization stress-1 and social isolation groups in the forced swimming test both after 10-day stress application and after 10-day rest period following immobilization and social isolation stress procedures. These results suggest that immobilization stress,⁴⁵ minutes daily for a period of ten days, and social isolation stress, single housing in metabolic cages for ten days, causes an increase in the depression-related behaviors in adult female rats. In 2015, Ampuero et al.⁴² performed two different chronic stress models including restraint in small cages and immobilization in adaptable plastic cones for 10 days. Researchers reported that both stress models caused depression-like behaviors in rats. Moreover, in a study was suggested that acute (1 h) or chronic (1 h a day for 14 days) immobilization stress significantly altered the depression-like behaviors and anxiety-like behaviors in mice.⁴³ However, there are some reports that after restraint or immobilization stress, male rats exhibit higher levels of anxiety-like behaviors.^{44,45} The common feature of these studies is that the experiments were carried out in male rodents. However, for female rats, the data on depression-like behavior and 10-day chronic immobilization stress or social isolation stress in the metabolic cage are limited, and this fact increases the importance of our results. Moreover, we performed a rest period as applied stress period, and then we repeated the same behavioral tests. We consider that this protocol is important in determining the permanent effects of immobilization or social

isolation stress in female rats.

In conclusion, anxiety-related behaviors of the immobilization stress -1, the immobilization stress -2 and the social isolation stress groups were inconsistent after the stress period and after the rest period. This result may be related to the open field habituation after repeated administration. Unfortunately, we did not use any other tests (elevated plus maze test or light-dark box test) to evaluate anxiety-like behavior in this study. However, depression-related behaviors of the immobilization stress -1 and the social isolation stress groups were consistent after the stress period and after the rest period. This result was not valid for the immobilization-2 group. We applied the same stress of the immobilization-1 to the immobilization-2 group twice. Therefore, we believe that this application may have resulted in the formation of adaptation to repeated stress in the immobilization-2 stress group. Therefore, we suggest that depression-like behaviors are more dominant in the immobilization stress-1 and social isolation groups of adult female rats.

Conflicts of interest

The authors declared that there is no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors would like to thank Prof. Dr. Sedat Yildiz, Inonu University, for his technical support in the ELISA analyses.

References

- Schneiderman N, Ironson G, Siegel SD. Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants. *Annu Rev Clin Psychol* 2005; 1:607-28.
- Kvetnansky R, Jelokova J, Rusnak M, Dronjak S, Serova B, Nankova B, et al. Novel stressors exaggerate tyrosine hydroxylase gene expression in the adrenal medulla of rats exposed to long-term cold stress, in: R. Kvetnansky (Ed.) *Stress: Neural, Endocrine and Molecular studies*, Taylor and Francis, London, Edition 1, 2002; 121-128.
- Pacak K, Kvetnansky R, Palkovits M, Fukuhara K, Yadir G, Kopin JJ, et al. Adrenalectomy augments In-vivo release of norepinephrine in the paraventricular nucleus during immobilization stress. *Endocrinology* 1993; 133:1404-1410.
- Venihaki M, Gravanis A, Margioris AN. Comparative study between normal rat chromaffin and PC12 rat pheochromocytoma cells: Production and effects of Corticotropin Releasing Hormone (CRH). *Endocrinology* 1997; 138:698-704.
- Anisman H, Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: Caveats concerning animal models. *Neuroscience Biobehavioral Reviews* 2005; 29:525-546.
- McEwen BS. Understanding the potency of stressful early life experiences on brain and body function. *Metabolism* 2008; 57:11-15.
- Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.p:8-12.
- Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability and the contribution of risk factors: global burden of disease study. *Lancet* 1997; 349:1436-42.
- Palanza P. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25:219-33.
- Leuner B, Mendolia-Loffredo S, Shors TJ. Males and females respond differently to controllability and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 2004; 56(12):964-70.
- Altemus M, Sarvaiya N, Neill Epperson C. Sex differences in anxiety and depression clinical perspectives. *Front Neuroendocrinol* 2014; 35:320-30.
- Stepanichev M, Dygalo NN, Grigoryan G, Shishkina GT, Gulyaeva N. Rodent models of depression: neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. *Biomed Res Int* 2014; 2014:932757.
- Krishnan V, Nestler EJ. Animal models of depression: molecular perspectives. *Curr Top Behav Neurosci* 2011; 7:121-47.
- Jaggi AS, Bhatia N, Kumar N, Singh N, Anand P, Dhawan R. A review on animal models for screening potential anti-stress agents. *Neurol Sci* 2011; 32:993-1005.
- Kvetnansky R, Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology* 1970; 87:738-43.
- Bynitsky T, Mostofsky DI. Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. *Neurosci Biobehav Rev* 2009; 33:1089-98.
- Bali A, Jaggi AS. Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. *Eur J Pharmacol* 2015; 746:282-92.
- Sahin Z, Solak H, Koc A, Ozen Koca R, Ozkurkculer A, Cakan P, et al. Long-term metabolic cage housing increases anxiety/depression-related behaviours in adult male rats. *Arch Physiol Biochem*. 2018 Feb 20;1-6. doi: 10.1080/13813455.2018.1441314.
- Olson IAS, Westlund K. More than numbers matter: The effect of social factors on behaviour and welfare of laboratory rodents and non-human primates. *Appl Anim Behav Sci* 2007; 103:229-254.
- Zymantiene J, Zelvyte R, Oberauskas V, Spancerniene U. Influence of Metabolic Cage on Wistar Rat Physiological State. *Mac Vet Rev* 2016; 39:33-38.
- Pinelli CJ, Leri F, Turner PV. Long Term Physiologic and Behavioural Effects of Housing Density and Environmental Resource Provision for Adult Male and Female Sprague Dawley Rats. *Animals (Basel)* 2017; 7:E44.
- Whittaker AL, Lynn KA, Howarth GS. Effects of Metabolic Cage Housing on Rat Behaviour and Performance in the Social Interaction Test. *J Appl Anim Welf Sci* 2016; 19:363-74.
- Cruthirds DF, Stangco AL, Hartman CJ, Sandefur DC, Spencer JM Jr, Dyer CA, et al. Effects of immobilization stress and hormonal treatment on nociception. *AANA J* 2011; 79:375-80.
- Benchimol de Souza D, Silva D, Marinho Costa Silva C, Barcellos Sampaio FJ, Silva Costa W, Martins Cortez C. Effects of immobilization stress on kidneys of Wistar male rats: a morphometrical and stereological analysis. *Kidney Blood Press Res* 2011; 34:424-9.
- Pruet L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003; 463:3-33.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266:730-2.
- Canpolat S, Ulker N, Yardimci A, Bulmus O, Ozdemir G, Sahin Z, et al. Studies on the reproductive effects of chronic treatment with agomelatine in the rat. *Eur J Pharmacol* 2016; 770:33-9.
- Simon P, Dupuis R, Costentin J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res* 1994; 61:59-64.
- Henderson ND, Turri MG, DeFries JC, Flint J. QTL analysis of multiple behavioral measures of anxiety in mice. *Behav Genet* 2004; 34:267-93.
- Goswami S, Rodriguez-Sierra O, Cascardi M, Paré D. Animal models of post-traumatic stress disorder: face validity. *Front Neurosci* 2013;7:89.
- Schöner J, Heinz A, Endres M, Gertz K, Kronenberg G. Post-traumatic stress disorder and beyond: an overview of rodent stress models. *J Cell Mol Med* 2017;21(10):2248-2256.
- Maldonado R, Smadja C, Mazzucchelli C, Sassone-Corsi P. Altered emotional and locomotor responses in mice deficient in the transcription factor CREM. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:14094-9.
- Fuchs E, Flugge G. Experimental animal models for the simulation of depression and anxiety. *Dialogues Clin Neurosci* 2006; 8:323-33.
- Van Abeelen JHF. Genetic Analysis of Behavioural Responses to Novelty in Mice. *Nature* 1975; 254:239-241.
- Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M, Bernatova I. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdiscip Toxicol* 2013; 6:126-35.
- Thompson RF, Spencer WA. Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol Rev* 1966; 73:16-43.
- Cryan JF, Holmes A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews. Drug discovery* 2005; 4:775-790.
- Cryan JF, Mombereau C. In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. *Mol Psychiatry* 2004; 9:326-57.
- Cryan JF, Page ME, Lucki I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 182:335-44.
- Song X, Tian H, Bressler J, Pruett S, Pope C. Acute and repeated restraint stress have little effect on pyridostigmine toxicity or brain regional cholinesterase inhibition in rats. *Toxicol Sci* 2002; 69:157-64.
- Vyas A, Chattarji S. Modulation of different states of anxiety-like behavior by chronic stress. *Behavioral Neuroscience* 2004; 118:1450-1454.
- Ampuero E, Luarte A, Santibañez M, Varas-Godoy M, Toledo J, Diaz-Veliz G, et al. Two Chronic Stress Models Based on Movement Restriction in Rats Respond Selectively to Antidepressant Drugs: Aldolase C As a Potential Biomarker. *Int J Neuropsychopharmacol* 2015; 18(10):pvv038.
- Xing B, Liu P, Jiang WH, Liu F, Zhang H, Cao GF, et al. Effects of immobilization stress on emotional behaviors in dopamine D3 receptor knockout mice. *Behav Brain Res* 2013; 243:261-6.
- Padovan CM, Guimaraes FS. Restraint-induced hypoactivity in an elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33:79-83.
- Campos AC, Ferreira FR, Guimaraes FS, Lemos JL. Facilitation of endocannabinoid effects in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behaviors depending on previous stress experience. *Neuroscience* 2010; 167:238-46.

Comparison of Intravitreal Ranibizumab and Diod Laser Photocoagulation Treatment for Retinopathy of Prematurity; Effects on Axial Length and Refractive Status

Prematüre Retinopatisinde uygulanan Diod Lazer Fotokoagülasyon ile İntravitreal Ranibizumab Tedavilerinin Gözün Aksiyel Uzunluğuna ve Refraktif Durumuna Olan Etkilerinin Karşılaştırılması

Emine Alyamac Sukgen¹, Selim Cevher², Yusuf Kocluk¹

¹ Adana Numune Research and Training Hospital, Department of Ophthalmology, 01240 Adana, Turkey

² Hitit University Medicine Faculty, Department of Ophthalmology, 019010 Çorum, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Selim Cevher

Ulukavak Mah. Çiftlik Çayırı Cad. No:45 İlbalkent Yerleşkesi Merkez/Çorum, TURKEY

T: +90 555 814 77 90 E-mail: s.cevher@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.09.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 09.02.2019

Abstract

Objective	To evaluate the effects of diode laser photocoagulation and intravitreal ranibizumab (IVR) treatments on axial length and refractive status development in the treatment of retinopathy of prematurity (ROP). (Sakarya Med J 2019, 9(1):141-147)
Materials and Methods	The study included 82 eyes of 41 patients who were 1 year adjusted age, underwent primarily diode laser photocoagulation or 0.25 mg/0.025 ml IVR. Axial length (AL) and spherical equivalent (SE) parameters were compared.
Results	Patients divided into two groups. Group 1 had 34 eyes of 17 patients who underwent IVR treatment and group 2 had 48 eyes of 24 patients who underwent diode laser photocoagulation treatment. In group 1, AL were detected 19,86 ±1,104mm in right eyes and 19,73 ±1,062mm in left eyes. In group 2, AL were detected 19,90± 0,83mm in right eyes and 19,86 ± 0,842mm in left eyes (p>0.05). In group1 and 2, SE values were detected 0.44±2.053D and -0.02±3.07D in right eyes and 0.59±2.063D and -0.17±2.8 in left eyesD, respectively (p>0.05). There was no statistically significant differences between two groups about AL and SE values.
Conclusion	Myopia is seen higher in patients with ROP than healthy patients. Although using anti vascular growth factor in ROP has been increased last years, diode laser photocoagulation is the gold standart therapy. In our study we compared the effects of diode laser photocoagulation and IVR on AL and SE. We did not find any statistically significant difference. Further evaluation is needed.
Keywords	Retinopathy of Prematurity; Laser Photocoagulation; Ranibizumab; Axial Length; Refraction

Öz

Amaç	Prematüre retinopatisi (PR) tedavisinde uygulanan diod lazer fotokoagülasyon (LFK) ile intravitreal ranibizumab (IVR) tedavilerinin gözün aksiyel ve refraktif gelişimi üzerine olan etkilerini değerlendirmektir. (Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):141-147).
Gereç ve Yöntemler	Klimimizde PR nedeniyle primer ve tek tedavi olarak LFK ve ya 0.25 mg/0.025 ml IVR tedavisi uygulanmış ve düzeltilmiş olarak bir yaşını doldurmuş 41 infantın 82 gözü çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların biyometri ile aksiyel uzunlukları(AU) ölçülmüş, sikloplejik muayene sonucu elde edilen refraktif değerleri sferik eküvalan olarak karşılaştırılmıştır.
Bulgular	IVR grubunda 17 hastanın 34 gözü Grup-1, LFK grubunda ise 24 hastanın 48 gözü Grup-2 olarak ayrıldı. Grup-1'de AU; sağ gözde 19,86 ±1,104mm; sol gözde 19,73 ±1,062mm idi. Grup-2'de sağ göz için 19,90± 0,83mm sol göz için 19,86 ± 0,842mm idi. (p>0.05) Refraktif değerler Grup-1'de sağ göz için 0.44±2.053D; sol göz içinse 0.59±2.063D idi. Grup-2'de ise sağ göz -0.02±3.07D, sol göz ise -0.17±2.8 idi. (p>0.05) Her iki grupta hem aksiyel uzunluk açısından hem de sferik eküvalan açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.
Sonuç	Prematüre retinopatisi bebeklerde miyopi gelişme oranı sağlıklı bebeklere göre daha yüksektir. Prematüre retinopatisi tedavisinde son yıllarda anti vasküler büyüme faktörü (Anti-Vebf) kullanımını hızla artırmakla beraber LFK tedavisi altın standart tedavi olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda IVR tedavisi ile LFK tedavisinin aksiyel uzunluk ve sferik eküvalan değerleri üzerine yaptıkları etkiyi araştırarak ve bir fark bulamadık ama bu konuda daha fazla bilimsel çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz
Anahtar Kelimeler	Prematüre retinopatisi; Lazer Fotokoagülasyon; Ranibizumab; Aksiyel Uzunluk; Refraksiyon.

INTRODUCTION

Retinopathy of prematurity (ROP) is a proliferative vascular disease which is the preventable common cause of the blindness in preterm infants.¹ In pathogenesis, mediators especially anti-vascular growth factor (anti-VEGF) released from the avascular retina is particularly responsible for the disease.² Gold standard treatment of the disease is argon laser photocoagulation.³ In addition, in literature, there are a lot of studies which is about successful treatment of the ROP with anti-VEGF agents. Particularly, in ROP cases involving the posterior pole of the retina, because of the low activity and high ocular morbidity of the laser photocoagulation treatment, anti-VEGF agents are preferred in therapy. Although bevacizumab is the most popular anti-VEGF agent, ranibizumab is one of the anti-VEGF agents which is used in the treatment of the ROP.^{4,5}

In studies, it has shown that prematurity is a factor affecting the axial development of the eye.⁶ It has also been shown that infants who have undergone laser photocoagulation therapy due to the ROP, considerable changes in the refractive status of the eye has been detected.⁷ In recent years, several studies have reported extremely positive outcomes after intravitreal bevacizumab (IVB) treatment for ROP, which resulted in less refractive error than laser photocoagulation.^{8,9} However, the reasons for these changes have not yet been fully clarified.

The aim of the study is to compare the effects of diode laser photocoagulation treatment and intravitreal ranibizumab (IVR) treatment on axial length and refractive status development in the treatment of ROP.

MATERIAL and METHODS

This study was conducted in tertiary ROP Diagnosis and Treatment Center by examining the patient records retrospectively between January 2016 and January 2017. The study population consisted of infants who were 1 year adjusted age. Approval was obtained from the local ethics committee for the study. The study conformed to the

netts of the Declaration of Helsinki. This study is observational descriptive study.

The study included a total of 41 infants, who were organized into the following two groups: Group 1, which comprised infants treated with IVR monotherapy for ROP; Group 2, which comprised infants treated with laser photocoagulation for ROP. The first ophthalmological examination was performed by experienced ophthalmologist with indirect ophthalmoscope at 4 weeks after birth (Gestational age (GA) ± 27 weeks) or 31 weeks of corrected GA (GA ± 27 weeks). The pupil was dilated with tropicamide 0.5% and phenylephrine 2.5%. Ophthalmologist used 20D and 28D lenses, sterile lid speculum, and scleral depressor. The diagnosis was based on the guidelines of the International Committee for the Classification of ROP.¹⁰ Treatment decisions were made according to the Early Treatment for ROP (ETROP) study criteria.³ All findings were recorded. Infants who developed type 1 ROP defined by the Early Treatment for ROP (ET-ROP) study were provided the an option of IVR or laser treatment after a thorough discussion with their parents.

Laser photocoagulation treatment was conducted in Premature Intensive Care Unit. For laser photocoagulation treatment, the infant was sedated with ketamine under the supervision of an attending neonatologist. Laser photocoagulation treatment was performed with an indirect laser at wavelength 810-nm head-mounted diode laser (Iridex; Oculight SL, Mountain View, California).

Intravitreal ranibizumab treatment was conducted in operating room. For IVR treatment, a lid speculum was first placed in the eye and then 0.5% proparacaine HCl and 0.5% and 5% povidone-iodine were placed into the eye. An injection of ranibizumab 0.25 mg/0.025 mL was introduced into the vitreous with a 32-gauge needle at 1 mm behind the limbus.

After laser photocoagulation treatment or IVR treatment

all infants underwent fundus examination regularly until recovery.

Infants who had congenital anomalies required additional therapy (such as IVR and laser photocoagulation) or received different anti-VEGF agent, underwent any ocular surgery was excluded. All patients were included in this study except excluded patients and uncontrolled patients.

Cycloplegic refractions were performed after applying three drops of 1% cyclopentolate (an interval of 10 minutes) using a handheld autorefractometer (Welch Allyn; Sure Sight Autorefractor, New York). Three measurements were obtained for each subject. If an inconsistency was observed in these consecutive measurements, refractive assessments continued until at least 3 coherent refractive values were obtained. Refractive results were recorded as spherical equivalent (SE) powers. Axial length parameter was assessed using an ultrasonic biometry device (Nidek; US-4000 Echoscanner, Japan). A total of 5 measurements of axial length were obtained for each subject and average readings were utilized for statistical analysis.

Data analysis was conducted using SPSS V.16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Patients were classified into 2 groups, Group 1 was intravitreal ranibizumab treatment group and Group 2 was laser photocoagulation treatment group. Qualitative data and demographic data were compared among groups using the Chi-Square test. T-test was used to analyze quan-

titative variables. A difference with $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Group 1 had 34 eyes of 17 patients and group 2 had 48 eyes of 24 patients. The demographic data of the patients are given in Table 1 in detail. There was not any statistically significant difference between groups in terms of gestational age, birth weight, treatment week and follow-up period. (Table 1)

After treatment in both groups, both plus disease and ROP were completely regressed, no additional treatment was given to any of the patients. Depending on the treatment modalities, none of the serious complications such as cataract, endophthalmitis, anterior segment ischemia, retinal detachment, and glaucoma were observed. In adjusted first age, anterior segment examination and fundus examination were normal. There was not ectopic macula or abnormal optic disc in any patient. In ranibizumab group all patients had full vascularisation up to ora serrata at last follow up.

In Group 1, 3 patients had stage 3 disease and 12 patients had zone 1 disease. In Group 1, axial length were detected $19,86 \pm 1,104$ mm in right eyes and $19,73 \pm 1,062$ mm in left eyes. In Group 2, axial length were detected $19,90 \pm 0,83$ mm in right eyes and $19,86 \pm 0,842$ mm in left eyes ($p > 0.05$). In Group 1, spherical equivalent values were de-

	IVR N=17	LFK N=24	P* value
Gestational age (week)	28,00±3,00 (24-35)	28,46±3,09 (23-34)	,639
Birth weight (Gram)	1190,59±485,71 (640-2200)	1174,17±363,11 (540-1770)	,902
Treatment week (week)	35,65±1,72 (32-39)	36,27±1,14 (34-39)	,170
Follow-up period (week)	14,41±4,13 (14-20)	16,02±2,94 (14-22)	,153

IVR:Intravitreal Ranibizumab; LFK:Laser Photocoagulation

tected 0.44 2.053D (between -2.0D and +4.0D) in right eyes and 0.59 2.063D (between -2.0D and +5.0D) in left eyes. In Group 2, spherical equivalent values were detected -0.02 3.07D (between -8.0D and +5.0D) in right eyes and -0.17 2.8D (between -8.0D and +5.0D) in left eyes. There was not statistically significant difference in axial length values in right and left eyes (p values: 0.906, 0.648; respectively). There was not statistically significant difference in spherical equivalent values between groups (p values: 0.593, 0.353; respectively). (Table 2 and 3)

Table 2. Comparison of Axial length and refractive error in right eyes

VARIABLES	GROUP 1 RIGHT EYES	GROUP 2 RIGHT EYES	P VALUE
AXIAL LENGHT (mm)	19.86±1.104	19.90±0.83	0.906
SPHERICAL EQUIVALENT (Diopter)	0.44±2.053	-0.02±3.07	0.648

Table 3. Comparison of Axial length and refractive error in left eyes

VARIABLES	GROUP 2 LEFT EYES	GROUP 2 LEFT EYES	P VALUE
AXIAL LENGHT (mm)	19.73±1.062	19.86±0.842	0.593
SPHERICAL EQUIVALENT (Diopter)	0.59±2.063	-0.17±2.8	0.353

DISCUSSION

Ocular disorders such as strabismus, anisometropia, amblyopia and refraction error in premature babies are more likely to develop than babies born in term. The most common reason for these disorders is the development of ROP.

