



ISSN: 2146-2631
eISSN: 2587-053X

KAFKAS TIP BİLİMLERİ DERGİSİ

Kafkas Journal of Medical Sciences

Kafkas J Med Sci

Bu dergi Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin akademik yayın organıdır.
This journal is an official academic publication of Kafkas University Faculty of Medicine.

Endekslenme (Indexed in)

TÜBİTAK-ULAKBİM

Türkiye Atıf Dizini

Türk Medline

EBSCO

Google Scholar

DergiPark Akademik

DOAJ

Yönetim (Administration)

Prof. Dr. Hüsnü KAPU, İmtiyaz Sahibi / Rektör (*Owner / President*)

Editöryal Kurul (Editorial Board)

Baş Editör (*Editor-In-Chief*)

Prof. Dr. Sinan KOCATÜRK

Editör Yardımcıları (*Associate Editors*)

Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL

Doç. Dr. Turgut ANUK

Dr. Öğr. Üyesi Emine BARAN DENİZ

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Esra DURAN

Dr. Öğr. Üyesi Ramazan SABIRLI

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Mert BAŞARAN

Dr. Öğr. Üyesi Tahir ATAÖZDEN

Yabancı Dil Editörü (*English Editor*)

Doç. Dr. Hamit Serdar BAŞBUĞ

Doç. Dr. Serhat TUNÇ

İstatistik Editörü (*Statistical Editor*)

Doç. Dr. Halil İbrahim ERDOĞDU

İletişim (Correspondence)

Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi
Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi
36300 KARS - TÜRKİYE

Tel: 474 225 11 96

Fax: 474 225 11 93

E-mail: meddergi@kafkas.edu.tr

Web: <http://meddergi.kafkas.edu.tr>

Yayın Hizmetleri (Publication Service)

Tasarım ve Uygulama (*Graphic Design*)
BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım Ltd. Şti.
Ziya Gökalp Cad. 30/31, Kızılay - Ankara
Tel: (312) 431 30 62
www.bayt.com.tr

Baskı (*Printing*)
Miki Matbaacılık Ltd. Şti.
Matbaacılar Sitesi, 560 Sk. No:27, İvedik - Ankara
Tel: (312) 395 21 28

Baskı Tarihi (*Printing Date*): 23 Ağustos 2021

Danışma Kurulu (Advisory Board)

- Prof. Dr. Ahmet Taha ALPER**, Siyami Ersek Eğitim Araştırma Hastanesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN, Atatürk Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Okay BAŞAK, Adnan Menderes Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Duran CANATAN, Akdeniz Kan Hastalıkları Vakfı, TÜRKİYE
Prof. Dr. Ali KOLUSARI, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Kürşad TÜRKDOĞAN, Sabahattin Zaim Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Ayla ÖZCAN, Gazi Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Hilal ÖZCEBE, Hacettepe Üniversitesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. Dilek ÖZCENGİZ, Çukurova Üniversitesi, TÜRKİYE
Doç. Dr. Barış Doğu YILDIZ, Ankara Şehir Hastanesi, TÜRKİYE
Prof. Dr. İrina ZARNADZE, Javakhishvili Tiflis Devlet Üniversitesi, GÜRCİSTAN

Hakem Listesi (Referees List)

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------|
| Abdullah TOK | Melda TÜRKEN |
| Adnan ÖZÇETİN | Meral BİLGİLİSOY FİLİZ |
| Ahmet Çağdaş ACARA | Murat KARAMEŞE |
| Ahmet Çağkan İNKAYA | Mustafa ARI |
| Ali Cihat YILDIRIM | Nazlı BATAR |
| Ali KILIÇGÜN | Necati DAĞLI |
| Atilla ÇAYIR | Nur TUNÇ |
| Aydın ÇİFTÇİ | Oğuzhan TUĞRUL |
| Ayşe COŞKUN BEYAN | Onur ÖZTÜRK |
| Cenk KIĞ | Onur TAYDAŞ |
| Cuma MERTOGLU | Ömer ÇANACIK |
| Çiğdem Eda BALKAN BOZLAK | Özgür ÇELEBİ |
| Dinçer ERDAĞ | Sabahattin KOCADAĞ |
| Dursun DUMAN | Sadi Turgut BİLGİ |
| Evren Önay UÇAR | Sevil TURHAN |
| Fazlı YANIK | Süleyman SALMAN |
| Gülşen MERAL | Şahin KAHRAMANCA |
| Halil ÖZCAN | Şebnem KOLDAŞ DOĞAN |
| Hasan ÇILGIN | Tuncay ÇAKIR |
| Havva ERDEM | Uğur KEKLİKÇİ |
| İbrahim ERDOĞDU | Veysel Sabri HANÇER |
| İrfan ÇINAR | Yasemen ADALI |
| İsmail SAYGIN | Yüksel KAYA |
| Mehmet Tolga KAFADAR | Zeliha YAZAR |

İçindekiler / Contents

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

- The Effect of Smartphone Addiction on Neck Pain and Disability in University Students..... 225**
Üniversite Öğrencilerinde Akıllı Telefon Kullanımı Bağımlılığının Boyun Ağrısı ve Disabilite Üzerine Etkisi
Sevtap Badil Guloglu, Umit Yalcin
doi: 10.5505/kjms.2021.75057
- The Predictive Value of C-reactive Protein to Albumin Ratio to Detect Contrast-induced Acute Kidney Injury in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Percutaneous Coronary Intervention..... 231**
Akut Miyokart Enfarktüsü Nedeniyle Perkütan Koroner Girişim Uygulanan Hastalarda Kontrast Kaynaklı Akut Böbrek Hasarı Tespitinde C-reaktif Protein - Albümin Oranının Öngördürücü Değeri
Ahmet Karakurt
doi: 10.5505/kjms.2021.13285
- Siirt İlindeki Bruselloz Tanılı 112 Hastanın Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi 244**
Retrospective Evaluation of 112 Patients with Brucellosis Diagnosis in Siirt
Osman Özüdoğru, Ömer Acer
doi: 10.5505/kjms.2021.55481
- The Use of Complementary and Alternative Medicine Among Patients with Chronic Lung Disease 250**
Kronik Akciğer Hastalığına Sahip Hastalar Arasında Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Kullanımı
Hasan Oguz Kapıcibasi, Erhan Akinci
doi: 10.5505/kjms.2021.96530
- Obez Bireylerde Sosyal Kaygı Düzeyi ve Sosyal Kaygıyı Etkileyen Etmenler 256**
Social Anxiety Level Among Obese People and Factors That Influence Social Anxiety
M. Ramiz Aktaş, Erol Özmen
doi: 10.5505/kjms.2021.73444
- Pupillary Functions and Wavefront Aberrations in Childhood Obesity 263**
Çocukluk Çağı Obezitesinde Pupil Fonksiyonları ve Wavefront Aberasyonlar
Abdullah İlhan, Umit Yolcu, Salih Altun, Uzeyir Erdem
doi: 10.5505/kjms.2021.76094
- ST Segment Yükselmesiz Myokard İnfarktüsünde Gensini Skoru ile Elektrokardiyografik Frontal QRS-T Açısı Arasındaki İlişki..... 268**
The Relationship Between Electrocardiographic Frontal QRS-T Angle and Gensini Score in Non-ST Segment Elevated Myocardial Infarction
Sefa Gül, Güney Erdoğan, Osman Can Yontar, Uğur Arslan
doi: 10.5505/kjms.2021.35119
- The Importance of the Tumor Sidedness and Its Relationship with Other Clinicopathological Features in Patients with Colorectal Cancer 275**
Kolorektal Kanserli Hastalarda Tümör Tarafllılığının Önemi ve Diğer Klinikopatolojik Özelliklerle İlişkisi
Nilgun Sogutcu, Sahin Lacin, Halis Yerlikaya, Deniz Yilmaz
doi: 10.5505/kjms.2021.58751
- Tiroid Nodüllerinde Sitopatolojik ve Histopatolojik Uyum Değerlendirmesi: 425 Olgu İçeren Tek Merkez Çalışması..... 282**
Evaluation of Cytopathological and Histopathological Compatibility in Thyroid Nodules: Single Center Study with 425 Cases
Nazlı Sena Şeker, Şeyhmus Kaya, Ayhan Şenol, Hikmet Soylu
doi: 10.5505/kjms.2021.46362
- Knowledge, Attitude and Practice Towards COVID-19 Among People in Adiyaman, Turkey 288**
Türkiye'nin Adiyaman İlinde İnsanların COVID-19 Salgınına Yönelik Bilgi, Tutum ve Uygulamaları
Emel Dundar, Ferit Kaya, Edibe Pirincci
doi: 10.5505/kjms.2021.02259

Measurement of Fetal Penile Length in Thrace Region of Turkey 295
Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde Fetal Penis Uzunluk Ölçümü
Cem Yener, Fusun Varol, Esra Altan Erbilien, Sinan Ates, Cenk Sayin
doi: 10.5505/kjms.2021.08068

Effects of *Scilla autumnalis* Extracts on U87-MG Human Glioblastoma Cells..... 299
Scilla autumnalis Ekstrelerinin U-87 MG İnsan Glioblastoma Hücreleri Üzerinde Etkileri
Murat Pekmez, Cagatay Tarhan, Ali Zeytinluoglu, Murat Turan, Sefika Beyza Mete, Aylin Koseler
doi: 10.5505/kjms.2021.75688

Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması..... 307
Investigation of CTX-M, TEM and SHV Type Extended Spectrum Beta-Lactamase Activity with Automated System and Molecular Methods in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Individuals with Urinary Track Infections
Sibel Deniz, Fatih Büyük, Kenan Murat
doi: 10.5505/kjms.2021.53367

The Protective Effect of Taxifolin Against Amikacin-induced Ototoxicity in Rats: a Biochemical and Histopathological Evaluation 318
Taxifolinin Siçanlarda Amikasin ile İndüklenen Ototoksositeye Karşı Koruyucu Etkisi: Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme
Ertugrul Erhan, Ismail Salcan, Muhammet Dilber, Cebrail Gursul, Sevil Karahan Yilmaz, Taha Abdulkadir Coban, Ferda Keskin Cimen, Halis Suleyman
doi: 10.5505/kjms.2021.59375

OLGU SUNUMU / CASE REPORT

A Rare Finding of Vitamin B12 Deficiency in Infancy: Lethargy..... 324
İnfantta Vitamin B12 Eksikliğinin Nadir Bir Bulgusu: Letarji
Sema Ates, Mehmet Gunduz
doi: 10.5505/kjms.2021.59144

Rectus Sheath Hematoma After Prophylactic Subcutaneous Enoxaparin Treatment in a COVID-19 Patient..... 328
Bir COVID-19 Hastasında Profilaktik Subkutan Enoksaparin Tedavisi Sonrası Rektus Kılıf Hematomu
Muharrem Bayrak, Kenan Cadirci, Mustafa Kahraman
doi: 10.5505/kjms.2021.80000

DERLEME / REVIEW

What is Metabolic Surgery? To Whom and When Should It Be Applied? 332
Metabolik Cerrahi Nedir? Kime ve Ne Zaman Yapılmalıdır?
Fatih Ciftci
doi: 10.5505/kjms.2021.43403

Diyabet ve Aterosklerozda İnflamasyon: Makro ve Mikro Besin Öğeleri ile NLRP3 İnflamazomu İlişkisi 336
Inflammation in Diabetes and Atherosclerosis: Relationship Between Macro/Micronutrients and the NLRP3 Inflammasome
Gülden Arman, Reyhan Nergiz Ünal
doi: 10.5505/kjms.2021.37999

EDİTÖRYAL / EDITORIAL

Simultaneous Use of Targeted Radiotherapy with External Beam Radiotherapy in the Treatment of Bone Metastasis..... 350
Kemik Metastazı Tedavisinde Hedefleyici Radyoterapinin Eksternal Işın Radyoterapisi ile Eşzamanlı Kullanımı
Yasemin Benderli Cihan
doi: 10.5505/kjms.2021.66742



The Effect of Smartphone Addiction on Neck Pain and Disability in University Students

Üniversite Öğrencilerinde Akıllı Telefon Kullanımı Bağımlılığının Boyun Ağrısı ve Disabilite Üzerine Etkisi

Sevtap Badil Guloglu¹, Umit Yalcin²

¹Physical Medicine and Rehabilitation Department, Antalya Training and Research Hospital, Health Sciences University, Antalya;

²Physical Medicine and Rehabilitation Department, Medicana International Istanbul Hospital, Istanbul, Turkey

ABSTRACT

Aim: This study was planned to investigate the relationship between neck pain and disability with smartphone use addiction.

Material and Method: 501 students from Kars Kafkas University and Istanbul Biruni University were included in the study. Inclusion criteria were being a university student, being a smartphone user, and not having any history of systemic, neurological or psychiatric diseases. All participants were evaluated with smartphone addiction scale (SAS), Visual Analogue Scale (VAS) and Neck Disability Index (NDI) for neck pain.

Results: The mean age of the 501 university students included was 21.0±1.9.57.7% of the participants were female and 42.3% were male. The mean VAS of the neck pain was 3.8 (±2.2), the mean SAS was 94.6 (±27.1), and the mean NDI was 10.6 (±7.0). Significant difference was not found between the genders in terms of SAS scores ($p>0.05$). The VAS and SAS scores were significantly higher in the moderate-severe-totally disability group than the mild disability and non-disability group ($p>0.05$). According to spearman correlation analysis, there was a significant positive correlation between SAS and VAS and NDI scores (p value 0.005, 0.001, respectively).

Conclusion: Addiction to smartphone use was associated with neck pain and disability in healthy young adults. These results reveal the importance of informing the society about the physical risks of smartphone addiction. Individuals should strive to reduce the time spent using a smartphone and try to maintain a proper posture during use.

Key words: neck pain; smartphone addiction; student

ÖZET

Amaç: Bu çalışma akıllı telefon kullanımı bağımlılığı ile boyun ağrısı ve disabilite arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla planlandı.

Materyal ve Metot: Kars Kafkas Üniversitesi ve İstanbul Biruni Üniversitesinde öğrenim gören 501 öğrenci çalışmaya dahil edildi. Üniversite öğrencisi olmak, akıllı telefon kullanıcısı olmak, herhangi bir sistemik, nörolojik ve psikiyatrik hastalık öyküsü olmaması dahil edilme kriterleriydi. Tüm katılımcılar akıllı telefon bağımlılığı ölçeği (SAS), boyun ağrısına ilişkin Visual Analog Skala (VAS) ve Neck Disability Index (NDI) ile değerlendirildi.

Bulgular: Dahil edilen 501 üniversite öğrencisinin yaş ortalaması 21,0±1,9 idi. Katılımcıların %57,7'si kadın, %42,3'ü erkekti. Katılımcıların boyun ağrısı VAS ortalaması 3,8 (±2,2), SAS ortalaması 94,5 (±27,2), NDI ortalaması 10,6 (±7,0) olarak bulundu. Cinsiyetler arasında SAS skorları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Orta-şiddetli-tamamen özürsüzlük olan grupta VAS skoru, SAS skoru hafif özürsüzlük ve özürsüzlük olmayan gruptan anlamlı ($p>0,05$) olarak daha yüksekti. Yapılan spearman korelasyon analizine göre SAS ile VAS ve NDI skoru arasında anlamlı pozitif korelasyon mevcuttu (p değeri sırasıyla 0,005, 0,001).

Sonuç: Akıllı telefon kullanımına bağımlılığın sağlıklı genç erişkinlerde boyun ağrısı ve disabilite ile ilişkili olduğu görüldü. Bu sonuçlar akıllı telefon kullanımı bağımlılığının yaratacağı fiziksel riskler konusunda toplumun bilgilendirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Bireyler bir akıllı telefon kullanarak harcanan zamanı azaltmak için çaba sarf etmeli ve kullanımı sırasında uygun bir duruş sürdürmeye çalışmalıdır.

Anahtar kelimeler: akıllı telefon bağımlılığı; boyun ağrısı; öğrenci

İletişim/Contact: Sevtap Badil Guloglu, Physical Medicine and Rehabilitation Department, Antalya Training and Research Hospital, Health Sciences University, Antalya, Turkey • Tel: 0532 201 10 08 • E-mail: drsevtapbadil@hotmail.com • Geliş/Received: 12.09.2019 • Kabul/Accepted: 08.06.2020

ORCID: Sevtap Badil Güloğlu, 0000-0003-4872-7519 • Umit Yalcin, 0000-0003-4799-2759

Introduction

Today, smartphones developed in parallel with the advancements in technology have caused global transformations in our societies. These devices enable us to connect to the internet and listen to music, access e-mails, search the internet, perform searches, take high quality photographs, play games, enjoy shopping and perform many more transactions^{1,2}. Such opportunities have enabled users to gain access to information with great speed, improve their time-dependent tasks, benefit from the ease of sharing information and generally save time². Recently, the frequency and duration of smartphone use has been increasing³ and it has been reported that people spend more than 20 hours a week messaging, sending e-mails, using social networks and communicating, and that this may indicate a serious dependence on smartphones⁴. Although there are no exact definitions of smartphone addiction, the problematic use of the phone can be defined as having continuous control of the phone, leading to disruption of responsibilities or daily tasks. Certainly, smartphones are among the most important non-drug addictions in today's world¹.

A study conducted in our country reported that the rate of smartphone dependency among university students is 26.7% in men and 27.9% in women⁵. This situation has resulted in many negative outcomes, such as a weakening of face-to-face communication, increased individualization, addictive practices and psychological problems to name a few^{2,6}. In addition, musculoskeletal problems have reportedly increased with the expanded use of smartphones^{7,8}. Therefore, health professionals should be aware of the impact of smartphone use on physical health problems^{9,10}.

It has been reported that long and frequent smartphone use causes postural changes and proprioception deficits in cervical vertebrae⁸. The use of such devices, usually below the eye level, is the main factor contributing to the increase in the prevalence of neck pain and neck problems^{9,11,12}.

As far as we were able to determine, there exists no studies examining the relationship between neck pain and disability related to smartphone use addiction in our country. This study was therefore designed and conducted in order to investigate this potential correlation.

Material and Method

Five hundred one (501) university students, from two institutions in two different regions, were included in this cross-sectional study, on a voluntary basis. Students from these different cities with different socio-cultural characteristics, habits and lifestyles were included in order to reflect the wider community. The research protocol was approved by the local ethics committee (date of acceptance: 27.02.19, decision no: 09). After all participants were informed about the study, written, informed consent was obtained and all stages of the study were sustained in accordance with the Declaration of Helsinki. Three (3) inclusion criteria applied were that the participants be enrolled in university, that they be smartphone users, and that they did not have any history of systemic, neurological or psychiatric diseases.

The age and gender of all participants were recorded. All participants were evaluated with Visual Analogue Scale (VAS) in terms of the severity of neck pain, Neck Disability Index (NDI) in terms of the effect of neck pain on daily living activities and Smartphone Addiction Scale (SAS) in terms of smartphone use dependence. Participants were divided into three groups defined as "non-disability", "mild disability", and "moderate-to-complete disability".

Visual Analogue Scale (VAS)

Pain and numbness for daytime and night were evaluated with the use of a visual analogue scale (VAS). The patient was asked to mark the severity of pain on a 100 mm line using "no pain" on one end and "most unbearable pain" on the other end. The distance from the starting point of the pain to the point marked by the patient was recorded.

Neck Disability Index (NDI)

The Neck Disability Index (NDI), the Turkish validity and reliability of which was performed by Telci et al., was used to evaluate neck pain and functional disability¹³. This is a self-rating Likert-type questionnaire consisting of 10 items (neck pain, self-care, load lifting, reading, headache, concentration, work, driving, sleeping, and free-time activities), each scored between 0 and 5. The total score ranges from 0 to 50, and higher scores demonstrating the worse disability¹⁴. According to the test results, there would be no disability between 0–4, a mild disability between 5–14, a moderate

Table 1. Demographic characteristics of participants

	Min-Max	Median	Avg \pm s.d	n - %
Age	18.0-40.0	21.0	21.0 \pm 1.9	
Gender (n-%)				289 - 57.7%
Female				
Male				212 - 42.3%
VAS	0.0-10.0	4.0	3.8 \pm 2.2	
SAS	35.0-180.0	93.0	94.6 \pm 27.1	
NDI	0.0-35.0	9.0	10.6 \pm 7.0	
No disability (n - %)				99 - 19.8%
Mild disability (n - %)				279 - 55.7%
Moderate disability (n - %)				97 - 19.4%
Severe disability (n - %)				25 - 5.0%
Complete disability (n - %)				1 - 0.2%

Min, minimum; Max, maximum; avg, average; sd, standart deviation; VAS, visual analogue scale; SAS, smartphone addiction scale; NDI, neck disability index

disability between 15–24, a severe disability between 25–34, and a complete disability at 35 and over. As indicated earlier, participants were divided into three groups defined as “non-disability”, “mild disability”, and “moderate-to-complete disability”.

Smartphone Addiction Scale (SAS)

The Smartphone Addiction Scale (SAS) is a self-rating scale consisting of 33 items and developed by Kwon et al.⁸. Each item is evaluated with a Likert-type scale ranging from 1 (definitely not) to -6 (absolutely yes). The distribution of points to be obtained from this scale is between 33 and 198 points, whereas the scale consists of 6 subscales: daily life disorders (5 items), positive anticipation (8 items), withdrawal (6 items), cyberspace-oriented relationship (7 items), overuse (4 items), and tolerance (3 items). Higher scores indicate a more serious smartphone addiction and a cut-off value is not given in its original form. The developers of the scale found that the internal consistency of the scale was Cronbach $\alpha=0.967^8$; the Turkish validity and reliability was performed by Demirci et al¹⁵.

Statistical Analysis

Mean, standard deviation, median, lowest, highest, frequency and ratio values were used in the descriptive statistics of the data. The distribution of variables was measured using the Kolmogorov Simirnov test and the Kruskal-Wallis, Mann-Whitney 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. The Spearman correlation analysis was

used to determine the relationship between SAS, NDI and VAS. SPSS 22.0 software for Windows program (SPSS, Chicago, IL, US) was used for the analysis. The statistical significance level was accepted as $p<0.05$.

Results

The results regarding the demographic characteristics of the students participating in the research are given in Table 1. As indicated previously, the mean age of the 501 university students included was 21 ± 1.9 years (min 18, max 40) and 57.7% of the participants were female, whereas 42.3% were male (Table 1).

The mean VAS of the neck pain of the participants was 3.8 ± 2.2 , the mean SAS score was 94.6 ± 27.2 , and the mean NDI score was 10.6 ± 7.0 . There was no significant difference between the genders in terms of NDI and SAS scores ($p>0.05$) (Table 1); neck disability levels of the participants, according to the NDI, are summarized in Table 2.

Table 2. Comparison of SAS and NDI scores in terms of gender

	Gender		P
	Female	Male	
SAS (Mean \pm sd)	92.9 \pm 26.8	96.9 \pm 27.4	0.099 ^t
NDI (Median (Min-Max))	9 (0-35)	9 (0-30)	0.235 ^m

SAS, smartphone addiction scale; NDI, neck disability index; sd, standart deviation; t, student t test; m, Mann-Whitney U test.

Table 3. Comparison of groups according to neck disability

		Neck Disability									p
		No disability (n=99)			Mild disability (n=279)			Moderate-severe-complete (n=123)			
		Avg. ± s.d	n - %	Median	Avg. ± s.d	n - %	Median	Avg. ± s.d	n - %	Median	
Age		21.0 ± 2.0		21.0	21.1 ± 2.0		21.0	20.9 ± 1.7		21.0	0.391 ^k
Gender	Female		50 - 50.5%			170 - 60.9%			69 - 56.1%		0.181 ^x
	Male		49 - 49.5%			109 - 39.1%			54 - 43.9%		
VAS		2.7 ± 1.8		3.0	3.7 ± 1.9		4.0	4.9 ± 2.4		5.0	0.001 ^k
SAS		81.4 ± 24.8		83.0	96.3 ± 25.7		94.0	101.3 ± 28.6		99.0	0.001 ^k

Avg, average; sd, standard deviation; VAS, Visual Analogue Scale; SAS, Smartphone Addiction Scale; ^k, Kruskal Wallis test (Mann Whitney U), ^x, chi-square test (Pearson).

Participants were divided into the three predefined groups (“non-disability”, “mild disability”, and “moderate-to-complete disability”) according to their NDI scores. We found no significant difference between the groups in terms of age and gender ($p > 0.05$) (Table 3), however when these three groups were compared in terms of the VAS scores, a statistically significant difference was found between them: in the “moderate-to-complete disability” group, the VAS score was significantly higher than in the “mild disability” and “non-disability” groups ($p = 0.001$) (Table 3).

According to the spearman correlation analysis, there was a significant positive correlation between SAS with VAS and NDI scores ($p = 0.005, 0.001$, respectively). No significant correlation was found between age and VAS, age and NDI, age and SAS scores ($p > 0.05$) (Table 4).

Discussion

In this study, the effect of smartphone use on neck pain and disability was evaluated in university students. Addiction to smartphone use was found to be associated with neck pain and disability in healthy young adults. There was a significant correlation between the SAS and NDI scores which evaluated neck disability and these results are consistent with previous studies showing the frequency of musculoskeletal symptoms associated with computer use and that smartphone use causes physical health-related problems^{8,16-19}.

Smartphones have become an inseparable part of daily life with the increase in the conveniences it provides to individuals. However, in addition to these, smartphone addiction, which may develop due to excessive use, is an issue that needs to be addressed

in a significant way, such as has been done for alcohol, cigarette and drug addictions^{20,21}. In studies published in recent years, it was reported that musculoskeletal symptoms increased with the addiction of smartphones^{10,22}. The most frequent musculoskeletal pain region being accounted in these studies was neck^{10,22,23}. Although previous studies have found a correlation between computer use and neck pain²⁴, recent studies have found that the frequency and severity of neck problems is higher in smartphone use, compared to computer use²⁵.

Recurrent and prolonged neck flexion is one of the factors that increase the risk of neck pain and disability^{26,27}. A frequent, recurrent neck flexion posture affects natural angle of the cervical spine, increases the stress to which the cervical spine is exposed²⁸, leads to proprioception losses in the cervical vertebra²⁹ and leads to spasm in muscles and ligaments³⁰. In some studies, it was reported that in addition to neck flexion angle, the head tilt angle and forward head shifting increased with the use of smartphones^{31,32}. These

Table 4. Correlation of age, VAS, NDI and SAS scores

		VAS	SAS	Age
NDI	r	0.326	0.237	-0.018
	p	0.000	0.001	0.685
VAS	r		0.124	-0.057
	p		0.005	0.200
SAS	r			0.042
	p			0.353

Spearman test; VAS, visual analogue scale; SAS, smartphone addiction scale; NDI, neck disability index.

conditions are associated with an increased risk of chronic neck pain³³ and may explain the relationship found between the NDI and SAS^{9,10,18}. A study conducted in 2017 showed that smartphone addiction was associated with neck problems and disability in healthy young people¹⁸. In support of these results, this study being the first carried out in our country in this regard, we obtained a positive correlation between the VAS, NDI and SAS scores and at the same time, the SAS scores of the patients with moderate-severe-complete neck disability were found to be significantly higher.

In a study conducted on 289 nursing students in a public university, it was reported that gender factors did not affect the level of smartphone addiction³⁴. A result which was sustained by another study, this time conducted with the participation of 367 university students, showing that there was no difference in terms of smartphone addiction levels between female and male students³⁵. We have found similar result in our study.

The importance of this study stems from the fact that it is the first to investigate the relationship between smartphone addiction and neck disability in Turkey and that the participants were free from any systemic, neurological or psychiatric illnesses. We also believe that the inclusion of students from two institutions found in different geographical regions, Kars and Istanbul, is significant.

While further large-scale studies are needed to more deeply examine the scientific facts on this subject, as a result of our study, a significant relationship was found between smartphone addiction and neck pain level and neck disability. Posture disorders associated with smartphone use can indeed reveal neck disabilities; minimally, these results highlight the importance of informing users about the physical risks associated with smartphone addiction, who should be encouraged to make efforts to reduce the time spent with the smartphone and maintain proper posture while using it.

Limitations

The cross-sectional design of our study constitutes a limitation, as were unable to create a causal link the relationship between smartphone addiction and neck pain and disability. Another limitation may be found in the fact that we did not examine the possibility that other reasons may have affected neck disabilities in our participants, such as computer screen usage, television viewing positions, backpack usage and desk work.

Therefore, well-controlled prospective studies are required to confirm the results of this study.