Ablation treatment (laser photocoagulation and cryotherapy) has been used in ROP since the 1980s. Many authors reported that the prevalence of astigmatism, myopia and high myopia were higher in children who underwent ab-

lation therapy than those without ROP.^{11,12,13} The main causative reasons are not clear. We performed analysis of SE and axial lengths of patients with laser photocoagulation treatment and patients with IVR treatment in our study.

It has been stated in several studies that ablation therapy causes scarring and inflammation, resulting in an increase in refraction error.^{14,15} Axer Siegel et al. was found that myopia(-5D) incidence was 31.3% and high myopia (>-5D) incidence was 23.9% after laser photocoagulation treatment.¹¹ Dhawan et al. reported that the myopia incidence was 80.4% and high myopia incidence was 31.5% in their study.¹²

Mean SE value was reported -3.17D by Paysse et al., -1.5D by Axer Siegel et al. and -0.4D by Lee et al. after photocoagulation laser treatment.^{11,16,17} In our study, we found that the mean SE value is -0.02D in right eyes and -0.17D in left eyes after laser photocoagulation treatment. Our results were similar to the study of Lee et al.

In recent years, using anti-VEGF agents to treat ROP have become more popular. The effects of these agents on biometric parameters are still research topic. Salman et al. who used aflibercept in treatment of ROP, reported that myopia and high myopia incidences were 23.1% and 3.8%, respectively.¹⁸ On the other hand, bevacizumab study conducted by Harder et al., they found that myopia and high myopia incidences were 17% and 9%, respectively.¹⁹

SE values were found 0.64D by Harder et al, -1.00D by Martinez-Castellanos et al. and -1.04D by BEAT-ROOP study.^{8,19,20} Bevacizumab therapy was used in these three study. In our study, we used ranibizumab therapy, SE value was found 0.44D in right eyes and 0.59D in left eyes. Our results are similar to the study of Harder et al.

In literature, several studies reported the refractive outcomes following anti-VEGF therapy for ROP had lower refractive errors than laser ablation. For example, Harder et

al. detected that IVB group was less refractive error than laser photocoagulation treatment group.¹⁹ Chen et al. reported that the IVB group was less myopic than the laser photocoagulation group in the patients who were followed for 2 years.⁹ On the other hand, some authors indicated that there was no difference in the development of refraction errors between laser photocoagulation therapy and anti-VEGF therapy. For example, Gunay et al., they compared the IVB and laser photocoagulation treatment on SE values, they did not find statistically significant difference between the groups.²¹ Hwang et al. who treated 28 patients with 6 month follow-up period, they did not find statistically significant difference in refraction values between the IVB and laser photocoagulation treatment groups.²²

There are a few studies which compare the effects of ranibizumab and laser photocoagulation treatment on refraction status. Gunay et al. whose study had 3 groups; IVR, IVB and laser photocoagulation treatment, they reported that there was not any statistically significant difference in SE values between the groups.²³ Kabataş et al. found the similar results between IVR, IVB and laser photocoagulation treatment groups.²⁴ We treated 17 patients with ranibizumab and 24 patients with laser ablation and no difference was found between the 2 different treatments in SE values. this result might be due to the relatively lower number of subjects and relatively lower follow-up period. This issue needs to be further investigated with larger study population and longer follow-up period.

The mechanism of development of refractive error after treatment of ROP has not been fully understood. Corneal curvature, anterior chamber depth, lens thickness, vitreous thickness and axial length play a role in the development of refraction error. It is a known fact that babies are born as hyperopia. With the emmetropization, hyperopia recover. The one of the most important parameter in emmetropization is axial length. Axial length was found shorter in premature infants(ROP+ or ROP-) than term infants in the study of Cook et al.²⁵ In the same study, they reported

that the axial length was affected by the ROP stages and the mean axial length decreased as the stage progressed. Similarly, Law et al. found that axial length was negatively correlated with the stage of ROP.²⁶

Many authors have studied the effects of treatment on axial length. Yang et al. examined the 9 years old patients who underwent only laser photocoagulation treatment, they found that there was no significant difference in axial length between healthy individuals of the same age.²⁷ Iwase et al. studied the effects of the size of the photocoagulation area on axial length and they reported that there was no significant difference between the 360-degree laser photocoagulation therapy group and partial laser photocoagulation group.²⁸ Lin et al. compared the effects of ranibizumab and bevacizumab treatment on axial length, they did not find any difference between groups.²⁹ Chen et al. whose study had 3 groups; IVB, IVB+laser photocoagulation, and IVB+ lens-sparing vitrectomy. They reported that there was no significant difference in axial length between the groups.⁹ In the same study, there was no association between myopia and axial length, they indicated that myopia may be associated with anterior segment parameters.

There are very few studies in the literature investigating the effect of IVR treatment and laser photocoagulation treatment on axial length. Gunay et al. found that the axial length had no statistically significant difference between the groups receiving IVB, IVR and laser photocoagulation treatment.²³ In our study, we detected that the axial length in the IVR treatment group was $19,86 \pm 1,104$ mm in right eyes and $19,73 \pm 1,062$ mm in left eyes. In the laser photocoagulation treatment group, we found the axial length $19,90 \pm 0,83$ mm in right eyes and $19,86 \pm 0,842$ mm in left eyes. There was no statistically significant difference between right and left eyes in terms of axial length in both groups. We think that axial length is not affected by either laser photocoagulation treatment or IVR treatment and we also think that refraction error is not directly related to the axial length.

ROP not only affects vascularisation but also foveal structure. There have been reports that patients with a history of ROP examined by spectral domain optical coherence tomography were more likely to show abnormal foveal development than normal subjects.³⁰ In Turkey, Erol et al. detected cystoid macular edema in 38% of ROP patients.³¹ Some authors have suggested that cystoid macular edema in prematurity may be related with vascular endothelial growth factor.^{32,33} Furthermore, the treatment modalities of ROP, laser photocoagulation and anti-vegf treatment, can affect the structure of fovea. These effects can cause low vision. So, ophthalmologists should investigate the macular structure in patients with ROP with optical coherence tomography.

Limitations of the study are; the lack of a control group consisting of non-premature infants, lack of laser spot number, the number of patients and the follow-up period were relatively small and short, and the anterior segment parameters were not considered.

In conclusion, the methods used in PR treatment are developing rapidly in recent years. The effects of the treatments on ocular parameters are being investigated. We compared the effects of laser photocoagulation treatment, the gold standard treatment, and lower molecular weight ranibizumab on SE and axial length. We found no statistically significant difference between the two parameter values between the two groups. We believe that studies involving larger patient populations and anterior segment parameters should be undertaken in this regard. We think that our study is important because there are few articles in the literature comparing laser photocoagulation treatment and IVR treatment.

Acknowledgments

There are no conflicts of interest.

References

1. Gilbert C. Retinopathy of prematurity: A global perspective of the epidemics, population of babies at risk and implications for control. *Early Hum Dev.* 2008;84:77– 82.
2. Hartnett ME. Pathophysiology and mechanisms of severe retinopathy of prematurity. *Ophthalmology.* 2015;122:200-210.
3. Early Treatment For Retinopathy Of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol.* 2003;121:1684–1694.
4. Zhou Y, Jiang Y, Bai Y, Wen JCL (2016) Vascular endothelial growth factor plasma levels before and after treatment of retinopathy of prematurity with ranibizumab. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 254(1):31–36.
5. Sukgen, Emine Alyamaç, and Yusuf Koçluk. "Results of intravitreal ranibizumab treatment for retinopathy of prematurity in infants." *Cutaneous and Ocular Toxicology* (2017): 1-6.
6. Ozdemir O, Tunay ZO, Acar DE, Erol MK, Sener E, Acar U. "The relationship of birth weight, gestational age, and postmenstrual age with ocular biometry parameters in premature infants." *Arquivos brasileiros de oftalmologia* 78.3 (2015): 146-149.
7. Connolly BP, Ng EY, McNamara JA, Regillo CD, Vander JF, Tasman W. A comparison of laser photocoagulation with cryotherapy for threshold retinopathy of prematurity at 10 years: part 2. Refractive outcome. *Ophthalmology* 2002;109:936–941.
8. Geloneck MM, Chuang AZ, Clark WL, Hunt MG, Norman AA, Packwood EA, et al. ; BEAT-ROP Cooperative Group. Refractive outcomes following bevacizumab monotherapy compared with conventional laser treatment: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:1327–1333.
9. Chen YH, Chen SN, Lien RI, Shih CP, Chao AN, Chen KJ, et al. Refractive errors after the use of bevacizumab for the treatment of retinopathy of prematurity: 2-year outcomes. *Eye (Lond)* 2014;28:1080–1087.
10. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity (2005) *The International Classification of Retinopathy of Prematurity revisited.* *Arch Ophthalmol* 123:991–999.
11. Axer-Siegel R, Maharshak I, Snir M, Friling R, Ehrlich R, Sherf I, et al. Diode laser treatment of retinopathy of prematurity: anatomical and refractive outcomes. *Retina* 2008; 28: 839–846.
12. Dhawan A, Dogra M, Vinekar A, Gupta A, Dutta S. Structural sequelae and refractive outcome after successful laser treatment for threshold retinopathy of prematurity. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2008; 45: 356–361.
13. Sahni J, Subhedar NV, Clark D. Treated threshold stage 3 versus spontaneously regressed sub-threshold stage 3 retinopathy of prematurity: a study of motility, refractive, and anatomical outcomes at 6 months and 36 months. *Br J Ophthalmol* 2005; 89: 154–159.
14. Katoch D, Sanghi G, Dogra MR, Beke N, Gupta A. Structural sequelae and refractive outcome 1 year after laser treatment for type 1 prethreshold retinopathy of prematurity in Asian Indian eyes. *Indian J Ophthalmol.* 2011;59(6):423–426.
15. Davitt BV, Quinn GE, Wallace DK, Dobson V, Hardy RJ, Tung B, et al.; Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Astigmatism progression in the early treatment for retinopathy of prematurity study to 6 years of age. *Ophthalmology.* 2011;118(12):2326–2329.
16. Paysse EA, Hussein MAW, Miller AM, Brady McCreery KM, Coats DK. Pulsed mode versus near-continuous mode delivery of diode laser photocoagulation for high-risk retinopathy of prematurity. *J AAPOS* 2007;11:388–392.
17. Lee GA, Hilford DJ, Gole GA. Diode laser treatment of pre-threshold and threshold retinopathy of prematurity. *Clin Experiment Ophthalmol* 2004;32:164–169.
18. Salman, Abdelrahman G., and Aza M. Said. "Structural, visual and refractive outcomes of intravitreal aflibercept injection in high-risk prethreshold type 1 retinopathy of prematurity." *Ophthalmic research* 53.1 (2015): 15-20.
19. Harder, B. C., Schlichtenbrede, F. C., von Baltz, S., Jendritza, W., Jendritza, B., & Jonas, J. B. (2013). Intravitreal bevacizumab for retinopathy of prematurity: refractive error results. *American journal of ophthalmology*, 155(6), 1119-1124.
20. Martinez-Castellanos MA, Schwartz S, Hernández- Rojas ML, Kon-Jara VA, Garcia-Aguirre G, Guerrero-Naranjo JL, Chan RV, et al. Long-term effect of antiangiogenic therapy for retinopathy of prematurity up to 5 years of follow-up. *Retina* 2013;33:329–338.
21. Gunay, M., Sekeroglu, M. A., Bardak, H., Celik, G., Esenulku, C. M., Hekimoğlu, E., et al. (2016). Evaluation of refractive errors and ocular biometric outcomes after intravitreal bevacizumab for retinopathy of prematurity. *Strabismus*, 24(2), 84-88.
22. Hwang CK, Hubbard GB, Hutchinson AK, Lambert SR. Outcomes after intravitreal bevacizumab versus laser photocoagulation for retinopathy of prematurity: a 5-year retrospective analysis. *Ophthalmology* 2015;122:1008–1015
23. Gunay, M., Sukgen, E. A., Celik, G., & Koçluk, Y. (2017). Comparison of bevacizumab, ranibizumab, and laser photocoagulation in the treatment of retinopathy of prematurity in Turkey. *Current eye research*, 42(3), 462-469.
24. Kabataş, E. U., Kurtul, B. E., Altaylık Özer, P., & Kabataş, N. (2017). Comparison of intravitreal bevacizumab, intravitreal ranibizumab and laser photocoagulation for treatment of type 1 retinopathy of prematurity in Turkish preterm children. *Current eye research*, 42(7), 1054-1058.
25. Cook A, White S, Batterbury M and Clark D. Ocular growth and refractive error development in premature infants with or without retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 5199-5207.
26. Laws DE, Haslett R, Ashby D, O'Brien C, Clark D. Axial length biometry in infants with retinopathy of prematurity. *Eye (Lond)*. 1994;8(4):427-30.
27. Yang, C. S., Wang, A. G., Shih, Y. F., & Hsu, W. M. (2013). Astigmatism and biometric optic components of diode laser-treated threshold retinopathy of prematurity at 9 years of age. *Eye*, 27(3), 374.
28. Iwase, S., Kaneko, H., Fujioka, C., Sugimoto, K., Kondo, M., Takai, Y., et al. (2014). A long-term follow-up of patients with retinopathy of prematurity treated with photocoagulation and cryotherapy. *Nagoya journal of medical science*, 76(1-2), 121.
29. LIN, Chun-Ju; TSAI, Yi-Yu. Axial length, refraction, and retinal vascularization 1 year after ranibizumab or bevacizumab treatment for retinopathy of prematurity. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*, 2016, 10: 1323.
30. Wu WC, Lin RI, Shih CP, Wang NK, Chen YP, Chao AN, et al. Visual acuity, optical components, and macular abnormalities in patients with a history of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology* 2012;119:1907– 1916.
31. Erol MK, Ozdemir O, Turgut Coban D, Bilgin AB, Dogan B, Sogutlu Sari E, et al. Macular findings obtained by spectral domain optical coherence tomography in retinopathy of prematurity. *J Ophthalmol.* 2014;2014:468653.
32. Maldonado R. S., O'Connell R., Ascher S. B., Sarin N., Freedman S. F., Wallace D. K., et al. Spectral-domain optical coherence tomographic assessment of severity of cystoid macular edema in retinopathy of prematurity. *Archives of Ophthalmology.* 2012;130(5):569–578.
33. Vinekar A., Avadhani K., Sivakumar M., Mahendradas P., Kurian M., Braganza S., et al. Understanding clinically undetected macular changes in early retinopathy of prematurity on spectral domain optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* 2011;52(8):5183–5188.

Thin Fiber Neuropathy Associated With Vitiligo

Vitiligo Hastalarında İnce Lif Nöropatisinin Değerlendirilmesi

Bahar Sevimli Dikicier¹, Bekir Enes Demiryürek²

¹ Sakarya Education and Research Hospital Dermatology Department Sakarya Turkey

² Sakarya Education and Research Hospital Neurology Department Sakarya Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Bekir Enes Demiryürek

Sakarya Education and Research Hospital, Neurology Department Sakarya, Turkey

T: +90 536 933 79 04 E-mail: bekirenes10@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 13.08.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 07.01.2019

Abstract

Objective	This study is designed to evaluate thin fiber neuropathy, if any with patients who had vitiligo and had normal standard nerve conduction studies. (<i>Sakarya Med J</i> 2019, 9(1):148-153)
Materials and Methods	This case - control study was conducted between March 2016-June 2016 in ENMG laboratory of our neurology clinic. Among 123 vitiligo patients, 40 vitiligo patients between ages 18-60 without evident neuropathy by standard nerve conduction studies were included in this study. Furthermore 40 healthy individuals without vitiligo or any neuropathy with matching age and gender were included in this study. All participants divided into two groups (vitiligo and control groups). Demographic data were recorded with weight, height, body mass index (BMI) data of participants. Cutaneous silent period conduction study was performed in median and sural nerves to evaluate small fiber conduction.
Results	CSP duration and distal latency measurements abductor pollicis braves muscle on the upper extremity and tibialis anterior muscle on the lower extremity were similar in both CTS and control groups. Our findings show no association with vitiligo and small fiber neuropathy.
Conclusion	In our study, thin fiber neuropathy was not detected in vitiligo patients. We believe that this study may contribute to the literature in terms of the effect of vitiligo on myelinated A delta fibers and demyelinated thin C fibers.
Keywords	cutaneous silent period; vitiligo; thin fiber neuropathy

Öz

Amaç	Bu çalışma, normal standart sinir iletim çalışmaları olan vitiligo hastalarında ince lif nöropatisini değerlendirmek için tasarlanmıştır. (<i>Sakarya Tıp Dergisi</i> 2019, 9(1):148-153).
Gereç ve Yöntemler	Bu vaka- kontrol çalışması Mart 2016-Haziran 2016 tarihleri arasında XX Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda ENMG laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya 123 vitiligo hastasından dışlama kriterlerine göre seçilmiş 18-60 yaş arasında 40 vitiligo hastası ile kontrol amaçlı yaşları ve cinsiyetleri eşleştirilmiş 40 sağlıklı birey dahil edildi. Katılımcılar vitiligo grubu ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrıldı. Katılımcıların demografik verileri kaydedildi. İnce lif iletimini değerlendirmek için kutanöz sessiz periyot (KSP) iletim çalışması yapıldı. Vitiligo şiddeti vitiligo alan skorlama indeksi ile değerlendirildi.
Bulgular	Üst ve alt ekstremitelerin KSP distal latans ve süre değerleri iki grupta benzerdi (vitiligo grubu ve kontrol grubu). Vitiligo hastalarında hastalığın şiddeti ve süresi ile üst ve alt ekstremitelerin KSP değerleri arasında ilişki saptanmadı.
Sonuç	Çalışmamızda vitiligo hastalarında ince lif nöropatisi saptanmamıştır. Bu çalışmanın, vitiligonun miyelinli A delta lifleri ve demiyelinize ince C lifleri üzerindeki etkisi bakımından, literatüre katkı sağlayabileceği kanaatindeyiz.
Anahtar Kelimeler	kutanöz sessiz periyot; vitiligo; ince lif nöropatisi

INTRODUCTION

Cutaneous silent period (CSP) is a spinal inhibitor reflex. Strongly stimulation of a cutaneous nerve electrically inhibits the voluntary muscle contraction temporarily for a definite period of time after voluntary contraction of the muscle.¹⁻³ The physiology of CPS is not yet clearly explained. The clinical convenience of CSP appears in evaluating the continuity of nerve fibers which cannot be determined by standard electrophysiologic studies.⁴

Vitiligo is a pigmentation disorder presenting with hypopigmented macules; with a prevalence of nearly 1%. The exact etiology of vitiligo is unknown, but autoimmune, neurological and auto-toxic mechanisms are focused on studies.^{5,6} It is widely accepted that vitiligo is an autoimmune reaction in genetically predisposed individuals.⁷ Previously, vitiligo was implied just as a skin disease, but some recent studies showed increased frequency of insulin resistance, metabolic syndrome and atherosclerosis in patients with vitiligo.⁸⁻⁹ The neural hypothesis is based on some clinical aspects, particularly the distribution of segmental, dermatomal vitiligo.¹⁰

This study is designed to detect thin fiber neuropathy, if any with patients who had vitiligo and had normal standard nerve conduction studies.

MATERIALS AND METHODS

Participants population

This case - control study was conducted between March 2016-June 2016 in ENMG laboratory of our neurology clinic.

Among 123 vitiligo patients 40 vitiligo patients between ages 18-60 without evident neuropathy by standard nerve conduction studies were included in this study. Furthermore 40 healthy individuals without vitiligo or any neuropathy with matching age and gender were included in this study. All participants divided into two groups (vitiligo group and control group).The exclusion criteria were: par-

ticipants, with evident neuropathy which was confirmed by nerve conduction studies, history of neurologic or psychiatric diseases as hereditary or acquired polyneuropathy, radiculopathy, stroke and alcohol consumption, diabetes mellitus, thyroid disease, broken elbow, collagen tissue disease, osteoporosis, kidney or liver failure, and diseases causing chronic pain like fibromyalgia. Local ethics committee approval was obtained. (050.01.04.88)

The aim of this study was explained to all participants, and written informed consent was obtained from the participants.

Demographic data were recorded with weight, height, body mass index (BMI) data of participants. Vitiligo severity and period was assessed by vitiligo area scoring index (VASI) for the vitiligo group. Cutaneous silent period conduction study was performed in median and sural nerves to evaluate small fiber conduction.

Nerve conduction studies

Median and ulnar nerve conduction studies were performed on each arm of every patient (n=120) under room temperature with electromyography (EMG) device (Nihon Cohden, Tokyo, Japan). Standard protocol was applied by using standard nerve conduction techniques with superficial electrodes.¹¹

F responds of both median and ulnar nerves were evaluated. To eliminate any cervical radiculopathy, upper extremity needle EMG was performed also. Bilateral lower extremity sural nerve and unilateral peroneal and tibial nerve conduction studies were done to eliminate polyneuropathy. F responds of both nerves were obtained. Motor nerve conduction of median and ulnar nerves were evaluated according to the records of abductor pollicis brevis and adductor digiti mini muscles after supra maximum stimulation considering amplitude and latency. Sensorial conduction was determined through 2. and 5. digits. Distal motor latency (DML)>4.2ms, amplitude <6, 3, nerve

conduction velocity <45m/sn, sensorial distal latency >3, 5 ms, sensorial action potential (DAP) <15 were all defined as abnormal conduction findings.¹¹

Cutaneous silent period

CSP was measured in the right upper and lower extremity. Filters were 50 Hz–5 kHz, sweep speed was 200 ms, and sensitivity was 100 mV. The median sensory nerve was stimulated with a standard painful stimulus (25mA intensity, 1ms duration) through a bar electrode fixed on the second digit of the right hand and the response was recorded with an electrode fixed on the belly of the contracting abductor pollicis brevis muscle.