References

1. Hosgor H, Tandogan O. Effect of Nomophobia on duration of daily smartphone usage and school success: The example of health personnel candidates. *The Journal of Academic Social Science* 2017;46(5):573–95.
2. Haug S, Castro RP, Kwon M, Filler A, Kowatsch T, Schaub MP. Smartphone use and smartphone addiction among young people in Switzerland. *J Behav Addict* 2015;4(4):299–307.
3. Grant JE, Lust K, Chamberlain SR. Problematic smartphone use associated with greater alcohol consumption, mental health issues, poorer academic performance, and impulsivity. *J Behav Addict* 2019;8(2):335–342.
4. Madge C, Meek J, Wellens J, Hooley T. Facebook, social integration and informal learning at university: 'It is more for socialising and talking to friends about work than for actually doing work. *Learn Media Technol* 2009;34(2):141–55.
5. Demirci K, Demirci S, Akgönül M. Headache in Smartphone Users: A Cross-Sectional Study. *J Neurol Psychol* 2016;4(1):5.
6. Tossell C, Kortum P, Shepard C, Rahmati A, Zhong L. Exploring Smartphone Addiction: Insights from Long Term Telemetric Behavioral Measures. *Int J Interact Mob Technol* 2015;9(2):37–43.
7. Ahmed S, Pokhrel N, Roy S, Samuel AJ. Impact of nomophobia: A nondrug addiction among students of physiotherapy course using an online cross-sectional survey. *Indian J Psychiatry* 2019;61(1):77–80.
8. Kwon M, Lee JY, Won WY, Park JW, Min JA, Hahn J et al. Development and Validation of a Smartphone Addiction Scale (SAS). *Plos one* 2013;8(2): e 56936.
9. Berolo S, Wells RP, Amick BC 3rd. Musculoskeletal symptoms among mobile hand-held device users and their relationship to device use: A preliminary study in a Canadian university population. *Appl Ergon* 2011;42(2):371–8.
10. Eitvpart AC, Viriyarajanakul S, Redhead L. Musculoskeletal disorder and pain associated with smartphone use: A systematic review of biomechanical evidence. *Hong Kong Physiother J* 2018;38(2):77–90.
11. Maniwa H, Kotani K, Suzuki S, Asao T. Changes in posture of the upper extremity through the use of various sizes of tablets and characters. In: *Int Conf Human Interface and the Management of Information*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013;89–96.
12. Gold JE, Driban JB, Yingling VR, Komaroff E. Characterization of posture and comfort in laptop users in non-desk settings. *Appl Ergon* 2012;43(2):392–9.
13. Telci EA, Karaduman A, Yakut Y, Aras B, Simsek IE, Yagli N. The cultural adaptation, reliability, and validity of neck disability index in patients with neck pain: a Turkish version study. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009;34(16):1732–5.

14. Vernon H, Mior S. The Neck Disability Index: a study of reliability and validity. *J Manipulative Physiol Ther* 1991;14(7):409–15.
15. Demirci K, Orhan H, Demirdas A, Akpınar A, Sert H. Validity and reliability of the Turkish Version of the Smartphone Addiction Scale in a younger population. *Bulletin of Clinical Psychopharmacology* 2014;24:226–234.
16. Jenkins M, Menéndez CC, Amick BC 3rd, Tullar J, Hupert N, Robertson MM, et al. Undergraduate college students' upper extremity symptoms and functional limitations related to computer use: a replication study. *Work* 2007;28(3):231–8.
17. Long J, Liu TQ, Liao YH, Qi C, He HY, Chen SB, Billieux J. Prevalence and correlates of problematic smartphone use in a large random sample of Chinese undergraduates. *BMC Psychiatry* 2016;16(1):408.
18. AlAbdulwahab SS, Kachanathu SJ, AlMotairi MS. Smartphone use addiction can cause neck disability. *Musculoskeletal Care* 2017;15(1):10–2.
19. Shah PP, Sheth MS. Correlation of smartphone use addiction with text neck syndrome and SMS thumb in physiotherapy students. *Int J Community Med Public Health* 2018;5:2512–6.
20. Ahmed S, Pokhrel N, Roy S, Samuel AJ. Impact of nomophobia: A nondrug addiction among students of physiotherapy course using an online cross-sectional survey. *Indian J Psychiatry* 2019;61(1):77–80.
21. Panova T, Carbonell X. Is smartphone addiction really an addiction? *J Behav Addict* 2018;7(2):252–9.
22. Elserty NS, Helmy NA, Mounir KM. Smartphone addiction and its relation to musculoskeletal pain in Egyptian physical therapy students. *Eur J Physiother* 2018. [Last accessed on 2019 Sep 17].
23. Alsalameh AM, Harisi MJ, Alduayji MA, Almutham AA, Mahmood FM. Evaluating the relationship between smartphone addiction/overuse and musculoskeletal pain among medical students at Qassim University. *J Family Med Prim Care* 2019;8(9):2953–9.
24. Sabeen F, Bashir MS, Hussain SI, Ehsan S. Prevalence of Neck Pain in Computer Users. *Annals* 2013;19(2):137–143.
25. Young JG, Trudeau M, Odell D, Marinelli K, Dennerlein JT. Touch-screen tablet user configurations and case-supported tilt affect head and neck flexion angles. *Work* 2012;41(1):81–91.
26. Lee S, Kang H, Shin G. Head flexion angle while using a smartphone. *Ergonomics* 2015;58(2):220–6.
27. Kuo YR, Fang JJ, Wu CT, Lin RM, Su PF, Lin CL. Analysis of a customized cervical collar to improve neck posture during smartphone usage: a comparative study in healthy subjects. *Eur Spine J* 2019;28(6):1793–1803.
28. Hansraj KK. Assessment of stresses in the cervical spine caused by posture and position of the head. *Surg Technol Int* 2014;25:277–9.
29. Kim YG, Kang MH, Kim JW, Jang JH, Oh JS. Influence of the duration of smartphone usage on flexion angles of the cervical and lumbar spine and on reposition error in the cervical spine. *Physical Therapy Korea* 2013;20(1), 10–7.
30. Fredriksson K, Alfredsson L, Ahlberg G, Josephson M, Kilbom Å, Hjelm EW et al. Work environment and neck and shoulder pain: The influence of exposure time. Results from a population based case-control study. *Occupational and Environmental Medicine* 2002;59(3), 182–88.
31. Guan X, Fan G, Wu X, Zeng Y, Su H, Gu G, et al. Photographic measurement of head and cervical posture when viewing mobile phone: a pilot study. *Eur Spine J* 2015;24(12):2892–8.
32. Kim MS. Influence of neck pain on cervical movement in the sagittal plane during smartphone use. *J Phys Ther Sci* 2015;27(1):15.
33. Zhuang L, Wang L, Xu D, Wang Z, Liang R. Association between excessive smartphone use and cervical disc degeneration in young patients suffering from chronic neck pain. *J Orthop Sci*. [published online ahead of print, 2020 Mar 20] 020;S0949–2658(20)30060–9.
34. Yılmaz D, Çınar HG, Özyazıcıoğlu N. The Examination of Relationship between Smart Phone, Internet Addiction and Upper Extremity Functional Activity Levels among Nursing Students. *SDÜ Journal of Health Science* 2017;8(3), 34–9.
35. Noyan CO, Darçın AE, Nurmedov S, Yılmaz O, Dilbaz N. Validity and reliability of the Turkish version of the Smartphone Addiction Scale-Short Version among university students. *Anatolian Journal of Psychiatry* 2015;16(Special issue 1):73–81.



The Predictive Value of C-reactive Protein to Albumin Ratio to Detect Contrast-induced Acute Kidney Injury in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Percutaneous Coronary Intervention

Akut Miyokart Enfarktüsü Nedeniyle Perkütan Koroner Girişim Uygulanan Hastalarda Kontrast Kaynaklı Akut Böbrek Hasarı Tespitinde C-reaktif Protein - Albümin Oranının Öngördürücü Değeri

Ahmet Karakurt

Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey

ABSTRACT

Aim: The present study aims to investigate the predictive value of the peak C-reactive protein to reduced albumin ratio (CAR) in the development of contrast-induced acute kidney injury (CI-AKI) in patients with acute myocardial infarction (AMI) undergoing primary percutaneous coronary intervention (pPCI).

Material and Method: Two hundred and ten patients with non-ST and ST-elevation AMI undergoing pPCI were recorded. Renal function parameters and highest CAO values of the patients after pPCI were recorded from the patient files. The patient population was divided into the low-, mid-, and high-CAR tertiles (all n=70) after their CAR values were ranked from least to greatest.

Results: Eighty-nine (42.38%) patients developed CI-AKI. The absolute increase in serum creatinine (sCr) was significantly higher in patients in the high-CAR tertile (0.31, interquartile range (IQR): 1.925–0.555) than in the low-CAR (0.2, IQR: 0.118–0.27) and mid-CAR tertiles (0.2, IQR: 0.13–0.33; $p < 0.001$). The area under the curve of CAR was 0.689 (95% CI: 0.614–0.763; $p < 0.001$) in the receiver operating characteristic analysis. After adjusting for other risk factors of CI-AKI, CAR remained predictors of the development of CI-AKI (OR: 1.345, 95% CI: 1.009–1.794, $p = 0.043$).

Conclusion: The elevated CAR value is independent predictors in the development of CI-AKI in patients with AMI undergoing pPCI. In this patient group, the elevated CAR value after pPKG may alert us to more improve CI-AKI.

Key words: acute myocardial infarction; C-reactive protein to albumin ratio; contrast-induced acute kidney injury

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada akut miyokart enfarktüsü (AME) nedeniyle primer perkütan koroner girişim (pPKG) yapılan hastalarda kontrast kaynaklı akut böbrek hasarı (KK-ABH) gelişiminde C-reaktif protein - albümin oranının (CAO) öngördürücü değerini belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya pPKG uygulanan ST-elevasyonsuz ve ST-elevasyonu 210 AME'li hasta dâhil edildi. Hastaların pPKG sonrası böbrek fonksiyon parametreleri ve en yüksek CAO değerleri hasta dosyalarından kaydedildi. Çalışma popülasyonunun CAO değerleri en küçüğe doğru sıralandıktan sonra düşük-, orta- ve yüksek-CAO olmak üzere üç gruba ayrıldı (her n=70).

Bulgular: Seksen dokuz hastada (%42,38) KK-ABH gelişti. Serum kreatininindeki (sCr) mutlak artışı, yüksek-CAO grubunda [0,31, interkuartil aralık (IQR): 1,925–0,555], düşük- (0,2, IQR: 0,118–0,27) ve orta-CAO'dan önemli ölçüde daha yüksek bulundu (0,2, IQR: 0,13–0,33; $p < 0,001$). Receiver operating characteristic analizinde CAO'ya ait eğri altındaki alan 0,689 (95 %CI: 0,614–0,763; $p < 0,001$) bulundu. KK-ABH gelişimine neden olacak diğer risk faktörleri ayarlandıktan sonra yapılan çok değişkenli regresyon analizi, CAO'nun KK-ABH gelişimini öngördürecek olduğunu gösterdi (OR: 1,345, %95 CI: 1,009–1,794, $p = 0,043$).

Sonuç: Yüksek CAO değerleri, pPCI uygulanan AME hastalarında KK-ABH gelişiminde bağımsız öngördürücüdür. Bu hasta grubunda, pPKG sonrası yüksek CAO değeri KK-ABH'nin gelişebileceği yönünde bizi uyarmalıdır.

Anahtar kelimeler: akut miyokart enfarktüsü; C-reaktif proteinin albümin oranı; kontrast-kaynaklı akut böbrek hasarı

İletişim/Contact: Ahmet Karakurt, Department of Cardiology, Faculty of Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey • **Tel:** 0505 255 61 52 • **E-mail:** karakurt38@hotmail.com • **Geliş/Received:** 03.02.2020 • **Kabul/Accepted:** 16.04.2020

ORCID: Ahmet Karakurt, 0000-0001-8877-100X

Introduction

Contrast induced acute kidney injury (CI-AKI) is the third leading cause of iatrogenic renal insufficiency, which usually occurs within hours following percutaneous coronary procedures^{1,2}. Its incidence is around 2% in the general population, but increases to 50% in high-risk groups especially after percutaneous coronary intervention (PCI)³.

Even though, the mechanism has not been clearly understood, the inflammation plays an important role in the pathophysiologic reason of CI-AKI⁴. C-reactive protein (CRP) is well-known marker of systemic inflammation, and it's shown that the elevated CRP level is associated with cardiovascular adverse events and CI-AKI in patient with acute myocardial infarction (AMI)⁵. Serum albumin (sALB), which is the most abundant protein in human plasma, is an acute phase reactant. It was shown that sALB concentration was reduced during the systemic inflammation and is associated with poor clinical outcomes^{6,7}.

In the recent years, the C-reactive protein to albumin ratio (CAR) as a new marker of systemic inflammation has been investigated in various diseases, especially sepsis and malignancies^{8,9}. AMI is an inflammatory process and based on the theory that increased inflammation may increase the risk of CI-AKI development, we aimed to evaluate the predictive value of CAR and sALB to predicting the development of CI-AKI in patients with non-ST and ST-elevation AMI.

Material and Method

Study Population

We retrospectively screened the patients who underwent primary PCI for AMI between January 2017 and March 2019. The sample sizes for the groups were calculated using the OpenEpi sample size calculation program (<https://www.openepi.com/SampleSize/SSCC.htm>). Accordingly, we enrolled 89 and 121 in the CI-AKI group and no-CI-AKI group, respectively (total n: 210). Demographic, clinic, laboratory, echocardiographic and angiographic data obtained from the patient files end hospital digital record. An AMI was diagnosed according to the criteria recommended by the 2017 European Society of Cardiology Guidelines¹⁰. The study was started after obtaining the written approval from the local ethics board (registration number: 80576354-050-99/176); the research protocols were as per the Declaration of Helsinki.

Inclusion criteria; (1) initial eGFR >60 ml/min; (2) no history of acute or chronic kidney disease; (3) the initial sCr value is within the normal range (0.7–1.2 mg/dl). Patients who were diagnosed with stable or unstable angina pectoris, hypotension (arterial blood pressure below 90/60 mmHg during hospital stay), decompensated congestive heart failure or pulmonary edema, use of intra-arterial balloon pump (IABP) therapy, cardiogenic shock, coronary artery bypass grafting operation and/or PCI and prior contrast media exposure within 1 month were excluded. Also, patients with anemia, a history of myocarditis, pericarditis, severe valve disease, active infection, chronic pulmonary or liver disease, malignancy and connective tissue disorder and use of nephrotoxic drugs previous in 1 week were excluded from the study.

Laboratory Measurements

Detailed laboratory parameters of patients were obtained at admission and serum creatinine (sCr), CRP and sALB levels were measured at 24, 48, 72 and 96 hours after PCI during the hospital stay. sCr, CRP and sALB levels was measured using Electrochemiluminescent (ECL) processes using Cobas 6000 system (Roche, Minato-ku, Tokyo). The CAR was calculated as the ratio of peak CRP to the lower sALB.

Acute Kidney Injury Network (AKIN) and Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease (RIFLE) are used frequently in terms of AKI classification^{11,12}. However, the definition of the European Society of Urogenital Radiology (ESUR) is widely accepted for the contrast-induced acute kidney injury (CI-AKI)^{3,13}. According to this definition, an absolute increase of ≥ 0.5 mg/dl or 44 $\mu\text{mol/L}$ or $\geq 25\%$ in the basal sCr value within 24–72 hours after contrast exposure makes the diagnosis of CI-AKI. In the present study, we preferred to use the definition of the ESUR for CI-AKI diagnosis and the groups were constituted according to the aforementioned definition. The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated automatically by Cobas 6000 system using the chronic kidney disease epidemiology collaboration equation [$\text{eGFR} = 141 * \min(\text{sCr}/\kappa, 1)^\alpha * \max(\text{sCr}/\kappa, 1) - 1.209 * 0.993 \text{Age} * 1.018$ (if female) * 1.159 (if black); κ is 0.7 for females and 0.9 for males, α is -0.329 for females and -0.411 for males, min indicates the minimum of sCr/κ or 1, and max indicates the maximum of sCr/κ or 1]¹⁴. On the day of peak sCr,

the total fluid intake and volume of urine output were recorded from the daily patient observation forms.

Left ventricular ejection fraction (LVEF) was measured on admission with two-dimensional echocardiography using the modified Simpson's method, using a Vivid 7 cardiovascular ultrasound system (General Electric, Mil-Waukee, Wisconsin) equipped with a 3.6 MHz transducer.

Coronary Angiography

Coronary angiography and pPCI was performed by a coronary interventional cardiologist team, according to standard Judkins technique, using the femoral approach and 6-F diagnostic and 6 or 7-F guiding catheters, respectively. Infarct related artery (IRA) was defined as the presence of $\geq 50\%$ luminal diameter narrowing in culprit major coronary artery which is compatible with presented ST segment change on electrocardiography. Before the pPCI, all patients received 300 mg acetylsalicylic acid, 600 mg clopidogrel and a bolus of 80–100 U/kg unfractionated heparin, if deemed necessary, followed by an additional bolus heparin and nitroglycerin during the procedure. The stent length was given as the sum of the all implanted stents to the IRA and the other coronary arteries with the critical stenosis in the same patient. The syntax score which is an angiographic grading tool to determine the complexity of the coronary artery disease was calculated using the syntax score calculator. (<http://www.syntaxscore.com/calculator/start.htm>). In all patients, iso-osmolar CM was used, however, its volume was left to the discretion of the coronary interventional cardiologist.

Statistical Analysis

Continuous variables were tested for normal distribution through the Kolmogorov-Smirnov test and homogeneity of variance with the Levene's test. Categorical variables were given as percentages, parametric variables were presented as means \pm SD and non-parametric variables were presented as median (25th-75th). Categorical variables analyses were compared by the Pearson Chi-Square test or the Fisher Exact test, parametric continuous variables analyses were compared by Independent Sample T test and nonparametric continuous variables and categorical variables were compared by the Mann-Whitney U test. The strength of association between CAR, creatinine, albumin and other values were performed using Spearman correlation (for

non-parametric variables) or Pearson correlation (for parametric variables). The univariate and multivariable logistic regression analysis was used to evaluate the independent contribution of CAR and other risk factors including age, diabetes, smoking, neutrophil count, volume of radiocontrast media, eGFR and LVEF to the development of CI-AKI. All confidence intervals were 95%. P values < 0.05 were considered statistically significant. All statistical analyses were performed by using the SPSS statistical software, version 23.0 (Statistical Package for the Social Sciences, – IBM, Chicago, IL, USA). Non-parametric variables were marked with '*' in all tables.

Results

Among the 210 patients enrolled in the study (mean age 65.8 ± 12.8 , 29% were male), the incidence of CI-AKI was 42% (n: 89). The patients with CI-AKI were had a higher frequency of diabetes mellitus, hypertension and family history of coronary artery disease than those without ($p < 0.05$, for all). The baseline cholesterol and triglyceride (TG) levels were higher in patients with CI-AKI than those without. After onset of CI-AKI, the peak uric acid, white blood cell count (WBC), neutrophil count (NC), sCr, CRP and the increase in sCr levels were higher in patients with CI-AKI than those without, while the lower eGFR and LVEF_{post-PCI} levels were lower in the CI-AKI group compared with the no-CI-AKI group ($p < 0.05$, for all). On the day when the sCr level peaked, the total fluid intake was higher in patients with CI-AKI than those without (2004.89 ± 793.56 vs $0.1857.35 \pm 558.57$), but the difference was not statistically significant ($p = 0.146$). The total urine output was lower in patients with CI-AKI than those without (888.21 ± 520.38 vs 1066.83 ± 556.09), and the difference between the groups was statistically significant ($p = 0.030$). The CAR value [1.159 (0.502 – 2.970) vs 0.515 (0.288 – 0.949); $p < 0.001$] was higher in patients with CI-AKI than those without. Except for 1 stent implantation in the CI-AKI groups, no significant difference was found for 2 and 3 stent implantations in the CI-AKI groups and CAR tertiles. There was no significant difference in terms of infarct related artery (IRA) and stent diameter but, implanted stent length was longer in patients with CI-AKI than those without [median: 24 (interquartile ratio (IQR): 18–28.5 mm) vs median: 22 (IQR: 18–26 mm), $p = 0.030$]. Although, the in-hospital mortality rate was found to be higher in CI-AKI group (6.7% vs 2.5%), it was not

statistically significant ($p=0.132$). Looking at the time when serum creatinine peaks, it was longer in patients with CI-AKI group than those without (72.91 ± 30.37 vs. 62.44 ± 25.16 , $p<0.010$). Similarly, the mean of the time of CAR was found to be longer in patients with CI-AKI group than those without (56.2 ± 26.73 vs. 53.14 ± 25.04 , $p<0.001$). The mean of the overall time of CAR was found to be shorter than the mean of the overall time of peak sCr in all patients with AMI undergoing pPCI (54.43 ± 25.74 vs. 66.75 ± 27.83 , $p<0.001$). The demographic, clinical, laboratory and angiographic characteristic of the patients were given in Table 1.

The CAR values of the patients were ranged from the smallest (0.014) to the largest (9.987), and divided into three groups with equal number of patients (70 patients in each group). Patients' CAR values <0.415 was included in to the lower CAR tertile, those with >0.415 to ≤ 1.076 was included in to the mid-CAR tertile, and those with >1.076 was included in to the high-CAR tertile. The distribution of patients' characteristics into the three tertiles was given in Table 2. The rate of patients with CI-AKI was significantly higher in high CAR tertile than the mid- and low-CAR tertiles (65.7% vs 31.4% vs 30%, respectively; $p<0.001$). As in CI-AKI group, patients in the high-CAR tertiles had a higher rate of smoking, hypertension and diabetes mellitus compared to the patient in the mid- and low-CAR tertiles ($p=0.028$, $p=0.034$, $p<0.001$, respectively).

Except from the basal lymphocyte count (LC), no significant difference was detected between the basal LC between the CAR tertiles ($p=0.442$ $p=0.394$ $p=0.019$). However, with the increasing sCr values, there was an increase in the peak NC while there was a decrease in the peak LC ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.012$, respectively). Moreover, the development of CI-AKI was significantly increased as the median levels of CRP increased (0.909 vs 2.583 vs 7.552, respectively; $p<0.001$), while the median levels of lower ALB value decreased (3.74 vs 3.58 vs 3.21, respectively; $p<0.001$) (Figure 1).

The in-hospital mortality rate was found to be higher in patients with high-CAR tertile (10%) than those with low-CAR (1.4%) and mid-CAR tertile (1.4%) ($p=0.015$).

The correlation analyzes between peak CAR, CRP, sALB and demographic, clinical, laboratory and

angiographic characteristic of the patients were given in Table 3. A significant correlation was found between the peak CRP and DM, peak sCr, increase of sCr, baseline sALB, lower sALB, decrease of sALB values, lower eGFR, decrease of eGFR, LVEF, CM volume and syntax score. Similarly, a significant correlation was found between the lower sALB values and gender, DM, smoking, TG, peak sCr, increase of sCr, baseline CRP, peak CRP, increase of CRP, lower eGFR, CM volume and syntax score. A significant correlation was also found between the CAR and DM, increase of sCr, lower eGFR, decreases of eGFR and LVEF values; but there was no significant correlation between CAR and gender, smoking, TG, baseline sCr, all eGFR values and AMI type. The correlation graphics between the CAR, increase of sCr and decrease of sALB values were shown on Figure 2.

To determine the independent predictors of the development of CI-AKI, univariate and multivariate logistic regression analyses with an enter model were performed using the variables included gender, smoker, diabetes mellitus, dyslipidemia, hypertension, peak NC, peak CRP, lower sALB, CAR, LVEF_{post-PCI} and the CM volume. Except from the gender and dyslipidemia, other variables were showed the significant and marginal association with CI-AKI in the univariate logistic regression analyses ($p<0.05$, for all). Age, hypotension, hemoglobin and hematocrit values, which are the known risk factors for the CI-AKI, were not included in the regression analysis models because the study groups were matched age groups and anemia and hypotensive patients were not included in the study. Also, to prevent the multicollinearity statistic problem, CRP and albumin, which constitute the CRP to albumin ratio, were not included in the multivariate regression analysis module. In the multivariate regression analysis, smoking (OR: 2.366, 95% CI: 1.117–5.010; $p=0.024$), DM (OR: 3.949, 95% CI: 1.792–8.701; $p=0.001$), HT (OR: 2.647, 95% CI: 1.257–5.573; $p=0.010$), CAR (OR: 1.345, 95% CI: 1.009–1.794; $p=0.043$), LVEF (OR: 0.924, 95% CI: 0.871–0.980; $p=0.008$), peak NC (OR: 1.162, 95% CI: 1.028–1.313; $p=0.016$) and the CM volume (OR: 1.007, 95% CI: 1.001–1.012; $p=0.012$) were found to be an independent predictors of CI-AKI (Table 4).

Receiver operating characteristics (ROC) curve analysis was performed to determine whether CAR was a strength predictor than CRP and albumin in predicting CI-AKI. The area under the ROC curve (AUC)

Table 1. The demographic, clinical, laboratory (baseline and peak value of sCr, and sCRP and lower value of sALB within 24 to 96 hours following the intravascular administration of CM), echocardiographic and coronary angiographic characteristics of all patients, patients with without the no-CI-AKI and CI-AKI.

Variable	Contrast induced acute kidney injury (CI-AKI)						
	Overall n=210		No-CI-AKI n=121		CI-AKI n=89		p
Age (years)	65.8	±12.8	64.3	±12.03	67.8	±13.5	0.055
Male gender, n (%)	149	(71)	84	(69.4)	65	(73)	0.340
BMI (kg/m ²)	26.32	±4.74	25.89	±4.77	26.92	±4.65	0.117
STEMI, n (%)	165	(78.6)	84	(69.4)	81	(91)	<0.001
Hypertension, n (%)	92	(43.8)	42	(34.7)	50	(56.2)	0.002
Diabetes mellitus, n (%)	74	(35.2)	22	(18.2)	52	(58.4)	<0.001
Dyslipidemia, n (%)	75	(35.7)	49	(40.5)	26	(29.4)	0.092
Smoking, n (%)	87	(41.4)	41	(33.9)	46	(51.7)	0.010
Family history, n (%)	66	(31.7)	35	(28.9)	31	(35.6)	0.305
SBP (mmHg)	129.5	(115.8–149.3)	127	(114–142.5)	137	(118–162.5)	0.018*
DBP (mmHg)	83	±13.2	81.4	±12.3	84.1	±14.1	0.148
Hemoglobin (mg/dl)	14.04	±2.15	13.98	±2.14	14.12	±2.19	0.776
BGL (mg/dl)	131	(108.75–163)	124	(104–154)	143	(117–168)	0.015*
Baseline Cholesterol (mg/dl)	165.3	±36.9	170.8	±35.4	157.98	±37.7	0.019
Baseline LDL (mg/dl)	98.7	±34.17	100.96	±33.8	95.8	±34.7	0.302
Baseline HDL (mg/dl)	38	(31.95–45.3)	38	(31.8–44.3)	39.5	(31.9–5)	0.702*
Baseline TG (mg/dl)	111	(87.8–150.8)	125	(93.8–172)	98.5	(78.8–129)	0.001*
Peak uric acid (mg/dl)	5.35	(4.5–6.3)	5.1	(4.2–6.1)	5.6	(4.8–6.9)	0.036*
Baseline NC (10 ³ /μl)	5.3	(4.18–7.53)	5.1	(4.1–6.4)	5.5	(4.2–9.2)	0.111*
Peak NC (10 ³ /μl)	7.52	(5.7–10.1)	6.7	(5.51–9.3)	9.7	(6.38–11.56)	<0.001*
Baseline LC (10 ³ /μl)	1.6	(1.24–2.22)	1.7	(1.3–2.3)	1.55	(1.1–2.1)	0.041*
Lower LC (10 ³ /μl)	1.6	(1.2–2.2)	1.7	(1.21–2.3)	1.47	(1.095–2)	0.242*
Fluid intake (ml/24 h)	1919.99	±670.43	1857.35	±558.57	2004.89	±793.56	0.146
Urine output (ml/24 h)	990.99	±546.93	1066.83	±556.09	888.21	±520.38	0.030
Baseline eGFR (ml/min)	92.8	(76.5–102.5)	92.8	(79.9–101.4)	92.98	72.2–104.4)	0.974*
Lower eGFR (ml/min)	74.5	(55.13–87.02)	78.3	(65.05–93.16)	62.37	(47.41–80.94)	<0.001*
Decrease in eGFR (ml/min)	13.67	(7.98–24.18)	11.18	(5.13–15.93)	24.73	(12.52–30.46)	<0.001*
Decrease in eGFR (%)	17.6	(9.4–27.5)	13.09	(6.5–19.4)	30.6	(17.8–36.9)	<0.001*
Baseline sCr (mg/dl)	0.80	(0.68–0.948)	0.815	(0.713–0.968)	0.775	(0.653–0.91)	0.063
Peak sCr (mg/dl)	1.035	(0.883–1.208)	1	(0.843–1.13)	1.15	(1–1.430)	<0.001
Increase in sCr (mg/dl)	.21	(0.15–0.34)	0.16	(0.1–0.2)	0.37	(0.3–0.52)	<0.001
Increase in sCr (%)	27.03	(17.38–44)	19.51	(13.53–25)	45.59	(38.4–58.48)	<0.001
Baseline CRP (mg/dl)	0.376	(0.198–0.829)	0.351	(0.200–0.603)	0.399	(0.168–1.171)	0.083*
Peak CRP (mg/dl)	2.538	(1.160–4.998)	1.917	(1.050–3.422)	3.958	(1.697–9.317)	<0.001*
Baseline sALB (g/dl)	4.123	(3.803–4.32)	4.155	(3.85–4.358)	4.070	(3.750–4.300)	0.138*
Lower sALB (g/dl)	3.510	±0.460	3.619	±0.429	3.369	±0.465	<0.001
CAR	0.705	(0.321–1.505)	0.515	(0.288–0.949)	1.159	(0.502–2.970)	<0.001*
Time of peak sCr (hour)	66.75	±27.83 p<0.001	62.44	±25.16	72.91	±30.37	0.010
Time of CAR (hour)	54.43	±25.74	53.14	±25.04	56.2	±26.73	0.416
Peak troponin-I (ng/mL)	52.9	(17.68–180)	38.39	(14.03–106)	79.6	(25–180)	0.058*
LMCA (critic lesion), n (%)	5	(2.4)	3	(2.5)	2	(2.4)	0.913
IRA, n (%)							
LAD	85	(40.5)	52	(43)	33	(37.1)	0.390
RCA	72	(34.3)	36	(29.8)	36	(40.4)	0.107
Cx	37	(17.6)	23	(19)	14	(15.7)	0.586
Other	16	(7.6)	10	(8.3)	6	(7.6)	0.681
Stent, n (%)							
One	182	(86.7) p=0.068	110	(90.9)	72	(80.9)	0.035
Two	23	(11)	10	(8.3)	13	(14.6)	0.146
Three	5	(2.4)	1	(0.8)	4	(4.5)	0.085
Stent diameter (mm)	3.03	±0.48	3.08	±0.499	2.98	±0.444	0.131
Stent length (mm)	22.5	(18–27)	22	(18–26)	24	(18–28.5)	0.030*
Radiopaque agent (ml)	198	(150–250)	200	(150–200)	200	(200–300)	<0.001
Length hospital stay (days)	5	(4–6)	4	(4–5)	6	(4–7)	<0.001
LVEF _{post-PCI} (%)	50	(46–54)	54	(50–55)	47	(40–49)	<0.001
Mortality, n (%)	9	(4.3)	3	(2.5)	6	(6.7)	0.132

sALB: serum albumin, BGL: basal glucose level, BMI: body mass index, CAR: peak C – reactive protein to lower albumin ratio, CI-AKI: contrast-induced acute kidney injury, CM: contrast media, CRP: C-reactive protein, Cx: circumflex, DBP: diastolic blood pressure, eGFR: estimated glomerular filtration rate, HDL: high density lipoprotein, IRA: infarct-related artery, LAD: left anterior descending artery, LC: lymphocyte count, LDL: low density lipoprotein, LMCA: left main coronary artery, LVEF: left ventricle ejection fraction, NC: neutrophil count, RCA: right coronary artery, SBP: systolic blood pressure, post-PCI: post-percutaneous coronary intervention, sCr: serum creatinine, STEMI: ST-elevation myocardial infarction, TG: triglyceride. *Data are expressed as median (25th–75th percentiles).