The sural nerve was stimulated superficially lateral to the external malleolus in the right lower extremity and recordings were obtained from the anterior tibial muscle through bar electrode.¹² Four separate responses were superposed after maximum contraction of tibialis anterior muscle in the upper extremity and abductor pollicis brevis muscle which was induced by superficial electrical stimulus. The responses obtained were defined as L1; latency between the start of the stimulus to the suppression of muscle activity, L2; latency of a new muscle activity and, d; the distance between these two.⁴

Vitiligo Area Scoring Index

The Vitiligo Area Scoring Index (VASI) was used for vitiligo patients to state the condition of the disease. VASI in a simple measure that compares disease activity by matching the degree of repigmentation in the patient. The body is divided into 5 separate parts: hands, upper extremities, trunk, lower extremities, and feet. The face and neck areas are not included in the overall evaluation. One hand unit, which is approximately 1% of the total body surface area, is used as a guide to estimate the percentage of vitiligo involvement of each body region. Depigmentation on each area was estimated to the nearest percentages: 0, 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, or 100%.¹³

Statistical analysis

SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 24.0) software program was used for statistical analysis. Kolmogorov-smirnov test was applied for convenience of parameters for normal distribution before comparison of continuous variables. Student t test was used to compare the descriptive statistical methods and quantitative data. Ki-square was the test used for comparison of qualitative data. Univariant analysis was applied to compare the effect of L1 and D1 values of upper and lower extremities on Boston scale. Significance level was determined as 0.05.

RESULTS

The mean age in both groups was 37 ± 8 . There were 19 male and 11 female participants in all groups.

There was no significant difference between the BMI averages of vitiligo and control groups (27 ± 4 , and 26.4, respectively) (p: 0.519).

CSP duration and distal latency measurements abductor pollicis braves muscle on the upper extremity and tibialis anterior muscle on the lower extremity were similar in both CTS and control groups Table 1.

Table 1: Comparison of CSP values of CTS and control groups

CSP values:	Control group (n=30)	Vitiligo group (n=30)	p
Upper extremity L1	59±7	62±8	0,250
Upper extremity d	56±8	50±9	0,100
Upper extremity L2	108±14	108±10	0,960
Lower extremity L1	86±6	88±10	0,350
Lower extremity d	54±5	51±6	0,110
Lower extremity L2	140±9	135±13	0,100

CSP: Cutaneous silent period,
 CTS: Carpal tunnel syndrome,
 L1: starting latency d: duration L2: ending latency

No association was detected between the severity and duration of disease in vitiligo patients and CSP values of both upper and lower extremities Table 2.

Table 2: Association between the severity and duration of vitiligo and L1 and d values of CSP on upper and lower extremities is shown with P values.				
	Upper extremity L1	Upper extremity d	Lower extremity L1	Lower extremity d
VASI	0,108	0,727	0,572	0,625
Duration of vitiligo	0,655	0,144	0,599	0,831
Univariant analysis L1: starting latency, d : duration CSP: cutaneous silent period, VASI: Vitiligo area scoring index				

DISCUSSION

The CSP values on the upper extremity and tibialis anterior muscle on the lower extremity were similar in both CTS and control groups

There are three theories concerning the etiology of vitiligo which are autoimmune, autocytotoxic and neural hypotheses. Segmental/ dermatomal vitiligo is one of the supporting clinical finding pointing out a neural association where the other data is the common origin of central nervous system (CNS) and melanocytes: neural crest. Neural crest cells (NCC) are transient multipotent cells that detach from the neural tube end migrate in dorsolateral and ventral directions; this process is regulated by the transcription factor Foxd 3. While cells with a dorsolateral path are committed particularly to melanocyte predestination, those with a ventral path are committed to neuronal (sensory and sympathetic), glial/melanocyte (Schwann cell precursors, SCPs) or endoneural fibroblast predestination. Neurofibromatosis, tuberous sclerosis are the examples of CNS disorders presenting with hypo/ hyper pigmented skin findings.¹⁴

Researchers from Korea conducted a study based on cyc-

lin-dependent kinase 5 regulatory subunit associated protein 1 (CDK5RAP1), which is expressed in neuronal tissues. Cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) appears to take part in early post-natal period, particularly in the migration of neuroblasts. Ischemia and oxidative stress front CDK5 activation which ends with neuronal apoptosis. Monomeric CDK5 has no enzymatic activity unless it is associated with one of its regulatory proteins; p35 which is encoded by CDK5RAP1 or p39. CDK5RAP1 polymorphisms were investigated in Korean vitiligo patients, and the researchers found two polymorphisms significantly associated with vitiligo. They concluded that CDK5RAP1 might be a risk factor for vitiligo in Korean population.¹⁵

The “neural theory” supposed by Lerner’s (1959) was based on the fact that segmental vitiligo (SV) follows the course of the dermatome with exhibiting hyperhidrosis and emotional upset. It is suggested that dysfunction of sympathetic nervous system (SNS) activity affect melanin production and lead to depigmentation. 10 subjects with facial (SV), 10 healthy individuals and 10 subjects with non-segmental vitiligo (NSV) were evaluated with iontophoresis and laser Doppler flowmetry level of microcirculation in lesions with vitiligo to assess SNS activity. It was reported that the cutaneous blood flow was higher three times on the lesions vs normal skin in SV, no difference was noted in the NSV group.¹⁶

Depigmented areas are reported to sweat less, have different temperature regulation.¹⁷ Other studies concerning sympathetic skin response in vitiligo patients focusing on autonomic dysfunction report different results: one of them concluded that sympathetic skin response (SSR) was not different in vitiligo and psoriasis patient groups when compared with healthy control group.¹⁸ The other one reported that electrodermal activity altered in vitiligo patients which in turn reversed after psoralen-UVA (PUVA) treatment.¹⁹ Another study reported that SSR is altered significantly when autoimmune hypothyroidism and vitiligo is together. However it is noted that the exact reason of altered SSR is hard to differentiate: myxoedema,

autoimmune skin reaction or thyroxine modulation of sudomotor activity, catecholamine level or immunological effect on autonomic system.²⁰

It is inevitable to accept a neurological involvement with vitiligo based on these data upcoming from various studies.^{4,19,20} Our study is the first study investigating the relation between vitiligo and small fiber neuropathy to our knowledge. Our findings show no association with vitiligo and small fiber neuropathy. It is also shown that CSP is efficient in demonstrating small fiber neuropathy.

Vitiligo is common disorder of population. We have started off the data about the common origin of melanocytes and neural cells which may act similarly under influences like autoimmunity and autotoxicity. Although our findings show no association with vitiligo and small fiber neuropathy, we suppose that this study is valuable for allowing us to observe the effects of vitiligo on each: myelinated A delta fibers and demyelinated C fibers, which are small fibers. Further larger studies may help to confirm whether vitiligo has a contribution in CSP measurements.

Declaration of conflicting interests

The authors declare no conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

Funding

The authors received no financial support for the research and/or authorship of this article.

Acknowledgements

The authors have no acknowledgements to declare.

Ethical Standarts

The authors declare that this article is appropriate for ethical standarts

References

1. Floeter MK. Cutaneous silent periods. *Muscle Nerve* 2003;28:391–401.
2. Uncini, T, Kujirai, B, Gluck, S, Pullman. Silent period induced by cutaneous stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991;81,5:344–352.
3. Serrao M, Parisi L, Pierelli F, Rossi P. Cutaneous afferents mediating the cutaneous silent period in the upper limbs: evidences for a role of low-threshold sensory fibres. *Clinical Neurophysiology* 2001;11:2007–2014.
4. Tirc-Campara M, Denislic M, Djelilovic-Vranic J, et al. Cutaneous Silent Period in the Evaluation of Small Nerve Fibres. *Med Arh* 2014; 68:98-101.
5. Colucci R. Oxidative stress and immune system in vitiligo and thyroid diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015:631927.
6. Bahadır S, Yaylı S. Childhood Vitiligo: Epidemiology and Etiology. *Turkderm* 2006; 40: 81-86.
7. Alikhan A. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:473-491.
8. Karadağ AS, Tutal E, Ertugrul DT. Insulin resistance is increased in patients with vitiligo. *Acta Derm Venereol* 2011;91:541-544.
9. Karadağ AS, Tutal E, Ertugrul DT, Akin KO, Bilgili SG. Serum holotranscobalamin, vitamin B12, folic acid and homocysteine levels in patients with vitiligo. *Clin Exp Dermatol* 2012; 37:62-64.
10. Lotti T, D'Erme A.M. Vitiligo as a systemic disease. *Clin Dermatol* 2014; 32:430-434.
11. American Academy of Neurology, American Association of Electrodiagnostic Medicine and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. Practice parameter for electrodiagnostic studies in carpal tunnel syndrome (summary statement). *Neurology* 1993; 43:2404-2405.
12. Kofler M. Functional organization of exteroceptive inhibition following nociceptive electrical fingertip stimulation in humans. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 973–980.
13. Hamzavi I, Jain H, McLean D, Shapiro J, Zeng H, Lui H. Parametric modeling of narrow-band UV-B phototherapy for vitiligo using a novel quantitative tool: the Vitiligo Area Scoring Index. *Arch Dermatol* 2004;140:677-683.
14. Elsharif M.A, Spinner R.J, Rachel Y.M. The coexistence of peripheral nerve sheath tumors and vitiligo: more than coincidence? *Acta Neurochir* 2016; 158: 95-99.
15. Shin MK, Uhm YK, Lee JH, Kim SK, Chung JH, Lee MH. Association between CDK5RAP1 polymorphisms and susceptibility to vitiligo in the Korean population. *Eur J Dermatol* 2012;22:495-499.
16. Lerner AB, Case JD, Mori W, Wright MR. Melatonin in peripheral nerve. *Nature* 1959; 183:1821.
17. Wu CS, Yu HS, Chang HR, Yu CL, Yu CL, Wu BN. Cutaneous blood flow and adrenoceptor response increase in segmental-type vitiligo lesions. *J Dermatol Sci* 2000; 23:53–62.
18. Bir LS, Aktan S. Sympathetic skin response in psoriasis and vitiligo. *J Auton Nerv Syst* 1999; 77:68-71.
19. Dolu N, Ferahbas A, Ozesmi C, Peker D, Acik C. Effect of PUVA therapy on electrodermal activity parameters in vitiligo patients. *Auton Neurosci* 2005; 118:102-107.
20. Merello M, Nogueira M, Leiguarda R, Saubidet C. L., Florin A. Abnormal sympathetic skin response in patients with autoimmune vitiligo and primary autoimmune hypothyroidism. *J Neurol* 1993; 240:72-74.

Bir Şehir Hastanesi Kan Transfüzyon Merkezine Başvuran Donörlerde HBV, HCV, HIV ve VDRL Seroprevalansı

Seroprevalence of HBV, HCV, HIV and VDRL in Donors Apply to a City Hospital Blood Transfer Center

Özlem Kirişçi¹, Murat Aral², Gökhan Arıcan³, Gürkan Muratdağı⁴

¹ Necip Fazıl Şehir Hastanesi, Kan Transfüzyon Merkezi ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kahramanmaraş

² Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı A.D, Kahramanmaraş

³ Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane Eczanesi, Kahramanmaraş

⁴ Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği A.D, Sakarya

Yazışma Adresi / Correspondence:

Gürkan Muratdağı

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği A.D, Sakarya

T: +90 533 094 63 33 E-mail: drgm54@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.03.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 13.03.2019

Öz

Amaç	Kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonrasında en sık karşılaşılan komplikasyon kullanılan ürünlerden bu-laşan enfeksiyonlardır. Kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonrasında hepatit B virüsü, hepatit C virüsü ve insan immün yetmezlik virüsünün (HIV) neden olduğu enfek-siyonlar halen en önemli sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Bu nedenle; HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve Treponema pallidum'a yönelik RPR (Rapid Plasma Re-agin) veya VDRL (Venereal Disease Research Labora-tory) gibi tarama testleri kan transfüzyonlarından hemen önce bakılması zorunlu olan testlerdir. Bu çalışmada kan bağışi için merkezimize başvuran kişilerde zorunlu olarak taranmakta olan HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV ve sifiliz test sonuçlarının seroprevalanslarını saptamayı ve ülkemizdeki diğer bölgelerle karşılaştırılması amaçlandı. (Sakarya Med J 2019, 9(1):154-159)
Gereç ve Yöntemler	1 Eylül 2012- 31 Temmuz 2018 yılları arasında Necip Fazıl Şehir Hastanesi Kan Transfüzyon Merkezine başvuran toplam 1326 kan bağışısının tarama testi sonuçları retrospektif olarak incelendi. HBsAg, Anti-HCV ve Anti-HIV; elektrokemiluminesans immünassay (EIA) tekniği (Cobas E601, Roche Diagnostic, Almanya) yöntemi ile, VDRL ise kalitatif lam flokülasyon yöntemi ile (Syphilis Rapid Test Device, Ecotest, China) çalışıldı.
Bulgular	Bölgemizdeki kan donörlerinde kan merkezine başvuran 18-65 yaş arası 56 (%4.2)'si kadın ve 1270 (%95.8)'i erkek olan toplam 1326 sağlıklı kan donöründe 7 HBsAg (% 0.5), 2 anti-HCV (% 0.15), kalitatif lam flokülasyon yöntemi ile çalışılan 1 VDRL (% 0.07) pozitifliği tespit edildi. Anti-HIV seropozitifliği tespit edilmedi.
Sonuç	Çalışmamızda bu bölgedeki sağlıklı kan donörlerinde HBsAg seropozitifliğinin ülkemizdeki kan donörleriyle yapılan çalışmalarda bildirilen oranlardan daha düşük olduğu ve yıllar içinde azaldığı görülmektedir. Anti-HCV, anti-HIV ve VDRL seropozitifliği ülkemizde kan donörleriyle yapılan diğer çalışmaların, en yüksek ve en düşük seropozitiflik oranları aralığındadır.
Anahtar Kelimeler	Hepatit B virüsü; Hepatit C virüsü; HIV; kan donörleri

Abstract

Objective	The most frequently encountered compli-cation in the transfusion of blood and blood products are transmitted infections from these products. Infec-tions caused by hepatitis B virus (HBV), hepatitis C vi-rus (HCV), and human immunodeficiency virus (HIV) remain the leading most important health problems in the transfusion of blood and blood products worldwide. Therefore, screening tests such as HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV, and RPR or VDRL for Treponema pallidum are mandatory tests to look at before transfusion of blood and blood products. The aim of this study was to determine the seroprevalence of HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV and syphilis test results in the mandatory screenings for blood donation and to compare with another regions in our country. (Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):154-159).
Materials and Methods	A total of 1326 blood donors who applied to the Blood Transfusion Center of Necip Fazıl City Hospital between 1 September 2012 and 31 July 2018 were evaluated. HBsAg, Anti-HCV and Anti-HIV were studied with an electrochemiluminescence immunoassay (EIA) technique (Cobas E601, Roche Diagnostic, Germany) and VDRL were studied by qualitative lamination (Syphilis Rapid Test Device, Ecotest, China).
Results	In our region, a total of 1326 healthy blood donors; 56 (4.2 %) women and 1270 (95.8 %) men aged between 18-65 years who applied to the blood center in their blood donors, had 12 HBsAg (0.55%), 2 anti-HCV (0.15%) 1 VDRL (0.07%) positivity was determined by qualitative lam flocculation method. Anti-HIV seropositivity was not detected
Conclusion	It was determined that HBsAg seropositivity in blood donors in our region is considerably lower than the national average rate and seroprevalence of HBsAg decreased over years. Anti-HCV, anti-HIV and VDRL seropositivity rates are within the range limits defined in previous studies performed in Turkey
Key words	Hepatitis B virus; Hepatitis C virus; HIV; blood donors

GİRİŞ

Kan; sentetik olarak halen üretilmemiş tek kaynağı insan olan, kullanım süresi kısa ve oldukça maliyetli bir ürün olup, travmalarda ve hayati tehlikeye neden olan birçok hastalıkta tedavi maksatlı kullanılmaktadır.¹ Kan Transfüzyon Merkezlerinde donörlere, kayıt açılıp ayrınılı 'Donör Sorgulama Formu' doldurulması istenmekte ve ardından donörlere fizik muayene yapılmaktadır. Güvenli kan temini için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) düzenli bağış yapan gönüllü kan vericilerinin desteklenmesini önermektedir.² Kan vermeye uygun olan donörden serolojik testler istenmektedir. Kan bağışçısı seçiminde gösterilen ihtimam, tarama testlerindeki ilerlemeler ve gelişmiş yöntemlerin kullanılması ile, kan transfüzyonunun en önemli komplikasyonlarından olan transfüzyonla bulaşan enfeksiyon riski her geçen gün giderek azaltılmaktadır. Ancak modern tıptaki tüm gelişmelere rağmen henüz tamamen çözülebilmemiş olmayıp, dünya genelinde özellikle gelişmemiş ülkelerde hala önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.³

Başta hepatit B virüsü (HBV), hepatit C virüsü (HCV) ve insan immun yetmezlik virüsleri (HIV) olmak üzere pek çok viral, bakteriyel ve paraziter etken kan yoluyla bulaşabilmektedir.⁴ Ülkemizde Transfüzyon Merkezlerinde 1983'ten beri HBsAg, 1985'ten beri Anti-HIV, 1996'dan itibaren de Anti-HCV taraması yapılmaya başlanmıştır.² Buna rağmen kan ve kan ürünleri ile bulaşma riski, HCV için 1/100 000, HBV için 1/63 000, HIV için 1/680 000 olarak tahmin edilmektedir.¹

Çalışmamızda son 6 yılda Kan Transfüzyon Merkezimize başvuran donörlerin bilgilerini retrospektif olarak inceleyerek HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV ve VDRL seropozitiflik oranlarının belirlenmesi, ülkemizde kan donörleriyle yapılan diğer çalışmalardaki oranlarla karşılaştırılması ve böylece ülkemiz verilerine katkıda bulunması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Araştırma 1 Eylül 2012- 31 Temmuz 2018 tarihleri arasında Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi Kan Transfüzyon Merkezi'ne bağışta bulunan 18-65 yaş arasındaki 1326 sağlıklı kan donör verileri retrospektif olarak incelenerek yapılan kesitsel tipte tanımlayıcı bir çalışmadır. Donörden kan alınmadan önce 'Bilgilendirilmiş onam formu' imzalatıldı. Bağışçılara donör sorgulama formlarını doldurmaları istendi. Formlar 2857 sayılı Kan ve Kan Ürünleri Kanunu ve buna bağlı mevzuat hükümlerince ve Türk Kızılay bağışçı seçim kriterlerine göre değerlendirildi.⁵ Uygun olan donörlerden alınan kan örneklerinden HBsAg, anti-HCV, anti-HIV incelemeleri makro ELISA yöntemiyle (Cobas E601, Roche Diagnostic, Almanya), Sifilis antikorları ise RPR (Syphilis Rapid Test Device, Eco-test, China) testiyle değerlendirilmiştir. Makale tanımlayıcı istatistiklerin verildiği kesitsel araştırma yöntemi ile yazılmıştır. Bu çalışma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 15.01.2019 tarihli 17 sayılı izin alınmıştır.

BULGULAR

Kan transfüzyon merkezi kayıtlarına göre 2012-2018 yılları arasındaki 6 yılda toplam 1326 donör, (yaş ortalaması= 33.87±8.84) başvurdu. Yıllara göre donör sayısı; 2012 yılında 141 olan donör sayısı, 2013 yılında 451 ile en yüksek sayıya ulaşırken, 2014 yılından itibaren giderek azalarak 2018 yılı ilk 8 ayında yapılan bağış sayısı 37 olarak gerçekleşmiştir. Bu süre içinde bağışçılardaki HBsAg pozitifliği %0.5 (7/1326), Anti-HCV pozitifliği % 0.15(2/1326), VDRL-RPR pozitifliği %0.07 (1/1326) olarak bulundu. Anti-HIV 1/2 pozitifliği saptanmadı (Tablo1).

Tablo 1. Gönüllü Bağışçı ve Hasta Yakınlarında Saptanan HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL pozitifliği dağılımı

Bağışçılara Yapılan Test	n(%)
HBsAg	7 (%0.5)
Anti-HCV	2 (%0.15)
Anti-HIV	0 (%0)
VDRL	1 (%0.07)

Bağışçıların % 4.2' si (56) kadın, yaş ortalaması (33.69±7.77), % 95.8'i (1270) erkek yaş ortalaması (34.01±8.86) olarak bulunmuştur.

Donörlerin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde; HBsAg seropozitifliği açısından tüm donörlerin erkek olduğu ve yaş ortalamasının (34.43±12.27), anti-HCV seropozitifliğinde yine donörlerin erkek ve yaş ortalaması 25.5±7.78,

VDRL seropozitifliğinde ise 1 erkek 43 yaşında olduğu tespit edildi. Donörlerin yıllara göre dağılımı incelendiğinde; 2012 yılında 3 HBsAg, 1 VDRL pozitifliği, 2013 yılında 1 Anti-HCV pozitifliği, 2014 yılında 2 HBsAg pozitifliği, 2016 yılında 2 HBsAg, 1 Anti-HCV seropozitifliği saptanırken, 2015-2017-2018 yıllarında bağışçılarda seropozitiflik saptanmamıştır. Tablo 2 de donör seropozitifliğinin yıllara göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 2. Donörlerin yıllara göre HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL seropozitiflik oranları dağılımı

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Hbs Ag	3(%2.22)	-	2(%0.15)	-	2(%0.15)	-	-
Anti- HCV	-	1(%0.07)	-	-	1(%0.07)	-	-
Anti-HIV	-	-	-	-	-	-	-
VDRL	1(%0.07)	-	-	-	-	-	-

TARTIŞMA

Güvenli kan transfüzyonu, tüm Transfüzyon Merkezlerinin öncelikli hedefidir. Dünya Sağlık Örgütü; tüm hastaların ulaşabileceği, güvenli kan ve kan ürünlerinin kullanımını sağlayabilen, sürdürülebilir ulusal kan bağış programlarının oluşturulmasını desteklemektedir. Bu konuda en önemli hedef noktaları gönüllü kan bağışçılarının kaydı, seçimi, elde tutulabilmesi, kanın infeksiyöz etkenler yönünden serolojik olarak taranması ve hasta tedavisinde uygun klinik kullanımı ile verildiği kişiye herhangi bir tehlike ya da hastalık oluşturmamasıdır.⁶ Bu koşullar altında kan transfüzyon endikasyonu düşünen tüm sağlık birimlerinin kan istemi konusunda dikkatli olmaları, gereksiz kan ve kan ürünleri kullanımının azaltılması hususunda hassasiyet göstermelerinin, söz konusu kan transfüzyonlarıyla bulaşan enfeksiyonların önlenmesi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde, kan donörlerinde HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1/2 ve VDRL/RPR seroprevalansının belirlendiği birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların özeti Tablo 3'de yer almaktadır. Transfüzyonla bulaşan virüsler içerisinde HBV oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Ülkemizde kan donörleri dışında yapılan çalışmalarda HBsAg seroprevalansı Doğudan Batıya doğru azalmakta

olup %1.97-14.3 arasında değişmektedir.⁷ Kan donörlerinde ise, ülkemizden bildirilen HBs Ag seropozitiflik oranı % 0,8 ile % 3,17 arasında değişmektedir (Tablo 3). Çalışmamızda HBsAg seropozitivitesi %0,5 olarak tespit edildi. Bu oranın, ülkemizde diğer kan transfüzyon merkezlerinden bildirilen oranların altında olduğu görülmüştür.

Kan transfüzyonu ile bulaşan hepatitlerin diğer başlıca etkeni HCV'dir.¹⁷ Ülkemizde kan donörlerinde yapılan çalışmalarda Anti-HCV seropozitifliği % 0,05 ile % 0,92 arasında değişmektedir (Tablo 3). Bu çalışmada ise % 0,15 olarak bulunmuştur. Bulduğumuz oran yapılan diğer çalışmaların, en yüksek ve en düşük seropozitiflik oranları aralığındadır.^{6,8-27}

1985 yılından bu yana, ülkemizde kan donörlerinde Anti-HIV tarama testleri zorunlu olarak çalışılmaktadır.¹⁷ Türkiye'nin değişik bölgelerinden rapor edilmiş çalışmalara göre kan donörlerinde Anti-HIV reaktivite oranı % 0 ile % 1,06 arasında değişmektedir. (Tablo 3) Çalışmamızda anti-HIV1/2 seropozitifliğine rastlanmamıştır. Bu oran ülkemizden bildirilen diğer veriler ile uyumlu bulunmuştur.^{16,19,25,26}

Kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonrası sifiliz riskinin

Tablo 3. Ülkemizin farklı bölgelerinde kan donörlerinde saptanan HbsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL seropozitiflik oranları

Bölge	Çalışma yılı	Donör sayısı	Hbs Ag %	Anti HCV %	An-ti-HIV	VDRL %	Araştırmacı
%	VDRL	266.035	3.17	0.64	0.0004	0.07	Dayan ve ark. ⁸
%	Araştırmacı	204.000	3.14	0.92	1.06	2.33	Çelebi ve ark. ⁹
Kocaeli Zonguldak Sakarya Düzce	2009-2014	150.787	0.8	0.38	0.0025	0.004	Altındış ve ark. ¹⁰
İzmir	2004-2010	80.454	1.31	0.38	0.002	0.04	Uzun ve ark. ¹¹
İstanbul	1998-2008	75.747	2.83	0.4	0.001	0.16	Ulutürk ve ark. ⁶
Adana	2007-2009	62.461	1.66	0.05	0.003	0.1	Yıldız ve ark. ¹²
İzmir	2002-2006	61.409	2	0.54	0.028	*	Ağuş ve ark. ¹³
Isparta	2000-2007	51.361	1.1	0.44	0.09	0.08	Kaya ve ark. ¹⁴
İstanbul	2003-2012	51.120	2.03	0.44	0.06	0.33	Şanlı ve ark. ¹⁵
Denizli	1999-2007	50.521	0.97	0.44	0	0	Akalın ve ark. ¹⁶
Van	1995-2003	39.002	2.55	0.17	0.036	0.057	Dilek ve ark. ¹⁷
Afyon	2001-2010	37.343	1.38	0.35	0.02	0.04	Altındış ve ark. ¹⁸
Tokat	2003-2010	15.696	1.29	0.16	0	0.02	Bulut ve ark. ¹⁹
Çorum	2008-2013	13.780	0.99	0.34	0.08	0.09	Güreser ve ark. ²⁰
Malatya	2000-2007	13.564	3.1	0.47	0.07	*	Köroğlu ve ark. ²¹
Denizli	2007-2008	13.334	1.3	0.5	0.023	0.13	Balcı ve ark. ²²
Hatay	2003-2004	12.313	2.02	0.52	0.02	0.03	Ocak ve ark. ²³
İstanbul	2009-2011	10.568	1.4	0.2	0.03	0.7	Karagöz ve ark. ²⁴
Erzurum	2002-2003	5.028	2.6	0.4	0	*	Uyanık ve ark. ²⁵
Kırıkkale	2003-2004	784	1.4	0.2	0	0	Deveci ve ark. ²⁶
Mersin		691	2.2	0.4	0.2	0.1	Öner ve ark. ²⁷
Kahramanmaraş	2012-2018	1326	0.5	0.15	0	0.07	Bu çalışma

* sifiliz seropozitifliğine ulaşamadı

oldukça düşük bir oranda olduğu görülmektedir. Bulaşma oranının düşüklüğünün yanı sıra bu enfeksiyonun kolaylıkla tedavi edilebilmesi sifilize yönelik taramaların gerekliliğini tartışılır hale getirmiştir.²⁸ Altındış ve ark. çok merkezli yaptıkları çalışmalarında VDRL seropozitifliğini % 0.004 olarak bildirirken, Erzurum'dan Çelebi ve ark. % 2.³³ ile yüksek bir oran bildirmişlerdir.^{9,10} Bu çalışmada ise VDRL/RPR seropozitiflik oranı % 0.07 ile ülkemizden bildirilen en yüksek ve en düşük seropozitiflik oranları aralığında olduğu tespit edilmiştir.^{6,8-12,14,15,17-20,22-24,27}

Yurtdışından bildirilen seroprevalans çalışmalarına bakıldığında; İtalya'da Sommese ve ark. yaptıkları çalışmalarında 2009-2012 yılları arasında 17.912 kan donöründe HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV ve sifiliz seropozitifliğini sırayla % 0.47, 0.42, 0.50, 0.15 olarak bildirmişlerdir.²⁹

Sonuç olarak, normal popülasyondan gelen kan donörlerinde kan yoluyla bulaşım gösteren HBsAg seropozitifliği yıllar içerisinde azaldığı ve de seropozitiflik oranının Tür-

kiye de kan donörleri için bildirilen oranlara göre düşük olduğu bulunmuştur. Anti-HCV, anti-HIV ve sifiliz için ülkeden bildirilen diğer seroprevalans verileri içinde olduğu görülmektedir. HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve RPR pozitifliği sadece erkek donörlerde saptanmış olup hiç kadın donörde seropozitiflik saptanmamıştır.

Transfüzyonla bulaşan enfeksiyonların bulaşma riskini azaltmada takip edilecek yol; ciddi donör sorgulanması, ayrıntılı fizik muayenenin yapılması, duyarlılığı yüksek moleküler tarama testleri ile etkenlerin taranmasıdır. Bu etkenlerin oluşturduğu hastalıkların takip ve tedavi maliyetlerinin yüksek olması ve de bu hastalıkları denetim altına almada ve korunmada alınan tedbirlerin yeterli olup olmadığını anlamak için epidemiyolojik çalışmalarının daha geniş kapsamlı ve sürekli yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Aydın F. Nükleik asit amplifikasyon testleri (NAT) ve viral inaktivasyon. In: II. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kongresi (15-19 Kasım 2007, Belek, Antalya) Kongre Kitabı. İstanbul 2007:127.
2. World Health Organization Department of Blood Safety and Clinical Technology. Safe Blood Starts with me! Blood Saves Lives!. Geneva: WHO, 2001
3. Çalışkan E, Şahin İ, CE Öztürk, Karadağ G, Avcıoğlu F. Kan Donörlerinde Tarama Testleri Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2012;2(2): 1-3.
4. Kent AS, Matthew JK. Nosocomial hepatitis and other transfusion- and transplantation-transmitted infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier, 2010:3739-51
5. Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi 2009 [Internet]. Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı [erişim 5 Haziran 2011]. <http://www.saglik.gov.tr/THGM/dosya/1-49815/h/ulusal-kan-ve-kan-urunleri-rehberi.pdf>.
6. Ulutürk R. Kan donörlerinde yapılan rutin tarama test-lerinin 11 yıllık değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2010;40(1):41-7
7. Uzun C. Kan donörlerinde HbsAg, anti-HCV, anti-HIV ve RPR sonuçlarının değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2008;38(3-4):143-6.
8. Dayan S, Tekin A, Tekin R, Dal T, Hosoglu S, Yazgan UC, et al. HBSAg, anti-HCV, anti-HIV-1/2 and syphilis seroprevalence in healthy volunteer blood donors in southeastern Anatolia. J Infect Dev Ctries 2013;7(9):665-669.
9. Çelebi D, Çelebi Ö, Altıparlak Ü, Kök AN. Kan Donörlerinde HBSAg, Anti-HCV, Anti-HIV, sifiliz seroprevalansı ve Macro- ELISA sonuçlarının optik dansite değerleri ile doğrulama testlerinin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2012;42(4):137-141.
10. Altındis M, Koroglu M, Mutlu B, Demiray T, Dal T, Sahin I, et al. HBSAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1/2, and Syphilis Seroprevalence in Blood Donors in Eastern Marmara Region, Turkey and an Overview of Transfusion Transmitted Infections in Turkey. Acta Medica Mediterranea 2016; 32:343.
11. Uzun B, Gungor S, Demirci M. Seroprevalence of transfusion transmissible infections among blood donors in western part of Turkey: a six-year study. Transfus Apher Sci 2013;49(3):511-515.
12. Yıldız SM, Candevir A, Kibar F, Karaboga G, Turhan FT, Kis C, et al. Hepatitis B, Hepatitis C, Human immunodeficiency virus and syphilis frequency among blood donors: A single center study. Transfus Apher Sci 2015;53(3):308-314.
13. Ağuş N, Yılmaz NÖ, Cengiz A, Şanal E, Sert H. Kan Donörlerinde HBSAg, Anti-HCV, Anti-HIV Seroprevalansı, ANKEM Derg 2008;22(1):7-9.
14. Kaya S, Alanoğlu G, Polat M, Sipahi T. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi'nin 2000-2007 yılları tarama test sonuçları. SDU Tıp Fak Derg 2009;16(2):13-15.
15. Şanlı K, Sarı NG, Hatipoğlu N. Kan Merkezimize Başvuran Donörlerin 10 Yıllık Tarama Sonuçlarının Değerlendirilmesi JOPP Derg 2013;5(3):136-141.
16. Akalın Ş, Başkan B, Saçar S, Kutlu Saym S, Turgut H. Denizlide Kan Donörlerinde HBsAg, Anti-HCV ve RPR Seroprevalansı Klimik Derg 2011;24(2):101-104
17. Dilek I, Demir C, Bay A, Akdeniz H, Oner AF. Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and VDRL blood donors in Eastern Turkey. Turk J Hematol. 2007;24(1):4-7.
18. Altındiş M, Aslan S, Kalaycı R. Kan vericilerde HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV ve sifi- liz seroprevalansı. Sakarya Med J 2011;1(1):22-26.
19. Bulut N, Yenişehirlili G, Bulut Y. Tokat İli Kan Donörlerinde Hepatit B, Hepatit C, HIV ve Sifiliz Seroprevalansı Viral Hepatit Derg 2012;18(1):11-14.
20. Güreşer AS, Özçelik S, Boyacıoğlu Zİ, Özünel L, Yıldız Ü. Çorum Bölgesi kan bağışçılarında HBsAg, Anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları Türk Hij Den Biyol Derg 2015;72(2):123-130
21. Köroğlu M, Yakupoğulları Y, Turhan R. Malatya Devlet Hastanesi Kan Donörlerinin Kan Grupları Dağılımı ve Donör Tarama Test Sonuçlarının Yedi Yıllık Geriye Dönük Analizi Klimik Derg 2007;20(1):47-49.
22. Balcı YI, Polat Y, Övet G, Karabulut A, Gönçü F, Yıldırım K. Denizli Devlet Hastanesi Kan Bankası'na Başvuran Kan Vericilerin HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV Ve VDRL Tarama Sonuçlarının Değerlendirilmesi İnfeksiyon Derg 2009;23(3):117-119.
23. Ocak S, Duran N, Savaş L, Önlen Y, Dibeek MA. Hatay bölgesindeki kan donörlerinde HBV, HCV, HIV ve VDRL seropozitifliği. Viral Hepat J 2005;10:49-53.
24. Karagöz G, Kadanalı A, Bektaşoğlu MF, Dede B, Altuğ SB. Kan Donörlerinde Hepatit B, Hepatit C, İnsan İmmün Yetmezlik Virusu ve Sifi liz Enfeksiyonları Seroprevalansı Viral Hepat J 2012;18(1):26-8.
25. Uyanık MH, Malçok HK, Aktaş O. Kan Donörlerinde Hepatit B, Hepatit C ve HIV-1/2 Seroprevalansı, AÜTD 2004; 36:35-38.
26. Devci Ö, Tekin A, Günbay SS, Kılıç D, Kaygusuz S, Ağalar C, Özer TT. Kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL testi sonuçlarının değerlendirilmesi, J Clin Exp Invest 2011;2(4):416-419.
27. Oner S, Yapıcı G, Sasmaz CF, Kurt AO, Bugdaycı R. Hepatitis B, hepatitis C, HIV, and VDRL seroprevalence of blood donors in Mersin, Turkey. Turk J Med Sci 2011;41(2):335-41.
28. Altunay H. Enfeksiyöz tarama testlerinde epidemiyoloji. 1.Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kongresi Kurs Kitabı, 26-29 Eylül 2000, Kapadokya-Neveşehir: Türkiye. 125-30.
29. Sommese L, Iannose C, Cacciatore F, De Iorio G, Napoli C. Comparison between screening and confirmatory serological assays in blood donors in a region of South Italy. J Clin Lab Anal. 2014; 28(3): 198-203.

Batı Nil Virüsü Enfeksiyonuna Sekonder Gelişen Akut Demiyelinizan Polinöropati Olgusu

A Case of Acute Demyelinating Polyneuropathy Secondary to West Nile Virus Infection

Yonca Ünlübaş, Abdulkadir Tunç, Murat Alemdar, Dilcan Kotan

Sakarya Üniversitesi, Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği Sakarya/Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Abdulkadir Tunç

Sakarya Üniversitesi, Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği

T: +90 554 514 45 24 E-mail: drkadirunc@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 13.01.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 25.02.2019

Öz

Batı Nil virüsü, asemptomatik bir klinik tablodan ağır ensefalit ve menenjitte varan geniş bir klinik varyasyonla prezente olabilir. Akut demiyelinizan polinöropati birlikteliği çok nadir bildirilmiştir. 60 yaş erkek hasta bilinç bozukluğu, kol ve bacaklarda güçsüzlük şikayetleri ile başvurdu. Kliniği, laboratuvar, beyin omurilik sıvısı ve elektrofizyoloji bulguları ön planda Guillain Barre sendromu ile uyumlu idi. Ateş, bilinç bozukluğu ve spastisite gibi atipik bulguların eşlik etmesi nedeniyle detaylı araştırılan olguda serum BN virüsü IgM testi pozitif bulundu. Türkiye'den bildirilen ilk olgu olması nedeniyle sunulmaya değer görüldü. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):160-163)

Anahtar kelimeler

Batı Nil virüsü; Guillain Barre sendromu; polinöropati

Abstract

West Nile virus can lead to a wide range of clinical symptoms from asymptomatic disease to severe meningitis and encephalitis. The association of acute demyelinating polyneuropathy is rarely reported. A 60-year-old male patient presented with complaints of impaired consciousness and weakness in his arms and legs. Clinical findings, laboratory, cerebrospinal fluid and electrophysiology findings were consistent with Guillain Barre syndrome. Serum BN virus IgM test was found to be positive in the patient who was investigated because of atypical symptoms such as fever, impaired consciousness and spasticity. Our study was seen worthy to be presented due to the first case reported from Turkey (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):160-163)

Key words

West Nile virus; Guillain-Barre syndrome; polyneuropathy

Giriş

Batı Nil (BN) virüsü, Japon ensefalit virüsü antijenik kompleksinin bir üyesi olup asemptomatik bir klinik tablodan ağır ensefalit ve menenjitte varan geniş bir klinik varyasyonla prezente olabilir.^{1,2} Akut enfeksiyondan sonra, birçok hastada halsizlik, yorgunluk, hafıza kaybı, baş ağrısı ve denge sorunları gibi semptomlar görülür.³ Hastaların %25' inde BN ateşi gelirken nöroinvasiv tutulum 150 ile 250 hastada bir görülür.⁴ Nöroinvasiv tutulum ateş ile birlikte menenjit, ensefalit, flask paralizi veya bunların bir arada olabildiği mikst formlara neden olur.² Mortalite yaklaşık %10 olarak bildirilmiştir.⁵ Literatürde BN virüsü enfeksiyonu sonrası akut polinöropati tablosu gelişen nadir vakalar bildirilmiştir.^{6,7} Bu yazıda, Guillain Barre Sendromu (GBS) benzeri klinik ile başvuran ve takiplerinde BN virüsü pozitifliği saptanan, tedaviye dirençli çok nadir bir olgu sunulup literatür eşliğinde tartışılması amaçlandı.

OLGU SUNUMU

60 yaş erkek hasta bilinç bozukluğu, kol ve bacaklarda güçsüzlük şikayetleri ile acil servisimize getirildi. Öyküsünden fındık tarlasında çalıştıktan 10 gün sonra yüzde kızarma, ateş, halsizlik, uykuya meyil sonrasında kol ve bacaklarda güç kaybı şikayetinin 2 gün içerisinde hızlıca geliştiği öğrenildi. Özgeçmişinde ve soy geçmişinde özellik saptanmadı. Alışkanlıklarının sorgusu da normaldi. Sistemik muayenesinde 38.5 °C ateşi dışında belirgin patolojik bulgu izlenmedi. Nörolojik muayenesinde şuuru uykuya meyilli, sözel uyarana yöneliyordu, verbal yanıt yoktu. Pupilleri izokorik, gözler her yöne serbest hareketli, pupilla ışık refleksi +/+ idi. Şüpheli ense sertliği mevcuttu ancak meningeal irritasyon bulgusu saptanmadı. Dört ekstremitede kas gücü 3/5 düzeyinde idi. Tonus hafif artmıştı (hafif spastisite+) ve üstte ve altta derin tendon refleksleri (DTR) alınamadı. Taban cildi refleksi bilateral fleksör yanıtlıydı. Göz dibi incelemesi normaldi. Beyin bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntülemelerinde patolojik bulgu saptanmaması üzerine hastaya lomber ponksiyon yapıldı. Beyin omurilik sıvısı (BOS) basıncı normaldi. BOS protein düzeyi artmıştı (189 mg/dl). Hücre sayımı normaldi. Saat-

ler içerisinde kan oksijen saturasyonu düzeyi düşen hasta entübe edilerek nöroloji yoğun bakımına alındı. Detaylı laboratuvar tetkikleri, BOS'ta viral ve bakteriyel panel taramaları, toksik-paraneoplastik incelemeler ve gangliozid paneli yatış süresince incelendi. Kliniği ve BOS bulguları GBS ile uyumlu olduğundan 5 gün süre ile 0.4 gr/kg/gün dozunda intravenöz immunglobulin (IVIG) tedavisi uygulandı. Birinci haftanın sonunda yapılan elektrofizyolojik incelemelerinde saptanan bulgular üstte ve altta aksonal ve demiyelinizan tutulum özellikleri gösteren ve ileti bloklarının eşlik ettiği bir polinöropati sendromu ile uyumluydu. Hastanın serumda gönderilen BN virüsü IgM testi pozitif sonuçlandı. Literatürde destek tedavisi ve IVIG dışında önerilere rastlamamamıza karşılık ağır klinik seyir ve IVIG yanıtızsızlığı nedeniyle gün aşırı 7 seans plazmaferez uygulandı. Minimal kas güçlerinde düzelme olsa da dalgalı seyreden kliniği ve araya giren enfeksiyon ve elektrolit bozuklukları sonrası hasta 52. gününde exitus olarak kabul edildi.