Table 2. The demographic, clinical, laboratory, echocardiographic and coronary angiographic characteristics of patients with the low-CAR, mid-CAR and high-CAR.

	Peak C-reactive protein to lower albumin ratio (CAR)						
	Low-CAR (\leq . 415) n=70		Mid-CAR (>415 to \leq 1.076) n=70		High-CAR (>1.076) n=70		p
Age (years)	62.5	\pm 10.7	63.3	\pm 12.6	71.5	\pm 12.99	
Male gender, n (%)	51	(72.9)	53	(75.7)	45	(64.3)	0.301
BMI (kg/m ²)	26.94	\pm 4.5	26.5	\pm 4.37	25.5	\pm 5.25	0.205
Smoker, n (%)	25	(35.7)	24	(34.3)	38	(41.4)	0.028
Hypertension, n (%)	24	(34.3)	29	(41.4)	39	(55.7)	0.034
Diabetes mellitus, n (%)	12	(17.1)	24	(34.3)	38	(54.3)	<0.001
Family history, n (%)	18	(26.1)	24	(34.3)	24	(34.8)	0.467
Dyslipidemia, n (%)	29	(41.4)	25	(35.7)	21	(30)	0.370
Hemoglobin (mg/dl)	14.21	\pm 2.12	14.22	\pm 1.78	13.68	\pm 2.53	0.544
BGL (mg/dl)	123	(103–150)	131	(109–163)	139	(117.1–196.5)	0.006*
Cholesterol (mg/dl)	165.6	\pm 35.2	167.1	\pm 36.8	163.3	\pm 39.1	0.849
LDL (mg/dl)	94.9	\pm 31.6	105.4	\pm 34.6	96.1	\pm 35.8	0.180
HDL (mg/dl)	40	(32.3–49)	38	(31–44)	38	(32–45)	0.520*
Triglyceride (mg/dl)	122.5	(88.3–171.3)	123	(92.5–171)	107	(82–138)	0.259*
Baseline LC (10 ³ /μl)	5.4	(4.13–6.68)	4.8	(4.23–7.07)	5.8	(3.97–9.23)	0.394*
Peak NC (10 ³ /μl)	6.6	(5.4–9.3)	7.2	(5.195–9.75)	8.569	(6.3–11.73)	<0.001*
Baseline NC (10 ³ /μl)	1.74	(1.34–2.3)	1.7	(1.2–2.3)	1.51	(1–2.01)	0.019*
Peak LC (10 ³ /μl)	1.84	(1.38–2.3)	1.62	(1.2–2.55)	1.41	(1.01–1.975)	0.012*
Baseline sCr (mg/dl)	.815	(0.698–0.965)	.805	(0.7–0.97)	0.790	(0.67–0.91)	0.675*
Peak sCr (mg/dl)	1.03	(0.868–1.193)	1.02	(0.878–1.153)	1.115	(0.913–1.423)	0.098
Increase of sCr (mg/dl)	0.2	(0.118–0.27)	0.2	(0.13–0.33)	0.31	(1.925–0.555)	<0.001*
Increase of sCr (%)	18.8	(12.8–26.1)	20.1	(14.8–26.6)	30.2	(20–37.3)	<0.001*
Baseline CRP (mg/dl)	0.221	(0.11–0.356)	0.49	(0.279–0.839)	0.674	(0.277–2.283)	<0.001*
Peak CRP (mg/dl)	0.909	(0.614–1.195)	2.583	(1.931–3.189)	7.552	(5.015–11.933)	<0.001*
Increase in sCr (mg/dl)	0.6	(0.287–0.998)	1.938	(1.396–2.513)	6.878	(4.231–10.769)	<0.001*
Increase in sCr (%)	73.2	(53.09–84.1)	78.7	(65.8–85.8)	90.8	(73.2–96.5)	<0.001*
Baseline sALB (g/dl)	4.23	(4.085–4.393)	4.15	(3.815–4.365)	3.95	(3.703–4.165)	<0.001*
Lower sALB (g/dl)	3.74	\pm 0.37	3.58	\pm 0.38	3.21	\pm 0.46	<0.001
Decrease of sALB (g/dl)	0.39	(0.208–0.678)	0.49	(0.298–0.7)	0.595	(0.34–1.013)	0.003*
Decrease of sALB (%)	9.8	(5.1–14.7)	12.2	(7.3–16.4)	16	(9.01–24.1)	<0.001*
Baseline eGFR (ml/min)	93.7	(79.2–104.1)	93.2	(75.5–103.6)	90	(75.4–98.2)	0.250*
Lower eGFR (ml/min)	76.2	(63.7–88.4)	76.8	(57.9–90)	66.6	(45.6–81.9)	0.007*
Decrease of eGFR (ml/min)	12.8	(5.99–21.1)	13.8	(8.3–19.7)	19.6	(8.8–28.3)	0.027*
Decrease of eGFR (%)	14.9	(6.97–25.2)	17.3	(9.1–25)	23	(11.2–33.9)	0.002*
CAR	0.254	(0.162–0.327)	.712	(0.533–0.872)	2.420	(1.517–4.032)	<0.001*
CI-AKI, n (%)	21	(30)	22	(31.4)	46	(65.7)	<0.001
STEMI, n (%)	54	(77.1)	51	(72.9)	60	(85.7)	0.168
Peak troponin-I (ng/ml)	40.28	(3.45–172.75)	55.75	(15.33–180)	58.67	(25–180)	0.347
LMCA (critic stenosis), n (%)	1	(1.4)	2	(2.9)	2	(2.4)	0.815
IRA, n (%)							
LAD	22	(31.4)	32	(45.7)	31	(44.3)	0.166
Cx	15	(21.4)	10	(14.3)	12	(17.1)	0.536
RCA	24	(34.3)	23	(32.9)	25	(35.7)	0.939
Other	9	(12.9)	5	(7.1)	2	(2.9)	0.082
Stent, n (%)							
One	64	(91.4)	61	(87.1)	57	(81.4)	0.218
Two	5	(7.1)	8	(11.4)	10	(14.3)	0.395
Three	1	(1.4)	1	(1.4)	3	(4.3)	0.441
Stent diameter (mm)	3.03	\pm 0.54	2.99	\pm 0.43	3.07	\pm 0.46	0.568
Stent length (mm)	23	18–26	22	18–26	24	19–28.3	0.146*
Radiocontrast agent (ml)	200	73.2	189.7	81.5	212.2	80.3	0.436
Length of hospital stay, (days)	4	(4–5)	5	(4–5)	6	(5–7)	<0.001*
LVEF (%)	53	(49–55)	51.5	(47.75–54)	48	(40–50)	<0.001*
Syntax score	18.95	(13.9–22.3)	19	(13.8–26)	25.8	(16–32.93)	0.002*
Mortality, n (%)	1	(1.4)	1	(1.4)	7	(10)	0.015

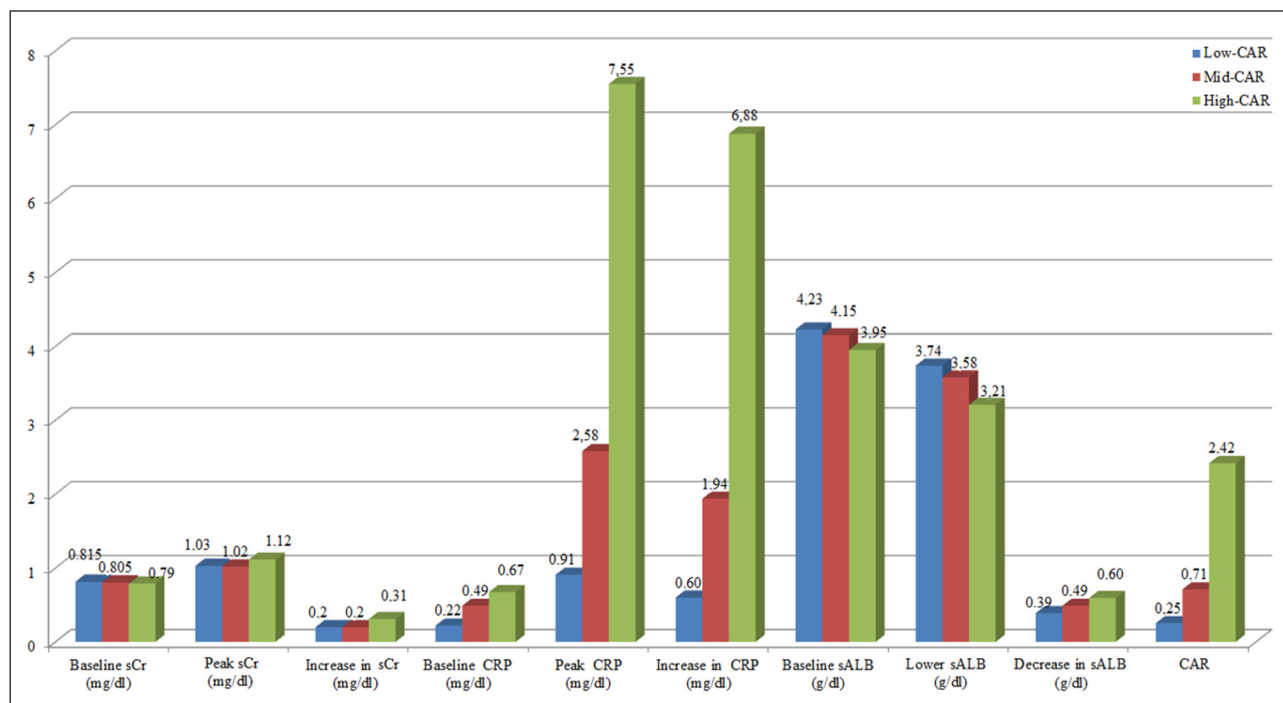


Figure 1. The median concentrations of serum creatinine (sCr), serum albumin (sALB), C-reactive protein (CRP), and C-reactive protein to lower albumin rate (CAR) with the baseline, peak, and amount of increase in all patients before and after primary percutaneous intervention divided into the low-CAR (blue), mid-CAR (red) and high-CAR (green) groups.

Table 3. Correlation analysis between demographic, clinical, biochemical, echocardiographic and coronary angiographic characteristics of all patients and with the correlation coefficient *r* and *p* value.

	Increases in sCr		Peak CRP		Lower sALB		CAR	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Gender	0.044	0.530	-0.076	0.275	0.202	0.003	-0.084	0.225
Diabetes mellitus	0.358	<0.001	0.249	<0.001	-0.331	<0.001	0.265	<0.001
Smoker	0.274	<0.001	0.021	0.769	-0.212	0.002	0.054	0.435
Triglyceride	-0.132	0.071	0.189	0.006	0.306	<0.001	-0.052	0.473
Baseline sCr	-	-	0.018	0.791	-0.038	0.580	0.026	0.704
Peak sCr	-	-	0.171	0.013	-0.219	0.001	0.183	0.008
Increases in sCr	-	-	0.255	<0.001	-0.313	<0.001	0.268	<0.001
Peak NC	215	0.002	0.336	<0.001	-0.227	0.001	360	<0.001
Baseline CRP	0.199	0.004	-	-	-0.271	<0.001	-	-
Peak CRP	0.255	<0.001	-	-	-0.375	<0.001	-	-
Increase in CRP	0.237	0.001	-	-	-0.349	<0.001	-	-
Baseline sALB	-0.243	<0.001	-0.167	0.016	-	-	-	-
Lower sALB	0.313	<0.001	-0.375	<0.001	-	-	-	-
Decrease in sALB	0.104	0.135	0.261	<0.001	-	-	-	-
CAR	0.267	<0.001	-	-	-	-	-	-
Baseline eGFR	-	-	-0.123	0.076	0.184	0.007	-0.128	0.064
Lower eGFR	-	-	-0.227	0.001	0.267	<0.001	-0.231	0.001
Decrease in GFR	-	-	0.169	0.015	-0.134	0.052	0.250	<0.001
AMI type (STEMI)	0.143	0.039	0.059	0.398	-0.140	0.043	0.046	0.511
LVEF _{post-PCI}	-0.387	<0.001	0.403	<0.001	-0.037	0.597	-0.405	<0.001
CM volume	0.398	<0.001	-0.140	0.043	0.243	<0.001	0.060	0.390
Syntax score	0.207	0.003	0.201	0.004	-0.323	<0.001	-0.155	0.025

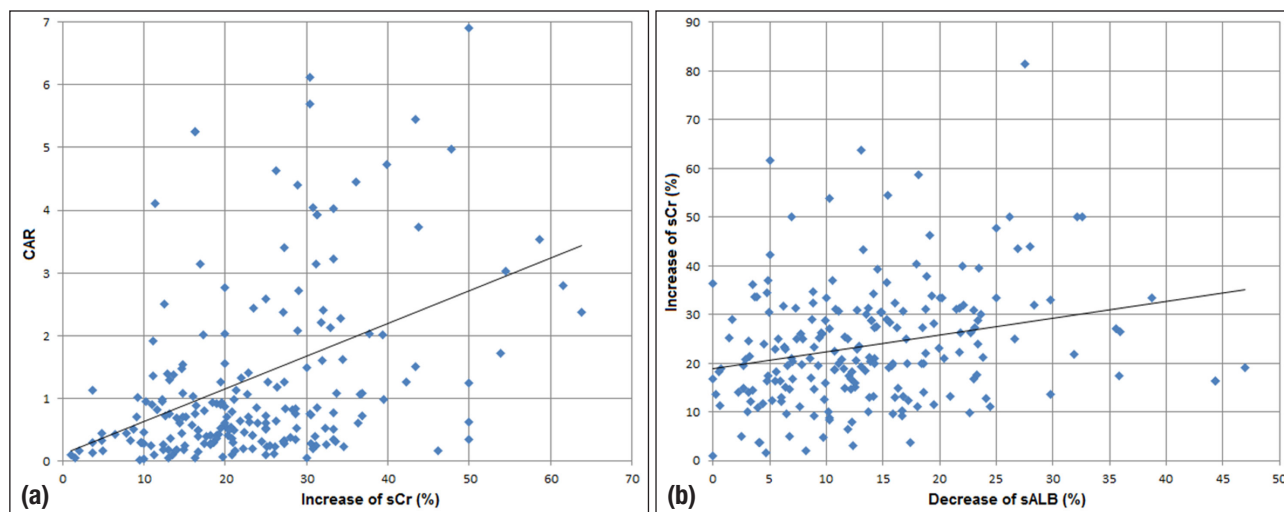


Figure 2. a, b. Correlation analysis between CAR and increase in sCr values [correlation coefficient (r)=0.357; p <0.001 (a)] and between increase in sCr and decrease in sALB values [r =0.248; p <0.001 (b)]

Table 4. The logistic regression analysis models of CAR for prediction of contrast-induced acute kidney injury

	β	S. E.	OR	95% C.I.	p values
Univariate regression analysis					
Gender	0.176	0.310	1.193	0.650–2.189	0.569
Smoker	0.736	0.286	2.087	1.191–3.657	0.010
Diabetes mellitus	1.844	0.319	6.324	3.384–11.820	<0.001
BGL	0.003	0.002	1.003	.999–1.007	0.114
Dyslipidemia	-0.500	0.298	0.606	0.338–1.087	0.093
Hypertension	0.880	0.287	2.411	1.375–4.229	0.002
Peak NC	0.188	0.049	1.207	1.097–1.329	<0.001
Peak CRP	0.176	0.041	1.193	1.101–1.292	<0.001
Lower sALB	-1.279	0.342	0.278	0.142–0.545	<0.001
CAR	0.495	0.120	1.640	1.296–2.076	<0.001
LVEF _{post-PCI}	-0.136	0.026	0.873	0.830–0.918	<0.001
CM volume	0.008	0.002	1.008	1.004–1.012	<0.001
Multivariate regression analysis					
Smoker	0.861	0.383	2.366	1.117–5.010	0.024
Diabetes mellitus	1.374	0.403	3.949	1.792–8.701	0.001
Hypertension	0.973	0.380	2.647	1.257–5.573	0.010
Peak NC	0.150	0.062	1.162	1.028–1.313	0.016
CAR	0.297	0.147	1.345	1.009–1.794	0.043
LVEF _{post-PCI}	-0.079	0.030	0.924	0.871–0.980	0.008
CM volume	0.007	0.003	1.007	1.001–1.012	0.012

CI, confident interval; OR, odds ratio; SE, standard error.

of CAR (AUC 0.689, 95% CI 0.614–0.763; p <0.001) was significantly higher than that of CRP (AUC: 0.679, 95% CI 0.604–0.754; p <. 001) and sALB (AUC: 0.322, 95% CI 0.249–0.395; p <0.001). It was demonstrated that CAR was found to be the strongest, CRP was moderate strength, and sALB was a poor predictor for CI-AKI (Figure 3).

Discussion

Present study demonstrated that, the CAR was associated with the occurrence of CI-AKI in patients with non-ST- and ST-elevation AMI, who had undergone pPCI, and also it was an independent predictor of CI-AKI development. Moreover, the CAR predicted

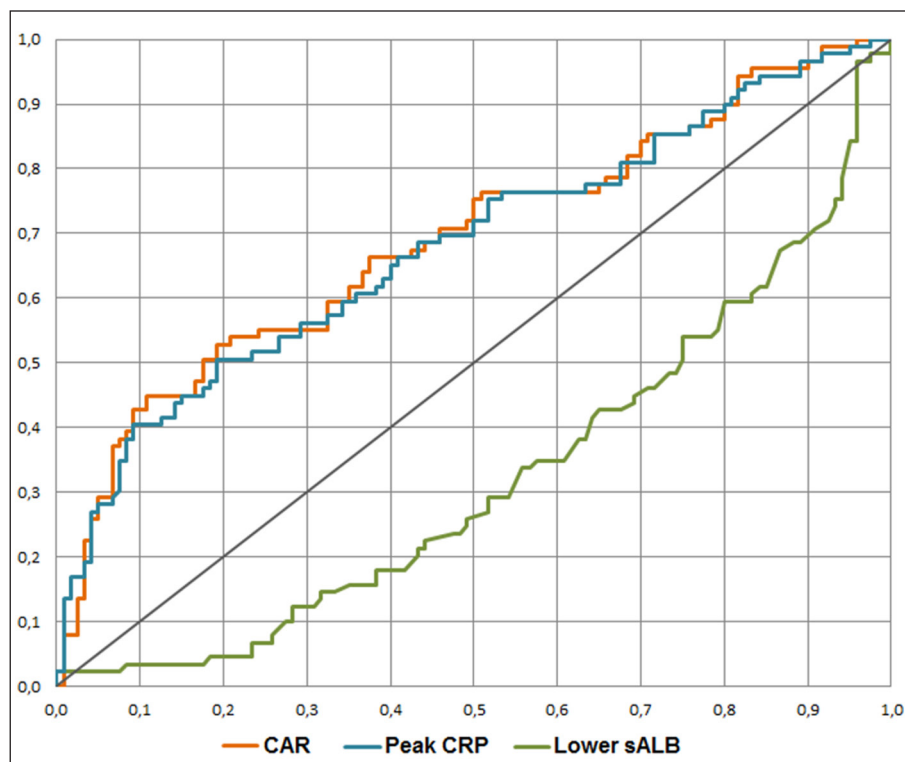


Figure 3. The receiver operator characteristic (ROC) curve analysis. The area under the ROC curve for predicting contrast-induced acute kidney injury of CAR, peak CRP, and lower sALB were 0.689 [95% confidence interval (CI): 0.614–0.763; $p < 0.001$], 0.679 (95% CI: 0.604–0.754; $p < 0.001$) and 0.322 (95% CI: 0.249–0.395; $p < 0.001$), respectively.

CI-AKI more accurately than either CRP or sALB. Furthermore, present study demonstrated that smoking, DM, HT, elevated CAR and elevated NC, using of high CM volume and lower LVEF are risk factors for CI-AKI.

All CM have more or less renal toxic effects. Their toxic effect is closely related to its osmolality, viscosity and iodine concentration. Although the use of hyperosmolar CM has been abandoned at present time, iso-osmolar and hypo-osmolar CM are also more viscous than plasma, which is inversely proportional to osmolality. The toxic effects of the CM have been shown to be directly related to its properties¹⁵. Although, the pathophysiologic mechanism of development CI-AKI is not clearly understood, the suggested pathophysiologic mechanisms of the development of CI-AKI are complex including induced and prolongation of intrarenal arterial vasoconstriction with resultant medullary hypoxia, renal vascular endothelial damage, generation of reactive oxygen species (ROS), and direct renal tubular toxicity^{16–18}. In previous studies conducted in animal models have shown that intra-arterial infusion of increased dose of ionic-contrast media causes a transient increase of renal blood flow, and then subsequently

causes intense and prolonged vasoconstriction related the volume of CM leading to renal ischemic injury/infarct^{19,20}. This effect decreases blood flow of approximately 40% and oxygen supply of 60%, especially in the outer medulla^{21–23}. This effect has also been shown to be due to the local balance between endothelial vasoconstrictors such as endothelin¹⁹ and adenosine²⁰ and vasodilators such as nitrous oxide²⁴ and prostaglandin²⁵ has been shown an impaired in favor of intrarenal arterial vasoconstrictors caused ischemic injury/infarct. In our study, it was shown that the CI-AKI group had higher the median of CM volume and increase of sCr. And also, it was shown that the increases of sCr values showed significant correlation with the CM volumes. These findings support the results observed in animal models, which the increased CM volume causes more renal ischemic injury/infarct^{21,22}. The development chain of CI-AKI was shown on Figure 4.

CRP and CI-AKI

CRP primarily made in the liver in response to pro-inflammatory cytokines, in particular interleukin-6 is the non-specific acute phase reactant, and is a widely used biochemical marker for acute inflammation²⁶.

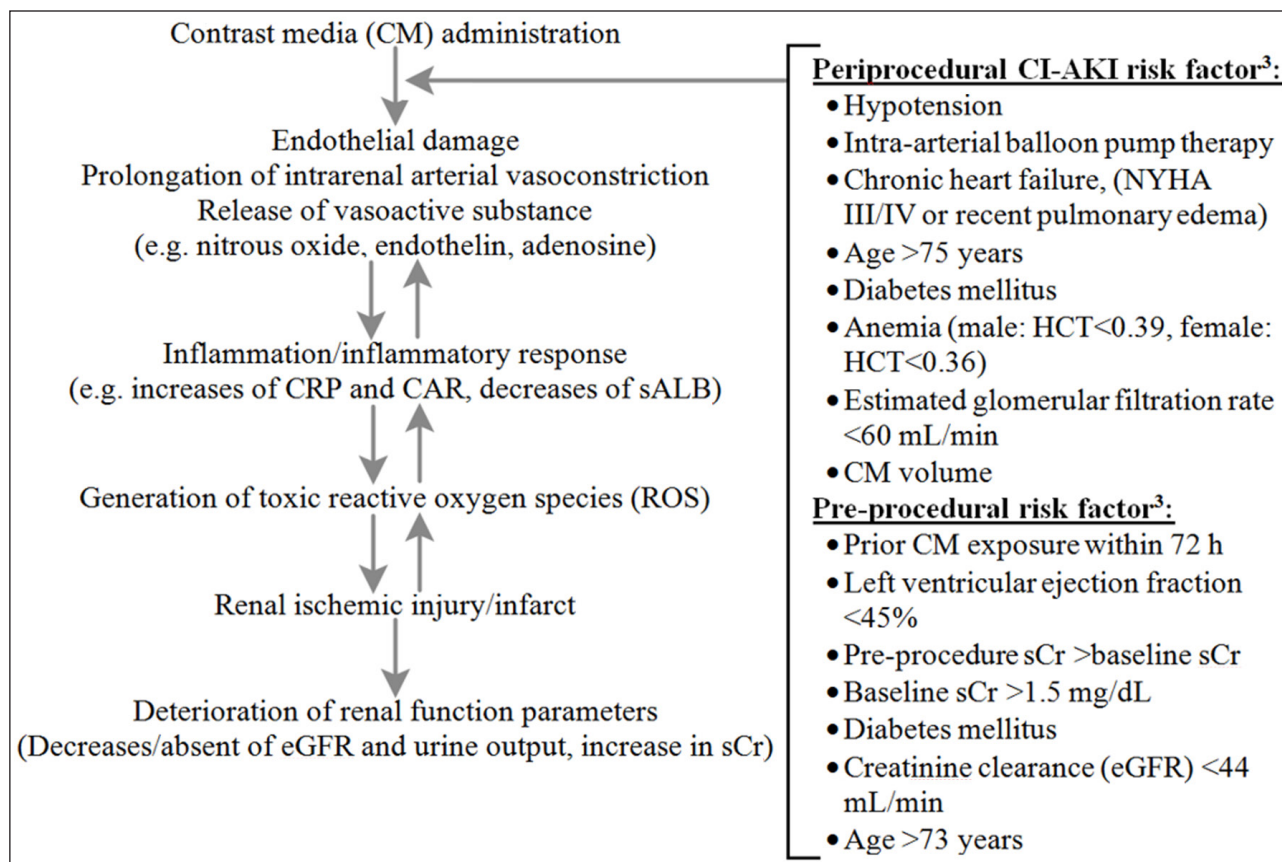


Figure 4. The development chain of the contrast-induced acute kidney injury (CI-AKI).

The increased plasma concentration of CRP is indicative of systemic inflammation, and a few studies have shown that increased CRP concentration is associated with acute contrast-induced renal injury and an independent predictor of CI-AKI development²³⁻²⁹. In present study, the median of CRP level was also significantly higher in the both CI-AKI group than the no-CI-AKI group and high-CAR tertile than the low-CAR and mid-CAR tertiles. In addition, a strong positive correlation was found between CRP and sCr levels. Moreover, ROC analysis showed that CRP is an independent predictor in the development of CI-AKI. The results of our study are accordance with the results of previous studies. Although the relationship of CRP with CI-AKI is clearly not understood, the ability to promote precipitation of polycationic and polyanionic compounds, activation of the classical complement pathway, inhibition of endothelial nitric oxide synthase, impaired vascular reactivity, agglutination properties were thought a played role for development of CI-AKI.

Albumin and CI-AKI

Serum albumin is a well-known negative acute phase reactant, which is a good indicator of inflammatory process. In the setting of systemic inflammation, it has been shown to reduce albumin levels regardless of the patient's nutritional status⁶ and to be an important predictor of poor prognosis in acute coronary syndromes³⁰⁻³².

Murat et al.³³ demonstrated that low sALB pre-PCI increases the risk of developing CI-AKI in patients with acute coronary syndrome. In the present study, the median of sALB level was significantly lower in the both CI-AKI group than the no-CI-AKI group and high-CAR tertile than the mid-CAR and low-CAR tertiles. In addition, a strong negative correlation was found between sALB and sCr level. Moreover, ROC analysis showed that sALB is an independent predictor in the development of CI-AKI. These findings suggest that albumin plays a prominent role in the pathophysiological mechanism of development of CI-AKI. In this

study, the relationship between sALB and the development of CI-AKI was demonstrated for the first time, and was shown to be an independent predictor in patient with AMI undergoing pPCI.

Although the relationship between hypoalbuminemia and CI-AKI has been showed in patient with administered CM, its role in the mechanism of development of CI-AKI is unknown.

Albumin has been shown to act as a reservoir for short-lived free nitric oxide (NO). When PH falls due to tissue hypoxia, albumin-linked NO is released to maintain vascular tone³⁴. Hypoxia by prolonged vasoconstriction induced by CM due to decreased NO concentration in renal tissue due to hypoalbuminemia may be one of the mechanisms leading to CI-AKI development³⁵. Approximately 60% of the whole body albumin mass is in the interstitial space and 40–45% is in the vascular space, and accounts for 75–80% of normal plasma oncotic pressure^{36,37}. Hypoalbuminemia reduces blood oncotic pressure and induces escape of fluid from intracellular space towards the interstitial space. The expanded interstitial space causes a relative decrease in hypovolemia in the intravascular space. Thus, the toxic effect of CM may be increased because of the relative decreased intra vascular volume due to hypoalbuminemia and increase of their distribution space.