TARTIŞMA

BN virüsü, çeşitli konak türlerinde merkezi sinir sistemini infekte edebilmesi ve ciddi nörolojik tutulumu yol açabilmesi nedeniyle dünya çapında öneme sahiptir. Nöroinvasiv tutulumda ileri yaşlarda ensefalit, çocukluk çağında menenjitin daha ön planda olduğu bildirilmiştir.^{2,5,8} Ensefalit tablosu ılımlı, kendini sınırlayan konfüzyonel bir durumdan ağır ensefalopati, koma ve ölüme varan değişkenlikte görülebilir. Diğer nörolojik belirtiler arasında özellikle üst ekstremitelerde kaba tremor ve myoklonus, ayrıca rijidite, postural instabilite ve bradikinezi gibi parkinsonyen bulgular yer alır.⁸ Olgumuzda bilinç bozukluğu, şüpheli ense sertliği ve ateş bir menenjit veya ensefalit tablosu düşündürmekte idi. Dört ekstremitede azalan kas gücü ve artan tonus, BN virüsünün nöroinvasiv tutulumu ile uyumlu idi.

Literatürde BN virüsü sonrası 48 saat içerisinde hızlı gelişen alt ekstremitelerde asimetrik güçsüzlük, (menenjit/ensefalit birlikteliği değişken) ile seyreden akut flask pa-

ralizi ve anterior horn tutulumu (poliomyelit benzeri) bildirilmiştir.⁷ Buna karşılık, BN virüsü enfeksiyonu sonrası GBS sadece bir olguda tanımlanmıştır.⁶ Olgumuzda GBS tanısı akut tetraparezi, DTR kaybı, BOS protein yüksekliği ve elektrofizyolojik çalışmalar sonrası konuldu.

BN virüsü enfeksiyonu tanısında serumda veya BOS'ta IgM antikorlarının saptanması çoğu vakada tanı için yeterlidir.^{3,5} Artmış BOS protein düzeyi (<150 mg/dL), normal veya azalmış glukoz düzeyi ve pleositozis (<500 hücre/microL, lenfosit hakim) tanımlanmıştır. BOS'un sitolojik incelemesinde, plazmasitoid lenfositler veya Mollaret hücrelerini andıran büyük monositik hücreler bulunabilir.⁹ Olgumuzda BOS protein yüksekliği başta sadece GBS ile ilişkilendirilmişti. Takipte tedavi yanıtı, BN virüsü IgM pozitifliği ve diğer BN virüsü nöroinvaziv tutulum bulguları söz konusu protein yüksekliğinin de BN virüsü enfeksiyonuna sekonder olduğunu göstermiştir.

Literatürde mortalite için risk faktörleri arasında, ileri yaş, erkek cinsiyet, ağır kas güçsüzlüğünün eşlik ettiği ensefalit kliniği, bilinç bozukluğu, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hepatit C, alkol kullanımı, immunsupresyon, quadripleji ve respiratuvar tutulum bildirilmiştir.^{3,4,8} Olgumuzda kötü prognoz bulgularının çoğu mevcuttu.

Tedavide primer olarak destek tedavisi önerilmektedir. IVIG tedavisinin potansiyel etkinliği Planitzer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bildirilmiştir.¹⁰ Bizim hastamızda destek tedavisi, hızlı entübasyon ve IVIG uygulandı. Tedavi yanıtı nedeniyle plazmaferez de verilmesine karşın hasta fayda görmedi.

Sonuç olarak GBS tablosu ile prezente olan hastalarda ve ateş, bilinç bozukluğu, rijidite gibi atipik bulguların eşlik etmesi durumunda, BOS'ta hücre olmasa bile enfeksiyöz taramalara BN virüsü dahil edilmelidir. Literatürde BNV-GBS birlikteliği nadir bildirildiğinden ve bu birlikteliğin Türkiye'den bildirileceği ilk olgu olması nedeniyle sunulmaya değer görülmüştür.

Kaynaklar

1. Gubler DJ. *The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere.* Clin Infect Dis. 2007 Oct 15;45(8):1039-1046.
2. Davis LE, DeBiasi R, Goade DE, Haaland KY, Harrington JA, Harnar JB, et al. *West Nile virus neuroinvasive disease.* Ann Neurol. 2006 Sep;60(3):286-300.
3. Loeb M, Hanna S, Nicolle L, Eyles J, Elliott S, Rathbone M, et al. *Prognosis after West Nile virus infection.* Ann Intern Med. 2008 Aug 19;149(4):232-241.
4. Watson JT, Pertel PE, Jones RC, Siston AM, Paul WS, Austin CC, et al. *Clinical characteristics and functional outcomes of West Nile Fever.* Ann Intern Med. 2004 Sep 7;141(5):360-365.
5. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. *West Nile virus: review of the literature.* JAMA. 2013 Jul 17;310(3):308-315.
6. Ahmed S, Libman R, Wesson K, Ahmed F, Einberg K. *Guillain-Barre ' syndrome: an unusual presentation of West Nile virus infection.* Neurology. 2000;55: 144-146.
7. Alker A. *West Nile virus-associated acute flaccid paralysis.* BMJ Case Rep. 2015 May 2;2015. pii: bcr2014206480.
8. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. *Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection.* JAMA. 2003 Jul 23;290(4):511-515.
9. Tyler KL, Pape J, Goody RJ, Corkill M, Kleinschmidt-DeMasters BK. *CSF findings in 250 patients with serologically confirmed West Nile virus meningitis and encephalitis.* Neurology. 2006 Feb 14;66(3):361-365.
10. Planitzer CB, Modrof J, Kreil TR. *West Nile virus neutralization by US plasma-derived immunoglobulin products.* J Infect Dis. 2007; 196: 435-440.

Cerrahi Müdahale Gerektiren Olanzapin İlişkili Paralitik İleus Olgusu

A Case of Olanzapine-related Paralytic Ileus Necessitating Surgical Intervention

Halil İbrahim Taşcı

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

Yazışma Adresi / Correspondence:

Halil İbrahim Taşcı

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

T: +90 505 481 04 45 E-mail: okcu6528@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.02.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 27.02.2019

Öz

Opioid analjezikler, trisiklik antidepresanlar, antihistaminikler ve antipsikotik ilaçlara bağlı ileus gelişebilmektedir. Bipolar bozukluk tanısı ile yaklaşık otuz yıldır takipli olan 54 yaşında erkek hasta 5 gündür olan karın ağrısı, karında şişlik, bulantı ve kusma şikayetleri ile başvurdu. Yapılan tahlil ve tetkikler sonrasında hastada olanzapin kullanımına bağlı paralitik ileus tablosu düşünüldü. Medikal tedaviden fayda görmemesi üzerine hasta ameliyat edilerek ileostomi açılmıştır. Ameliyat öncesi başlanan neostigmin tedavisine ameliyat sonrası dönemde de devam edilmiş ve hasta 12. günde sorunsuz şekilde taburcu edilmiştir. Antipsikotik ilaç kullanımına bağlı paralitik ileusun tedavisinde öncelikle medikal tedaviler önerilse de bazı durumlarda zamanlaması doğru yapılmış bir cerrahi müdahale, gelişebilecek morbidite ve mortalitenin önlenmesinde önem arz etmektedir. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):164-168)

Anahtar kelimeler antipsikotik; olanzapin; paralitik ileus.

Abstract

Ileus can develop due to opioid analgesics, tricyclic antidepressants, antihistamines, and antipsychotics. A 54-year-old male patient, who had been diagnosed with bipolar disorder under follow-up for about 30 years, presented with abdominal pain, abdominal swelling, nausea and vomiting that he had been experiencing for the last 5 days. The results of the examinations and tests suggested that he had paralytic ileus due to olanzapine administration. Upon the failure of medical treatment to enable recovery, the patient was taken into surgery and ileostomy was created. Neostigmine treatment, which was started preoperatively, was continued in the postoperative period as well and the patient was discharged on the 12th postoperative day without any problems. Although medical treatment modalities have been recommended initially for the treatment of paralytic ileus due to antipsychotic drug use, timely surgical intervention in some cases proves to be significant to prevent possible morbidity and mortality cases. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):164-168)

Key words antipsychotic; olanzapine; paralytic ileus

GİRİŞ

Geçirilmiş cerrahi dışında ileus için çeşitli risk faktörleri vardır. Bunlar hareket kısıtlılığı, kolorektal kanserler, diğer bazı bağırsak hastalıkları, lifli gıdalardan fakir beslenme ve bazı ilaçların kullanılması olarak sayılabilir. Opioid analjezikler, trisiklik antidepressanlar, antihistaminikler ve antipsikotik ilaçlara bağlı ileus gelişebilmektedir.^{1,2}

Klozapin ve benzeri atipik antipsikotik ilaçların etkinliği oldukça fazla olmasına karşın agranülositoz, epileptik nöbet, hipotansiyon, aşırı kilo alma, siyalore gibi sık görülen yan etkileri kullanımını azaltmaktadır.³ Tüm bu sayılanlar dışında bağırsak tıkanıklığı, paralitik ileus, kalın bağırsak perforasyonu, bağırsak nekrozu gibi durumlar ise bu ilaçların genellikle nadir görülen ve gözden kaçan, bu yüzden çoğu zaman ölümcül seyreden yan etkilerindedir.⁴

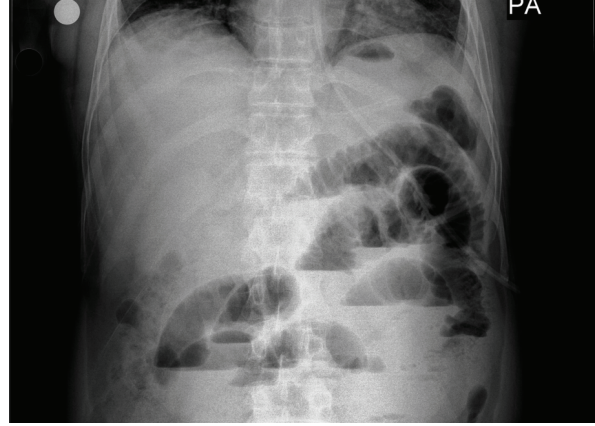
Bu çalışmada olanzapin kullanımına bağlı cerrahi müdahale gerektiren paralitik ileus olgusu sunulmuş ve literatürün gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Bipolar bozukluk tanısı ile yaklaşık otuz yıldır takipli olan 54 yaşında erkek hasta 5 gündür olan karın ağrısı, karında şişlik, bulantı ve kusma şikayetleri ile başvurdu. Uzun zamandır 10 mg olanzapin kullanan hastanın öz geçmişinde bu rahatsızlığı dışında başka bir hastalık ya da geçirilmiş cerrahi öyküsü yoktu. Daha önceden ara ara, kısa süreli kabızlık atakları olduğunu fakat bunların çoğu zaman kendiliğinden düzeldiğini, nadiren lavman uygulamasına ihtiyaç gösterdiğini ve hiçbir zaman bulantı-kusmasının olmadığını tarif etmekteydi. Hastanın son beş gündür ise ara ara gaz gaita deşarjı olmasına rağmen karında gittikçe artan bir şişlik, buna eşlik, yaygın kolik tarzda karın ağrısı, ağızdan beslenmesini engelleyen ciddi bulantı kusması olmuş. Çok defa lavman uygulanmış olmasına rağmen şikayetlerinde herhangi bir gerileme olmayan hasta acile başvurdu.

Yapılan fizik muayenede hasta hipotansif ve taşikardikti.

Mukozalar kuru görünümdeydi. Karın ileri derecede distandü, dinlemekle bağırsak sesleri azalmış ve yaygın hassasiyeti vardı. Rektal digital muayenede normal gaita bulaşı tespit edildi. Laboratuvar bulgularında lökositoz, diğer akut faz reaktanlarında kısmi bir yükselme ve üre kreatinin değerlerinde artış saptandı. Ayakta direk karın grafisinde ince bağırsak düzeyinde seviyelenmeleri vardı (Şekil 1).

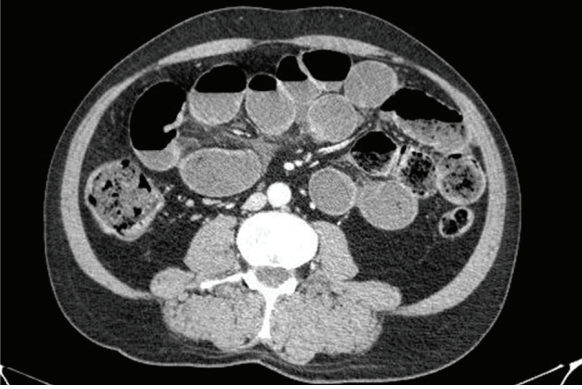


Şekil 1. Ayakta direk karın grafisinde ince bağırsak düzeyinde seviyelenme görüntüsü

Oral alımı tolere edemeyen hastaya ağızdan kontrast madde verilmeden çekilen bilgisayarlı karın tomografisinde ise jejunal-ileal ansların ileri derecede dilate, yer yer hava-sıvı seviyelerinin olduğu, pelvik bölgede bağırsak ansları arasında yer yer serbest sıvı ve mezenterik yağlı planlarda kirlenme olduğu görüldü. Bunun yanı sıra tıkanmaya sebep olabilecek belirgin bir odak görülmemekte, kalın bağırsak ansları da normal görünümde izlenmekteydi (Şekil 2).

Hastada antikolinergik kullanımına bağlı paralitik ileus tablosu düşünülerek ön planda medikal takibi planlandı. Akut böbrek yetmezliği de olan hastada nazogastrik dekompresyon sağlanarak aldığı-çıkardığı takibi yapıldı. Hastanın olanzapin tedavi dozu azaltıldı. Uygun şekilde hidrasyonu ve mobilizasyonu sağlandı. Kolinergik aktiviteyi artırmak için 2 mg/gün neostigmin tedavisi başlandı. Yapılan 3 günlük medikal tedaviye rağmen kontrol grafilerinde seviyeleri belirginleşen, nazogastrik sondadan gelen içeriğin miktarı artan, akut böbrek yetmezliği bulguları ge-

rilemeyen, distansiyona ikincil solunum sıkıntısı oluşmaya başlayan hastaya dekompresyonu sağlamak amacı ile acil şartlarda cerrahi müdahale planlandı. Ameliyat esnasında duodenumdan terminal ileuma kadar, proksimalde daha belirgin olmak üzere tüm ince bağırsak anslarının ileri derecede dilate ve ödemli olduğu, peristaltik dalgaların azaldığı, kolonik ansların ise normal görünümde olduğu saptandı. Bunun dışında mekanik bir tıkanıklığı düşündürecek herhangi bir bulgu yoktu. Hastada dekompresyon amaçlı uç ileostomi açıldı. Ameliyat sonrası dönemde neostigmin infüzyonuna devam edildi. Erken dönemde akut böbrek yetmezliği tablosu düzeldi. İleostomisi çalışır vaziyette olmasına rağmen distansiyonu ve seviyelenmeleri ancak 10. günde normale dönen hasta 12. günde sorunsuz şekilde taburcu edildi. Hastanın bağırsak alışkanlıkları normale geldikten sonra ileostomisinin kapatılması planlandı.



Şekil 2. Bilgisayarlı karın tomografisinde ince bağırsaklarda dilatasyon, seviyelenme, bağırsak ansları arasında serbest sıvı ve mezenterik yağlı planlarda kirlenme görüntüsü.

TARTIŞMA

Kabızlık antipsikotik ilaçların sık görülen bir yan etkisidir. Bazen tedavide gecikmeye bağlı kabızlığa ikincil bağırsak tıkanıklığı, iskemi ve perforasyon gibi yaşamı tehdit eden durumlar ortaya çıkabilmektedir. Bununla beraber Every-Palmer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada klopazapinin sadece kalın bağırsak değil, gastrointestinal sistemin çok farklı yerlerinde ciddi fonksiyon bozukluğuna

sebepten olabileceği gösterilmiştir.⁵ Paralitik ileus da antipsikotik ilaçların nadir fakat yaşamı tehdit eden bir yan etkisidir. Psikotik hastalarda ileus gelişimi için risk faktörlerinin incelendiği bir çalışmada ileri yaş ve artan dozlarda antipsikotik (özellikle klopazapin) kullanımının ölümcül seyreden ileus gelişimi ile alakalı olduğu gösterilmiştir.⁶ Bizim çalışmamızda da uzun zamandır olanzapin kullanım hikayesi olan hastada gelişen paralitik ileus vakası takdim edilmiştir.

Klopazapin ve benzeri antipsikotik ilaçlarla gelişen ileusun bu ilaçların antikolinergik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. İlaç kullanımı ve ileus gelişimi doz ve zaman bağımlı olduğu düşünülmektedir.^{7,8} Literatürde antipsikotik ilaç ilişkili paralitik ileus olgularının tamamına yakını klopazapin kullanımı ile ilişkilidir. Olanzapinin potent antikolinergik aktivitesine rağmen klopazapinin aksine ileus riskinde herhangi bir artışa sebep olmadığı bildirilmektedir. Bu durumun olanzapinin antikolinergik etkinliğinin, klopazapinin ancak beşte biri kadar olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.⁹ Sunduğumuz olguda ise literatürdeki bu bilgi ile çelişkili olarak olanzapin kullanımına bağlı ciddi paralitik ileus tablosu gelişmiştir.

Psikotik hastalarda ileus gelişimini tetikleyecek bazı risk faktörleri de vardır. Yüksek doz antipsikotik ve antikolinergik ilaç kullanımı, normal insanlara göre daha sedanter bir hayat sürüyor olmaları, ileri yaş, kadın cinsiyet bunlar arasında sayılmaktadır.⁴ Bu hastalar normal bireylere göre daha geç bulgu vermekte ve hastaneye daha geç başvurmaktadır. Bu durumun, mevcut psikiyatrik rahatsızlık ve buna bağlı kullanılan ilaçların kişide ağrı eşliğini düşürmesi ile alakalı olduğu düşünülmektedir.¹⁰ Bizim hastamız da şikayetlerinin 5. gününde, akut böbrek yetmezliği geliştikten sonra, oldukça geç sayılabilecek bir dönemde başvurmuştur.

Antipsikotik ilaç kullanan ya da kullanacak hastalarda gastrointestinal sistemde meydana gelebilecek hipomotiliteye bağlı paralitik ileus ve diğer yan etkilerin önlenmesi

ve tedavisinde bazı öneriler bulunmaktadır. Eğer hastada daha önceden bilinen bir kabızlık hikayesi varsa ilaç kullanımına başlamadan önce bu durum mümkünse tedavi edilmeli. Hasta gelişebilecek riskler konusunda bilgilendirilmeli, uygun diyet, yeterli sıvı alımı ve egzersiz konusunda desteklenmelidir. İlaç başladıktan sonra erken dönemde hastaların bağırsak alışkanlıklarındaki oluşabilecek değişimler gözlenmelidir. Kabızlık gelişmiş olan hastalarda uygun dozda lavman kullanımı, kolinerjik bazı ajanların kullanımı fayda sağlayabilmektedir.⁷ Hastada karın ağrısı, distansiyon ve kusmanın eşlik ettiği ciddi gastrointestinal motilite bozukluğuna bağlı bir durum gelişirse neostigmin, fizostigmin gibi asetilkolin esteraz inhibitörlerinin bağırsak motilitesini artırmak yolu ile etkinliği olmaktadır.⁷ Bunun yanı sıra kolonda feçes birikimine bağlı bir ileus tablosu söz konusu ise lavman ve gerekirse rektal digital muayene ile katılaşmış feçesin çıkarılması tedavi edici olabilmektedir.⁷ Her ne kadar antipsikotik ilişkili paralitik ileus vakalarında ön planda medikal takip daha uygun bir yaklaşım olsa da bağırsaklarda tedaviye yanıtı olmayan ciddi dilatasyon, iskemi ve perforasyon gibi durumlarda nadir de olsa cerrahi müdahale gerekebilmektedir. Bizim hastamızda da daha önceden ara ara olan ve lavman tedavisine yanıt veren kabızlık problemi olmuştur. Son başvurusunda ise gelişen paralitik ileus medikal tedaviye yanıt vermemiş, ciddi karın şişliğine ikincil solunum sıkıntısı, böbrek yetmezliği ve bağırsaklarda dilatasyon tablosunun düzelmesi üzerine cerrahi müdahale gereği ortaya çıkmıştır. Antipsikotik ilaç kullanımına bağlı paralitik ileusun tedavisinde öncelikle medikal tedaviler önerilse de bazı durumlarda zamanlaması doğru yapılmış bir cerrahi müdahale gelişebilecek morbidite ve mortalitenin önlenmesinde önem arz etmektedir.

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. De Hert M, Hudyana H, Dockx L, Bernagie C, Smeets K, Tack J et al. Second-generation antipsychotics and constipation: a review of the literature. *Eur Psychiatry* 2011 Jan;26(1):34-44. doi:10.1016/j.eurpsy.2010.03.003.
2. Peyrière H, Roux C, Ferard C, Deleau N, Kreft-Jais C, Hillaire-Buys D et al. Antipsychotics-induced ischaemic colitis and gastrointestinal necrosis: a review of the French pharmacovigilance database. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009 Oct;18(10):948-55. doi:10.1002/pds.1801.
3. Young CR, Bowers MB Jr, Mazure CM. Management of the adverse effects of clozapine. *Schizophr Bull* 1998;24(3):381-90. doi:10.1093/oxfordjournals.schbul.a033333.
4. Raja M, Raja S. Clozapine safety, 40 years later. *Curr Drug Saf* 2014;9(3):163-95. PMID: 24809463.
5. Every-Palmer S, Inns SJ, Grant E, Ellis PM. Effects of Clozapine on the Gut: Cross-Sectional Study of Delayed Gastric Emptying and Small and Large Intestinal Dysmotility. *CNS Drugs*. 2019 Jan;33(1):81-91. doi: 10.1007/s40263-018-0587-4.
6. Nielsen J, Meyer JM. Risk factors for ileus in patients with schizophrenia. *Schizophr Bull* 2012 May;38(3):592-8. doi:10.1093/schbul/sbq137.
7. Palmer SE, McLean RM, Ellis PM, Harrison-Woolrych M. Life-threatening clozapine induced gastrointestinal hypomotility: an analysis of 102 cases. *J Clin Psychiatry* 2008 May;69(5):759-68. PMID: 18452342.
8. Fayad SM, Bruijnzeel DM. A fatal case of adynamic ileus following initiation of clozapine. *Am J Psychiatry* 2012 May;169(5):538-9. doi:10.1176/appi.ajp.2012.11111625.
9. Chengappa KN, Pollock BG, Parepally H, Levine J, Kiresmer MA, Brar JS et al. Anticholinergic differences among patients receiving standard clinical doses of olanzapine or clozapine. *J Clin Psychopharmacol* 2000 Jun;20(3):311-6. PMID: 10831017.
10. Dworkin RH. Pain insensitivity in schizophrenia: a neglected phenomenon and some implications. *Schizophr Bull* 1994; 20: 235-48. doi:10.1093/schbul/20.2.235.

Gallbladder Ascariasis: A Case Report and Review of the Literature

Safra Kesesi Askariasisi:
Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi

Ogün Taydaş¹, Mustafa Özdemir², Behiç Akyüz³, Onur Taydaş⁴

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Kliniği, İstanbul

² Kayseri Şehir Hastanesi Radyoloji Kliniği, Kayseri

³ Gölcük Necati Çelik Devlet Hastanesi Radyoloji Kliniği, Kocaeli

⁴ Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, Erzincan

Yazışma Adresi / Correspondence:

Onur Taydaş

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, Erzincan

T: +90 546 936 54 73 E-mail: taydasonur@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 07.02.2019 Kabul Tarihi / Accepted : 01.03.2019

Abstract

Ascariasis is a common parasitic infection caused by *ascaris lumbricoides* infestation. Although it is mostly seen in the intestines, it may occasionally be seen in the gallbladder. It generally presents with symptoms of right upper quadrant pain. Radiological imaging is very useful in diagnosis. Albendazol or mebendazole may be used in treatment. The case is here presented of a 22-year old male patient radiologically diagnosed with gallbladder ascariasis. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):175-179)

Key Words gallbladder; ascariasis; ultrasonography; radiology

Öz

Askariyazis, *Ascaris lumbricoides* enfestasyonu nedeniyle oluşan ve sık görülen bir parazit enfeksiyonudur. Çoğunlukla bağırsaklarda görülmekle birlikte nadiren de olsa safra kesesinde de görülebilir. Genelde sağ üst kadrant ağrısı ile semptom verir. Tanıda radyolojik görüntüleme oldukça faydalıdır. Tedavide albendazol veya mebendazol kullanılabilir. Bu çalışmada 22 yaşında bir erkek hasta sunularak safra kesesi askariyazisinin radyolojik bulguları özetlenmiştir. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):175-179)

Anahtar Kelimeler safra kesesi; askariyazis; ultrasonografi; radyoloji

INTRODUCTION

Ascaris lumbricoides as a member of the ascaridia group is known to be the largest nematode in humans. Ascariasis, which is a frequent parasitic infestation of the hepatic and extrahepatic biliary tree, is more common in tropical regions with poor hygiene conditions, but is also seen worldwide. It has been reported that 25% of the global population is infected.¹ *Ascaris* eggs are usually transmitted to children while they are playing with soil. In adults, transmission may be through eating raw vegetables contaminated with sewage water. They can remain intact in the soil for up to ten years but die within minutes in boiling water. Raw cucumber is the main transmission path of *ascaris* eggs. In dry and windy weather, the eggs can be transferred in the air in regions where they are endemic.²

These white-colored adult parasites live and reproduce in the small intestine lumen, especially in the jejunum. Female parasites have the capacity to release more than 200 thousand eggs per day. Eggs that are ingested orally begin to dissolve in the stomach and are released as larvae in the duodenum. The larvae are 250 µm in size in the intestine, and penetrate into the liver through the portal system into the liver, causing milimetric mucosal bleeding at the point of penetration. The remaining larvae fail to fully penetrate and cause an inflammatory response in the intestinal wall, initiated by eosinophils and macrophages. The larvae reach the liver where they die and start a granulomatous reaction in the liver. The presence of larvae in the bloodstream causes peripheral eosinophilia. Some larvae reach the heart and lungs via the hepatic veins, while others reach the lungs through the ductus thoracicus using intestinal lymphatics. The larvae in the lungs pass through the capillary wall and into the alveolar space. The larvae in the bronchial tree are now very large and are ingested from the larynx and hypopharynx. *Ascaris* infestation into the gallbladder is rare and occurs in only 2.1% of biliary ascariasis cases. Gallbladder ascariasis is usually associated with an intense intestinal parasitic load.³

Radiology has an important role in the diagnosis. Real-time examination of ultrasound (US) in particular can show the movements of parasites. In addition, high-resolution magnetic resonance imaging (MRI) can be used for diagnosis.⁴ The aim of this paper was to summarize the radiological findings of ascariasis in a patient with *ascaris* in the gallbladder.

CASE REPORT

A 22-year old male with no history of any chronic disease was admitted to our hospital with progressive distension and right upper quadrant pain ongoing for 3 weeks. There was no history of fever, vomiting, nausea, abdominal trauma, weight loss or jaundice, and there had been no similar episode in the past. The family history showed no gastrointestinal cancer. On physical examination, there was mild tenderness over the right upper quadrant of the abdomen and the body temperature and other vital signs were normal. There was no abnormality in the complete blood count. However, mild eosinophilia was noticed in the peripheral blood smear. The serum CRP, sedimentation, ALT, AST, GGT and ALP values were within normal limits.

The patient was referred to the Radiology Unit for further evaluation. On US, an echogenic structure similar to a spider's web was observed in the gallbladder. Strip-like tubular structures with no acoustic shadowing were also observed in the gallbladder (Figure 1). During the examination, these structures were seen to be mobile. The patient was applied with MRI for further evaluation. On MRI, similar to US, hypointense, linear strips were observed in the gallbladder (Figure 2). From these findings, the patient was diagnosed with gallbladder ascariasis. The diagnosis was confirmed by the presence of parasitic eggs in the stool examination.

Albendazole treatment was started and a follow-up examination was made after 15 days. Eosinophilia was seen to have returned to normal at that time and the US findings

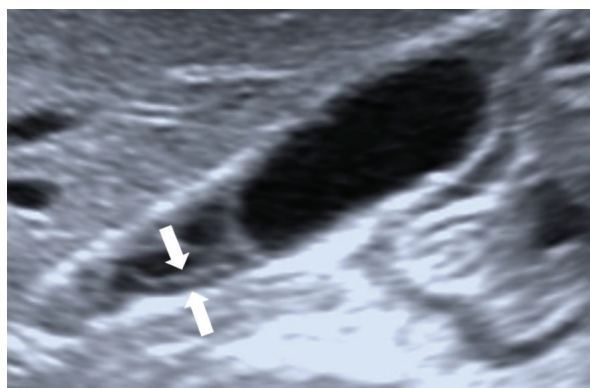


Figure 1: Ultrasonography (US) image showing structures (arrows) with hypoechogenic central and hyperechogenic edges with no acoustic shadow in the gallbladder suggesting ascariasis

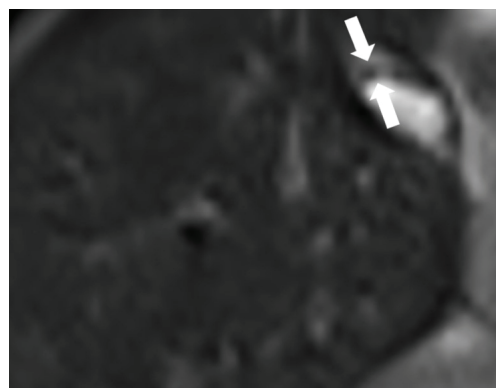


Figure 2: T2-weighted axial magnetic resonance image showing a linear, hypointense band in the gallbladder (arrows).

of the previous examinations were also lost.

DISCUSSION

The adult ascaris is usually found in the jejunum, but from there it can move into the duodenum and pass into the biliary area via the ampulla. In this way, ascaris coming from the intestine into the biliary system brings with it the intestinal flora and thus the appropriate factors for cholangitis and cholecystitis are transferred to the biliary system. The presence of ascaris in the biliary tree is manifested in various ways. The most common of these is colic-type right upper quadrant pain. This pain may be accompanied by fever, nausea and vomiting. This table is similar to cholecystitis and the examination shows tenderness in the right upper quadrant. The current patient had similar complaints and right upper quadrant sensitivity. The parasite can cause biliary stasis by causing Oddi spasm with the chemicals it secretes, or by a mechanical occlusive effect. Depending on this stasis, pyogenic cholangitis, cholecystitis and pancreatitis may develop in the patient.⁵

The presence of ascaris in the biliary tract disrupts bile flow and provides a suitable environment for gallstone formation. The obstruction of the bile ducts continues as long as the ascaris remains in the biliary tract.⁶ The β -glucuro-

nidase enzyme produced by ascaris converts soluble bilirubin into insoluble free bilirubin through hydrolysis. This also precipitates as calcium bilirubinate. In this way, intra and extrahepatic stone formation begins. The death or loss of integrity of ascaris in the biliary canal causes a fibromatous reaction with exudation and sudden eosinophil increase, and destruction of the ductal mucosa. A fibrous tissue reaction of plasma cells and other inflammatory cells occurs, resulting in the development of calcification focus and stricture around the broken ascaris and ascaris eggs. Cholangitis may also occur with an infection added to this formation.⁶

The first step in diagnosis is suspicion of biliary ascariasis in patients living in endemic regions who present with biliary symptoms. The presence of ascaris eggs in the bile sample is a definitive diagnosis. However, because this is not possible in many patients, radiological imaging methods are very useful in diagnosis. As one of the commonly used radiological imaging techniques, US has the advantages of being non-invasive, easy to implement and it allows real-time examination. The anatomic position, mobility and number of ascaris can be determined with US. In addition, the status of the intra and extra-hepatic biliary tract can be evaluated. On US, when ascaris is viewed along its

long axis, it appears hypoechoic in the midline, hyperechogenic at the edges, and as a linear strip with no acoustic shadow.⁷ If displayed transversely in dilated biliary tracts, it creates a bulls-eye appearance. There are many findings identified with US for ascaris. The non-shadowing echogenic strip and anechoic tube appearance are important diagnostic indicators. In the current patient, there were linear structures in the gallbladder that were observed to be mobile during the examination. Other characteristic US findings are spaghetti-like, impacted worm sign, and a double-tube image.⁸ When present in an intense form in the biliary tract, it may give an amorphous, hyperechogenic pseudodotumor image.⁹ On computed tomography (CT), it is not usually possible to see the parasite on a single slice. Small parts may appear on multiple slices, and the bulls-eye appearance can also be seen on CT. An advantage of CT over US is that good evaluation can be made of hepatic parenchyma, such as bile ducts. Therefore, CT is useful in diagnosing complications rather than ascariasis.⁴ Magnetic resonance imaging (MRI) and magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) can be used as an alternative in the diagnosis of biliary ascariasis. MRI has become the gold standard for biliary system imaging, especially because it is non-invasive and allows for 3D imaging. Ascaris is typically seen as a linear filling defect on MRCP. MRI images of the current patient showed a linear filling defect in the gallbladder. The double-tube and eyeglass sign similar to the findings described in US and CT examinations can also be observed on MRI.^{4,7}

Primary treatment of biliary ascariasis is a conservative approach. With the oral administration of anti-helminthics, ascaris should be excreted. Biliary ascariasis usually responds well to conservative treatment. The most commonly used anti-helminthic agents are albendazole and mebendazole from the benzimidazole group. If there is no improvement in the patient's clinical findings after medical treatment, or if it appears that the ascaris observed on US in the biliary canal is still immobilized (for approximately 10 days) then the ascaris should be removed with endos-

copic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).¹⁰ In the current patient, the symptoms disappeared after treatment with albendazole, and there was no further evidence on US suggesting ascaris. Therefore, ERCP was not performed.

In conclusion, although gallbladder ascariasis is a rare disease, it should be kept in mind in patients with biliary symptoms and the importance of radiology in its diagnosis should not be overlooked.

Conflict of Interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure

The authors declared that this study has received no financial support.

References

1. Khuroo MS, Rather AA, Khuroo NS, Khuroo MS, *Hepatobiliary and pancreatic ascariasis. World J Gastroenterol.* 2016; 22: 7507-17.
2. Khuroo MS, Zargar SA, Mahajan R, *Hepatobiliary and pancreatic ascariasis in India. Lancet.* 1990; 335: 1503-6.
3. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, Hotez PJ, *Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. Lancet.* 2006; 367: 1521-32.
4. Das CJ, Kumar J, Debnath J, Chaudhry A, *Imaging of ascariasis. Australas Radiol.* 2007; 51: 500-6.
5. Javid G, Wani N, Gulzar GM, Javid O, Khan B, Shah A, *Gallbladder ascariasis: presentation and management. Br J Surg.* 1999; 86: 1526-7.
6. Shah OJ, Zargar SA, Robbani I, *Biliary ascariasis: a review. World J Surg.* 2006; 30: 1500-6.
7. Catalano OA, Sahani DV, Forcione DG, Czermak B, Liu CH, Soricelli A, Arellano RS, Muller PR, Hahn PF, *Biliary infections: spectrum of imaging findings and management. Radiographics.* 2009; 29: 2059-80.
8. Khuroo MS, Zargar SA, Mahajan R, Bhat RL, Javid G, *Sonographic appearances in biliary ascariasis. Gastroenterology.* 1987; 93: 267-72.
9. Schulman A, *Ultrasound appearances of intra- and extrahepatic biliary ascariasis. Abdom Imaging.* 1998; 23: 60-6.
10. Rana SS, Bhasin DK, Nanda M, Singh K, *Parasitic infestations of the biliary tract. Curr Gastroenterol Rep.* 2007; 9: 156-64.

Son Dönem Böbrek Yetmezliğinde Volüm Yükü ve Diüretik Kullanımı

Volume Load and Diuretic Use In The End Stage Kidney Disease

Mehmet Nur Kaya¹, Ömer Toprak², Uğur Ergün¹

¹ University of Balıkesir School of Medicine, Internal Medicine, Balıkesir, Turkey

² University of Balıkesir School of Medicine, Nephrology, Balıkesir, Turkey

Yazışma Adresi / Correspondence:

Mehmet Nur Kaya

University of Balıkesir School of Medicine, Internal Medicine, Balıkesir, Turkey

T: +90 532 226 53 64 E-mail: mehmetnurkaya@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 31.05.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 11.01.2019

Öz

Kronik böbrek yetmezliği, morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biridir ve tedavisinde hemodiyaliz önemli bir yer tutmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda idrar çıkışının yeterince olmaması nedeniyle, vücuttaki fazla volüm yükü öncelikle diüretik grubu ilaçlar olmak üzere medikal tedavi ile sağlanmaktadır. Medikal tedavi ile idrar çıkışında artış sağlanamadığında ise hemodiyaliz yöntemi kullanılmaktadır. Burada kronik böbrek yetmezliği tanısı konulan ve diüretik tedavisi alan ayrıca bir aydır hemodiyalize girmekte olan bir olguyu sunmak istedik. Hasta yedi gün boyunca nefroloji bölümünde hemodiyalize alınmadan takip edildi. Klinik durum ve laboratuvar sonuçlarında. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):169-174)

Anahtar kelimeler

Kronik böbrek yetmezliği; hemodiyaliz; anüri

Abstract

Chronic renal failure is one of the major causes of morbidity and mortality and hemodialysis plays an important role in the treatment. Urine output is decreased in patients with chronic renal failure. Thus, excessive fluid load in the body is primarily provided by medical treatment, including drugs in the diuretic group. If there is no increase in urine output with medical treatment, hemodialysis method is used. We present a case of chronic renal failure who received regular hemodialysis and diuretic therapy for one month. The diuretic treatment of the patient who was not currently discharged was terminated and followed without hemodialysis. The patient was followed up for seven days in the nephrology department without hemodialysis treatment. An increase in urine output was observed in the patient with improvement in clinical state and laboratory results. The patient was followed up without hemodialysis. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):169-174)

Key words

Chronic kidney failure; hemodialysis; anuria

GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği, morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biridir. Hemodiyaliz uygulaması ile bu hastalarda yaşam kalitesinin ve süresinin artırılması amaçlanmaktadır.¹ Kronik böbrek yetmezliği sonucu vücudumuzda metabolik bozukluklar meydana gelmekte ve böylece toksik ürünler artmaktadır böyle hastaların yaşam süresi içinde diyaliz önemli bir yer tutmaktadır. Diyaliz yöntemleri arasında hemodiyalizin en fazla kullanılan yöntem olduğu bilinmektedir.² Düzenli hemodiyaliz tedavisi ile hastaların iki diyaliz seansı arasında aldıkları sıvı ultrafiltrasyon ile atılmakta³ ve bu şekilde fazla sıvı vucuttan uzaklaştırılarak hastanın kuru ağırlığı ya da hedef ağırlığı korunmaktadır. Çünkü hemodiyaliz hastalarında sıvı kontrolü önemli bir problemdir.⁴ Burada kronik böbrek yetmezliği tanısı konulan ve diüretik tedavisi alan ayrıca bir aydır hemodiyalize girmekte olan bir olguyu sunmak istedik.

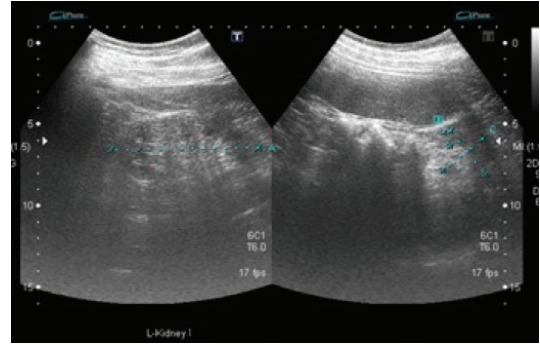
OLGU SUNUMU

45 yaşında evli erkek hasta son bir aydır haftada iki gün ve dört saat süreyle hemodiyalize girmektedir. Özgeçmişinde bir yıl önce miyokard infarktüsü nedeniyle perkütan balon koroner anjioplasti işlemi geçiren hastanın aynı zamanda esansiyel primer hipertansiyon tanısı bulunmaktadır. Hastanın rutin kontrollerinde yapılan tetkiklerinde böbrek fonksiyon testleri yüksek saptanmış ve kronik böbrek yetmezliği tanısı almıştır. Kliniğimize başvurduğu esnada furosemid 240 mg tablet kullanan hastanın günlük idrar çıkışı 90-100 ml arasında idi. Hastanın bilinen başka bir ek hastalığı yoktu. Hastanın kilosu 75 kg, beden kitle indeksi 28,3 kg/m², nabızı 70 atım/dk ve tansiyon arteriyel 110/70 mmHg ölçülmüş olup mobil hastanın sistemik muayenesi normaldi. Aynı zamanda hastanın sigara ve alkol kullanımı bulunmamaktaydı.

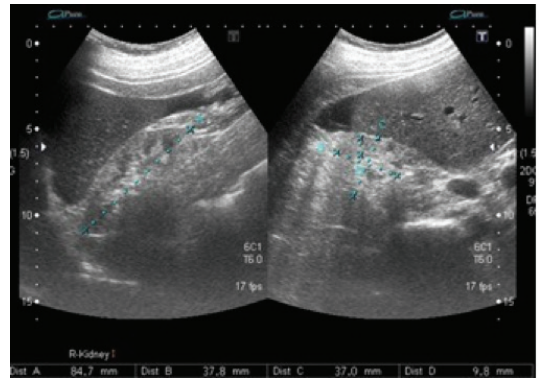
Herhangi bir volüm yükü bulgusu olmayan hastada furosemid tedavisi kesildi, uygun diyet ve medikal tedavi ile altı gün boyunca klinikte takip edildi. Takiplerde hastanın laboratuvar sonuçlarında iyileşme gözlemlendi (Tablo 1). Has-

tanın glomerüler filtrasyon hızı 10.17 ml/dk, serum albümin düzeyi 4gr/dl ve spot idrarda protein/kreatinin oranı 973.6 mg olarak saptandı. Hastanın arteriyel kan gazında ph:7.33 ve bikarbonat 20.0 mEq/L idi.

Hastanın akciğer direkt grafisinde kostofrenik sinüsler açıktı ve herhangi bir yüklenme bulgusu saptanmadı. Hastanın tüm batın ultrasonografisinde sağ böbrek: 85x38x37 mm, sol böbrek: 85x37x35 mm olup parankim kalınlığı (9/10 mm) ve ekosu grade 2 ile uyumlu olup böbrek konturları düzenli idi (Resim 1 ve 2). Hastanın kronik böbrek yetmezliği ile uyumlu böbrek boyutlarının atrofik olması sebebiyle etioloji açısından böbrek biyopsisi yapılmadı. Yapılan böbrek doppler ultrasonografisinde her iki tarafta vasküler yatakta normalin üst sınırında hafif direnç artışı saptandı (RI: 0.69-0.72) ancak renal arter stenoz lehine bulgu saptanmadı.