Finally, the present and previous studies have shown a strong inversely correlation between sALB level and the magnitude of inflammation. In addition, hypoalbuminemia can increase blood viscosity by reducing erythrocyte flexibility and increasing the level of fibrinogen and impair endothelial function. Moreover, ALB has antioxidant activity. In the sitting of acute high grade inflammation, the effect on endothelial function and damage, the increased blood viscosity and reduced antioxidant activity, hypalbuminemia may cause the development of CI-AKI by augmenting of the toxic effect of CM.

CAR and CI-AKI

The CAR, which is consists of CRP to sALB ratio, was first reported in patient with acute medical admissions to the acute medical assessment unit for patient outcome³⁸. And also, it has been shown that elevated CAR is associated with poor prognosis in cardiovascular diseases and a predictor for cardiovascular events³.

It's well known that elevated CRP and reduced sALB were inversely related in patient with inflammatory disease. This inverse relationship between CRP and

sALB levels in inflammatory disease and the predictive values of CAR derived from these biomarkers in the development of CI-AKI has led us to investigate in patient with non-ST- and ST-elevation AMI undergoing pPCI.

In our study, the CI-AKI group had significantly higher median of CAR than the no-CI-AKI group. Similarly, the high-CAR tertile had significantly higher the median of peak sCr value, the absolute increase in sCr and the percentage increase in sCr than the mid-CAR and low-CAR. Although CAR groups were had small size, according to the ROC analyze, the AUC value of the CAR was found to be higher than CRP and sALB alone. Thus, our findings suggest that CAR has had more predictive value than CRP and sALB alone for predicting the development of CI-AKI in patients with AMI undergoing pPCI.

This study showed a significant association between CAR and sALB in the development and progression of CI-AKI and demonstrated that they are independent predictors of the development of the development of CI-AKI in patients with AMI undergoing pPCI. Given that CAR has a higher predictive value than CRP and sALB alone, it is a more appropriate tool to use for predicting the development of CIN in patients with AMI undergoing pPCI. In addition, patients with an elevated CAR may require more intensive therapy for the prevention or progression of CI-AKI.

Thus, we believe that our results point to a promising, simple, cheap and useful risk classification tool for predicting the development and progression of CI-AKI for all patients receiving CM.

Limitations

Our study had some limitations. Firstly, it was a retrospective study and the study group consisted of patient enrolled in a single center. Secondly, in this study, which has a limited number of patients, the effect of CAR on cardiac events could not be evaluated. Thirdly, as we exclude high-risk patients such as used IABP or mechanical ventilation, hemodialysis and a history of coronary artery bypass grafting, the findings may not be used for this group of patients. However, we believe that CAR and ALB have the importance of being used as predictor of post-processing CI-AKI in most patients undergoing pPCI. Finally, this study reflects the predictive value of CAR for the period of hospitalization in predicting CI-AKI. Therefore, large-scale and long-term studies are needed to determine the long-term predictive capacity.

Financial Disclosure

The author received no specific funding for this work.

Conflicts of Interests

The authors report no conflicts of interest.

References

- Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2002;39(5):930–6.
- Gupta R, Birnbaum Y, Uretsky BF. The renal patient with coronary artery disease: current concepts and dilemmas. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(7):1343–53.
- Rear R, Bell RM, Hausenloy DJ. Contrast-induced nephropathy following angiography and cardiac interventions. *Heart* 2016;102(8):638–48.
- Kwasa EA, Vinayak S, Armstrong R. The role of inflammation in contrast-induced nephropathy. *The British journal of radiology* 2014;87(1041):20130738-.
- Herrmann J, Lennon RJ, Barsness GW, Sandhu GS, Gulati R, Best PJ et al. High sensitivity C-reactive protein and outcomes following percutaneous coronary intervention in contemporary practice. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5(6):783–90.
- Ishida S, Hashimoto I, Seike T, Abe Y, Nakaya Y, Nakanishi H. Serum albumin levels correlate with inflammation rather than nutrition supply in burns patients: a retrospective study. *J Med Invest* 2014;61(3–4):361–8.
- Soeters PB, Wolfe RR, Shenkin A. Hypoalbuminemia: Pathogenesis and Clinical Significance. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2019;43(2):181–93.
- Wu J, Tan W, Chen L, Huang Z, Mai S. Clinicopathologic and prognostic significance of C-reactive protein/albumin ratio in patients with solid tumors: an updated systemic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2018;9(17):13934–47.
- Kim MH, Ahn JY, Song JE, Choi H, Ann HW, Kim JK et al. The C-Reactive Protein/Albumin Ratio as an Independent Predictor of Mortality in Patients with Severe Sepsis or Septic Shock Treated with Early Goal-Directed Therapy. *PLoS One* 2015;10(7): e0132109.
- Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H et al 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2018;39(2):119–77.
- Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004;8(4):R204–12.
- Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(2): R31.
- Morcus SK, Thomsen HS, Webb JA. Contrast-media-induced nephrotoxicity: a consensus report. Contrast Media Safety Committee, European Society of Urogenital Radiology (ESUR). *Eur Radiol* 1999;9(8):1602–13.
- eGFR using CKD-EPI. Calculate by QxMD, https://qxmd.com/calculate/calculator_251/egfr-using-ckd-epi [accessed 30 06 19]
- Pannu N, Wiebe N, Tonelli M. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *Jama* 2006;295(23):2765–79.
- Goldenberg I, Matetzky S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *Cmaj* 2005;172(11):1461–71.
- McCullough PA. Acute kidney injury with iodinated contrast. *Crit Care Med* 2008;36(4 Suppl): S204–11.
- McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F et al. Risk prediction of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol* 2006;98(6a):27k-36k.
- Heyman SN, Clark BA, Kaiser N, Spokes K, Rosen S, Brezis M et al. Radiocontrast agents induce endothelin release in vivo and in vitro. *J Am Soc Nephrol* 1992;3(1):58–65.
- Klaue N, Arendt T, Lins M, Gronow G. Hypoxic renal tissue damage by endothelin-mediated arterial vasoconstriction during radioangiography in man. *Adv Exp Med Biol* 1998;454:225–34.
- Bakris GL, Burnett JC, Jr. A role for calcium in radiocontrast-induced reductions in renal hemodynamics. *Kidney Int* 1985;27(2):465–8.
- Liss P, Nygren A, Olsson U, Ulfendahl HR, Erikson U. Effects of contrast media and mannitol on renal medullary blood flow and red cell aggregation in the rat kidney. *Kidney Int* 1996;49(5):1268–75.
- Nygren A. Contrast media and regional renal blood flow. A study of the effects of ionic and non-ionic monomeric and dimeric contrast media in the rat. *Acta Radiol Suppl* 1992;378(Pt 3):123–35.
- Schwartz D, Blum M, Peer G, Wollman Y, Maree A, Serban I et al. Role of nitric oxide (EDRF) in radiocontrast acute renal failure in rats. *Am J Physiol* 1994;267(3 Pt 2): F374–9.
- Heyman SN, Reichman J, Brezis M. Pathophysiology of radiocontrast nephropathy: a role for medullary hypoxia. *Invest Radiol* 1999;34(11):685–91.
- Hurlimann J, Thorbecke GJ, Hochwald GM. The liver as the site of C-reactive protein formation. *J Exp Med* 1966;123(2):365–78.
- Liu Y, Tan N, Zhou YL, Chen YY, Chen JY, Chen J et al. High-sensitivity C-reactive protein predicts contrast-induced nephropathy after primary percutaneous coronary intervention. *J Nephrol* 2012;25(3):332–40.
- Jian-Wei Z, Yu-Jie Z, Shu-Jun C, Qing Y, Shi-Wei Y, Bin N. Impact of preprocedural high-sensitivity C-reactive protein on contrast-induced nephropathy in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Angiology* 2014;65(5):402–7.

29. Lazaros G, Zografos T, Oikonomou E, Siasos G, Georgiopoulos G, Vavuranakis M et al. Usefulness of C-Reactive Protein as a Predictor of Contrast-Induced Nephropathy After Percutaneous Coronary Interventions in Patients With Acute Myocardial Infarction and Presentation of a New Risk Score (Athens CIN Score). *Am J Cardiol* 2016;118(9):1329–33.
30. Schalk BW, Visser M, Bremmer MA, Penninx BW, Bouter LM, Deeg DJ. Change of serum albumin and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality: Longitudinal Aging Study Amsterdam. *Am J Epidemiol* 2006;164(10):969–77.
31. Oduncu V, Erkol A, Karabay CY, Kurt M, Akgun T, Bulut M et al. The prognostic value of serum albumin levels on admission in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing a primary percutaneous coronary intervention. *Coron Artery Dis* 2013;24(2):88–94.
32. Kurtul A, Ocek AH, Murat SN, Yarlioglu M, Demircelik MB, Duran M et al. Serum albumin levels on admission are associated with angiographic no-reflow after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Angiology* 2015;66(3):278–85.
33. Murat SN, Kurtul A, Yarlioglu M. Impact of Serum Albumin Levels on Contrast-Induced Acute Kidney Injury in Patients With Acute Coronary Syndromes Treated With Percutaneous Coronary Intervention. *Angiology* 2015;66(8):732–7.
34. Minamiyama Y, Takemura S, Inoue M. Albumin is an important vascular tonus regulator as a reservoir of nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;225(1):112–5.
35. Vuong TD, Braam B, Willekes-Koolschijn N, Boer P, Koomans HA, Joles JA. Hypoalbuminaemia enhances the renal vasoconstrictor effect of lysophosphatidylcholine. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(8):1485–92.
36. Fleck A, Raines G, Hawker F, Trotter J, Wallace PI, Ledingham IM et al. Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury. *Lancet* 1985;1(8432):781–4.
37. Don BR, Kaysen G. Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. *Semin Dial* 2004;17(6):432–7.
38. Fairclough E, Cairns E, Hamilton J, Kelly C. Evaluation of a modified early warning system for acute medical admissions and comparison with C-reactive protein/albumin ratio as a predictor of patient outcome. *Clin Med (Lond)* 2009;9(1):30–3.



Siirt İlindeki Bruselloz Tanılı 112 Hastanın Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Retrospective Evaluation of 112 Patients with Brucellosis Diagnosis in Siirt

Osman Özüdoğru¹, Ömer Acer²

¹Siirt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dahiliye Polikliniği; ²Siirt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Siirt, Türkiye

ABSTRACT

Aim: In this study, we aimed to evaluate epidemiological, clinical, laboratory findings and treatment regimens of brucellosis cases.

Material and Method: 112 patients diagnosed with brucellosis in the polyclinics of Siirt State Hospital between March 2018 and June 2019 were retrospectively analyzed. Epidemiological, clinical, laboratory findings and treatment regimens of brucellosis cases were evaluated.

Results: It was determined that 38.4% of 112 cases included in the study were male and 61.6% were female. The average age was determined as 38.1 (18–76) years. 56% of the patients applied from villages, 19% of applied from districts and 37% of applied from the city. The most frequent complaints of the patients at the first admission were body pain, joint pain, weakness, fever, headache, and low back pain. In physical examination, arthritis, arthralgia, myalgia, hepatomegaly, splenomegaly and lymphadenopathy were detected in 30.1%, 78.8%, 84.1%, 9.7%, 8% and 2.7% of cases, respectively. In the laboratory examination of the patients; Leukopenia, leukocytosis, anemia, and polycythemia were determined in 12.4%, 7.1%, 33.6%, and 2.7% of cases, respectively. The Brucella Coombs agglutination test was found to be above 1/320 in 14 cases, 1/640 in 20 cases, 1/280 in 25 cases, 1/2560 in 17 cases and 1/5120 in 36 cases. Elevated liver enzymes were found in 46.9% of patients, sedimentary height was found in 54.9%, and CRP elevation was found in 33.6%. The patients were mainly treated with doxycycline + rifampicin, doxycycline + rifampicin + ceftriaxone and doxycycline + ceftriaxone.

Conclusion: As a result, the findings we obtained from our study show that the incidence of brucellosis is still high in our province of Siirt, where animal husbandry is intensive. In addition, brucellosis should be considered in the differential diagnosis in patients presenting with non-specific complaints such as fever, joint pain, and weakness.

Key words: brucellosis; infectious disease; diagnosis; treatment

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada bruselloz olgularının epidemiyolojik, klinik, laboratuvar bulguları ve uygulanan tedavi rejimlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada Mart 2018-Haziran 2019 tarihleri arasında Siirt devlet hastaneleri polikliniklerinde bruselloz tanısı konulan 112 hasta retrospektif olarak incelenmiştir. Bruselloz olgularının epidemiyolojik, klinik, laboratuvar bulguları ve uygulanan tedavi rejimleri değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 112 olgunun %38,4'ünün erkek, %61,6'sının kadın olduğu tespit edildi. Yaş ortalamaları ise 38,1 (18–76) yıl olarak tespit edilmiştir. Hastaların %56'sı köylerden, %19'u ilçelerden ve %37'si şehirden başvurmuştur. Hastaların ilk başvuru anındaki en sık yakınmaları; vücut ağrısı, eklem ağrısı, halsizlik, ateş, baş ağrısı ve bel ağrısı olarak saptanmıştır. Fizik muayenelerinde hastaların %30,1'inde artrit, %78,8'inde artralji, %84,1'inde miyalji %9,7'sinde hepatomegali %8'inde splenomegali ve %2,7'sinde lenfadenopati saptanmıştır. Hastaların %12,4'ünde lökopeni, %7,1'inde lökositoz, %33,6'sında anemi ve sadece %2,7'sinde polistemi saptanmıştır. Brucella Coombs aglütinasyon testi 14 olguda 1/320, 20 olguda 1/640, 25 olguda 1/280, 17 olguda 1/2560 ve 36 olguda 1/5120'nin üzerinde saptandı. Hastaların %46,9'unda karaciğer enzim yüksekliği, %54,9'unda eritrosit sedimentasyon hızı yüksekliği, %33,6'sında CRP yüksekliği saptanmıştır. Hastalara ağırlıklı olarak doksisisiklin + rifampisin, doksisisiklin + rifampisin + seftriakson, vedoksisisiklin + rifampisin tedavileri uygulanmıştır. Tedavi sonrasında ise hastaların %63,44'ünde Brucella Coombs aglütinasyon testi negatif sonuç vermiştir.

Sonuç: Sonuç olarak çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Siirt ilimizde brusellozun görülme sıklığının hala yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca endemik bölgelerde ateş, eklem ağrısı, halsizlik gibi özgün olmayan yakınmalarla gelen hastalarda bruselloz ayırıcı tanıda düşünülmelidir.

Anahtar kelimeler: bruselloz; enfeksiyöz hastalıklar; tanı; tedavi

İletişim/Contact: Ömer Acer, Siirt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Siirt, Türkiye • **Tel:** 0484 212 11 11/4101 • **E-mail:** oacer21@gmail.com, omer.acer@siirt.edu.tr • **Geliş/Received:** 06.05.2020 • **Kabul/Accepted:** 01.08.2020

ORCID: Osman Özüdoğru, 0000-0003-1212-2251 • Ömer Acer, 0000-0002-5314-0475

Giriş

Bruselloz, *Brucella* cinsi bakterilerin neden olduğu zoonotik bir enfeksiyon türüdür¹. Enfeksiyon insanlara; enfekte olmuş hayvanlardan (en çok keçi, domuz ve koyunlardan), bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketilmesinden, enfekte bir hayvanla doğrudan temas veya enfeksiyöz aerosollerin inhalasyonu ile bulaşmaktadır². Pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi en sık bulaşma yoludur³⁻⁴. Bruselloz insana bulaştıktan sonra bölgesel lenf düğümlerinde çoğalır ve kana geçer⁵. Başta retikuloendotelial sistem olmak üzere birçok organ ve dokuyu tutarak sistematik enfeksiyona sebep olmaktadır⁶. Brusellozda farklı klinik tabloları görülmektedir⁷. Bunlar; solunum, genitoüriner, hematolojik, gastrointestinal, osteoartiküler, kardiyovasküler ve nörolojik bozukluklardır⁸. Zamanında ve uygun tedavi edilmediği takdirde ağır sekeller ve uzun dönemde artmış morbidite görülebilmektedir. Ayrıca insanları enfekte eden dört *Brucella* türü, yani *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* ve *Brucella canis*⁹, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından B sınıfı biyo-terörizm ajanları olarak sınıflandırılmıştır.

Bruselloz, yılda 500,000'den fazla yeni vaka ile dünya çapında en yaygın bakteri zoonozu olmaya devam etmekte ve bu yüzden de halk sağlığı ile ilgili endişelere yol açmaktadır. Gerçek bruselloz insidansı bildirilen vaka sayısından 26 kat fazla olarak kabul edildiğinden, sağlık sonuçlarına ek olarak bruselloz, gelişmekte olan endemik ülkelere önemli bir ekonomik ve finansal yük getirmektedir^{3,4,10-11}. Dünyanın birçok bölgesinde bruselloz önemli ölçüde azalmıştır fakat Türkiye'de hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgelerinde bir sorun olarak devam etmektedir. Bununla birlikte Türkiye'de Sağlık Bakanlığı Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirimi Sisteminde bruselloz A Grubu Bildirimi Zorunlu Hastalıklar Listesinde yer almaktadır. Çalışmamızda Mart 2018 - Haziran 2019 tarihleri arasında Siirt Devlet Hastanesi Polikliniklerine başvurarak bruselloz tanısı konulan hastaları retrospektif olarak inceleyip bruselloz olgusunu incelemeyi amaçladık. Çalışmanın sonucunda ortaya çıkacak verilerle literatüre katkı sunmak, bruselloz tedavisini düzenleyen klinisyen hekimlere ışık tutmak araştırmamızdan beklediğimiz yararlar olacaktır. Bu yüzden bu çalışmada, Siirt ilinde bruselloz olarak takip ve tedavi edilen 112 olguyu geriye dönük olarak incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot

Çalışmamızda Mart 2018-Haziran 2019 tarihleri arasında Siirt devlet hastanelerinin polikliniklerinde bruselloz tanısı konulan hastaları retrospektif olarak inceledik. Çalışmaya Siirt Devlet Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda *Brucella* Coombs aglütinasyon testleri $\geq 1:160$ titrede saptanan veya kan kültüründe *Brucella* spp. üreyen çeşitli yaş grubundaki yetişkinler dahil edilmiştir. Hastalar geriye dönük olarak geliş yakınmaları, yaş, cinsiyet, ikamet bilgileri, aile öyküleri, fizik muayene bulguları, tam kan sayımı, rutin biyokimyasal testler, eritrosit sedimentasyon hızı [ESH], C-reaktif protein [CRP], Rose Bengal testi, Coombs aglütinasyon testleri gibi laboratuvar ve mikrobiyolojik incelemeleri, hastalara başlanan tedavi rejimleri kaydedilmiştir. Bu çalışma Siirt Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar No: 2020/02.01).

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik paket programı (IBM SPSS Versiyon 22.0) kullanılmıştır. Veriler gruplar için ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 112 olgunun %38,4'ünün erkek, %61,6'sının ise kadın olduğu tespit edildi. Yaş ortalamaları ise 38,1 ((18-76), SD: 17,37043) olarak tespit edilmiştir. Hastaların %56'sı köylerden, %19'unun ilçelerden ve %37'si şehirden başvurmuştur. Hastaların ilk başvuru anındaki en sık yakınmaları; Vücut ağrısı (n=95, %84,1), eklem ağrısı (n=83, %73,5), ateş (n=50, %44,2), bel ağrısı (n=15 %13,3), baş ağrısı (n=24, %21,2), baş dönmesi (n=3, %2,7) ve halsizlik (n=50, %44,2) olarak saptanmıştır. Fizik muayenelerinde hastaların %30,1'inde (n=34) artrit, %78,8'inde (n=89) artralji, %84,1'inde (n=95) miyalji %9,7'sinde (n=11) hepatomegali, %8'inde (n=9) splenomegali ve %2,7'sinde (n=3) lenfadenopati saptanmıştır (Tablo 1).

Tanı anında hastaların laboratuvar incelemesinde; kan lökosit değeri ortalaması 6.986.071 (SD: 2.280.62515/L), CRP düzeyleri ortanca 18,4 (aralık: 0,10-154,40 mg/L), ESH ortanca 22 (aralık: 2-88) mm/saat olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Hastaların %12,4'ünde (n=14) lökopeni, %7,1'inde

Tablo 1. Çalışmadaki hastaların sosyodemografik ve klinik özellikleri

Sosyodemografik ve klinik bulguları	Hasta sayısı (%)
Yaş (yıl) (ortalama ± SD)	38,125±17,37043
Erkek cinsiyet	43 (38,4) (p: 0,01)
Kadın cinsiyet	69 (61,6) (p: 0,01)
İkamet	
Köy	56 (50,0)
İlçe	19 (17,0)
Şehir	37 (33,0)
Sağlık güvencesi	
Yeşilkart	84 (75,0)
Bağkur	8 (7,1)
SSK	20 (17,9)
Başvurudaki yakınmalar	
Ateş	50 (44,2)
Baş ağrısı	24 (21,2)
Eklem ağrısı	83 (73,5)
Vücut ağrısı	95 (84,1)
Halsizlik	50 (44,2)
Baş ağrısı	3 (2,7)
Başvurudaki muayene bulguları	
Artrit	34 (30,1)
Artralji	89 (78,8)
Miyalji	95 (84,1)
Hepatomegali	11 (9,7)
Splenomegali	9 (8,0)

(n=8) lökositoz, %33,6'sında (n=38) anemi ve sadece %2,7'sinde (n=3) polistemi saptanmıştır. Başvuruda saptanan AST düzeyi ortalama 33,5 (aralık: 13–223), ALT düzeyi ortalama 29,5 (aralık: 7–416,00) olarak tespit edildi. Brucella Coombs aglütinasyon testi 14 olguda 1/320, 20 olguda 1/640, 25 olguda 1/280, 17 olguda 1/2560 ve 36 olguda 1/5120'nin üzerinde saptandı. Hastaların %46,9'unda (n=53) karaciğer enzim yüksekliği, %54,9'unda (n=62) eritrosit sedimentasyon hızı, %33,6'sında (n=38) CRP yüksekliği saptanmıştır.

Hastaların %39,3'üne (n=44) doksisisiklin + rifampisin, %24,1'ine (n=27) doksisisiklin + rifampisin + seftriakson, %14,3'üne (n=16) doksisisiklin + seftriakson, %8,9'una (n=10) rifampisin + trimetoprim (tmp)/sülfometaksazol (smx) + doksisisiklin, %5,4'üne (n=6) doksisisiklin + tmp/smx, %3,6'sına (n=4) doksisisiklin +

Tablo 2. Bruselloz tanısıyla izlenen hastaların laboratuvar özellikleri

Laboratuvar Özellikleri	Bulgular
^a Beyaz küre sayısı (wbc) (ortalama ± SD)	6.986.0714 (SD: 2.280.62515)
Lökopeni (%)	14 (12,4)
Lökositoz (%)	8 (7,1)
Hemoglobin (gr/dL)	13,037 (SD: 1.73169)
Anemi (%)	38 (33,6)
Polistemi (%)	3 (2,7)
Platelet sayısı (/uL)	248,1964 (SD: 76.03719)
Trombositopeni (%)	5 (4,4)
^b C-reaktif protein (CRP) [ortanca (min-maks)]	18.4000 (0,10–154,40)
C-reaktif protein yüksekliği (%)	38 (33,6)
^c Eritrosit sedimentasyon (ESH) [ortanca (min-maks)]	22.0000 (2,00–88,00)
^d Serum AST düzeyi [ortanca (min-maks)]	33.5000 (13,00–223,00)
^e Serum ALT düzeyi [ortanca (min-maks)]	29.5000 (7,00–416,00)
Karaciğer enzim yüksekliği (AST–ALT) (%)	53 (46,9)
Eritrosit Sedimentasyon hızı yüksekliği	62 (54,9)
RoseBengal testi pozitifliği n (%)	112 (100)
Brucella Coombs aglütinasyon testi n (%) (tanı) (%) <160	
1/320	14 (12,5)
1/640	20 (17,9)
1/1280	25 (22,3)
1/2560	17 (15,2)
1/5120	36 (36,1)

SD, standart deviasyon; min, minimum; maks, maksimum; a/Wbc, m normal değer, 4,800–10,800x10⁹/L; bnormal değerler, 0–10 mg/L; cnormal değerler, 0–20 mm/saat; dAST, Aspartat Aminotransferaz; normal değerler, 0–31 U/L; eALT, Alanin Aminotransferaz; normal değerler, 0–34 U/L, p<0,05.

rifampisin + gentamisin, %2,7'sine (n=3) rifampisin + tmp/smx+seftriaksonve %1,8'ine (n=2) rifampisin + tmp/smx tedavisi uygulanmıştır (Tablo 3). Tedavi sonrasında ise hastaların %63,4'ünde (n=71) Brucella Coombs aglütinasyon testi negatif sonuç vermiştir (Tablo 4).

Tartışma

Bruselloz, dünya çapında, özellikle Orta Doğu, Akdeniz ülkeleri, Güney Amerika ve Orta Asya'da her yıl bildirilen 500.000 yeni vaka ile ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir¹². Birçok gelişmiş ülkede, çeşitli eradikasyon programları nedeniyle bruselloz prevalansı azalmış olsa da yılda 10.000 insan brusellozu vakasının rapor edildiği Türkiye'de hala önemli bir endemik hastalık olmaya devam etmektedir^{13–15}.

Tablo 3. Hastalara uygulanan ilaç kombinasyonları

İlaç kombinasyonları	Hastalar	
	Sayı	%
Doksisiklin+rifampisin	44	39,3
Doksisiklin+rifampisin+seftriakson	27	24,1
Doksisiklin+seftriakson	16	14,3
Rifampisin+ trimetoprim (tmp)/sülfometaksazol (smx) + doksisiklin	10	8,9
Doksisiklin+tmp/smx	6	5,4
Doksisiklin+rifampisin+gentamisin	4	3,6
Rifampisin+tmp/smx+seftriakson	3	2,7
Rifampisin+tmp/smx	2	1,8

Tablo 4. Tedavi sonrası brucella coombs aglütinasyon test sonuçları

Tedavi sonrası Brucella Coombs aglütinasyon testi n (%) <160	n (%)
1/320	24 (21,4)
1/640	9 (8)
1/1280	4 (3,6)
1/2560	1 (0,9)
1/5120	3 (2,7)
Negatif (%)	71 (63,4)

Brusellozun en sık bulaş yolu çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketilmesidir. Hayvanlarla direkt temas yoluyla da bulaşabilmektedir¹⁶⁻¹⁷. Daha önce yapılan çalışmalarda brusellozun özellikle hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı kırsal kesimlerde görüldüğü bildirilmiştir^{15,18}. Çalışmamızda hastaların %50'sinin köylerde, %17'sinin de ilçelerde yaşadığı tespit edilmiştir.

Brusellozun endemik olarak görüldüğü ülkelerde cinsiyet farkı olmadığı bilinmekle beraber düşük insidanslı olduğu ülkelerde, mesleki risk nedeniyle hastalık erkek cinsiyette daha sık görülmektedir¹⁹. Bizim çalışmamızda kadınların daha fazla etkilendiği görülmüştür (%61,6). Koşar ve ark.²⁰ ve Tartar¹⁷ yaptıkları çalışmalarda kadınlarda brusellozun daha sık bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumun sebebi kırsal kesimlerde hayvanlarla daha çok kadınların ilgilenmesi olabileceğine bağlanmıştır. Bizim çalışmada da aynı nedenlerden dolayı hastalık kadınlarda daha sık görülmüş olabilir. Bunun yanı sıra ülkemizde cinsiyetler açısından fark olmadığını belirten çalışmalar da vardır²¹⁻²².

Bruselloz tüm yaş gruplarında görülebileceği gibi daha çok genç erişkinlerde ve orta yaşlı insanlarda görülmektedir¹⁷. Çalışmamızdaki olguların yaş ortalamaları 38,12 (18-76) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki olgularının çoğunun 18-45 yaş aralığında olduğu tespit edildi. Çalışmamızda tespit edilen yaş ortalaması Türkiye'de bildirilen verilerle uyum sağlamaktadır. Bölgeler arasında farklılıklar olabileceği de bölgemizde bruselloz epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, ülkemizdeki diğer bölgelerinden yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ile yakın benzerlik gösterdiği düşünülebilir.

Klinik olarak, bruselloz sıklıkla ateş, gece terlemeleri, eklem ağrıları, kas ağrıları, bel ağrısı ve kilo kaybı, ayrıca

halsizlik, yorgunluk, baş ağrısı, baş dönmesi, depresyon ve anoreksi gibi akut semptomlar gösterir. Bununla birlikte, özellikle spesifik olmayan semptomlar nedeniyle yeterince erken teşhis edilmezse bruselloz kronik bir duruma ilerleyebilmektedir⁹.

Bu çalışmada hastaların ilk başvuru anındaki en sık yakınmaları vücut ağrısı, (%84,1), eklem ağrısı (%73,5), ateş (%44,2) ve halsizlik (%44,2) olarak saptanmıştır. Bunları baş ağrısı (%21,2), bel ağrısı (%13,3) ve baş dönmesi (%2,7) takip etmiştir. Başvurudaki muayene bulgularının %84,1'inde miyalji, %78,8'inde artralji, %30,1'inde artrit, %9,7'sinde hepatomegali, %8'inde splenomegali ve %2,7'sinde lenfadenopati saptanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulgular daha önceki çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir^{15-16,23-25}. Brusellozda en sık tutulan sistemin kemik-eklem sistemi olduğu bilinmektedir²⁶. Çalışmamızda da olguların %30,1'ünde artrit saptanmıştır. Demircan ve ark.²⁵, 2013 yılında yaptıkları çalışmada Siirt ili bruselloz için en sık gözlenen üç semptomun eklem ağrısı (%90), kas ağrısı (%75) ve halsizlik (%70) olduğunu bildirmişlerdir. Hastaların fiziki muayenelerinde %75 miyalji, %11'inde splenomegali, %10'unda hepatomegali, saptamışlardır. Çalışmamızda da en sık gözlenen yakınmalar vücut ağrısı, (%84,1), eklem ağrısı (%73,5), ateş (%44,2) ve halsizlik (%44,2) olarak saptanmıştır.