Resim 1. Sağ böbrek boyutu 85x38x37 mm ultrasonografi görüntüsü



Resim 2. Sol böbrek boyutu 85x37x35 mm ultrasonografi görüntüsü

Tablo 1. Hastaya ait laboratuvar sonuçları

TARİH	İDRAR	Üre	Cr	Ca	P	Na	K	Hgb	WBC	CRP	TS	Ferritin	PTH	ÜA	Ağırlık
(Kg)															
02/01/2018	-1350	152	6.1	8.8	6.4	139	4.5	12.1	6.6	17.4	14.6	46.3	464	7.7	77.8
03/01/2018	-1950	136	5.3	7.9	6.0	143	3.9	10.2	4.9						77.8
04/01/2018	-2750	139	4.9	7.9	5.4	138	3.9	10.1	4.4						77.3
05/01/2018	-2250	126	5.1	8.1	5.1	136	4.3	10.1	4.2	10.0					77.4
06/01/2018	-2250	112	5.0	8.1	4.8	139	4.3	10.5	5.3	9.5					77.4
07/01/2018	-2100	99	5.3	8.2	3.3	135	4.1	9.3	3.5						77.1

Cr: Kreatinin, Ca: Kalsiyum, P: Fosfor, Na: Sodyum, K: Potasyum, Hgb: Hemoglobün, WBC: Lökosit, CRP: C reaktif protein, TS: Transferrin saturasyonu, PTH: Parathormon, ÜA: Ürik asit, Kg: Kilogram

TARTIŞMA

Kronik böbrek yetmezliğinde volüm yüküne bağlı olarak kullanılan diüretiklerin renal eliminasyonu ve renal toksisiteyi değiştirebilmektedir. Diüretiklerin glomerüler filtrasyon hızını azaltması ve artmış olan üremik organik asitlerin tübüler sekresyon için yarışması nedeniyle, diüretik etkiyi gösterecekleri renal tübüle ulaşmaları zorlaşmaktadır. Diüretik etkiye karşı direnç gelişimi olmaktadır.⁵ Renal hipoperfüzyonun olduğu durumlarda, diğer nefrotoksik ilaçlarla birlikte kullanımında nefrotoksite riski nedeniyle dikkat etmek gerekir. Ayrıca bazı ilaçlar nefrotoksik etkiye sahip olup özellikle riskli hastalarda böbrek fonksiyonlarında bozulmaya yol açabilmektedir. Rezidü renal fonksiyonun korunabilmesi için diyaliz hastalarında da nefrotoksik ilaç kullanımından kaçınılması gerekmektedir.⁶

Nefroloji polikliniğimize başvuran hastamız yaklaşık bir aydır düzenli olarak hemodiyalize girmekte ve bununla birlikte furosemid tedavisi de almaktadır. Hastanın rutin hemodiyaliz programlarında çok sık hipotansiyon atakları ile bacaklarda şiddetli kramp olmasının yanında rutin seansların günlük yaşam kalitesini bozmuş olması nedeniyle hemodiyalizden çıkmak istediğini belirtmiştir. Hastanın fizik muayenesinde volüm yüküne işaret eden herhangi bir patoloji saptanmadı. Anürik olan hastamızda nefrotoksik etkiye sahip olan ve glomerüler filtrasyon hızını düşüren furosemid tedavisi azaltılarak tedaviden çıkarıldı. Hasta-

mızın günlük hidrasyon miktarı 1000-1500 cc arasında tutulmuş olup idrar miktarında artış saptandı. Yatış sırasında nefrotoksik ajanlardan uzak tutulan ve rezidüel renal fonksiyonları korunan hastanın, takiplerde laboratuvar sonuçlarında düzelme olması sebebiyle hasta taburcu edildi. Bir ay sonra kontrole gelen hastanın fizik muayenesinde ek patolojik bulgu saptanmamış olup laboratuvar sonuçlarında üre: 143 mg/dL, kreatinin: 5,2 mg/dL, ve glomerüler filtrasyon hızı 12,3 mL/dk görülmüştür. Bu sonuçlara göre hasta hemodiyaliz programına alınmadan takip edildi.

Son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle uygulanan diyaliz tedavileri bazı ilaçların vücuttan uzaklaştırılmasına, dolayısıyla doz düzenlemesi gerekliliğine yol açabilmektedir. Diüretik grubu ilaçların doz hataları kronik böbrek yetmezliği ve hemodiyalize giren hastalarda önemli ilaç ilişkili problemlerin başında gelmektedir.⁷ Kronik böbrek yetmezliğinde uygun ilaç ve doz seçimi, istenmeyen ilaç etkilerinden kaçınmak ve optimal tedaviyi sağlamak açısından son derece önemlidir.

Hastalar ekstrarenal organ fonksiyonları için kardiyak ya da başka bir patolojisi açısından sorgulanmalıdır. Özellikle kullanılan diüretiklerin hemodiyaliz hastalarında doz ve kullanım açısından renal fonksiyon üzerine etkilerine göre regüle edilmelidir. Hastaların günlük sıvı alımları mevcut klinik durumlarına göre ayarlanmalıdır. Bu olgu ile her hastanın kendi içerisinde sıvı yükü açısından uygun bir şe-

kilde değerlendirilmesi ve volüm yükü ile diüretik kullanımı arasındaki hassas dengenin iyi ayarlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Kazi TG, Jalbani N, Kazi N, Jamali MK, Arain MB, Afridi HI, et al. Evaluation of toxic metals in blood and urine samples of chronic renal failure patients, before and after dialysis. *Renal Failure* 2008; 30:737-745.
2. Lee SH, Huang JW, Hung KY, Leu LJ, Kan Y. Trace metals abnormalities in hemodialysis patients relationship with medication. *Artificial Organs* 2000; 24:841-844.
3. Seymen P, Seymen HO, Özdemir A, Belce A, Gümüştaş K, Türkmen F ve ark. Cuprophan ve polisülfon dializörlerinin oksidan/antioksidan dengesi üzerine etkileri. *Cerrahpaşa J Med* 2000; 31:74-81.
4. Hoenich NA, Levin NW. Can technology solve the clinical problem of dry weight. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:647-650.
5. Toprak O, Cirit M. Investigating the volume status before contrast nephropathy studies. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20:2-10.
6. Sarı F, Ersoy FF. Drug Use in Chronic Kidney Disease. *Turk Neph Dial Transpl* 2016; 25:1-10.
7. Cervelli MJ, Russ GR. Principles of drug therapy, dosing, and prescribing in chronic kidney disease and renal replacement therapy. *Comprehensive Clinical Nephrology* 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2015; 29:884-904.

Yüksek Serum CA19-9 Seviyeleri ile Seyreden Bir Endometriozis Olgusu

A Case of Endometriosis with High Serum CA19-9 Levels

Özlem Nuray Sever¹, Dilahan Şankır²

¹ Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Gaziantep

² Sanko Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep

Yazışma Adresi / Correspondence:

Özlem Nuray Sever

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Üniversite Bulvarı 27310 Şehitkamil/Gaziantep

T: +90 342 360 12 00 E-mail: ozlem.sever@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 14.11.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 07.02.2019

Öz

CA19-9 özellikle safra kanalı ve pankreas kanserlerinde yüksek olarak saptanan bir tümör belirteçidir. Bu durumlara ek olarak kolon, mide, over, karaciğer ve özofagus kanserleri gibi diğer malign durumlarda da yüksek seviyelerde saptanır. CA19-9 pankreas kanseri tanısıyla takip edilen hastaların yanıt değerlendirmesinde ve nüksün belirlenmesinde kullanılır. Ayrıca pankreas kanserinin ayırıcı tanısında da yol gösterici olabilir. 1-3 CA19-9 seviyesinin yüksek olarak saptanabildiği benign durumlar arasında safra yolu obstrüksiyonu, kolanjit, inflamatuvar barsak hastalığı, akut veya kronik pankreatit, karaciğer sirozu, kistik fibrozis, tiroid hastalıkları ve periton irritasyonu bulunur. 4 Literatürde CA19-9 yüksekliği ile seyreden endometriozis olguları bildirilmiştir, ancak bu olgularda CA19-9 seviyesi ılımlı yüksektir ve CA125 yüksekliği eşlik etmemektedir. Bu yazıda yüksek CA19-9 seviyelerinin CA125 seviyeleri ile uyumsuzluk gösterdiği endometriozis tanılı olgumuzu sunmaktayız. (Sakarya Tıp Dergisi 2019, 9(1):180-184)

Anahtar
kelimeler

CA 19-9; CA 125; Endometriozis

Abstract

CA19-9 is a tumor marker that is found to be high in the bile duct and pancreatic cancers. In addition to these conditions, colon, stomach, ovary, liver and other malignant conditions such as esophagus cancers are also detected in high levels. CA19-9 is used in the evaluation of patients followed with diagnosis of pancreatic cancer and determination of recurrence. 1-3 It may also be a guide in the differential diagnosis of pancreatic cancer. Benign conditions with high CA19-9 levels may include biliary obstruction, cholangitis, inflammatory bowel disease, acute or chronic pancreatitis, liver cirrhosis, cystic fibrosis, thyroid diseases, and peritoneal irritation. 4 In the literature, endometriosis cases with elevated levels of CA19-9 have been reported, but CA19-9 level is moderately high and CA125 is accompanied by elevation. In this paper, we report a case of endometriosis in which high levels of CA19-9 are incompatible with CA125 levels. In this article, we present our case who was diagnosed with endometriosis with high CA19-9 level. (Sakarya Med J 2019, 9(1):180-184)

Key words

Keywords: CA 19-9; CA 125; Endometriosis

GİRİŞ

Karbonhidrat Antijen 19-9 (CA19-9) glikosfingolipid yapıda bir antijendir. Başta normal pankreas ve biliyer sistem hücreleri olmak üzere çeşitli dokular tarafından salgılanır. İlk olarak insan kolon kanseri hücre kültüründe monoklonal antikor yöntemiyle tanımlanmıştır. Daha sonraları CA19-9 düzeylerinin pankreas, kolon, over, akciğer ve karaciğer malignitelerinin yanı sıra siroz, hepatit, kolesistit gibi hepatobiliyer sistemin benign hastalıklarında, renal yetmezlik, plevral efüzyon, pnömoni ve milier tüberküloz gibi benign durumlarda da yükselebileceği gösterilmiştir. Nüfusun %5'inde vücudun CA19-9 üretmediği bilinmektedir. Sağlıklı bireylerde de yüksek seviyeler görülebilmektedir.⁵ Bu tümör belirtecinin pankreas kanseri için "cut-off" değeri 37 U/mL olarak alındığında duyarlılığı %80, özgüllüğü %90 ve biliyer sistem kanserleri için duyarlılığı %60-70 olarak bildirilmiştir. Üst sınır 1000 U/mL olarak alındığında ise pankreas kanseri için özgüllüğünün %100'lere yaklaştığı görülmüştür.⁶

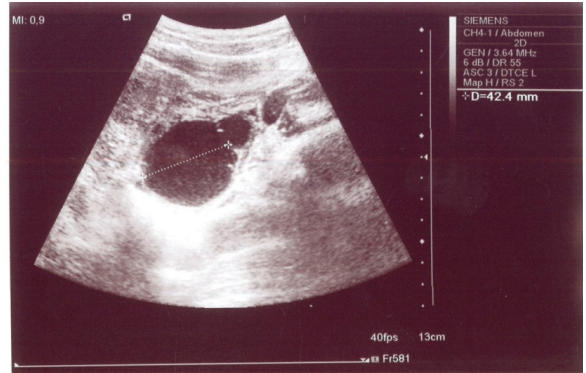
OLGU SUNUMU

23 yaşında kadın hasta; Nisan 2018'de alt batında başlayıp suprapubik bölgeye yayılan, ani ve şiddetli ağrı şikâyetiyle acil servise başvurdu. Anamnezinde bulantı, kusma, ishal yoktu; menstrüasyon kanaması 3 gün sonra idi. Yapılan fizik muayenesinde genel durumu iyi, vital bulguları normal sınırlarda, hepatosplenomegali yok, batında asit yok, bilateral kostovertebral açılı hassasiyeti yok, batın alt kadranslarda palpasyonla hassasiyet mevcuttu, defans ve rebound yoktu. Çekilen ayakta direkt batın grafisinde yaygın gaz saptandı. Ancak şiddetli ağrıya sebep olmayacağı düşünülerek alt batın bilgisayarlı tomografisi çekildi. BT'de sol overde 4-5 cm çapında over kisti saptandı. Uygulanan analjezik tedavi ile ağrısı azalan hasta jinekoloji kontrolü önerisiyle acil servisten taburcu edildi.

Ağrısı devam eden hasta bir gün sonra jinekoloji kontrolüne geldi. Yapılan fizik muayenesinde sol alt kadranda defans ve rebound tespit edildi. Transvaginal ultrasonografide uterus doğal, sağ over doğal, sol overde 5,3*3,5 cm

hemorajik kist ve douglasta minimal sıvı saptandı. Yatışı yapılan hastanın oral alımı kesilerek takibe alındı. Ertesi gün yapılan fizik muayenede akut ağrının kaybolduğu görülen hastada rüptür olmadığı düşünüldü ve tümör belirteçleri istendi. CA19-9 düzeyi 1237,5 ng/ml olarak saptandı, yapılan fizik muayenesi normal sınırlarda olan, vital bulguları stabil olan ve ağrısı olmayan hasta 1 hafta sonra poliklinik kontrolüne gelmek üzere taburcu edildi.

1 hafta sonra kadın hastalıkları polikliniğine başvuran hastadan tekrar tümör belirteçleri istendi. Yapılan fizik muayene ve ultrasonografi sonucu sol overde daha önce saptanan kistin endometrioma olduğu saptandı (Resim 1). Bu dönemde bakılan CA19-9 düzeyi 1429 ng/ml saptanan hastaya ileri tetkik yaptırmak üzere Gastroenteroloji ve Tıbbi Onkoloji poliklinik kontrolü önerildi.

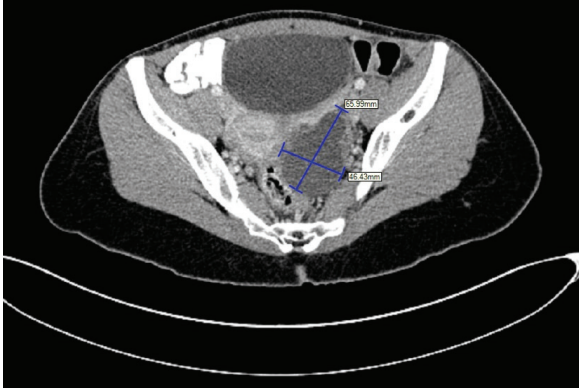


Resim 1: Trans vaginal ultrasonografi (TVUSG): Sol Overde 5,3*3,5 cm boyutunda endometrioma

Gastroenteroloji konsültasyonu sonucu hastaya devam eden CA19-9 yüksekliği nedeniyle pankreas, safra yolları ve kolonu daha iyi değerlendirmek amacıyla Trifazik Bilgisayarlı Batın Tomografisi ve endoskopik inceleme önerildi. Çekilen Trifazik batın BT'de ve yapılan alt ve üst gastrointestinal sistem endoskopilerinde endometrioma ve myoma uteri dışında patoloji saptanmadı (Resim 2).

Tıbbi onkoloji konsültasyonu sonucu CEA, CA125 ve CA19-9 seviyelerinin birbiriyle uyumsuz olduğu ifade edildi. Şikâyeti olmayan hastanın 1 ay sonra tümör belir-

teçlerini tekrarlaması istendi. CA19-9 yüksekliği devam ettiği taktirde pozitron emisyon tomografisi ve likit biyopsi seçeneklerinin değerlendirilebileceği belirtildi.



Resim 2: Alt Abdomen Trifazik Bilgisayarlı Tomografi: Sol Overde 65,9*46,4 cm boyutunda endometrioma

24/04/2018 ve 25/05/2018 tarihlerinde tekrarlanan CA19-9 seviyelerinin giderek düştüğü saptanan hastaya onkolojik açıdan ileri tetkik önerilmedi, ancak jinekoloji kontrolü önerildi. Aşağıdaki tabloda hastanın tümör belirteçleri özetlenmiştir (Tablo 1). Yapılan TVUSG ve muayene sonrası sol overde 5,6*3,8 mm endometrioma, rekto-vaginal derin endometriozis ve uterusu iki adet milimetrik intramural myom tespit edildi. Hastanın CA19-9 yüksekliğinin endometriozise bağlı olduğu düşünüldü. Oral kontraseptif tedavi başlanan hastaya düzenli karaciğer fonksiyon testleri yaptırması ve jinekoloji takibi önerildi.

TARTIŞMA

CA19-9 başta tükrük bezleri, biliyer epitel, pankreatik duktal epitel ve metaplastik mezotelyal epitel gibi glandü-

ler epitel hücrelerinde bulunan bir glikoproteindir. Pankreas adenokarsinomu için önemli bir gösterge olan CA19-9, pankreasın hem normal hem de tümör içeren epitel hücrelerinden kaynaklanabilir. Pankreas kanseri ile karışacak hastalıkların ayırıcı tanısı ve yine pankreas kanserinde tedaviye cevap ve nüksün değerlendirilmesinde kullanılır. Pankreas kanserleri dışında, safra kanalı, kolon, mide, over, hepatosellüler ve özafagus kanserleri gibi malign durumlarda da yüksek seviyelerde görülebilen bir tümör belirteçidir.

Çok yüksek CA19-9 (1.000 U/ml) seviyeleri pankreas kanseri olgularında çoğu zaman rezeksiyon şansı olmayan ileri tümörü işaret eder. Postoperatif CA19-9 seviyesinde düşüş olması ise iyi sağ kalım ile koreledir.

Literatürde CA19-9 yüksekliği ile seyreden pankreas kanseri dışında çeşitli olgu sunumları bulunmaktadır. Hüseyin Demirsoy ve arkadaşları CA19-9 yüksekliğine sebep olan dalak kisti olgusu sunmuştur. Bu olguda sağ hipokondriumda ağrı nedeniyle tetkik edilen hastanın yüksek CA19-9 seviyesi ile birlikte çekilen Manyetik Rezonans batin görüntülemesinde dalak kisti saptamışlardır. Hastanın CA19-9 yüksekliğinin daha önceden bilinen dalak kistinin büyümesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.²

M. Sait Dağ ve arkadaşları karın ağrısı, ateş ve sarılık şikayetleri ile başvuran hastanın fizik muayenesinde epigastrik ve sağ hipokondriak bölgede ağrı ve hassasiyet saptamışlardır. Bu hastada lökositoz, kolestaz enzimlerinde yükseklik ile beraber CA19-9 yüksekliği saptamışlardır. Hastaya yapılan hepatobiliyer ultrasonografi sonucu safra kesesi ve

Tablo 1: Gastrointestinal patolojisi olmayan endometriozis tanılı hastanın takiplerdeki tümör belirteçleri

TÜMÖR BELİRTECİ	02.04.2018	09.04.2018	24.04.2018	25.05.2018	REFERANS ARALIĞI
CEA (ng/mL)	0,53	0,80	-	0,54	Sigara içmeyen <2,5 Sigara içen <5,0
CA 19.9 (ng/mL)	1237,5	1429,26	357,18	264,03	-- <37
CA-125 (ng/mL)	89,7	34,2	14,9	15,1	-- <30,2
CA 15.3 (ng/mL)	19,9	-	27,2	-	-- <32,4

koledokta taşlar, koledok ve intrahepatik safra yollarında dilatasyon izlemişler. ERCP uyguladıkları hastada CA19-9 seviyelerinin 10 gün içerisinde normal seviyelere düştüğünü bildirmişler.⁷

Literatürde CA19-9 ve CA 125 yüksekliği ile seyreden endometrioma olguları ile ilgili yayınlar mevcuttur. Bu yayınlarda CA19-9 yüksekliği ile endometriozisin tanısında faydalı bir belirteç olduğu ve endometriozisin ciddiyeti ile CA19-9 düzeylerinin korele seyrettiği bildirilmiştir. Ancak bu yayınlara bakıldığında CA19-9 ve CA125 yüksekliğinin benzer düzeylerde olduğu görülmektedir.^{1,8-10} Kurdoğlu ve ark. yaptıkları retrospektif çalışmada endometriozisli olgularda tüm evrelerde CA19-9 seviyelerinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Ancak araştırmacılar CA125 seviyelerinin Evre IV endometrioziste yüksek olmasına rağmen Evre I endometrioziste normal saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmanın sonunda her iki tümör belirtecinin de sadece ciddi hastalıkta (Evre III ve IV) prediktif değeri olduğunu savunmuşlardır.¹⁰ Bizim olgumuzda ise CA 125 değerindeki hafif-ılımlı yüksekliğe rağmen CA19-9 değerinde belirgin yükseklik söz konusu idi. Ayrıca bu çalışmalarda bildirilen CA19-9 seviyeleri normal değerden yüksek olmasına rağmen bizim hastamızdaki gibi aşırı yüksek seviyelerde değildi.

Hastamızın takiplerinde endometriozis tedavisi amaçlı Dienogest 2 mg/gün tedavisi başlanması ile birlikte CA19-9 ve CA125 düzeyleri normal sınırlara düştü. Literatürde Danazol ve LHRH agonistleri ile tedaviden sonra CA125 düzeylerinin düştüğü ve rekürrens durumunda tekrar yükseldiği ile ilgili yayınlar¹¹ bulunmasına rağmen tedavi ve CA19-9 düzeyleri arasındaki ilişki ile ilgili yayın bulunmamaktadır. Bizim olgumuzda da tedavi ile endometriotrik depozitlerin inaktive olduğu ve buna bağlı olarak CA19-9 düzeylerinin azaldığı düşünülmüştür.

Bizim olgumuzda batin ultrasonografisi ve bilgisayarlı tomografi görüntülemeleri sonucu gastrointestinal sistem organlarında patoloji olmadığı görüldü. Hastanın yapılan

jinekolojik muayene ve incelemeleri sonucu endometrioma ve endometriozis tespit edildi. Mevcut CA19-9 yüksekliği bu sebebe bağlı olduğu düşünüldü. Ayrıca hastanın diğer tümör belirteçleri ile birlikte değerlendirildiğinde uyumsuz CA19-9 yüksekliği mevcuttu.

Tümör belirteçlerinin sadece malign hastalıklarda yükselmeyebileceği, bir çok benign durumda da yükselebileceği akılda tutulmalıdır. Malignite tanısı olan hastalarda tedavi yanıtının ve nükslerin değerlendirilmesinde fayda olmakla birlikte tanı konmamış hastalarda tanısız rolünün olabileceği akılda tutulmalıdır.

Kaynaklar

1. Dağ MS, Öztürk ZA, Çam H, Koruk İ, Kepekçi Y, Kadayıfçı A. Are Very High Levels of CA 19-9 Always Indicators for Malignancy?. *Akademik Geriatri Dergisi* 2012; 4(3): 158-161.
2. Demirsoy H, Eminler AT, Ercan M, Uslan Mİ, Köksal AŞ, Parlak E. Splenic cyst causing high levels of pathognomonic CA 19-9: *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2017; 16(3): 118-120.
3. Cwik G, Wallner G, Skoczylas T, Krzyzanowski M, Ciechajski A, Madro P. Elevated tumor marker CA 19-9 in the differential diagnosis of pancreatic mass lesions: *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska Med.* 2004;59(2):213-218.
4. Endometriosis. *Mayo Clinic*. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/endometriosis/symptoms-causes/syc-20354656> Erişim Tarihi: 24/06/2018
5. Dai X, Jin C, Hu Y, Zhang Q, Yan X, Zhu F, Lin F. High CA-125 and CA19-9 levels in spontaneous ruptured ovarian endometriomas: *Clin Chim Acta.* 2015 Oct 23;450:362-365.
6. Steinberg W. The clinical utility of the the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 350-355.
7. Harada T, Kubota T, Aso T. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2002 Oct;78(4):733-739.
8. Duran M, Kosus A, Kosus N, Duvan C, Kafali H, Yılmaz Ş. Treatment of Ruptured Ovarian Endometrioma with Extremely High CA 125, Moderately High CA 19-9 and CA 15-3 Level: *J Clin Anal Med* 2013;4(supple 3): 299-301.
9. Bayramov V, Şükür YE, Pabuççu E, Atabekeoğlu CS. Extremely Elevated CA-125 and CA 19-9 in Endometrioma: A Case Series. *J Turk Soc Obstet Gynecol* 2010 7;1:45-48
10. Kurdoglu Z, Gürsoy R, Kurdoglu M, Erdem M, Erdem Ö, Erdem A. Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2009-11-01;92:5:1761-1763.
11. Acien P, Shaw RW, Irvine L, Burford G, Gardner R. CA125 levels in endometriosis patients before, during and after treatment with Danazol or LHRH agonists. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 1989;32: 241-246

Erişkin Still Hastalığı ilişkili Makrofaj Aktivasyon Sendromu; Olgu Sunumu

Macrophage Activation Syndrome Associated with Adult Still's disease: A Case Report

Burcu Aydoğan¹, Mehmet Kılıç², Emel Gönüllü³

¹ Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği Bölümü, Sakarya

² Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü, Sakarya

³ Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Romatoloji Bölümü, Sakarya

Yazışma Adresi / Correspondence:

Burcu Aydoğan

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği A.D. Adapazarı/Sakarya Turkey

T: +90 555 714 30 64

E-mail: burcuaydogann@outlook.com

Geliş Tarihi / Received : 12.12.2018 Kabul Tarihi / Accepted : 13.03.2019

Öz

Makrofaj Aktivasyon Sendromu (MAS), çeşitli romatizmal hastalıkların ciddi, hayatı tehdit eden bir komplikasyonu olarak ortaya çıkabilmektedir. Sistemik juvenil idiyo-patik artrit ve Erişkin Still hastalığında daha sık olarak görülmektedir. Burada nadir görülen bir hastalık olan Erişkin Still hastalığına eşlik eden ve immünyüpresif tedaviyle remisyona giren, hayatı tehdit eden bir MAS olgusu sunulacaktır. (*Sakarya Tıp Dergisi* 2019, 9(1):185-189)

Anahtar kelimeler

Erişkin Still Hastalığı; Makrofaj Aktivasyon Sendromu

Abstract

*Macrophage Activation Syndrome (MAS) may occur as a serious, life-threatening complication of various rheumatic diseases. It can be seen more often with systemic juvenile idiopathic arthritis and Adult Still's disease. Here, we present a case of MAS which is life-threatening, entered into remission with immunosuppressive treatment and accompanied with Adult Still's disease that is a rare disease. (*Sakarya Med J* 2019, 9(1):185-189)*

Key words

Adult Still's disease; Macrophage Activation Syndrome

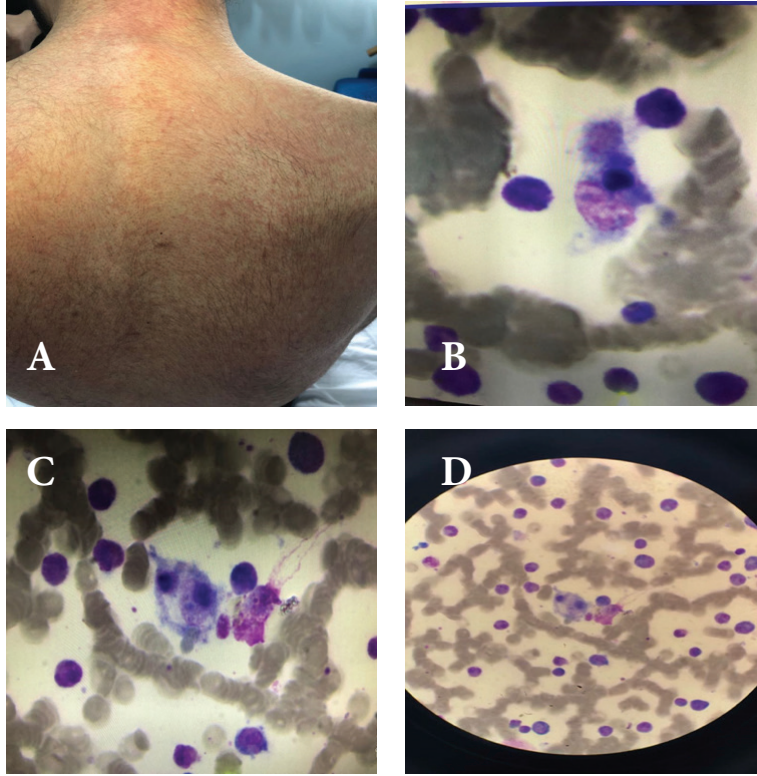
GİRİŞ

Makrofaj Aktivasyon Sendromu (MAS), çeşitli romatizmal hastalıkların ciddi, hayatı tehdit eden bir komplikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır.¹ Juvenil idyopatik artrit ve erişkin başlangıçlı Still hastalığında daha siktir.¹ Birincil, enfeksiyon ile ilişkili, malignite ilişkili veya otoimmün olabilir.¹ Burada yaygın ateş, vücut ağrısı, boğaz ağrısı şikayetleriyle polikliniğe başvurmuş, ileri inceleme sonrası Erişkin Still hastalığı ve bunun komplikasyonu olarak gelişmiş MAS tanısı alan 17 yaşındaki erkek hastanın klinik, laboratuvar özellikleri, hastalık seyri ve uygulanan tedavisi üzerinde durulacaktır. Erişkin Still hastalığı ile etkilenenlerde MAS oluşumu sağ kalımı önemli düzeyde azaltmaktadır.² Tanı anında yüksek serum ferritin düzeyleri ve eritrosit sedimentasyon hızı düzeyleri Still hastalığında MAS komplikasyonu geliştirme açısından anlamlıdır.² Bu olgu sunumuyla nadir görülen bir hastalık olan Erişkin Still hastalığı ve hayatı tehdit eden komplikasyonu MAS'a dikkat çekmek amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

On yedi yaşında erkek hastanın üç hafta önce yaygın vücut ağrısı, halsizlik, yürüyememe, boğaz ağrısı, ateş, öksürük, kilo kaybı şikayetleri başlamış. Analjezik, miyorelaksan ve oral gargara verilen ancak şikayetlerinde gerileme olmayan hasta çocuk hastalıkları servisine yatırılmış. Özellikle sabah ve akşam saatlerinde 39°C ye ulaşan ateş ve gövdede ateşle birlikte ortaya çıkan ve ateş sonrası kaybolan maküler purpurik döküntü izlenmiş (Resim A). Boğaz ağrısı olan hastada orofarenks hiperemisi dışında ek patoloji saptanmamış. Enfeksiyon dışlanamadığı için hastaya empirik olarak seftriakson 2x1,5 gr, takibinde sefotaksim 3x2 gr ve vankomisin 2x1 gr 6 gün boyunca uygulanmış. Aynı zamanda hasta hematolojik maligniteler açısından değerlendirilmiş. Sefotaksim ve vankomisin sonrasında meropenem 3x1 gr başlanan hastada her gün 39°C ye varan, antibiyoterapilere yanıt vermeyen ateş (sabah ve akşam saatlerinde), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C-reaktif protein (CRP) yüksekliği, ateşe eşlik eden cilt döküntüleri olması, alınan kültürlerde herhangi bir üre-

me olmaması, yapılan incelemelerde enfeksiyon odağının bulunamaması üzerine enfeksiyon hastalıkları bölümüyle görüşülmüş. Enfeksiyon hastalıkları tarafından Erişkin Still hastalığı olabileceği düşünülen hasta tarafımıza gönderildi. Hastanın tetkikleri incelendiğinde ilk başvurusunda lökosit sayısı=23,900/ μ L, hemoglobin=13 gr/dL, trombosit=217000/ μ L, nötrofil=21100/ μ L, kreatinin=0,89 mg/dL, Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR):87.3 ml/dk, Alanin Aminotransferaz(ALT):45 IU, Aspartat Aminotransferaz(AST):39 IU, ESH:98 mm/saat, CRP:230 mg/L Prokalsitonin(Pct)=34,09 ng/ml, ferritin>2000ng/mL (dilüe edildikten sonraki ferritin değeri=166956,95ng/mL), Trigliserit(TG):231 mg/dL olarak saptandı. Tüm batin bilgisayarlı tomografide hepatomegali (167 mm) ve splenomegali (136 mm) saptandı. Başlangıçta lökositozu olan hastanın takibi sırasında lökosit sayısı normale dönerken anemi ve trombositopeninin geliştiği görüldü. Kültürlerinde üreme olmayan hastada enfeksiyöz patolojiler ve malignite dışlandıktan sonra Erişkin Still hastalığı ve buna bağlı gelişen MAS düşünüldü. Hastanın kemik iliği aspirasyon preperatları değerlendirildiğinde kan elemanlarını fagosite etmiş makrofajlar izlendi (Resim B-D). Aynı gün içindeki tetkiklerde karaciğer enzimlerinde ani artış gözlemlendi (AST:1226, ALT:716). Gastroenteroloji tarafından yapılan ultrasonografide karaciğer parankiminde belirgin özellik saptanmadı. Dalak 160 mm olarak ölçüldü. Aynı zamanda nefes darlığı başlayan, takipneik ve dispneik olarak gözlenen ve oksijen saturasyonu % 85 olarak ölçülen hasta yoğun bakım ünitesine alındı ve hastaya non-invaziv mekanik ventilasyon desteği verildi. Hastaya yoğun bakım ünitesinde 3 gün 1000 mg metil prednisolon pulse steroid tedavisi verildi. Tedavi sonrası üçüncü gün tetkiklerinde ALT:410 IU AST:238 IU saptanarak gerilediği görüldü, Prokalsitonin=4,44 ng/ml, CRP=34,4 mg/L değerlerine geriledi. Pulse steroid sonrası hastada özel tedavi gerektirmeyen ve kendiliğinden düzelen, birkaç gün süren sinüs bradikardisi oldu. Sinüs bradikardisinin nedeni pulse steroid tedavisi olarak düşünüldü. Tedaviye 1 mg/kg/gün metil prednisolon olarak devam edildi. Solunum ve kardiyak fonksiyonları normale dönen, ateşi ve döküntüleri düzelen



A.Erişkin Still Hastalığı tanısı almış hastanın ateşli dönemde oluşan maküler purpurik özellikteki döküntüleri görülmektedir. B-C-D.Makrofaj Aktivasyon Sendromu tanılı hastanın Kemik iliği biyopsisinin mikroskopik incelemesinde kan elemanlarını fagosite etmiş makrofajlar (hemafagositoz) izlenmektedir.

hasta 5. gün servise alındı. İki hafta sonra siklosporin tedavisi eklenerek, poliklinik takibi yapılmak üzere taburcu edildi.

TARTIŞMA

Erişkin Still hastalığı ve buna bağlı gelişen Makrofaj Aktivasyon Sendromu çok nadir ancak hayatı tehdit eden bir komplikasyondur.³ Makrofaj Aktivasyon Sendromlu olgular multipl organ yetmezliğine ilerleyebilen, ölümcül seyredebilen, ciddi olgular olması nedeniyle erken tanı ve uygun tedavinin başlanması önemlidir. Tanı anında yüksek serum ferritin düzeyleri ve yüksek ESR düzeyleri Still hastalığının MAS ile birlikteliği açısından anlamlıdır.² Erişkin Still hastalığının tanısında Yamaguchi kriterlerinin sensitivitesi %96,2 ve spesifitesi %92,1 dir. Daha sonra tanımlanan Fautrel sınıflama kriterlerinin ise sensitivitesi

% 80,6 ve spesifitesi %98,5'dir.⁴ Sunulan olgu, Erişkin Still hastalığı için Yamaguchi ve Fautrel kriterlerini karşılamaktadır, pulse steroid tedavisine dramatik yanıt vermiştir. Boğaz ağrısı, yaygın kas ağrıları öyküsü, her gün sabah ve akşam saatlerinde tekrarlayıp 39°C' yi bulan ateş ve eşlik eden maküler pupurik tarzda döküntü, splenomegali, ferritin değerlerinde anomal yüksek sonuçlar, ileri araştırmalarla sedim, crp, prokalsitonin yüksekliğini açıklayacak enfeksiyon bulgusunun saptanamaması, antibiyoterepile yanıt vermeyen klinik ve laboratuvar bulguları, başlangıçta lökositoz olup ardından lökosit, hemoglobin ve trombosit değerlerinde giderek düşme, anemi ve trombositopeniye ilerleme, karaciğer enzim anormallikleri, kemik iliğinde kan elemanlarını fagosite etmiş makrofajların saptanması gibi bulgular bizi Makrofaj Aktivasyon Sendromu ile komplike Erişkin Still hastalığına yönlendiren bulgular

olmuştur.

Prokalsitonin (Pct) değerlerinin enfeksiyon tablolarında yükselmesi beklenir ancak bizim hastamızda enfeksiyon odağı olmamasına rağmen ciddi yüksek değerlerde saptandı ve pulse steroid tedavisiyle geriledi. Erişkin Still hastalığı olan hastaların, özellikle febril ataklar sırasında enfeksiyon bulunmadığında yüksek Pct seviyelerine sahip oldukları bulunmuştur.⁵ Çalışmalar, Pct salınımında Tümör Nekroz Faktör- α 'nın (TNF- α) rolünü ortaya koymuştur ve Erişkin Still hastalığında artmış TNF- α düzeyleri bulunmuştur⁵; Bu nedenle, febril Erişkin Still hastalığında TNF- α 'nın Pct'nin enfeksiyöz olmayan indüksiyonunda rol oynadığı öne sürülmüştür.⁵ Prokalsitonin serum seviyeleri Erişkin başlangıçlı Still hastalığı sırasında yükselir; bununla birlikte, bu özel durumda, enfeksiyonu olan veya olmayan hastaları ayırt etme yeteneği hala tartışmalıdır.⁶ Chen ve diğerleri ateşli Erişkin Still hastalığı olan hastalarda, bakteriyel enfeksiyonları teşhis etmek için 1.4 ng/ml'lik bir Pct değerini sınır değer olarak önermişlerdir.⁵⁻⁷ Bu olguda Erişkin başlangıçlı Still hastalığında bakteriyel enfeksiyonlar için belirtilen Pct sınır değerinin çok daha üzerinde değerler gözlenmiş ve bakteriyel odak saptanmamıştır. Erişkin başlangıçlı Still hastalığı ve MAS olgularında enfeksiyon olmadığı halde prokalsitoninde şaşırtıcı yüksek değerler ile karşılaşılabilceği akılda tutulmalıdır. Makrofaj Aktivasyon Sendromu olgularında erken tanı için serum AST, CRP ve ferritin yüksekliğinin, ciddi nötropeninin, yüksek ateşin tanınması yanında Pct yüksekliğinin de tanınması önerilmektedir.⁸

Olguda hastanın sinüs taşikardisi mevcutken pulse steroid tedavisi sonrası sinüs bradikardisi gelişmiştir. Sinüs bradikardisi, steroid infüzyonunu takiben nadir görülen bir yan etki olup, nadiren semptomatiktir.⁹ Yüksek doz steroid infüzyonunu takiben bradikardi patofizyolojisini açıklamak için çeşitli hipotezler ortaya konmuştur ancak kesin mekanizma hala bilinmemektedir.⁹ Hem infüzyon hızlarının, hem de altta yatan kalp hastalığı varlığının ortaya çıkma riskini artırdığı düşünülmektedir.¹⁰ Pulse steroid tedavisi

sırasında gelişebilecek bradikardiye karşı dikkatli olunmalıdır. Aktif kalp hastalığı olan yaşlı hastalarda infüzyon sırasında kalp hızı ve tansiyonun izlenmesi gerekir.⁹ Eş zamanlı ilaçların (beta bloker vb.) kullanımı, mesane ve / veya barsak sfinkter bozukluğu gibi otonomik bozukluğun olması ve sigara içme durumu gibi hastaya özgü faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.⁹ Yavaş bir steroid infüzyonu ile ilerlemek ve kardiyak hastalık öyküsü olan ya da geçmişte pulse steroid tedavisini takiben yan etkilere sahip olan seçilmiş hastaları monitörize etmek akıllıca olacaktır.⁹

SONUÇ

Erişkin Still hastalığı ile Makrofaj Aktivasyon Sendromu nadir ancak hayatı tehdit eden bir komplikasyondur. Erken tanınip uygun immünsupresif tedavinin başlanması önemlidir.

Kaynaklar

1. Raj PB1, Harikrishnan BL2, Mampilly R3, Anand R3. Macrophage Activation Syndrome. *J Assoc Physicians India*. 2017 May ;65(5):91-92
2. Ruscitti P1, Rago C2, Breda L3, Cipriani P4, Liakouli V4, Berardicurti O4, et al. Macrophage activation syndrome in Still's disease: analysis of clinical characteristics and survival in paediatric and adult patients. *Clin Rheumatol*. 2017 Dec;36(12):2839-2845
3. Yazıcı A, Çefle A. Hemofagositik Sendrom ve Bağ Dokusu Hastalıkları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2017; 43 (3): 137-140
4. Fautrel B. Adult-onset Still's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2008; 22: 773-92.
5. Shaikh MM1, Hermans LE2, van Laar JM2. Is serum procalcitonin measurement a useful addition to a rheumatologist's repertoire? A review of its diagnostic role in systemic inflammatory diseases and joint infections. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Feb;54(2):231-40.
6. Colafrancesco SI, Priori R, Valesini G. Presentation and diagnosis of adult-onset Still's disease: the implications of current and emerging markers in overcoming the diagnostic challenge. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015 Jun;11(6):749-61
7. Chen DY, Chen YM, Ho WL, Chen HH, Shen GH, Lan JL. Diagnostic value of procalcitonin for differentiation between bacterial infection and non-infectious inflammation in febrile patients with active adult-onset Still's disease. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jun;68(6):1074-5
8. Gavand PE1, Serio I2, Arnaud L3, Costedoat-Chalumeau N4, Carvelli J5, Dossier A6 et al. Clinical spectrum and therapeutic management of systemic lupus erythematosus-associated macrophage activation syndrome: A study of 103 episodes in 89 adult patients. *Autoimmun Rev*. 2017 Jul;16(7):743-749
9. Kundu AI, Fitzgibbons TP2. Acute symptomatic sinus bradycardia in a woman treated with pulse dose steroids for multiple sclerosis: a case report. *J Med Case Rep*. 2015 Sep 24;9:216.
10. Guillén EL1, Ruiz AM, Bugallo JB. Hypotension, bradycardia, and asystole after high-dose intravenous methylprednisolone in a monitored patient. *Am J Kidney Dis*. 1998 Jul;32(2):E4.