Çalışmamızdaki hastaların laboratuvar sonuçlarına bakıldığında, hastaların %33,6'sında anemi, %12,4'ünde lökopeni, %7,1'inde lökositoz, ve sadece %2,7'sinde (n=3) polistemi saptanmıştır. Hastaların %46,9'unda karaciğer enzim yüksekliği (KCFT), %54,9'unda eritrosit sedimantasyon hızı yüksekliği, %33,6'sında CRP yüksekliği

saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığı zaman, Demir ve ark¹³., hastalarda anemiyi %25, trombositopeniyi %8,3, lökopeniyi %11,7, lökositozu %15, KCFT yüksekliğini %25, CRP yüksekliğini %83,4 ve eritrosit sedimentasyon hızı yüksekliğini %40 oranında tespit etmişlerdir. Tartar¹⁷, bir yıllık sürede izlenen 81 bruselloz olgusunun klinik ve laboratuvar bulgularını retrospektif olarak incelediği çalışmasında anemiyi %45,7, trombositopeniyi %7,4, lökopeniyi %3,7, lökositozu %4,9, KCFT yüksekliğini %23,45, CRP yüksekliğini %58 ve eritrosit sedimentasyon hızı yüksekliğini %48,14 olarak rapor etmiştir. Bir diğer çalışmada Çataklı ve ark¹⁶., otuzüç hastadan oluşan çalışma grubunda hastaların %51'inde anemi, %85'inde ESH ve %64'ünde CRP yüksekliği saptamışlardır. Çalışmamızdan elde edilen bulgular literatüre uygunluk göstermektedir.

Bruselloz tedavisi için çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Bu hastalığın tedavisinde doksisisiklin ve streptomisin kombinasyonu veya rifampisin ve trimetoprim-sülfametoksazol kombinasyonu kullanılabilir. Başka bir seçenek rifampisin ile ofloksasin kombinasyonudur²⁵. Çalışmamızda Hastaların %39,3'üne doksisisiklin + rifampisin, %24,1'ine doksisisiklin + rifampisin + seftriakson, %14,3'üne doksisisiklin + seftriakson, rifampisin + trimetoprim (tmp) / sülfometaksazol (smx) + doksisisiklin, %5,4'üne doksisisiklin + tmp / smx, %3,6'sına doksisisiklin + rifampisin + gentamisin, %2,7'sine rifampisin + tmp/smx + seftriakson ve %1,8'ine rifampisin + tmp/smx tedavisi uygulanmıştır. Tedavi sonrasında hastaların %63,44'ünde *Brucella* Coombs aglütinasyon testi negatif sonuç vermiştir (Tablo 4).

Sonuç olarak çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Siirt ilimizde brusellozun görülme sıklığının hala yüksek olduğunu göstermektedir. Dünyanın birçok bölgesinde bruselloz önemli ölçüde azalmakla birlikte Türkiye'de hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Güneydoğu Anadolu Bölgemizde bir sorun olarak devam etmektedir. Bruselloz, hayvanlarla direkt temas ile bulaşabileceği gibi hayvansal ürünlerinin tüketilmesi yoluyla da bulaşmaktadır. Bu sebeple brusellozun endemik olarak görüldüğü bölgelerde yaşayan halkı hastalık, bulaşma yolları ve korunma yolları hakkında bilinçlendirmek için eğitim verilmelidir. Ayrıca endemik bölgelerde ateş, eklem ağrısı, halsizlik gibi özgün olmayan yakınmalarla gelen hastalarda bruselloz ayırıcı tanıda düşünülmalıdır.

Kaynaklar

1. Saçar S, Cenger DH, Kavas ST, Asan A, Demir M, Saçar M, et al. *Brucella maltiensis*'in neden olduğu *Brucella* endokarditi. *Dicle Tıp Derg* 2008;35(1):58–60.
2. Arapović J, Špičić S, Ostojić M, Duvnjak S, Arapović M, Nikolić J, et al. Epidemiological, clinical and molecular characterization of human brucellosis in Bosnia and Herzegovina - An on-going brucellosis outbreak. *Acta Med Acad* 2018;47(1):50–60.
3. American Academy of Pediatrics. Brucellosis. In: Pickering LK, (eds) 2003 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases 26th ed. ElkGrove Village, IL. American Academy of Pediatrics; 2003. p.222–4.
4. Lim ML, Rickman LS. Brucellosis. *Infect Dis Clin Pract* 2004;12:7–14.
5. Young EJ. An overview of human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1995;21:283–9.
6. Abuhandan M, Güzel B, Çakmak A, Çiçek A. Çocuklarda bruselloz:82 olgunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf* 2012;6:74–8.
7. Üstün C, Güven T 2009. Akut piyelonefrit ile komplike bruselloz olgusu. *Dicle Tıp Der* 2009;37(2):151–153.
8. Colmenero JD, Reguera J, Martos F, Sánchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine* 1996;75(4), 195–211.
9. Long SS, Pickering LK, Prober CG (Editörler). Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. In: Young EJ. *Brucella Species (Brucellosis)* 4. ed, Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2012:876–80.
10. Wise RI. Brucellosis in the United States. Past, present, and future. *JAMA* 1980;244(20):2318–22.
11. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352(22):2325–36.
12. Parlak M, Gündüğüoğlu H, Bayram Y, Çıkman A, Aypak C, Kılıç S et al. Identification and determination of antibiotic susceptibilities of *Brucella* strains isolated from patients in Van, Turkey by conventional and molecular methods. *Int J Med Sci* 2013;10:1406–1411.
13. Yüce A, Alp Çavuş S. [Brucellosis in Turkey: an overview]. *Klimik Derg* 2006;19:87–97.
14. Turan H, Arslan H, Uncu H, Azap Ö, Şerefhanoğlu K. In vitro activity of tigecycline against *Brucella* strains: a comparative study with doxycycline, ciprofloxacin and rifampin. *İnfeksiyon Derg* 2007;21:147–151.
15. Demir MI, Kader Ç, Çolak NY, Kocabyık O, Erbay A, Gök ŞE. Bruselloz olgularının değerlendirilmesi. *Bozok Tıp Derg* 2017;7(3):47–51.
16. Çataklı T, Kılıç N, Dallar Y. Bruselloz tanılı 33 olgunun retrospektif değerlendirilmesi. *Ege Tıp Derg* 2011;50(1):39–42.
17. Tartar AS. Bruselloz: olguların retrospektif değerlendirilmesi. *F Ü Sağ Bil Tıp Derg* 2014;28(3):111–115.
18. Kara SS, Aslan MH, Volkan B, Özel M, Fettah A. Bruselloz tanılı 94 çocuk hastanın retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Kocatepe Tıp Derg* 2016;17:60–65.

19. Edward JY. Brucella species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE, (Editors). Principles and Practice of Infectious Diseases 7th Edition, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010:2921–2925.
20. Koşar A, Aygündüz M, Yaylı G. İkiyüzseksen bruselloz olgusunda farklı iki tedavinin karşılaştırılması. *İnfeks Derg* 2001;15:433–437.
21. Buzgan T, Karahocagil KK, Irmak H, Baran, AI, Karsen H, Evirgen O et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: A retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2010;14:469–478.
22. Gonen I, Sozen H, Kayal O, Unal O, Guloglu G, Akcam FZ. Brucellosis: Evaluation of 201 cases in an endemic area of Mediterranean Basin. *Acta Medica Mediterranea* 2014;30:121.
23. Aygen B, Doğanay M, Sümerkan B, Yıldız O, Kayabaş Ü. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: A retrospective evaluation of 480 patients. *Med Mal Infect* 2002;32:485–493.
24. Ataman-Hatipoğlu Ç, Kınıklı S, Tülek N, Tekin-Koruk S, Arslan S, Tuncer-Ertem G, et al. Bir eğitim hastanesinin infeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji kliniğinde izlenen 202 bruselloz olgusunun epidemiyolojik verilerinin irdelenmesi. *Klimik Derg* 2005;18(3):94–98.
25. Demircan F, Mengeloğlu Z, Kılınç F, Denk A. Evaluation of epidemiological data of 541 patients with brucellosis in Siirt, a city in south-eastern Anatolia. *JCEI* 2013;4(2):136–140.
26. Yüce A. Brucellosis in Turkey. *Klimik Derg* 2006;19:87–89.



The Use of Complementary and Alternative Medicine Among Patients with Chronic Lung Disease

Kronik Akciğer Hastalığına Sahip Hastalar Arasında Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Kullanımı

Hasan Oguz Kapıcıbasi¹, Erhan Akıncı²

¹Department of Thoracic Surgery; ²Department of Psychiatry, Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Canakkale, Turkey

ABSTRACT

Aim: The aim of this study is to investigate the behaviors related to and the factors affecting complementary and alternative medicine (CAM) use in patients with chronic lung diseases, such as lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Material and Method: A total of 60 patients with lung cancer and COPD were enrolled in the study. The data were collected by a form of demographic and clinical characteristics, the State-Trait Anxiety Inventory (STAI), and the Eysenck Personality Questionnaire Revised-Abbreviated Form (EPQR-A).

Results: The most commonly used CAM method was the combination of phytotherapy and apitherapy, accounting for 48.3% (n=29) of the patients. 48.8% (n=22), to whom the CAM method was administered, used the combination at least once a month. The most common cause for the use of CAM method was cough. No statistically significant relationship was observed between the dependent variable – the decision of CAM use – and the independent variables sociodemographic characteristics, disease type, and the scores from STAI and EPQR-A. On the other hand, the EPQR-A psychoticism subscale was found to be a significant and independent predictor of the CAM users' views of benefit ($\beta=0.354$, $p=0.029$).

Conclusion: Our study suggests that the most commonly used CAM method was the combination of phytotherapy and apitherapy. It was understood that psychoticism, one of the personality traits, may be a significant factor affecting the CAM users' views of benefit.

Key words: chronic disease; phytotherapy; lung cancer; complementary therapies; alternative medicine

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, akciğer kanseri ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi kronik akciğer hastalığı olan hastalarda tamamlayıcı ve alternatif tıp (TAT) kullanımıyla ilgili davranışları ve bunu etkileyen etmenleri araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya akciğer kanseri ve KOAH'lı olmak üzere toplam 60 hasta alındı. Demografik ve klinik özelliklere yönelik bilgi formu, Durumluk-Süreklilik Kaygı Envanteri (STAI) ve Eysenck Kişilik Anketi Gözden Geçirilmiş/Kısaltılmış Formu (EKA-GGK) kullanılarak veriler toplandı.

Bulgular: En sık kullanılan TAT yöntemi fitoterapi ve apiterapinin %48,3 (n=29) birlikte kullanımıydı. TAT yöntemi kullananların %48,8'inin (n=22) ayda en az bir kez kullanım öyküsü vardı. TAT kullanımının en sık nedeni öksürüktü. TAT kullanım kararı ile demografik özellikler, hastalık tipi, STAI ve EKA-GGK ölçek bağımsız değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Öte yandan, EKA-GGK psikotizm alt ölçeğinin TAT kullanımından fayda görme inancında anlamlı ve bağımsız bir belirteç olduğu görüldü ($\beta=0,354$, $p=0,029$).

Sonuç: Çalışmamızda fitoterapi ve apiterapinin birlikte kullanımının, en sık kullanılan TAT yöntemi olduğu görüldü. TAT kullanımından fayda görme inancında psikotizm kişilik özelliğinin belirleyici bir etmen olabileceği anlaşılmaktadır.

Anahtar kelimeler: kronik hastalık; fitoterapi; akciğer kanseri; tamamlayıcı tedaviler; alternatif tıp

Introduction

The main reasons why patients prefer complementary and alternative medicine (CAM) are chronic diseases, inadequate treatments of conventional medicine, and therefore patients' dissatisfaction^{1,2}. Studies report that CAM is widely used in chronic diseases such as cancer, stroke, diabetes, heart diseases, and chronic obstructive pulmonary disease (COPD)³. Lung cancer is the leading cause of cancer-induced death worldwide^{4,5}. The most frequent incidences of lung cancer in Turkey

İletişim/Contact: Hasan Oguz Kapıcıbasi, Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Department of Thoracic Surgery, Canakkale, Turkey • Tel: 0532 377 99 07 • E-mail: turcica@hotmail.com • Geliş/Received: 09.05.2020 • Kabul/Accepted: 01.08.2020

ORCID: Hasan Oğuz Kapıcıbaşı, 0000-0001-7275-1039 • Erhan Akıncı, 0000-0003-3331-8165

were observed in males (45.2 per 100.000) followed by females (7.5 per 100.000)⁶. COPD is a chronic health problem with increasing frequency. It leads to high morbidity and mortality⁷. In the literature, COPD patients have been shown to seek different treatment methods to solve problems such as muscle weakness, decreased exercise capacity, endocrine system disorders, increased lung infection rates, anxiety, and depression⁸. There is not much evidence of the role of CAM in the treatment of these diseases⁹. Resorting to CAM has considerably increased in the industrialized Western countries in the last 25 years. It is applied in a multitude of areas, such as aromatherapy, acupuncture, homeopathy, anthropozotic medicine, herbal remedies, kinesiology, massage, naturopathy, shiatsu, traditional Chinese medicine, and yoga¹⁰⁻¹². Except for praying, the most commonly used CAM interventions are herbal remedies, chiropractic, and homeopathy¹³. The use of CAM varies across countries, i. e. accounting for 48.2% in Australia, 42.1% in the United States, 70% in Canada, 49.3% in France, 70% in China, and 80% in African countries¹⁴. Although the number of CAM-related studies are insufficient in Turkey, Kav et al. report that the frequency of CAM use in cancer patients ranges from 22.1% to 84.1%¹⁵. It can be inferred from this data that CAM methods are preferred more frequently by patients with chronic diseases such as lung cancer and COPD in our society and easier to use compared to conventional medical treatment as perceived by these patients. This can make patients more prone to abuse by people without proper medical training which may lead to unwanted incidences. In this study, we aimed to investigate the behaviors related to and factors affecting CAM in patients with chronic lung diseases, such as lung cancer and COPD.

Material and Method

Sample

Our study is descriptive and cross-sectional and was conducted at the Canakkale Onsekiz Mart University Health Application and Research Hospital. The sample consisted of two different groups of inpatients and outpatients with lung cancer and COPD. Thirty patients from each group were included in the study. Only the patients having volunteered to participate in the study, having the adequate level of mental competence to fill out the forms in the study and having given written consent to participate in the study. The research approval was obtained from the local ethics committee (October 31, 2018, Decision no: 2018-19).

Data Collection Tools

National Institutes of Health (NIH) refers to CAM as “a group of diverse medical and health care systems, practices, and products that are not presently considered to be part of conventional medicine” and the National Center for Complementary and Alternative Medicine (NCCAM) places the CAM methods in five categories.

- I. Alternative whole medical systems (homeopathic and naturopathic, Chinese, and Ayurvedic medicine)
- II. Manipulative and body-based methods (chiropractic and osteopathic manipulation, massage)
- III. Biologically based therapies (herbs, foods, vitamins and other dietary supplements, including natural products such as shark cartilage)
- IV. Mind-body interventions (meditation, prayer, mental healing, art, music, and dance therapy)
- V. Energy therapies (*qi gong*, Reiki, therapeutic touch, and electromagnetic field exposure)¹⁶.

The data were collected with the questionnaire built on these parameters.

Sociodemographic and Clinical Data Form: It is a tool developed by the researchers to obtain sociodemographic and clinical data for the purposes of the study. It also incorporates an evaluation form intended to learn survey the patients' CAM experiences and the relevant data.

State-Trait Anxiety Inventory (STAI): It was used to assess the participating patients' anxiety levels in the study. The inventory was translated into Turkish and then the translation's validity and reliability were investigated. The scale consists of two different subscales to measure state anxiety and trait anxiety, each of which consists of 20 items. The state anxiety subscale (STAI-I) measures the level of anxiety in a particular situation. The trait anxiety subscale (STAI-II) measures the anxiety experienced on a daily basis as independent of the individual's situation. The scores on both scales ranged from 20 to 80 High scores indicate high anxiety levels, whereas low scores indicate low anxiety levels^{17,18}.

Eysenck Personality Questionnaire Revised-Abbreviated (EPQR-A): The scale is a 24-item shortened version of the Eysenck Personality Questionnaire Revised-Abbreviated (EPQR-A 48), designed to measure the three factors posited by Eysenck: Neuroticism (N), Extraversion (E), Psychoticism (P), and validity with

one subscale (deception). Each subscale contained six items, and the participants were expected to respond each item as Yes (1) or No (0). The range of the points for each personality trait is from 0 to 6. The validity and reliability of the scales' Turkish translations study were assessed by Karanci et al.^{19,20}

Statistical Analysis

The obtained data were analyzed with SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), a statistical software program. The numerical variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) and median and the categorical variables as percentage (%). Whether the variables were normally distributed or not was tested by the Kolmogorov-Smirnov test. In the study, the Student's t-test was used for the analysis of the continuous variables that satisfied the assumptions of parametric tests and the Mann-Whitney U test was used for the analysis of the continuous variables that did not meet the assumptions of parametric tests. Chi-square test was used for group-based comparisons of the categorical variables. Linear regression (enter model) was employed to analyze the independent variables that might impact the dependent variable of CAM use. The probability values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results

16.7% (n=10) of the participants were female and 83.3% (n=50) were male. The participants ranged between 24 and 87 years of age and the mean age was calculated to be 63.2 ± 15.8 years. 76.7% (n=46) of the patients were married, while 23.3% (n=14) were single, widowed, or divorced. 71.7% (n=43), 11.7% (n=7), and 6.7% (n=4) of the participants were elementary school, high school, university graduates, respectively, whereas 10% (n=6) were illiterate (Table 1).

75% (n=45) of the participants had a history of CAM use and 71.1% (n=32) stated that they derived substantial benefit from the treatment (Table 2).

The most commonly employed CAM method was the combination of phytotherapy and apitherapy with 48.3% (n=29). 28.8% (n=13) of those who availed of a CAM method, used it once a week and 48.8% (n=22) once a month. The common causes of CAM use were listed as coughs by 66.6% (n=30), supplementing primary treatment by 33.3% (n=15), general weakness by 33.3% (n=15), and weight loss by 31.1% (n=14).

In their decision to use the CAM methods, 11 patients (18.3%), 6 patients (10%), 4 patients (6.7%) stated that their friends, families, media played a decisive role, respectively. 4 (6.7%) expressed it was their own decision. No statistically significant difference was detected between the COPD and lung cancer groups in terms of the frequency of the CAM use and its benefits ($p > 0.05$).

The analyses yielded no statistically significant relationship between the CAM use (dependent variable) and the independent variables, i. e. sociodemographic characteristics, disease type, and score from the STAI and EPQ ($p > 0.05$). On the other hand, the factors influential in the level of benefiting were analyzed by linear regression. In the analyses, the level of benefiting was operationalized as independent variable, while gender, age, education, income, STAI-I, STAI-II, EPQ-N, EPQ-E, and EPQ-P as dependent variables. A significant positive linear correlation was observed between EPQ psychoticism subscale and the CAM users' views of benefit ($\beta = 0.354$, $p = 0.029$) (Table 3).

Table 1. Sociodemographic characteristics of the participants

Variables	Mean (n)	SD/%
Age (years)	63.2	15.8
Gender	Female	10
	Male	50
Marital status	Married	46
	Single	3
	Widowed/divorced	11
Education	Illiterate	6
	Elementary school	43
	High school	7
	University	4

SD, standard deviation.

Table 2. Participants' CAM use and views of benefit

Variables	N	(%)
CAM use	No	15
	Yes	45
Views of benefit	Unsatisfied (0 points)	13
	Slightly satisfied (1 point)	17
	Very satisfied (2 points)	12
	Extremely satisfied (3 points)	3

Table 3. Factors independently affecting CAM users' views of benefit

Independent variables	B (S.E.)	β	p	95.0% CI for B	
				Lower	Upper
Constant	0.362 (1.298)				
Gender	0.82 (0.424)	0.033	0.847	-0.779	0.943
Age	0.211 (0.125)	0.285	0.101	-0.043	0.464
Education	-0.007 (0.170)	-0.007	0.969	-0.352	0.338
Income	0.242 (0.269)	0.159	0.374	-0.303	0.787
STAI-I	-0.003 (0.18)	-0.037	0.864	-0.039	0.033
STAI-II	-0.023 (0.023)	-0.212	0.332	-0.070	0.024
EPQ-N	-0.041 (0.090)	-0.077	0.656	-0.224	0.143
EPQ-E	0.046 (0.077)	0.127	0.553	-0.110	0.203
EPQ-P	0.300 (0.132)	0.354	0.029	0.032	0.567

STAI, state-trait anxiety inventory; β , standardized coefficient; EPQ-N/E/P, Eysenck personality questionnaire (neuroticism, extroversion, psychoticism subscales). EPQ subscales, STAI, age, education, gender, and income independent variables were analyzed with linear regression (Enter) and the most suitable model was used.

Discussion

In our study, the rates of CAM use were high. The most common reason was cough and the most frequently used method was the combination of phytotherapy and apitherapy. Although most of the patients having recourse to the CAM methods stated that they substantially benefited from the treatment, the psychotic personality traits of these patients were found to be decisive in this result. CAM use is very common in many chronic lung diseases, especially in lung cancer, and its use continues to increase. Three quarters of the patients in our study were found to employ at least one CAM method actively supplementary to conventional medical treatments. Generally, patients resort to CAM to support their primary medical treatment or to reduce side effects thereof. Moreover, a desire to find a working remedy for their chronic diseases may also lead patients to use CAM^{21,22}. The usage and duration of these applications may vary according to the clinical condition of the patient. Baron et al. report an increase in CAM use as the duration and severity of the disease increase²³. In the literature, among the commonly used CAM applications in the occurrence of chronic lung diseases are herbal products, breathing techniques, steam applications, massage, prayer, and preach^{24,25} and it is known that individuals' interest and thoughts concerning CAM practices are affected by various psychosocial factors^{26,27}. In our study, it was found that the use of herbal products with honey was the most commonly preferred CAM method. The

reasons for the frequent use of herbal products and apitherapy are the influence of visual and print media, their being considered safe and natural, relatively easy access to them, and their widespread use in society.

The related literature reports that the most common source of information about CAM is friends or neighbors (38.6%)^{28,29}. It is stated that patients generally receive information about CAM applications from media and they are also affected by the previous experiences of family members and other people in their social network^{30,31}. The present study revealed that friends were the most common factor in resolving to use CAM, while media and family too were listed as important influencers. It was observed that patients resorted to these applications based on the information obtained from media and their friends and/or family member with no proper education. In our study, although their personality or anxiety levels were found not to be correlated with the decision to use CAM, it was realized that the psychotic personality traits might have a determining role in the CAM users' views of benefit. Although individuals' perceived benefit from CAM is subjective, patients' treatment motivation, their expectations from treatment, patients' reality testing and perception manner may affect its efficacy^{32,33}.

Eysenck's personality theory states that there are three biologically based traits of temperament: psychoticism, extroversion, and neuroticism. According to Eysenck, individuals display different levels of each trait, which are what make our personality^{20,34}. The described personality traits are related to certain emotions and behaviors. Psychoticism is the third personality trait in the Eysenck's personality theory and the level of psychoticism reflects their vulnerability to tough-mindedness, impulsiveness, hostility, and nonconformity. This trait also includes some unusual, bizarre thoughts and perceptions^{35,36}. In this study, the patients with high scores of psychoticism were observed to have more positive ideas about the benefits from CAM use than the others did. Thus, these findings may indicate that individuals with psychoticism traits can be described to be tough-minded and/or have distorted perceptions of reality.

This study has several limitations worth noting. The most obvious limitation in this research was the small sample size. Furthermore, the fact that EPQR-A's subscale of psychoticism has a lower internal consistency compared to the other subscales due to the concerns over its reliability and validity as studied in Turkey, which should be assessed as a limitation of our study.

As a result, personality traits have a decisive role in our perception of events and decision-making. In the present study, it was found that COPD and lung cancer patients frequently used the CAM methods. The most commonly used CAM methods were herbal treatment and apitherapy. However, the patients were found not to be knowledgeable enough about CAM. This negative situation may make patients using CAM more prone to abuse or lead to adverse side effects. Therefore, health professionals should be able to guide CAM-using patients and manage their safety since CAM use is becoming a more common practice every day. In this regard, it is considered that health care providers should be educated about this phenomenon.

References

- Harris PE, Cooper KL, Relton C, Thomas KJ. Prevalence of complementary and alternative medicine (CAM) use by the general population: a systematic review and update. *Int J Clin Pract* 2012;66(10):924–39.
- Fischer FH, Lewith G, Witt CM, Linde K, von Ammon K, Cardini F et al. High prevalence but limited evidence in complementary and alternative medicine: guidelines for future research. *BMC Complement Altern Med* 2014;14:46.
- Şahin ZA, Şahin M. The view of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) on complementary and alternative medicine (CAM) in Eastern Turkey. *African J Tradit Complement Altern Med* 2013;10(4):116–21.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61(2):69–90.
- Allemani C, Weir HK, Carreira H, Harewood R, Spika D, Wang X-S et al. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet* 2015;385(9972):977–1010.
- Türkiye Kanser İstatistikleri 2014 Yılı Türkiye Kanser İstatistikleri; <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri/yillar/2014-yili-turkiye-kanser-istatistikleri.html> [accessed 17 06 19].
- Vestbo J, Hurd SS, Agustí AG, Jones PW, Vogelmeier C, Anzueto A et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(4):347–65.
- Moy ML, Teylan M, Danilack VA, Gagnon DR, Garshick E. An Index of Daily Step Count and Systemic Inflammation Predicts Clinical Outcomes in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11(2):149–57.
- Pauwels RA, Buist AS, Calverley PMA, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(5):1256–76.
- Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van Rompay M, et al. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990–1997. *JAMA* 1998;280(18):1569.
- Bücker B, Groenewold M, Schoefer Y, Schäfer T. The use of complementary alternative medicine (CAM) in 1001 German adults: results of a population-based telephone survey. *Gesundheitswesen* 2008;70(8–9): e29–36.
- Bodeker G, Ong CK, Grundy C, Burford G, Shein K. WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine: Text and Map Volumes. Kobe: World Health Organization, the WHO Centre for Health Development; Pck edition, 2005.
- Frass M, Strassl RP, Friehs H, Müllner M, Kundi M, Kaye AD et al. Use and acceptance of complementary and alternative medicine among the general population and medical personnel: A systematic review. *Ochsner Journal* 2012;12(1):45–56.
- Özçelik G, Toprak D. Bitkisel tedavi neden tercih ediliyor? *Ankara Med J* 2015;15(2):48–58.
- Tas F, Ustuner Z, Can G, Eralp Y, Camlica H, Basaran M et al. The prevalence and determinants of the use of complementary and alternative medicine in adult Turkish cancer patients. *Acta Oncol* 2005;44(2):161–7.
- National Center for Complementary and Alternative Medicine (NCCAM). The Use of Complementary and Alternative Medicine in the United States Bethesda, Md: National Institutes of Health; December 2008.
- Spielberger CD. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (STAI). Palo Alto, CA. Consulting Psychologists Press; 1983.
- Öner N, Le Compte A. Durumluk-Süreklilik Kaygı Envanteri El Kitabı. İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Yayınları; 1983:1–26.
- Francis LJ, Brown LB, Philipchalk R. The development of an abbreviated form of the revised Eysenck Personality Questionnaire (E-pqr-A): Its use among students. *Personality and Individual Differences* 1992;13(4):443–9.
- Karancı AN, Dirik G, Yorulmaz O. Turkish Adaptation of Eysenck Personality Questionnaire Revised-Abbreviated. *Turkish Journal of Psychiatry* 2007;18(3):254–61.
- Çakmak S, Nural N. Kronik hastalıklarda tamamlayıcı ve alternatif tedavi uygulamaları. *Türkiye Klinikleri J Intern Med Nurs-Special Topics* 2017;3(2):57–64.
- Molassiotis A, Panteli V, Patiraki E, Ozden G, Platin N, Madsen E, et al. Complementary and alternative medicine use in lung cancer patients in eight European countries. *Complement Ther Clin Pract* 2006;12(1):34–9.
- Baron SE, Goodwin RG, Nicolau N, Blackford S, Goulden V. Use of complementary medicine among outpatients with dermatologic conditions within Yorkshire and South Wales, United Kingdom. *J Am Acad Dermatol* 2005;52(4):589–94.
- Akinci AC, Zengin N, Yildiz H, Sener E, Gunaydin B. The complementary and alternative medicine use among asthma and chronic obstructive pulmonary disease patients in the southern region of Turkey. *Int J Nurs Pract* 2011;17(6):571–82.

25. Sidora-Arcoleo K, Yoos HL, Kitzman H, McMullen A, Anson E. Don't ask, don't tell: parental nondisclosure of complementary and alternative medicine and over-the-counter medication use in children's asthma management. *J Pediatr Health Care* 2008;22(4):221-9.
26. Sirois FM, Gick ML. An investigation of the health beliefs and motivations of complementary medicine clients. *Soc Sci Med* 2002;55(6):1025-37.
27. Wagner PJ, Jester D, LeClair B, Taylor AT, Woodward L, Lambert J. Taking the edge off: why patients choose St. John's Wort. *J Fam Pract* 1999;48(8):615-9.
28. Durusoy Ç, Güleç AT, Durukan E, Bakar C. Dermatoloji polikliniğine başvuran akne vulgaris ve melasma hastalarında tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı: anket çalışması. *Dermatol* 2010;4:14-7.
29. Eisenberg DM, Kessler RC, Van Rompay MI, Kaptchuk TJ, Wilkey SA, Appel S et al. Perceptions about complementary therapies relative to conventional therapies among adults who use both: results from a national survey. *Ann Intern Med* 2001;135(5):344.
30. Palinkas LA, Kabongo ML. The use of complementary and alternative medicine by primary care patients. *A Surf*Net Study. J Fam Pract* 2000;49(12):1121-30.
31. Begbie SD, Kerestes ZL, Bell DR. Patterns of alternative medicine use by cancer patients. *Med J Aust* 1996;165(10):545-8.
32. Owens JE, Taylor AG, Degood D. Complementary and alternative medicine and psychologic factors: Toward an individual differences model of complementary and alternative medicine use and outcomes. *J Altern Complement Med* 1999;5(6):529-41.
33. Honda K, Jacobson JS. Use of complementary and alternative medicine among United States adults: The influences of personality, coping strategies, and social support. *Prev Med (Baltim)* 2005;40(1):46-53.
34. Bech P. How to measure the personality. *Personality and Disease*, Christoffer Johansen (Ed.), London: Academic Press, 2018, pp:17-32.
35. Ashton MC. *Personality Disorders. Individual Differences and Personality*, Michael C. Ashton (Ed.), Third Edition, London: Academic Press, 2018, Pages 179-97.
36. Knežević G, Lazarević L. B, Purić D, Bosnjak M, Teovanović P, Petrović Bet al. Does Eysenck's personality model capture psychosis-proneness? A systematic review and meta-analysis. *Personality and Individual Differences* 2019;143:155-164.



Obez Bireylerde Sosyal Kaygı Düzeyi ve Sosyal Kaygıyı Etkileyen Etmenler

Social Anxiety Level Among Obese People and Factors That Influence Social Anxiety

M. Ramiz Aktaş¹, Erol Özmen²

¹Manisa Akhisar Mustafa Kirazoğlu Devlet Hastanesi, Beslenme ve Diyet Birimi; ²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sağlık Hizmetlerinde İletişim Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

ABSTRACT

Aim: In this study, we aimed to determine social anxiety levels among obese people and factors that have influence on social anxiety.

Material and Method: The study group consisted of 100 consecutive obese patients over 18 years who applied to diet polyclinic. Sociodemographic Information Form, Hospital Anxiety and Depression Scale and Liebowitz Social Anxiety Scale were used as measuring instruments.

Results: In the study, it was determined that the rate of very severe social anxiety on obese patients who participate in the research is found to be 47%. The rate of depression and anxiety according to Hospital Anxiety and Depression Scale were 28% and 22% respectively. There was a statistically meaningful relationship between BMI, anxiety, depression, education level and social anxiety.

Conclusion: It is stated that social anxiety often occurs on obese people. Moreover, it is shown that depression, anxiety and increase in BMI level have an additive effect on social anxiety. It is found that the intensity of social anxiety among obese people who graduate from primary school and high school is higher than university graduates.

Key words: obesity; social anxiety; depression; anxiety disorder

ÖZET

Amaç: Obez bireylerde sosyal kaygı düzeyinin ve sosyal kaygıyı etkileyen etmenlerin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Araştırma grubunu diyet polikliniğine başvuran, obezite tanısı konulan, 18 yaşından büyük ardışık 100 hasta oluşturmuştur. Veri toplama aracı olarak Sosyodemografik Bilgi Formu, Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeği ve Liebowitz Sosyal Kaygı Ölçeği kullanılmıştır.

Bulgular: Araştırmaya katılan obez hastalarda çok şiddetli sosyal kaygı görülme oranı %47 olarak bulunmuştur. Sosyal kaygı ile anlamlı ilişkileri saptanan depresyon ve anksiyete görülme oranları Hastane Anksiyete ve Depresyon ölçeğine göre sırasıyla %28 ve

%22 olarak bulunmuştur. Ayrıca BKİ düzeyi ve eğitim düzeyi ile sosyal kaygı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Sonuç: Obez bireylerde sosyal kaygının sık görüldüğü, depresyon, anksiyete ve BKİ düzeyinin artmasının sosyal kaygıyı artırıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. İlköğretim ve lise mezunları obezlerde, üniversite mezunları obezlere kıyasla sosyal kaygı şiddetinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: obezite; sosyal kaygı; depresyon; anksiyete bozukluğu

Giriş

Obezite, günümüzde en sık karşılaşılan sağlık problemlerinden biridir. Obezitenin varlığı kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi çok ciddi sağlık problemleri için risk faktörüdür¹. Obezite oluşumunda yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, sosyokültürel etmenler, sedanter yaşam tarzı ve kalıtsal nedenler önemli rol oynamaktadır². Obezite tedavisinde yaşam tarzı değişiklikleri gibi yöntemlerin, ruhsal sağlıkta ve yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde başarılı olduğu belirtilmektedir³. Sosyal anksiyete bozukluğu, bireyin başkaları tarafından yargılanabileceği kaygısını yaşadığı toplumsal ortamlarda rezil veya mahcup olacağı konusunda belirgin ve süreklilik arz eden bir korkusunun olma durumudur⁴. DSM-IV'e göre sosyal kaygısı olan kişi, korkulan toplumsal ortamlardan kaçma ya da kaçınma davranışı gösterir veya yoğun anksiyete ya da sıkıntıyla buna katlanır⁵. Sosyal kaygısı saptanan bireylerin başkaları tarafından değerlendirilmeye yönelik bir korku yaşadığı saptanmıştır⁶. Sosyal anksiyete bozukluğu nüfusun %1'ini etkiler ve tedavi edilmezse kronik ve yaşam kalitesini düşürücü bir seyir

İletişim/Contact: M. Ramiz Aktaş, Manisa Akhisar Mustafa Kirazoğlu Devlet Hastanesi, Beslenme ve Diyet Birimi, Manisa, Türkiye • **Tel:** 0555 889 13 55 • **E-mail:** m.r.aktas@hotmail.com • **Geliş/Received:** 19.05.2020 • **Kabul/Accepted:** 07.07.2020

ORCID: M. Ramiz Aktaş, 0000-0003-3777-3982 • Erol Özmen, 0000-0002-5696-2685

izler⁷. Literatürde obezite ile sosyal kaygı arasında çift yönlü etkileşimin olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Sosyal kaygı düzeyi yüksek olan bireylerde obezitenin varlığı sosyal kaygılarını iyice tetikleyebilmektedir. Sosyal kaygıları şiddetlenmiş obez bireylerin obezite tedavisine uyumu güçleşmektedir⁸. Ancak bu çalışmaların sayısı çok azdır. Ülkemizde ise obezitenin sosyal kaygı ile ilişkisi odaklı bir araştırma bulunmamaktadır. Obez hastalarda psikiyatrik bozuklukların genel olarak değerlendirildiği çalışmalarda ise sosyal kaygı ile ilgili çelişkili sonuçlar ortaya çıkmıştır^{9,10}. Obezite ile sosyal kaygı arasındaki ilişki yeterince araştırılmamış bir konudur. Bu konuda yapılacak çalışmalar obezite tedavisinde yeni yaklaşımların ele alınmasını sağlayabilir. Bu nedenlerle bu çalışmada obez bireylerde sosyal kaygı belirtilerinin yaygınlığının ve obez bireylerde sosyal kaygıyı etkileyen etmenlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırma kesitsel araştırma özelliğindedir. Araştırma Ege Bölgesinde bir ilçe Devlet Hastanesi Diyet Polikliniği'nde Nisan-Mayıs 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırma grubunu Diyet Polikliniği'ne Nisan-Mayıs 2018 tarihleri arasında başvuran hastalardan obezite tanısı konulan ardışık 100 hasta oluşturmuştur. Bireyler gönüllü onamları alındıktan sonra araştırmaya dahil edilmişlerdir. Araştırmaya alınmak için ölçütler: en az 18 yaşında olmak, Beden Kitle İndeksinin (BKİ) 30'un üstünde olması, kendini değerlendirme ölçeklerini doldurabilecek yeterlikte olmasıdır. Son bir aydır psikiyatrik ilaç kullanan hastalar ise araştırmaya alınmamıştır. Araştırmada verilerin toplanması için: Sosyodemografik Bilgi Formu, Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeği ve Liebowitz Sosyal Kaygı Ölçeği kullanılmıştır. Araştırmanın yürütülmesi için T.C. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'ndan (13.10.2017 tarihli E.80216 yazılı) onay alınmıştır. Ayrıca hastanenin bağlı bulunduğu il sağlık müdürlüğünden ve hastane yönetiminden yazılı izinler alınmıştır.

Veri Toplama Araçları

Sosyodemografik Bilgi Formu: Araştırmacılar tarafından oluşturulmuş yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi, medeni durum, meslek, sosyoekonomik düzey, yetiştiği yer, yaşadığı yer, alışkanlıklar, özgeçmişte ve soy geçmişte psikiyatrik öykü bilgilerini almaya yönelik bilgi formudur. Toplam 19 sorudan oluşur.

Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeği: Bedensel hastalığı olan hastalar ve birinci basamak sağlık hizmetine başvuranlarda anksiyete ve depresyon yönünden riski belirlemek, düzeyini ve şiddet değişimini ölçmek amacıyla geliştirilmiş bir kendini değerlendirme ölçeğidir¹¹. Aydemir ve arkadaşları¹² tarafından Türkçe'ye çevrilmiş, geçerlilik ve güvenilirlik çalışması yapılmıştır. Anksiyete ve depresyon alt ölçekleri vardır. Ölçeğin iç tutarlılığı (Cronbach's Alpha) anksiyete alt ölçeği için 0,8525, depresyon alt ölçeği için 0,7784 olarak bulunmuştur. Madde-toplam puan korelasyon katsayıları anksiyete alt ölçeğinde 0,8161 ile 0,8547 arasında, depresyon alt ölçeğinde ise 0,7374 ile 0,7795 arasında değişmektedir. İki yarım güvenilirliğinde, anksiyete alt ölçeği için $r=0,8532$, depresyon alt ölçeği için 0,8069 olarak saptanmıştır. Toplam 14 sorudan oluşur. Anksiyete ve depresyon alt ölçekleri için minimum puan 0, maksimum puan 21'dir. Ölçekte alınan puanın artması anksiyete ve depresyon şiddetinin arttığı anlamına gelir. Kesme noktaları anksiyete alt ölçeği için 10, depresyon alt ölçeği için 7 olarak saptanmıştır¹².

Liebowitz Sosyal Kaygı Ölçeği: Bireylerin, korku ve/veya kaçınma davranışı gösterdikleri sosyal ilişki ve performans durumlarını değerlendirmek üzere geliştirilmiştir. Ülkemizde geçerlik ve güvenilirlik çalışması Dilbaz ve Güz¹³ tarafından yapılmıştır. Ölçeğin iç tutarlılığı (Cronbach's Alpha) 0,96 olarak saptanmıştır. Değerlendiriciler arası bağıntı katsayısı ise $r=0,83$ olarak bulunmuştur. Toplam 24 maddeden oluşur. Toplam puan, korku ve kaçınma puanlarının toplanması ile elde edilir. Minimum puan 48, maksimum puan ise 192'dir. Puanın artması sosyal kaygı şiddetinin arttığı anlamına gelir. Çok şiddetli sosyal kaygı için kesme puanı 95 kabul edilmiştir¹³.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde SPSS 24.0 paket programından yararlanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler için sayı ve yüzde kullanılmıştır. Yaş, obezite derecesi, eğitim düzeyi, kardeş sayısı, doğum sırası, son 5 yılda kimle yaşadığı, çocukluğun geçtiği yer, son 15 yıl yaşanan yer, ekonomik düzey ve çalışma süresinin sosyal kaygıya, depresyona ve anksiyeteye etkisi ANOVA ile ölçülmüştür. Cinsiyet, medeni durum, çalışma durumu, geçmişte çalışma durumu, kronik ruhsal hastalık durumu, ruhsal hastalık şikayeti ile doktora başvurma ve aile kronik ruhsal hastalık durumunun sosyal kaygıya, depresyona ve anksiyeteye etkisi t-test ile ölçülmüştür. Sosyal kaygı ile arasında anlamlı ilişki saptanan

depresyon, eğitim düzeyi, anksiyete ve BKİ puanının sosyal kaygıya etkisi önce tek tek ardından da çoklu doğrusal regresyon analizi ile bulunmuştur. Elde edilen bulgular %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

Bulgular

Araştırmaya katılan bireylerin %80'inin (n=80) kadınlardan ve %20'sinin (n=20) erkeklerden oluştuğu görülmüştür. Bireylerin %38'inin (n=38) 30-45 yaş arasında olduğu, %79'unun (n=79) evli olduğu, %58'inin (n=58) ilköğretim mezunu olduğu, %64'ünün (n=64) BKİ değerinin 30-35 kg/m² olduğu, %65'inin (n=65) son 5 yılda eş ve çocuklar ile yaşadığı, %56'sının (n=56) şuan herhangi bir işte çalışmadığı, %63'ünün (n=63) üç kardeş ve üzeri olduğu, %72'sinin (n=72) son 15 yılda en çok ilçede yaşadığı, %46'sının (n=46) çocukluğunu köyde geçirdiği, %97'sinin (n=97) tedavi gördüğü psikiyatrik bir hastalığı olmadığı ve %87'sinin (n=87) ekonomik düzeyini orta olarak algıladığı saptanmıştır (Tablo 1).

Araştırmaya katılan bireylerin HAD-A (Anksiyete) puan ortalaması 7,56±3,996 (Min: 0 Maks: 21) HAD-D (Depresyon) puan ortalaması ise 6,04±4,00 (Min: 0 Maks: 21) olarak saptanmıştır. Örneklemin %22'sinin anksiyete puanlarının anksiyete kesme puanından, %28'inin ise depresyon puanlarının depresyon kesme puanından yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 2).

Liebowitz Sosyal Kaygı Ölçeği'ne göre araştırmaya katılan hastalarda sosyal kaygı görülme oranı %1 (n=1) olarak bulunmuştur. Araştırmaya katılanların %5'inde (n=5) orta derecede sosyal kaygı, %20'sinde (n=20) belirgin olarak sosyal kaygı, %27'sinde (n=27) şiddetli sosyal kaygı, %47'sinde (n=47) çok şiddetli sosyal kaygı saptanmıştır (Tablo 2).

Sosyal Kaygı Puan Ortalamalarının Bağımsız Değişkenler ile İlişkisi

Bağımsız değişkenlerden yalnız eğitim düzeyi sosyal kaygı puan ortalamaları üzerinde anlamlı farklılık oluşturmuştur. İlköğretim ve lise mezunlarında, üniversite mezunlarına kıyasla sosyal kaygı şiddetinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (F=4,214, p<0,05). Hastaların cinsiyetleri, yaşları, obezite derecesi, kardeş sayısı, doğum sırası, çalışma durumu, medeni durumu, ekonomik düzeyi, son 15 yılda yaşanan yer, geçmişte çalışma durumu, çalışma süresi, kronik ruhsal hastalık durumu, kronik ruhsal hastalık şikayeti ile doktora

başvurma durumu ve ailede kronik ruhsal hastalık durumu ile sosyal kaygı puan ortalamaları üzerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 3).

Çok Değişkenli Analiz

Anksiyete, depresyon, BKİ değeri ile sosyal kaygı arasında pozitif yönlü bir ilişki bulunmuştur. Eğitim düzeyi ile sosyal kaygı arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmuştur (Tablo 4). Anksiyete katsayısındaki 1 birimlik artışın sosyal kaygı katsayısında 0,321 birimlik artışa, depresyon katsayısındaki 1 birimlik artışın sosyal kaygı katsayısında 0,377 birimlik artışa ve BKİ değerindeki 1 birimlik artışın sosyal kaygı katsayısında 0,560 birimlik artışa neden olduğu saptanmıştır.

Tartışma

Araştırmamızda obez bireylerin sosyal kaygıları ile eğitim düzeyleri, BKİ değerleri, anksiyete puanları ve depresyon puanları arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. Obez bireylerin cinsiyetleri, yaşları, obezite dereceleri, kardeş sayısı, doğum sırası, çalışma durumu, medeni durumu, ekonomik düzeyi, son 15 yılda yaşanan yer, geçmişte çalışma durumu, çalışma süresi, kronik ruhsal hastalık durumu, kronik ruhsal hastalık şikayeti ile doktora başvurma durumu ve ailede kronik ruhsal hastalık durumu ile sosyal kaygı puan ortalamaları üzerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Obezite ile sosyal kaygı arasındaki ilişki üzerine yapılacak çalışmalar obezite tedavisinde yeni yaklaşımların değerlendirilmesini sağlayabilir. Çalışmamızın Ege'nin bir ilçesinde yapılmış olması ülkemizin kültürel çeşitliliği nedeniyle bulguların bütün ülkeye genelleştirilemeyeceğini düşündürmektedir. Çalışmanın ilçe devlet hastanesinde yapılmış olması, özel hastaneleri tercih eden hasta grubunun dahil edilememesine neden olmuştur.

BKİ değeri arttıkça sosyal kaygı puanının artmasına kilo fazlalığının obez görünümü belirginleştirmesinin etkili olduğu söylenebilir. Üniversite mezunu obezlerin, lise ve ilköğretim mezunları obezlere kıyasla sosyal kaygı puanlarının daha düşük olmasına kilo vermesinin bilimsel olarak mümkün olduğunu düşünmesinin etkili olduğu söylenebilir. Popülasyonun diyet tedavisi almak için hastaneye başvuranlardan oluştuğu düşünüldüğünde obeziteden kurtulmak için çaba göstermelerinin sosyal kaygı puanlarının obeziteden kurtulmak için herhangi bir çabaya gerek

Tablo 1. Araştırmaya katılan bireylerin sosyodemografik değişkenlere ilişkin dağılımı (n=100)

Bireysel özellikler	n	%
Cinsiyet		
Kadın	80	80
Erkek	20	20
Yaş		
18-29	24	24
30-44	38	38
45-59	28	28
≥60	10	10
Medeni durum		
Evlü	79	79
Bekar	21	21
Eğitim düzeyi		
İlköğretim	58	58
Lise	20	20
Üniversite	22	22
Kardeş sayısı		
1	12	12
2	25	25
≥3	63	63
Doğum sırası		
1	32	32
2	28	28
≥3	40	40
Son beş yılda en çok kiminle yaşadığı		
Yalnız	7	7
Sadece eş	14	14
Eş ve çocuklar	65	65
Anne ve baba	14	14
Çocukluğun geçtiği yer		
Köy	46	46
İlçe	46	46
İl	8	8
Son 15 yıl en çok yaşanılan yer		
Köy	21	21
İlçe	72	72
İl	7	7
Ekonomik düzey		
Çok düşük	3	3
Düşük	6	6
Orta	87	87
Yüksek	3	3
Çok yüksek	1	1
Çalışma durumu		
Evet	44	44
Hayır	56	56
Geçmişte çalışma durumu		
Evet	53	53
Hayır	47	47
Çalışma süresi		
1 Yılda az	40	40
1-5 yıl arası	20	20
6-10 yıl arası	8	8
11 yıl ve üzeri	32	32
Kronik ruhsal hastalık durumu		
Evet	3	3
Hayır	97	97
Ruhsal hastalık şikayeti ile doktora başvurma		
Evet	22	22
Hayır	78	78
Ailede kronik ruhsal hastalık durumu		
Evet	9	9
Hayır	91	91

Tablo 2. Araştırmaya katılan bireylerin depresyon, anksiyete ve sosyal kaygı düzeyleri

Ölçekler	n	%
HAD - A		
Eşik altı (0-10 puan)	78	78
Eşik üstü (11-21 puan)	22	22
HAD - D		
Eşik altı (0-7 puan)	72	72
Eşik üstü (8-21 puan)	28	28
LIEBOWITZ		
Sosyal kaygı yok (<55)	1	1
SOSYAL KAYGI		
Orta derecede sosyal kaygı (55-65)	5	5
ÖLÇEĞİ		
Belirgin sosyal kaygı (65-80)	20	20
Şiddetli sosyal kaygı (80-95)	27	27
Çok şiddetli sosyal kaygı (>95)	47	47

Tablo 3. Sosyal kaygı puan ortalamalarının bağımsız değişkenler ile ilişkisi

Tanıttıcı özellikler	Sayı	LIEBOWITZ X ± SS	Önemlilik
Cinsiyet			
Kadın	80	3,35±0,671	t=0,306
Erkek	20	3,40±0,648	p>0,05
Yaş			
18-30 yaş arası	24	3,29±0,690	F=2,413
30-45 yaş arası	38	3,55±0,686	p>0,05
45-60 yaş arası	28	3,18±0,548	
≥60	10	3,60±0,516	
Obezite derecesi			
30-34,99 kg/m ²	63	3,38±0,682	F=0,059
35-39,99 kg/m ²	31	3,42±0,620	p>0,05
≥40 kg/m ²	6	3,33±0,516	
Medeni durum			
Evlü	79	3,46±0,636	t=1,990
Bekar	21	3,14±0,615	p>0,05
Eğitim düzeyi			
İlköğretim	58	3,53±0,627	F=4,214
Lise	20	3,30±0,657	p<0,05
Üniversite	22	3,09±0,610	
Kardeş sayısı			
1	12	3,17±0,718	F=1,221
2	25	3,52±0,586	p>0,05
≥3	63	3,38±0,658	
Doğum sırası			
1	32	3,38±0,751	F=0,263
2	28	3,46±0,508	p>0,05
≥3	40	3,35±0,662	
Son beş yılda en çok kiminle yaşadığı			
Yalnız	7	3,14±0,690	F=2,074
Sadece eş	14	3,36±0,842	p>0,05
Eş ve çocuklar	65	3,49±0,590	
Anne ve baba	14	3,07±0,616	
Çocukluğun geçtiği yer			
Köy	46	3,54±0,622	F=2,608
İlçe	46	3,24±0,673	p>0,05
İl	8	3,38±0,518	
Son 15 yıl en çok yaşanılan yer			
Köy	21	3,67±0,483	F=2,606
İlçe	72	3,31±0,685	p>0,05
İl	7	3,43±0,535	
Ekonomik düzey			
Çok düşük	3	3,67±0,577	F=0,505
Düşük	6	3,33±0,816	p>0,05
Orta	87	3,40±0,655	
Yüksek	3	3,00±0,00	
Çok yüksek	1	1,00±0,00	
Çalışma durumu			
Evet	44	3,27±0,758	t=1,613
Hayır	56	3,48±0,539	p>0,05
Geçmişte çalışma durumu			
Evet	53	3,34±0,706	t=0,822
Hayır	47	3,45±0,583	p>0,05
Çalışma süresi			
1 yıldan az	40	3,48±0,554	F=1,168
1-5 yıl arası	20	3,50±0,607	p>0,05
5-10 yıl arası	8	3,38±0,744	
11 yıl ve üzeri	32	3,22±0,751	
Kronik ruhsal hastalık durumu			
Evet	3	3,33±0,577	t=0,153
Hayır	97	3,39±0,654	p>0,05
Ruhsal hastalık şikayeti ile doktora başvurma			
Evet	22	3,27±0,767	t=0,958
Hayır	78	3,42±0,614	p>0,05
Ailede kronik ruhsal hastalık durumu			
Evet	9	3,56±0,527	t=0,800
Hayır	91	3,37±0,631	p>0,05

Tablo 4. Anksiyete, depresyon, eğitim düzeyi ve BKİ değeri ile sosyal kaygı arasındaki ilişki

Örnek	Standardize olmayan katsayılar		Standardize katsayılar		t	Sig.
	B	Standart Hata	Beta			
(Sabit)	86,301	29,588			3,516	0,010
ANKSİYETE PUANI	1,054	0,586	0,182		1,113	0,032
DEPRESYON PUANI	0,641	0,716	0,134		0,816	0,020
EĞİTİM DÜZEYİ	-0,713	-0,078	-0,226		-2,276	0,025
BKİ DEĞERİ	2,290	2,981	0,516		0,578	0,029

Bağımlı Değişken: SOSYAL KAYGI PUANI

görmeyenlere kıyasla daha yüksek çıkmasına neden olduğu söylenebilir.

Almanya'da 2007 yılında yapılan bir çalışmada obezite ile kaygı bozuklukları arasında çift yönlü bir ilişki olduğu belirtilmiştir¹⁴. Literatürde obezite ile anksiyete bozukluğu, depresyon ve sosyal kaygı arasında pozitif bir ilişki olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır^{15,16}. Araştırmamıza katılan obez bireylerde beden kitle indeksi, depresyon ve anksiyete ile sosyal kaygı arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda obez erkeklerde duygudurumun obez olmayan erkeklerden farklı olmadığı görülürken obez kadınlarda depresyon ve anksiyetenin obez olmayan kadınlara göre daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır^{17,18}. Almanya'da yapılan bir çalışmada obez olan kadınlar ve obez olmayan kadınlar arasında ruhsal hastalıklar açısından bir farklılık görülmezken, obez olan erkeklerde ruhsal bozukluk görülme sıklığının obez olmayan erkeklerle göre daha fazla olduğu bulunmuştur¹⁹. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise kadınlarda sosyal kaygı görülme oranının erkeklerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir²⁰. Araştırmamıza katılan obez kadın ve obez erkekler arasında anksiyete, depresyon ve sosyal kaygı görülme sıklığının cinsiyetle anlamlı bir ilişkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada obezite tedavisi için ilk defa kliniğe başvuran 130 hastada ruhsal durumun ve genel belirti ortalamasının yaşa göre farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir²¹. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada sosyal kaygının en çok 21-24 yaş grubunda olduğu belirtilmiştir²⁰. Araştırmamızda depresyon, anksiyete ve sosyal kaygı ile yaş arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu durum obezitenin her yaş aralığında ruhsal durumu etkileyebilen bir hastalık olmasıyla açıklanabilir.

Obezite ile anksiyete arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda anksiyetenin de obez bireylerde yeme

miktarının artmasına neden olduğu saptanmıştır^{22,23}. Literatürde obez bireylerdeki anksiyete bozukluğunun çok sık görülmediğine dair çalışmalar mevcuttur⁹. Birleşik Krallık'ta 2006 yılında obez bireylerle yapılan bir çalışmada anksiyete bozukluğu olan obez birey oranını %12,3 olarak belirtilmiştir²⁴. Araştırmamıza katılan obez bireylerde HAD ölçeğine göre anksiyete oranı %22 olarak bulunmuştur. Bu duruma sosyal kaygının, anksiyetenin bir alt türü olmasının etkili olduğu söylenebilir.

Obez bireylerde anksiyete ve depresyonun obezite kaynaklı olduğunu gösteren çalışmalar vardır¹⁸. Balcıoğlu ve Başer²⁵ obezitenin psikopatolojinin gelişmesine yol açtığını belirtmiştir. Ancak literatürde BKİ ile psikopatoloji arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur^{16,26,27}. Araştırmamıza katılan obez bireylerin obezite dereceleri ile anksiyete bozukluğu, depresyon ve sosyal kaygısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak BKİ değeri arttıkça sosyal kaygı puanının arttığı tespit edilmiştir.

Birleşik Krallık'ta yapılan çalışmada obez bireylerde depresyon oranı %18,6 olarak saptanmıştır²⁴. Ülkemizde obez bireylerle yapılan çalışma sonucunda hastalarda %81,3 oranında major depresif bozukluk saptanmıştır⁹. 2010 yılında yapılan bir çalışmada aşırı kilolu ve obez bireylerdeki depresyon görülme oranının %37 olduğu belirtilmiştir²⁸. Araştırmamıza katılan obez bireylerde HAD ölçeğine göre depresyon puanı yüksek çıkan birey sayısı %28 olarak saptanmıştır. Depresyon tanısı konmasında aynı ölçütlerin kullanılmamış olması nedeniyle bu bulguları birebir karşılaştırmak mümkün değildir. Fakat araştırmalardaki ortak bulgu obez bireylerde depresyonun yaygın olduğudur.

Ülkemizde 2003 yılında obez bireylerle yapılan bir çalışmada obez bireylerde sosyal kaygı oranı %22,6 olarak belirtilmiştir⁹. Araştırmamızda Liebowitz Sosyal Kaygı Ölçeği'ne göre çok şiddetli sosyal kaygısı bulunan obez

birey oranı %47 olarak bulunmuştur. Bu bulgular ülkemizde obez bireylerde sosyal kaygının görülme oranının yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak Almanya'da yapılan bir çalışmada obez bireylerdeki sosyal kaygı şiddetinin obez olmayan bireylerden farklı olmadığı belirtilmiştir²⁹. Bu durum obez bireylerde sosyal kaygının ortaya çıkmasında kültürün önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada son 15 yıldır köyde yaşayanlarda sosyal kaygının daha yüksek görüldüğünü belirtmişlerdir²⁰. Araştırmamızda son 15 yıldır yaşanan yer ile sosyal kaygı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Ailesinde psikiyatrik hastalık öyküsü bulunan bireylerde sosyal kaygının daha sık oranda görüldüğü belirtilmiştir²⁰. Araştırmamızda ailede psikiyatrik hastalık bulunma ile sosyal kaygı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Düşük ekonomik duruma sahip kişilerde sosyal kaygının daha yüksek olduğuna dair çalışmalar vardır²⁰. Araştırmamızda ekonomik düzey ile sosyal kaygı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda BKİ, anksiyete ve depresyon puanlarının artmasının obez bireylerde sosyal kaygı puanını arttıran etmenlerden olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum obezite tedavisinde diğer ruhsal problemlerle birlikte sosyal kaygının da yer alması gerektiğini ve kilo verme başladıkça sosyal kaygının azalabileceğini, sosyal kaygı azaldıkça da kilo vermenin devamının kolaylaşabileceğini düşündürmektedir. Obez bireylerde daha uzun süreli izlemelerle obezite tedavisinden sonra da psikiyatrik değerlendirme yapılmasıyla sosyal kaygının hayat boyu görülme sıklığı saptanabilir. Bu sayede obez bireylerdeki ruhsal değişimler daha net çözümlenebilir.

Kaynaklar

1. Hawley N. L, McGarvey S. T. Obesity and Diabetes in Pacific Islanders: the Current Burden and the Need for Urgent Action. *Curr Diab Rep* 2015;15-29.
2. Çayır A, Atak N, Köse S. K. Beslenme ve Diyet Kliniğine Başvuranlarda Obezite Durumu ve Etkili Faktörlerin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2011;64(1).
3. Tedik S. E. Fazla Kilo/Obezitenin Önlenmesinde ve Sağlıklı Yaşamın Desteklenmesinde Hemşirenin Rolü. *Türk Diyab Obez/Türk J Diab Obes* 2017;2:54-62.

4. Amerikan Psikiyatri Birliği(2013)Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal Elkitabı, Çeviren: Koroğlu E, Beşinci Baskı (DSM-5), Tanı Ölçütleri Başvuru El kitabı, Ankara, Hekimler Yayın Birliği, 2013.
5. Amerikan Psikiyatri Birliği(2000)Psikiyatride Hastalıkların Tanımlanması ve Sınıflandırılması El kitabı, Çeviren: Koroğlu E, Yeniden Gözden Geçirilmiş Dördüncü Baskı (DSM-IV-TR), Ankara, Hekimler Yayın Birliği, 2001.
6. Gültekin B. K, Dereboy İ. F. Üniversite Öğrencilerinde Sosyal Fobinin Yaygınlığı ve Sosyal Fobinin Yaşam Kalitesi, Akademik Başarı ve Kimlik Oluşumu Üzerine Etkileri. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2011;22(3):150-8.
7. Mayo-Wilson E, Dias S, Mavranzouli I, Kew K, Clark D. M, Ades A. E. et al. Psychological and pharmacological interventions for social anxiety disorder in adults: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Psychiatry* 2014;1:368-76.
8. Garipey G, Nitka D, Schmitz N. The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obesity* 2010;34, 407-19.
9. Eren İ, Erdi Ö. Obez hastalarda psikiyatrik bozuklukların sıklığı. *Klinik Psikiyatri Dergisi* 2003;6:3, 152-7.
10. Deveci A, Demet M, Özmen B, Özmen E, Hekimsoy Z. Obez hastalarda psikopatoloji, aleksitimi ve benlik saygısı. *Anatolian Journal of Psychiatry* 2005;6:84-91.
11. Zigmund A. S, Snaith R. P. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983;67(6):361-70.
12. Aydemir Ö, Güvenir T, Küey L. İty and realibility of Turkish version of Hospital Anxiety and Depression Scale. *Turkish Journal of Psychiatry* 1997;8:280-7.
13. Dilbaz N, Guz H. Liebowitz sosyal kaygı ölçeğinin geçerlik ve güvenilirliği 37. Ulusal Psikiyatri Kongresi, 2001.
14. Baumeister H, Harter M. Mental disorders in patients with obesity in comparison with healthy probands. *Int J Obes* 2007;31:1155-64.
15. Mather A. A, Cox B. J, Enns M. W, Sareen J. Associations of obesity with psychiatric disorders and suicidal behaviors in a national lyre presentative sample. *J Psychosomat Res* 2009;66:277-85.
16. Scott K. A, McGee M. A, Wells J. E, Browne M. A. O. Obesity and mental disorders in the adult general population. *J Psychosomat Res* 2008;64:97-105.
17. Jorm A. F, Korten A. E, Christensen H, Jacomb P. A, Rodgers B, Parlslow R. A. Association of obesity wit hanxiety, depression and emotionalwell-being: a community survey. *Aust NZJ Public Health* 2003;27:434-40.
18. Chen Y, Jiang Y, Mao Y. Association between obesity and depression in Canadians. *J Womens Health (Larchmt)* 2009;8:1687-92.
19. Herpertz S, Burgmer R, Stang A, de Zwaan M, Wolf A. M, Chen-Stute A et al. Prevalence of mental disorders in normal-weight and obese individuals with and without weight loss treatment in a German urban population. *J Psychosomat Res* 2006;61:95-103.

20. İzgiç F, Akyüz G, Doğan O, Kuğu N. Üniversite öğrencilerinde sosyal fobi yaygınlığı. *Anadolu Psikiyatri Dergisi* 2000;1(4):207–14.
21. Özkoca Ö. Obez Bireylerde Yeme Tutumu, Algılanan Sosyal Destek ile Psikopatolojilerinin değerlendirilmesi ve motivasyonel süreç yönünden ilişkisi. Işık Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi 2018. İstanbul. (Danışman: Prof. Dr. İbrahim Ömer Saatçioğlu)
22. Değirmenci T. Obez Erişkinlerde Benlik Saygısı, Yaşam Kalitesi, Yeme Tutumu, Depresyon Ve Anksiyete. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı. Tıpta Uzmanlık Tezi 2006.
23. Lomax J. W. Obesity in Comprehensive Textbook of Psychiatry. Baltimore: Williams & Wilkins 1989;1176–86.
24. Simon G. E, VonKorff M, Saunders K, Miglioretti D. L, Crane P. K, Van Belle G. Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63:824–30.
25. Balcıoğlu İ, Başer S. Z. Obezitenin psikiyatrik yönü. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 2008;62(1), 341–8.
26. Özmen D, Özmen E, Ergin D, Şen N, Dündar P. The Association of Self-Esteem, Depression and Body Satisfaction with Obesity among Turkish Adolescents. *Bio Med Central Public Health*, 2007;7(80), ss 1–7.
27. Bruffaerts R, Demyttenaere K, Vilagut G, Martinez M, Bonnewyn A, De Graaf R. The relation between body mass index, mental health, and functional disability: a european population perspective. *Can J Psychiat-Rev Can Psychiat* 2008;53:679–87.
28. Wright, Natania D. The Relationship Between Social Anxiety, Disordered Eating, and Physical Activity in Overweight and Obese Individuals. Yeshiva University. Yüksek lisans tezi 2010.
29. Hach İ, Ruhl E, Klose M, Klotsche J, Kirch W. Obesity and the risk for mental disorders in a representative German adult sample. *European Journal of Public Health* 2006;Vol 17, No 3, 297–305.



Pupillary Functions and Wavefront Aberrations in Childhood Obesity

Çocukluk Çağı Obezitesinde Pupil Fonksiyonları ve Wavefront Aberasyonlar

Abdullah İlhan¹, Umit Yolcu², Salih Altun¹, Uzeyir Erdem³

¹Era Eye Center; ²Ankasu Eye Center; ³Independent Researcher, Ankara, Turkey

ABSTRACT

Aim: The purpose of this study is to investigate the relationship between pupillary functions, wavefront aberrations, and childhood obesity.

Material and Method: Fifty-four obese children (≥ 95 th body mass index percentile) were compared with 58 age- and gender-matched controls (< 85 th body mass index percentile) in this case-control study. Wavefront aberrations, mesopic and photopic pupil diameters were assessed by means of OPD-Scan II [Pupillometer/Corneal Wavefront Analyser]; [ARK-10000 system (Nidek, Japan)].

Results: Photopic pupil sizes in obese children were significantly smaller than the control group (3.68 ± 0.64 ($2.61-6.09$), 4.83 ± 0.63 ($2.94-6.26$) mm; $p < 0.001$). Mesopic pupil sizes in obese children were bigger than control group but it was not significant (6.88 ± 0.58 ($5.24-8.89$), 6.65 ± 0.77 ($5.16-8.62$) mm; $p > 0.05$). Total optical aberrations were also significantly higher in obese children (1.17 ± 0.79 , 0.88 ± 0.47 ; $p < 0.01$). The other aberrations such as tetrafoil, trefoil, coma, and total high order aberrations were higher in obese children but these changes were insignificant.

Conclusion: This study showed an association between pupillary functions, total wavefront aberrations, and obesity. These data suggest that obesity might be an important risk factor for aberrations associated with diminished optical quality in children.

Key words: childhood obesity; ocular Wavefront aberration; pupil size

ÖZET

Amaç: Çalışmanın amacı pupiller fonksiyonlar ve wavefront aberasyonların çocukluk çağı obezitesi ile arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Bu vaka kontrol çalışmasında 54 obez çocuk (vücut kitle indeksi ≥ 95 persentil), yaş ve cinsiyet uyumlu 58 kişilik kontrol grubu (vücut kitle indeksi < 85 persentil) ile karşılaştırıldı. Wavefront aberasyonlar ile fotopik ve mezopik pupil boyutu OPD-Scan II [Pupillometer/Corneal Wavefront Analyser]; [ARK-10000 system (Nidek, Japan)] ile tespit edildi.

Bulgular: Fotopik pupil boyutları obez çocuklarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde küçüktü ($3,68 \pm 0,64$ ($2,61-6,09$), $4,83 \pm 0,63$ ($2,94-6,26$ mm, sırasıyla; $p < 0,001$). Mezopik pupil boyutları obez çocuklarda daha büyüktü ancak fark anlamlı değildi ($6,88 \pm 0,58$ ($5,24-8,89$), $6,65 \pm 0,77$ ($5,16-8,62$) mm; $p > 0,05$). Toplam optik aberasyonlar obez çocuklarda anlamlı düzeyde yüksekti ($1,17 \pm 0,79$, $0,88 \pm 0,47$; $p < 0,01$). Coma, trefoil ve toplam üst sıra aberasyonları içeren diğer bütün aberasyonlar obez çocuklarda yüksek iken fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç: Bu çalışma pupiller fonksiyon, toplam wavefront aberasyonlar ve obezite arasında bir ilişkiyi göstermiştir. Bu veriler obezitenin, çocuklarda azalmış optik kalite ile ilişkili aberasyonlar için önemli bir risk faktörü olabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: çocukluk çağı obezitesi; oküler Wavefront aberasyon; pupil çapı

Introduction

The universal rate of childhood obesity and overweight has increased especially in the last several decades. The overall prevalence of obesity and overweight among children was 0.8% in 1975 but it is reported as 5.6% in girls and 7.8% in boys in 2016¹. Childhood obesity may cause coronary artery disease, hyperlipidemia, atherosclerotic processes, diabetes mellitus, systemic hypertension, musculoskeletal system problems, some types of cancer, depression, obstructive sleep apnea, and low quality of life^{2,3}. Childhood obesity also causes malfunctions in the autonomic nervous system (ANS)³⁻⁶.

Heart rate variability (HRV) is the basic and non-invasive method to gauge autonomic activity and related potential cardiac autonomic malfunction.

İletişim/Contact: Abdullah İlhan, Era Eye Center, Ankara, Turkey • **Tel:** 0545 861 11 18 • **E-mail:** dzilhan@hotmail.com • **Geliş/Received:** 01.06.2020 • **Kabul/Accepted:** 08.05.2021

ORCID: Abdullah İlhan, 0000-0002-9140-9527 • Umit Yolcu, 0000-0002-2605-3413 • Salih Altun, 0000-0002-1609-2072 • Uzeyir Erdem, 0000-0002-3420-4365

Regarding the HRV values of obese and normal-weight adults, there are many studies reporting various results such as reduction in parasympathetic activity, decline in both sympathetic and parasympathetic pathways⁷⁻¹⁰ and increase in sympathetic activity¹¹⁻¹³. The other method of assessing ANS functions is pupillometry. Pupil size is supervised by the sympathetic and the parasympathetic systems together¹⁴. When the muscarinic receptors of the iris sphincter muscle meet with acetylcholine, the parasympathetic system becomes activated and causes miosis. On the other hand, nor-adrenalin discharge from the neuromuscular junction leads to mydriasis as a result of the sympathetic system. Briefly; the alterations in pupil diameter in regards to a light flash depend on the physiological balance between the parasympathetic and sympathetic mechanisms¹⁵. Thus, pupillometric measurements can reflect dysfunctions of ANS^{16,17}. Pupillometry can be preferable because it's noninvasive, cheap, and easy to apply.

Ocular wavefront aberrations (WF), described as the diversion of light after it gets in the eye compared to an optically ideal eye model causing blurry images and diminished visual quality^{18,19}. Aberrations are subclassified as low order aberrations that could be corrected with spectacles/sphero-cylindrical lenses and high order aberrations that could not.

As aberrations are closely related to pupil size, systemic disorders causing alterations in ANS may lead to both pupil and WF changes. The purpose of our case-control study is to explore the role of obesity on pupil sizes and WF aberrations in children.

Material and Method

Fifty-four obese children (≥ 95 th BMI percentile) were compared with 58 age- and gender-matched controls (< 85 th BMI percentile)²⁰. Overweight/obese children were defined using age and gender-specific nomograms. Children in the study group had been obese for at least two years. All participants were prepubertal children. Diagnosis and follow up examinations of obese children were held by the department of pediatric endocrinology. Physical examinations and laboratory analysis for all participants proved the absence of any underlying systemic disease which might alter the autonomic and vascular systems. Fasting glucose, insulin, ALT, AST, GGT levels were analyzed and abdominal ultrasonography were performed in the obese group to exclude

insulin resistance and hepatosteatosi. None of the participants had been taking any medicine. Patients with spherical refractive values between -1.0 D and $+1.0$ D and astigmatic refractive values under 1.0 D were accepted as a subject for the study.

For both groups, mesopic and photopic and pupil diameters, WF aberrations, were gauged by OPD-Scan II [Pupillometer/Corneal Wavefront Analyser]; [ARK-10000 system (Nidek, Japan)]. It operates an infrared detector to get an image and makes pupillometric calculations. OPD-Scan assessments are performed automatically. The first one is made during mesopic status and the second one is during photopic status. Poor quality measurements are ignored if detected by an automated quality control system. Measurements were taken between 1 and 3 pm after 15 minutes of rest. The pupil camera was utilized to get images of both (non-dilated) eyes in a silent and darkened room under two natural illumination status (mesopic: 10 lux, photopic: 100 lux). In this study, data of the right eyes were harvested for analysis. In order to avoid data duplication bias because of symmetry, only one (right) eye of each subject was assessed.

This study was conducted on behalf of the permission of Gulhane Military Medical Academy Ethics Committee (Y. ETIK KRL. : 1491-367-07), Turkey and proceeded in harmony with international agreements and the Declaration of Helsinki. Parents were demanded to give informed consent after the procedure had been explained.

Statistical Analyses

Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software version 15 was used to perform statistical analyses. To detect if the variables were normally distributed or not, they were analyzed by Shapiro-Wilk's test. Independent samples t-test or Mann-Whitney U test was utilized depending on the result of the Shapiro-Wilk test. All values were indicated as mean \pm standard deviation. A possibility value of less than 0.05 was accepted as statistically significant.

Results

The mean age was 8.52 ± 0.88 (6-11) years in obese children and 8.66 ± 0.54 (6-11) years in the control group ($p=0.21$). Obese group was consisted of 29 (53.7%) male/25 (46.3%) female children and control

group was consisted of 30 (51.7%) male/28 (48.3%) female children ($p=0.34$) (Table 1).

In the obese group, mean photopic and mesopic pupil sizes were 3.68 ± 0.64 (2.61–6.09) mm and 6.88 ± 0.58 (5.24–8.89) mm respectively. In the control group, mean photopic and mesopic pupil sizes were 4.83 ± 0.63 (2.94–6.26) mm and 6.65 ± 0.77 (5.16–8.62) mm respectively. Photopic pupil sizes in the obese group were significantly smaller, (Mann–Whitney –U test, $p=0.0001$,). Mesopic pupil sizes in the obese group were bigger but this was not statistically significant ($p=0.20$) (Figure 1).

The value of the central 3 mm root mean square (RMS), which is a quality indicator of the OPD measurements, was $0.2\mu\text{m}$. Total optical aberrations were significantly higher in obese children (1.17 ± 0.79 , 0.88 ± 0.47 ; $p=0.02$). The other aberrations such as tetrafoil, trefoil, coma, spherical, and total high order aberrations were higher in obese children but these changes were insignificant (Table 2) (Figure 2).

Table 1. Demographic characteristics of the control and obese groups

Demographic characteristics	Control group	Obese group
Age (years)	8.66 ± 0.54 (6–11)	8.52 ± 0.88 (6–11)
Sex		
Male	30 (51.7%)	29 (53.7%)
Female	28 (48.3%)	25 (46.3%)

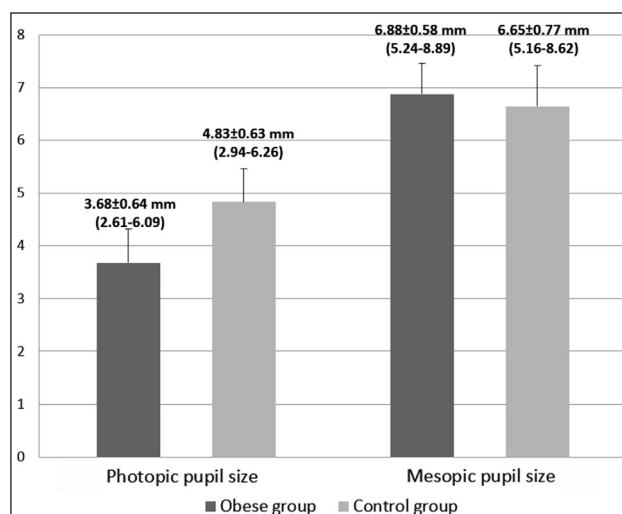


Figure 1. Photopic and mesopic pupil sizes in obese and control groups of children.

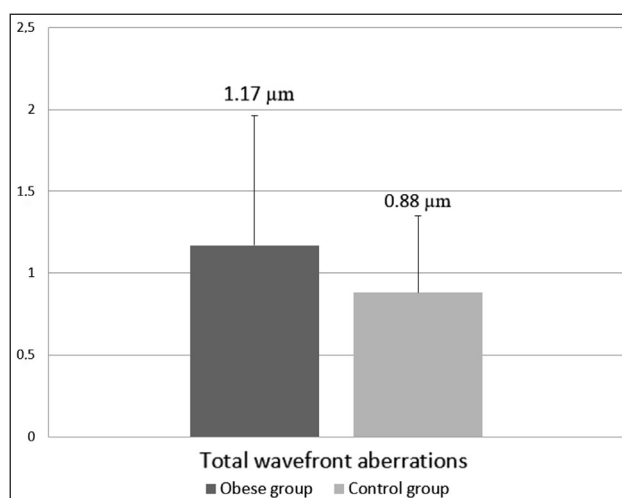


Figure 2. Comparison of total wavefront aberrations between obese and control groups.

Table 2. Photopic and mesopic pupil sizes and WF aberrations in obese and control groups of children.

Pupil sizes and WF aberrations	Obese n=54	Control n=58	p
Photopic pupil size (mm)	3.68 ± 0.64 (2.61–6.09)	4.83 ± 0.63 (2.94–6.26)	<0.001*
Mesopic pupil size (mm)	6.88 ± 0.58 (5.24–8.89)	6.65 ± 0.77 (5.16–8.62)	0.20*
RMS 1 (3 mm)	0.21 ± 0.08	0.19 ± 0.08	0.14*
RMS 2 (5 mm)	0.34 ± 0.21	0.31 ± 0.14	0.96**
Total	1.17 ± 0.79	0.88 ± 0.47	0.02**
Tilt	0.44 ± 0.29	0.41 ± 0.24	0.82**
High	0.37 ± 0.15	0.33 ± 0.10	0.32**
T.coma	0.19 ± 0.13	0.18 ± 0.09	0.93**
T.tre	0.22 ± 0.12	0.20 ± 0.08	0.81**
T.4Foil	0.07 ± 0.07	0.06 ± 0.03	0.57**
TSph	0.09 ± 0.05	0.09 ± 0.06	0.26**
HiAstig	0.06 ± 0.04	0.05 ± 0.03	0.53**

* Independent samples t test. ** Mann-Whitney U-test.

RMS, root-mean-square values in microns are shown for a 3-mm and 5-mm pupil; Total, aberrations for the entire eye; High, higher-order aberration; T. Coma, total coma aberration; T.tre, total trefoil; T.4Foil, total quadrafoil; T.Sph, total spherical aberration; HiAstig, higher order astigmatism.

Discussion

Obesity is well-known to be related to ANS dysfunction in adults and children^{4,13,21-2}. There are several studies about multiple pediatric disorders related to ANF dysfunctions reporting remarkable pupillometric assessments²³⁻⁷. Only Baum¹⁰ et al. used pupillometry for pediatric obesity. They studied obese children and adolescents in terms of ANS dysfunction by means of quantitative pupillography analysis, HRV, and sympathetic skin response. Unlike our results, they revealed a significant negative correlation between mesopic pupil size and BMI. But their study doesn't include WF aberrations.

Parasympathetic hypoactivity was reported in obese children and adults in the majority of the previous studies^{10,28-30}. So it is more likely to face mydriasis in obese children due to relatively increased sympathetic activity. But, the photopic pupil sizes were found significantly smaller in the obese group in our study. Our result may be attributed to the development of cholinergic hypersensitivity of the iris sphincter muscle to 100 lux light stimulus (photopic condition)³¹. Supersensitivity is defined as the intensified function of an effector tissue as a reaction to a stimulus after a certain time of denervation. Physical denervation is not imperative for cholinergic supersensitive behavior of the cholinergic system. If there is any disintegration along the pathway of the neural impulses, it may lead to functional denervation and consequent supersensitivity. Decreased synthesis or secretion of a neurotransmitter from nerve terminals as well as depressed afferent cholinergic impulse to the sphincter muscle of iris under enhanced darkness may lead to functional denervation³¹.

Mesopic pupil sizes seemed bigger in the obese group in our study. This may be attributed to parasympathetic hypoactivity and relative sympathetic hyperactivity in low-luminance conditions.

Total median WF aberrations in obese children were significantly higher. The other aberrations including trefoil, coma, tetrafoil, and spherical aberrations were higher in the obese group though the difference was not statistically significant. This could be influenced by mesopic pupil sizes which were larger in the obese group. It is well known that aberrations are proportional to pupil size therefore; bigger pupil size results in greater aberrations particularly in mesopic conditions.

Our study has potential limitations. As pupillometry is an indirect way of assessing the ANS imbalance; it could be fortified by different techniques that check ANS functions such as heart rate variability, pseudo-motor axon reflex, urinary catecholamine levels, tilt table test and skin conductance responses. The number of subjects was limited. Furthermore, our study was conducted in a certain age range; so the results could be more valuable for these ages. Pupillometric readings reflect a moment of time; thus longer recording time including night time may display more precise results. Our study might have been more valuable if the influence of cognitive and emotional tasks were added. Therefore, we suggest that further comprehensive studies should be carried out to enlighten the role of obesity on pupil sizes and WF aberrations in children

In conclusion; this study showed evidence of ANS dysfunction by pupillometry in obese children similar to the previous studies²⁸⁻³⁰. There seems to be an association between obesity and pupillary function and WF aberrations. Our study became original in presenting the first comprehensive assessment of WF aberrations in obese and healthy children. WF aberration alterations in obese children might have been affected by the increase of pupil size in mesopic conditions. These data suggest that obesity may be an important risk factor for aberrations associated with diminished optical quality in children.

Financial Interest

The authors declare that they have no competing interests.

The authors have no relevant financial or nonfinancial relationships to disclose.

References

1. Collaboration NCDRF. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet* 2017;390(10113):2627-42.
2. Malhotra S, Sivasubramanian R, Singhal V. Adult obesity and its complications: a pediatric disease? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2021;28(1):46-54.
3. Kaufman CL, Kaiser DR, Steinberger J, Kelly AS, Dengel DR. Relationships of cardiac autonomic function with metabolic abnormalities in childhood obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15(5):1164-71.

4. Tonhajzerova I, Javorka M, Trunkvalterova Z, Chroma O, Javorkova J, Lazarova Z, et al. Cardio-respiratory interaction and autonomic dysfunction in obesity. *J Physiol Pharmacol* 2008;59 Suppl 6:709–18.
5. Yadav RL, Yadav PK, Yadav LK, Agrawal K, Sah SK, Islam MN. Association between obesity and heart rate variability indices: an intuition toward cardiac autonomic alteration - a risk of CVD. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2017;10:57–64.
6. Colak R, Donder E, Karaoglu A, Ayhan O, Yalnız M. Obesity and the activity of the autonomic nervous system. *Türk j Med Sci* 2000;30(2):173–6.
7. Alkan A, Eker H, Hallioglu O, Cıtırık D, Parlak E, H. D. Obez ve Spor Yapan Cocuklarda Kalp Hızı Değişkenliğinin Karşılaştırılması. *Mersin Unv Sag Bil Der* 2013;6(1):8–13.
8. Zahorska-Markiewicz B, Kuagowska E, Kucio C, Klin M. Heart rate variability in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993;17(1):21–3.
9. Laederach-Hofmann K, Mussgay L, Ruddel H. Autonomic cardiovascular regulation in obesity. *J Endocrinol* 2000;164(1):59–66.
10. Baum P, Petroff D, Classen J, Kiess W, Bluher S. Dysfunction of autonomic nervous system in childhood obesity: a cross-sectional study. *PLoS One* 2013;8(1): e54546.
11. Rabbia F, Silke B, Conterno A, Grosso T, De Vito B, Rabbone I, et al. Assessment of cardiac autonomic modulation during adolescent obesity. *Obes Res* 2003;11(4):541–8.
12. Chintala KK, Krishna BH, N MR. Heart rate variability in overweight health care students: correlation with visceral fat. *J Clin Diagn Res* 2015;9(1): Cc06–8.
13. Lambert GW, Schlaich MP, Eikelis N, Lambert EA. Sympathetic activity in obesity: a brief review of methods and supportive data. *Ann N Y Acad Sci* 2019;1454(1):56–67.
14. Heller PH, Perry F, Jewett DL, Levine JD. Autonomic components of the human pupillary light reflex. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31(1):156–62.
15. Fotiou F, Fountoulakis KN, Goulas A, Alexopoulos L, Palikaras A. Automated standardized pupillometry with optical method for purposes of clinical practice and research. *Clin Physiol* 2000;20(5):336–47.
16. Venkata Sivakumar A, Kalburgi-Narayana M, Kuppusamy M, Ramaswamy P, Bachali S. Computerized dynamic pupillometry as a screening tool for evaluation of autonomic activity. *Neurophysiol Clin* 2020;50(5):321–9.
17. Shirakawa S, Ishikawa S. [Evaluation of autonomic nervous function by pupil dynamics recording]. *Nihon Rinsho* 1992;50(4):708–16.
18. Lombardo M, Lombardo G. Wave aberration of human eyes and new descriptors of image optical quality and visual performance. *J Cataract Refract Surg* 2010;36(2):313–31.
19. Del Aguila-Carrasco AJ, Kruger PB, Lara F, Lopez-Gil N. Aberrations and accommodation. *Clin Exp Optom* 2020;103(1):95–103.
20. Neyzi O, Gunoz H, Furman A, Bundak R, Gokcay G, Darendeliler F, et al. Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. *Cocuk Sag Hast Der* 2008;51:1–14.
21. Vinik AI, Maser RE, Ziegler D. Autonomic imbalance: prophet of doom or scope for hope? *Diabet Med* 2011;28(6):643–51.
22. Liao D, Rodriguez-Colon SM, He F, Bixler EO. Childhood obesity and autonomic dysfunction: risk for cardiac morbidity and mortality. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2014;16(10):342.
23. Patwari PP, Stewart TM, Rand CM, Carroll MS, Kuntz NL, Kenny AS, et al. Pupillometry in congenital central hypoventilation syndrome (CCHS): quantitative evidence of autonomic nervous system dysregulation. *Pediatr Res* 2012;71(3):280–5.
24. Meshcheryakov SV, Semenova ZB, Lukianov VI, Sorokina EG, Karaseva OV. Prognosis of Severe Traumatic Brain Injury Outcomes in Children. *Acta Neurochir Suppl* 2018;126:11–6.
25. Dinalankara DMR, Miles JH, Nicole Takahashi T, Yao G. Atypical pupillary light reflex in 2–6-year-old children with autism spectrum disorders. *Autism Res* 2017;10(5):829–38.
26. Philby MF, Aydinov S, Gozal D, Kilic S, Bhattacharjee R, Bandla HP, et al. Pupillometric findings in children with obstructive sleep apnea. *Sleep Med* 2015;16(10):1187–91.
27. Kara K, Karaman D, Erdem U, Congologlu M, Durukan I, Ilhan A. Investigation of autonomic nervous system functions by pupillometry in children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Klinik Psikofarmakoloji Bül* 2013;23(1):49–56.
28. Sekine M, Izumi I, Yamagami T, Kagamimori S. Obesity and cardiac autonomic nerve activity in healthy children: Results of the toyama birth cohort study. *Environ Health Prev Med* 2001;6(3):149–53.
29. Nagai N, Matsumoto T, Kita H, Moritani T. Autonomic nervous system activity and the state and development of obesity in Japanese school children. *Obes Res* 2003;11(1):25–32.
30. Yakinci C, Mungen B, Karabiber H, Tayfun M, Evereklioglu C. Autonomic nervous system functions in obese children. *Brain Dev* 2000;22(3):151–3.
31. Jacobson DM. A prospective evaluation of cholinergic supersensitivity of the iris sphincter in patients with oculomotor nerve palsies. *Am J Ophthalmol* 1994;118(3):377–83.



ST Segment Yükselmez Myokard İnfarktüsünde Gensini Skoru ile Elektrokardiyografik Frontal QRS-T Açısı Arasındaki İlişki

The Relationship Between Electrocardiographic Frontal QRS-T Angle and Gensini Score in Non-ST Segment Elevated Myocardial Infarction

Sefa Gül, Güney Erdoğan, Osman Can Yontar, Uğur Arslan

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, Samsun, Türkiye

ABSTRACT

Aim: Early risk stratification based on Gensini score plays a crucial role to identify the need for early invasive strategy in patients with NSTEMI. The predictive role of frontal QRS-T angle [f (QRS-T)] on the atherosclerotic burden of coronary artery disease is less clear in NSTEMI patients compared to STEMI patients. In this study, we aimed to investigate the relationship between f (QRS-T) and Gensini score in NSTEMI patients.

Material and Method: Total of 248 patients with the diagnosis of NSTEMI transferred to coronary care unit were included in the study. f (QRS-T) was calculated as the absolute value of the difference between the frontal plane QRS and T axes based on automatic report of ECG machine. Gensini score was computed using an Gensini score calculator by well-experienced two cardiologists. The study population was divided into two groups based on the low (≤ 45), and high Gensini score (> 45).

Results: Left ventricular ejection fraction was significantly lower in the group with high Gensini score (46.1 ± 8 vs. 53.3 ± 7 ; $p < 0.001$). When the angiographic views was examined and revascularization strategies were compared, it was detected that responsible lesion was seen in LAD most frequently ($p < 0.001$) and revascularization was performed most frequently for LAD ($P < 0.001$). The f (QRS-T) angle, the primary endpoint of the study, were significantly higher in the group with high Gensini score (54 ± 47 vs. 84 ± 54 ; $p < 0.001$). We determined that f (QRS-T) angle is an independent indicator for high Gensini score, based on the univariate and multivariate logistic regression analysis. Based on Receiver-operating characteristic (ROC) analysis, finding f (QRS-T) angle higher than 61.5° in NSTEMI patients predicts patients with high Gensini score (> 45) with % 70 sensitivity and % 61 specificity.

Conclusion: In NSTEMI patients, f (QRS-T) has been found to be a useful decision-making tool to predict Gensini score to assess early invasive strategy.

Key words: frontal QRS angle; Gensini score; NSTEMI

ÖZET

Amaç: Gensini skoruna dayalı risk sınıflandırması, ST Segment Yükselmez Myokard İnfarktüsü (NSTEMI) hastalarında erken revaskülarizasyon ihtiyacını belirlemek için önemli bir rol oynamaktadır. Frontal QRS-T açısının [f (QRS-T)] koroner arter hastalığının aterosklerotik yükünü öngörmedeki prediktif rolü, NSTEMI hastalarında STEMI hastalarıyla kıyaslandığında daha belirsizdir. Bu çalışmada NSTEMI hastalarında f (QRS-T) açısı ve Gensini skoru arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmaya NSTEMI tanısıyla koroner yoğun bakımında takip edilen 248 hasta dahil edildi. f (QRS-T) açısı, EKG cihazının otomatik analizine göre frontal düzlemde QRS ve T dalgalarının eksenleri arasındaki farkın mutlak değeri olarak hesaplandı. Gensini skoru, birbirinden bağımsız olarak iki kardiyolog tarafından bir Gensini skor hesaplayıcısı kullanılarak hesaplandı. Çalışmaya dahil edilen hastalar düşük Gensini skoru (≤ 45) ve yüksek Gensini skoru (> 45) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Bulgular: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF) Gensini skoru yüksek olan grupta anlamlı derecede düşük saptandı ($46,1 \pm 8$ vs. $53, \pm 7$; $p < 0,001$). Hastaların anjiyografik görüntüleri incelendiğinde sorumlu lezyonun en sık LAD'de ($P < 0,001$) olduğu, revaskülarizasyon stratejileri kıyaslandığında ise en sık LAD'ye ($P < 0,001$) yönelik revaskülarizasyon yapıldığı tespit edildi. Çalışmanın primer sonlanım noktası olan f (QRS-T) açısı, Gensini skoru yüksek olan grupta anlamlı derecede daha yüksek saptandı (54 ± 47 vs. 84 ± 54 ; $p < 0,001$). Tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon analizi sonucuna göre f (QRS-T) açısının yüksek Gensini skoru için bağımsız bir gösterge olduğunu tespit ettik. Receiver-operating characteristic (ROC) analizine göre, NSTEMI hastalarında f (QRS-T) açısının $61,5^\circ$ üzerinde olması, yüksek Gensini skoru (> 45) hastaları %70 sensitivite ve %61 spesifite ile öngörmektedir (Şekil 1).

Sonuç: NSTEMI hastalarında f (QRS-T) açısının, Gensini skorunu öngörerek erken invaziv girişim ihtiyacını değerlendirmek için yararlı bir yöntem olabileceği bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: frontal QRS-T açısı; Gensini skoru; NSTEMI

İletişim/Contact: Sefa Gül, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, Samsun, Türkiye • Tel: 0545 924 34 24 • E-mail: sefagul.dr@gmail.com • **Geliş/Received:** 17.06.2020 • **Kabul/Accepted:** 16.07.2020

ORCID: Sefa Gül, 0000-0003-4809-7852 • Güney Erdoğan, 0000-0001-5205-1326 • Osman Can Yontar, 0000-0002-0099-8654 • Uğur Arslan, 0000-0001-8572-3571

Giriş

ST elevasyonu olmayan miyokart infarktüsü (NSTEMI) hastalarında plak rüptürü ve trombüs oluşumuna sekonder koroner arter kan akımının bozulması neticesinde kardiyak iskemi ve miyokardiyal hasar meydana gelmektedir. Meydana gelen miyokardiyal hasara bağlı olarak ventrikül elektriksel heterojenitesinde artış oluşmaktadır. Kardiyak enzimlerde artış meydana gelmesi, göğüs ağrısının devam etmesi tedavinin planlanmasında ve risk sınıflamasında önem arz etmektedir. Hastalığın şiddeti mortalite ile ilişkili olduğundan akut koroner sendromda doğru ve erken teşhis önemli rol oynamaktadır¹. Koroner arter hastalığının şiddeti koroner anjiyografi ile optimal olarak değerlendirilebilir. Koroner arter hastalığının şiddeti ve yaygınlığını değerlendirmek için birçok skorlama sistemi kullanılmaktadır. Gensini skorlama sistemi, etkilenen epikardiyal damar sayısı, etkilenen damarın koroner ağaç üzerindeki fonksiyonel konumu, lezyonların açısı, kritik lezyonların şiddetinin üzerinden hastalığın şiddetini hesaplamaya yarayan bir skorlama sistemidir².

Frontal QRS– T açısı $f(QRS-T)$, ventrikül depolarizasyonunun (QRS dalgası) yönü ile ventrikül repolarizasyonunun (T dalgası) yönü arasındaki açı farkı olarak tanımlanan, ventrikül elektiksel heterojenitesinin bir göstergesidir³. Frontal düzlemdeki QRS-T açısı, 12 derivasyonlu elektrokardiyografi cihazlarının otomatik rapor kısmından kolaylıkla ölçülebilmektedir⁴. Koroner arter hastalığı olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda anormal $f(QRS-T)$ açısının mortalite için bir gösterge olduğu belirlenmiştir⁵. $f(QRS-T)$ ile akut koroner sendromun ilişkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır⁶. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda NSTEMI kolunda STEMI koluna göre Gensini skoru daha yüksek tespit edilmiştir. STEMI hastalarında Gensini skoru ile $f(QRS-T)$ ilişkisini araştıran yayınlar bulunmakta iken NSTEMI hasta grubunda Gensini skoru ile $f(QRS-T)$ ilişkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda NSTEMI hastalarında erken invazif stratejisinin belirlenmesine katkı sağlamak amacıyla $f(QRS-T)$ 'nin NSTEMI hastaları için bir risk belirteci olup olmadığını araştırdık.

Materyal ve Metot

Çalışma Popülasyonu

Çalışmamıza Ocak 2019 – Mart 2020 arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği'nde NSTEMI tanısıyla

yatışı yapıp koroner anjiyografi yaptığımız 278 hasta dahil edildi. NSTEMI tanısı 30 dakikadan daha uzun süren tipik anjinası olan, troponin-I seviyesi yüksek olan (kliniğimiz laboratuvarının kullanılan ölçüm kitinin pozitiflik sınırı $>0,01$ ng/ml) ve 12 derivasyonlu EKG de herhangi bir derivasyonda ST segment elevasyonu olmayan hastaları kapsamaktadır. Bilinen konjestif kalp yetersizliği olan hastalar, perkütan koroner girişim öyküsü olanlar, koroner by-pass öyküsü olanlar, aktif enfeksiyonu olanlar, inflamatuvar veya immünolojik rahatsızlığı olanlar, siroz, periferik arter hastalığı, kronik obstruktif akciğer hastalığı, kronik böbrek yetersizliği olan hastalar çalışmamıza dahil edilmemiştir. NSTEMI tanısı ile interne edildikten sonra koroner anjiyografi yapılmayan 20 hasta çalışmadan dışlandı. Komplet veya inkomplet sağ veya sol dal bloğu olan 10 hasta daha çalışmadan dışlandıktan sonra çalışmaya 248 hasta ile devam edildi. Çalışma yerel etik kurul tarafından onaylandı ve Helsinki Bildirgesi'nin kurallarına uygun olarak uygulandı. Tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

Elektrokardiyografi ve Ekokardiyografi

Tüm hastalara koroner anjiyografi yapılmadan önce supin pozisyonda 25 mm/s hızında, 10 mm/s voltaj ile 12 derivasyonlu EKG (Nihon Kohden Corporation, Cardiofax M Model ECG-1250, Tokyo, Japan) kaydı alındı. Tüm EKG ler tarayıcıda tarandıktan sonra kişisel bilgisayarlara transfer edildi ve Adobe Photoshop yazılım programı ile 400 kat büyütüldükten sonra çift kör şekilde iki kardiyolog tarafından incelendi. Frontal QRS aksı ve T aksı, EKG cihazının otomatik rapor kısmından elde edildi. Bu açılar kontrol edildi. Frontal QRS-T açısı, QRS aksı ile T aksı arasındaki mutlak fark olarak tanımlandı (frontal QRST açısı=QRS aksı – T aksı). Eğer bu açı 180° 'yi geçerse, mevcut açı 360° 'den çıkarılarak tekrar hesaplandı. Tüm hastalara iki farklı kardiyolog tarafından birbirlerinden bağımsız zamanlarda Amerikan Ekokardiyografi Cemiyeti klavuzuna uygun olarak ekokardiyografi yapıldı⁷. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu modifiye Simpson metodu ile hesaplandı.

Koroner Anjiyografi

Çalışmaya uygun olan ve koroner anjiyografi yapılmasını kabul eden tüm hastalara standart Judkins tekniği ile (Siemens Axiom Artis Zee 2011; Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) femoral ve ya radial yoldan koroner anjiyografi yapıldı. Tüm anjiyografik veriler iki kardiyolog tarafından bağımsız şekilde incelendi. Koroner arter hastalığının yaygınlığı Gensini skoru ile hesaplandı. Gensini

skoru lezyonun koroner ağaçtaki yeri ve stenozun dercesine dayalı olarak hesaplanmaktadır. Koroner arterlerdeki darlık derecesinin <%25 olması 1 puan, %26–50 arasında olması 2 puan, %51–75 arasında olması 4 puan, %76–90 arasında olması 8 puan, %91–99 arasında olması 16 puan ve total oklüzyon olması ise 32 puan baz alınarak değerlendirildi. Darlığın şiddetine göre elde edilen bu değerler her bir damarın koroner ağaçtaki pozisyonlarına göre belirlenmiş olan ve standart olan katsayı ile çarpıldı (Sol ana koroner lezyonu için 5 puan, proksimal sol ön inen damar (LAD) ve sol sirkumfleks (LCx) arter için 2,5 puan; orta sol inen arter lezyonu için 1,5 puan; birinci diyagonal dal ve obtus marjinal dalları ve sağ koroner arter için 1 puan; ikinci diyagonal ve sol sirkumfleks arter posterolateral dal için 0,5 puan) ve çıkan sonuçlar toplanarak her bir hasta için Gensini skor hesaplandı². Hastalar ortanca skor baz alınarak yüksek ve düşük skorlu olmak üzere iki gruba bölündü.

Biyokimyasal Analiz

Her bir hastadan yaklaşık 8 saatlik açlıktan sonra antekübital venden periferik kan örneği alındı. Alınan kanlardan tam kan sayısı, lipid profili, kardiyak enzimler, karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri ve kanama profili testleri çalışıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS Statistics 21 (Chicago, IL, ABD) paket program kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımını test etmek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Grup verileri arasındaki sürekli değişkenler ortalama \pm SD ve/veya median (interquartile range) olarak ifade edildi ve Mann-Whitney U veya Student t testleri kullanılarak kıyaslandı. Sayı ve yüzde olarak ifade edilen kategorik değişkenlerin kıyaslanması ise ki-kare testi ile yapıldı. Gensini skoru ile diğer sürekli değişkenler arasındaki korelasyonu belirlemek için Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. Yüksek Gensini skorunun bağımsız prediktörlerini belirlemek için çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldı. Frontal QRS-T açısının optimum kesme değerini, güven aralığını belirlemek için receiver operating characteristic (ROC) analizi yapıldı. P değerinin 0,05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya acil servisten NSTEMI tanısıyla koroner yoğun bakım ünitesine yatan ve koroner anjiyografi

yapılan 248 hasta dahil edildi. Hastaların temel demografik özellikleri Tablo 1'de, klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 2'de, koroner angiografik bulguları Tablo 3'te yüksek ve düşük Gensini skorlu popülasyonlar olarak gruplara ayrılmış şekilde özetlenmiştir.

Hastalar ortanca Gensini skoruna göre her bir gruba 124 hasta olmak üzere iki gruba ayrıldılar. Gruplar arasında cinsiyet ve hipertansiyon sıklığı görülmesi açısından anlamlı istatistiksel fark izlenmedi. Yaş ($67,1 \pm 11,8$ vs. $62,7 \pm 11,4$; $p=0,03$), sigara içme oranı [92 (73 %) vs. 62 (50 %); $p=0,009$] ve diyabet oranı [90 (71 %) vs. 52 (42,6 %); $p<0,001$]. Gensini skoru yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı. Öte yandan sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF) ise Gensini skoru yüksek olan grupta anlamlı derecede düşük saptandı ($46,1 \pm 8$ vs. $53,3 \pm 7$; $p<0,001$). Hastaların laboratuvar verileri kıyaslandığında hemoglobin ($14,7 \pm 1,6$ vs. $12,1 \pm 1,3$; $p<0,001$), hematokrit değeri ($42,7 \pm 7,1$ vs. $35,2 \pm 6,1$; $p<0,001$) Gensini skoru yüksek olan grupta anlamlı olarak düşük ölçülürken, nötrofil ($6,2 \pm 2,7$ vs. $7,6 \pm 4,1$; $p=0,03$) değeri anlamlı olarak yüksek saptandı. Beyaz küre, üre, kreatinin, ürik asit, lipit parametreleri, albumin, zirve troponin seviyesi, lenfosit sayısı ve nötrofil/lenfosit oranı ise iki grup arasında benzer saptandı.

Hastaların anjiyografik görüntüleri incelendiğinde sorumlu lezyonun en sık LAD'de ($P<0,001$) olduğu, revaskülarizasyon stratejileri kıyaslandığında ise en sık LAD'ye ($P<0,001$) yönelik revaskülarizasyon yapıldığı tespit edilmiştir. Hastaların koroner yoğun bakım kabullerinde çekilen elektrokardiyografilerinde elde edilen verilerde kalp hızı (75 ± 1 vs. 82 ± 14 ; $p=0,005$) Gensini skoru yüksek olan grupta anlamlı olarak yüksek hızda saptandı. Çalışmanın primer sonlanım noktası olan frontal (QRS-T) açılı Gensini skoru yüksek olan grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek saptandı (54 ± 47 vs. 84 ± 54 ; $p<0,001$).

Receiver-operating characteristic (ROC) analizine göre, NSTEMI hastalarında f (QRST) açısının $61,5^\circ$ olması, %70 sensitivite ve %61 spesifite ile Gensini skorunun >45 olmasını belirlediği görüldü (Şekil 1). Eğri altında kalan alan 0,681 olarak tespit edildi. Tek değişkenli lojistik regresyon analizine göre yaş, LVEF, hemotokrit, infarkt ilişkili arter, sigara içiciliği, diabetes mellitus, fQRST açısı GENSINI skoru ile anlamlı ilişkili bulundu (Tablo 4). Çok değişkenli lojistik regresyon analizine göre EF (OR: 0,866, 95 %CI: 0,797–0,940, $p=0,001$), hematokrit (OR: 0,781, 95 %CI: 0,691–0,883, $p=0,001$), DM (OR: 3,637, 95 %CI:

Tablo 1. Çalışmaya alınan hastaların demografik ve klinik özelliklerinin karşılaştırılması

Temel Özellikler	Gensini <45 (n: 124)	Gensini >45 (n: 124)	P değeri
Yaş, yıl	62,7±11,4	67,1±11,8	0,03
Cinsiyet, Erkek (%)	85 (68,9 %)	80 (64,5 %)	0,61
Sigara (%)	62 (50 %)	92 (73 %)	0,009
Diabet (%)	52 (42,6 %)	90 (71 %)	0,001
Hipertansiyon (%)	94,6 (76,3 %)	98,5 (79,5 %)	0,72
EF (%)	53,3±7	46,1±8	0,001

Tablo 2. Çalışmaya alınan hastaların laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

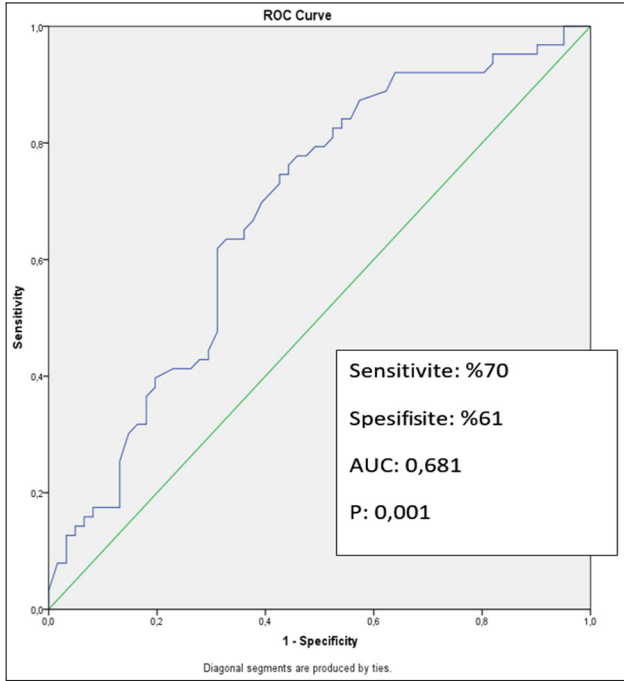
Laboratuvar Bilgileri	Gensini <45 (n: 124)	Gensini >45 (n: 124)	p değeri
Hemoglobin (gr/l)	14,7±1,6	12,1±1,3	0,001
Hematokrit (%):	42,7±7,1	35,2±6,1	0,001
Beyaz küre (10 ⁹ /µL)	9,518±3,079	10,656±4,543	0,11
Platelet (10 ⁹ /µL)	228±67	257±105	0,07
Üre (mg/dl)	42,8±19,8	41,7±20,2	0,75
Kreatinin (mg/dl):	1,01±0,68	1,15±0,43	0,18
Ürik asit:	5,9±1,6	6,3±1,8	0,38
LDL (mg/dl)	126±47	121±36	0,51
HDL (mg/dl)	43±9	41±9	0,55
Trigliserid (mg/dl)	169±101	163±120	0,76
Nötrofil:	6,2±2,7	7,6±4,1	0,03
Lenfosit:	2,2±0,9	2,1±1,9	0,74
Nötrofil/Lenfosit Oranı:	4,2±4,9	6,2±7,1	0,07
Albumin:	3,8±0,4	3,6±0,5	0,16
Kalp hızı	75±1	82±14	0,005
Frontal QRS-T angle	54±47	84±54	0,001

Tablo 3. Çalışmaya alınan hastaların anjiyografik özelliklerinin karşılaştırılması

Anjiyografik Parametreler	Gensini <45 (n: 124)	Gensini >45 (n: 124)	p değeri
Revaskülarizasyon			
PTCA %	112 (90,3)	74 (59,67)	0,001
CABG %	2 (1,61)	50 (40,32)	
Medikal Tedavi %	8 (6,4)	2 (1,6)	
Sorumlu lezyon olan damar			
LMCA %	0	10 (78,06)	0,001
LAD %	43 (34,67)	76 (61,29)	
CX %	38 (28,2)	22 (17,74)	
RCA %	41 (33,06)	18 (14,51)	

Tablo 4. Frontal QRS-T açısının bağımsız öngördürücülüğünü gösteren tek ve çok değişkenli lojistik regresyon analizi

	p	OR	%95 CI	p	OR	%95 CI
Frontal QRS-T açısı	0,001	1,731	1,243–3,517	0,001	1,443	1,093–3,114
Infarktten sorumlu damar	0,004	2,895	1,394–6,011	0,12	2,411	0,795–7,318
Yaş	0,039	1,034	1,002–1,067	0,557	0,986	0,943–1,032
EF	0,001	0,92	0,827–0,929	0,001	0,866	0,797–0,940
Hematokrit	0,001	0,769	0,700–0,844	0,001	0,781	0,691–0,883
Sigara içiciliği	0,009	2,706	1,276–5,740	0,558	1,431	0,432–4,744
DM	0,001	3,365	1,596–7,095	0,036	3,637	1,088–12,157
Nötrofil/lenfosit oranı	0,089	1,067	0,990–1,149	0,902	1,005	0,925–1,093



Şekil 1. Frontal QRS-T açısının yüksek Gensini skorunu öngördürmedeki ROC eğrisi analizi.

1,088–12,157, $p=0,036$) ve frontal QRST açısı (OR: 1,443, 95 %CI: 1,093–3,114 $p=0,001$) GENSINI skorunun bağımsız belirleyicisidirler (Tablo 4).

Tartışma

Bu çalışma NSTEMI hastalarında Gensini skorlama sistemine dayalı olarak hesaplanan koroner arter aterosklerotik hastalık yaygınlığı ile f (QRS-T) ilişkisini göstermektedir. Çalışmamız f (QRS-T)'nin NSTEMI hastaların erken risk öngördürücülüğünü değerlendirmek için yapılmıştır. İki yüz kırk sekiz hasta üzerinde retrospektif olarak yapılan çalışmamızın yapılan istatistik analizler sonucunda elde edilen temel sonucu ise f (QRS-T)'nin NSTEMI hastalarında Gensini skoru için bağımsız bir gösterge olduğudur. Gensini skoru arttıkça f (QRS-T) açısının genişlediğini saptadık. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız NSTEMI hastalarında f (QRS-T) açısı ve Gensini skoru üzerinden koroner arter hastalığını yaygınlık ve ciddiyetinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Bundan dolayı NSTEMI hastalarında yüzey EKG den f (QRS-T) açısının değerlendirilerek erken invazif strateji ve tedavi ihtiyacı olan hastaların belirlenmesini sağlamak ve tedavi planlama yapmamıza olanak sağlayacak kolay, pratik ve ucuz bir tetkik olması sebebiyle kullanışlı bir yöntem olacaktır.

NSTEMI akut koroner sendromlar içerisinde en sık karşılaştığımız klinik tablolardan biridir. Her ne kadar NSTEMI hastalarının hastane içi mortalite oranları STEMI lere nazaran düşük olsa da altı aylık mortalite oranlarının benzer olduğu hatta dört yıllık mortalitelerinin STEMI lere kıyasla iki kat daha yüksek olduğu çalışmalarda gösterilmiştir^{8,9}. Koroner arter hastalığına bağlı olarak meydana gelen kalp yetersizliği, aritmi, ventrikül geometrik yapısının bozulması sonucunda oluşan kapak hastalıkları NSTEMI hastalarında prognozu belirleyen temel faktörlerdendir. Bu sebeplerden ötürü NSTEMI hastalarında akut fazda risk değerlendirmesi ve yönetimi ile uzun vadeli takipleri önem arz etmektedir. Gensini skor koroner arter hastalığının yaygınlık ve ciddiyetini göstermekle birlikte hem kısa hem de uzun dönem kardiyovasküler riskleri belirlemek için kullanılabilirliği saptanmıştır². Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda NSTEMI hastalarında %80 sıklıkta çoklu damar hastalığı görüldüğünü ve STEMI hastalarına nazaran ve koroner arter lezyonlarındaki kompleksite oranının daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir¹⁰. Gensini skoru koroner anatomi hakkında, damar ve plağın morfolojik yapısı hakkında ve aterosklerotik lezyonun ciddiyeti hakkında bilgi sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda, perkütan koroner girişim yapılan AKS hastalarında Gensini skorunun bir yıllık kardiyak ölüm, miyokart infarktüsü ve hedef damar revaskülarizasyonunun bağımsız bir belirleyicisi olduğu gösterilmiştir¹¹. Her ne kadar Gensini skoru akut koroner sendrom hastalarında yaygın olarak kullanılan bağımsız prognostik bir gösterge olsa da koroner anjiyografinin invazif bir metot olması gibi bir dezavantaja da sahiptir. Bu sebeplerden dolayı koroner arter hastalığının yaygınlık ve ciddiyetini değerlendirebilmek için daha kolay, daha ucuz, daha kullanışlı, invazif olmayan ve kısa sürede sonuç elde edilebilen bir tetkike ihtiyaç duyulmaktadır.

EKG basit, invaziv olmayan, sonuca hızlı ulaşılabilen bir tetkiktir. EKG deki ST segment anormallikleri ve T dalga değişiklikleri miyokardiyal iskeminin eskiden beri bilinen klasik göstergeleridir. QRS süresinin de kalp yetersizliği ve miyokardiyal iskemi için alternatif bir gösterge olabileceği ispatlanmıştır^{12,13}. Frontal (QRS-T) açısı 12 derivasyonlu EKG den frontal düzlemdeki QRS açısı ile T dalga açısı arasındaki farkın hesaplanması ile elde edilen ve miyokardiyal repolarizasyonu gösteren yeni bir EKG parametresidir. Koroner arter hastalığına bağlı olarak gelişen iskemi durumlarında miyokardın homojen depolarize olan yapısının kaybolması ve heterojen elektriksel

yapının meydana gelmesine bağlı olarak $f(QRS-T)$ açısında artış meydana gelir. Miyokardiyal repolarizasyon anormalliğinin diğer bir göstergesi olan uzaysal ($QRS-T$) açısının hesaplanmasının zor olması ve ileri bilgisayar programları gerektiriyor olması sebebiyle rutin olarak kullanılmamaktadır¹⁴. Uzaysal $QRS-T$ açısının aksine frontal ($QRS-T$) açısı 12 derivasyonlu EKG cihazlarının otomatik analiz kısmından kolaylıkla elde edilebilir ve uzaysal ($QRS-T$) açısı ile iyi bir korelasyon göstermektedir¹⁵. Biz de bu sebeple çalışmamızda frontal ($QRS-T$) açısı kullanmayı tercih ettik. Normalde miyokardiyal depolarizasyon eksenini ve repolarizasyon ekseninin yönleri daha yakındır. Bu nedenle frontal ($QRS-T$) açısının dar açılı ($<45^\circ$) olması beklenir¹⁶.

Frontal $QRS-T$ açısı ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki sadece hasta olan damar sayısı ve lezyonların lokalizasyonu baz alınarak daha önce araştırılmıştır. Bu çalışmalarda düzlemsel (planar) QRS açısı 90° 'den büyük olanlarda 90° 'den küçük olanlara kıyasla çoklu damar hastalığı sıklığının daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir¹⁷. STEMI hastalarıyla yapılan başka bir çalışmada $f(QRS-T)$ açısı $95,6^\circ$ 'den büyük olan hastalarda, $95,6^\circ$ 'den küçük olanlara kıyasla üç damar hastalığı sıklığının daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir¹⁸. Aynı zamanda $f(QRS-T) \geq 95,6^\circ$ olan grupta proksimal damar hastalığı sıklığının daha fazla olduğunu da saptamışlardır¹⁹.

Tam aksine Raposeiras-Roubin ve arkadaşları akut Mİ'leri de içine alan çoklu damar hastalığı olan ve $LVEF < 40\%$ olan hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada $f(QRS-T)$ ile koroner arter hastalığı arasında anlamlı bir ilişki saptayamamışlardır²⁰. Lown ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada akut miyokart infarktüsü sonrası LV sistolik disfonksiyonu gelişen hastaların uzun dönem mortalitelerinin belirlenmesinde $f(QRS-T) > 90^\circ$ 'nin üstünde olmasının iyi bir gösterge olduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada STEMI hastalarında primer perkutan girişim öncesi ve sonrasında ölçülen $f(QRS-T)$ açısının hastane içi mortalite değerlendirilmesinde bir gösterge olarak kullanılabileceğini tespit edilmiştir⁵.

Biz de 248 adet NSTEMI hastası üzerinde yaptığımız araştırmaların ve çoklu değişkenli regresyon analizi sonucunda hematokrit seviyesi, frontal $QRS-T$ açısı, diyabet ve LV ejeksiyon fraksiyonunun yüksek Gensini skoru için bağımsız göstergeler olduğu sonucuna eriştik. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız NSTEMI hastaları üzerinde yapılan koroner aterosklerotik

yaygınlık ile $f(QRS-T)$ ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda NSTEMI hastalarında Gensini skoru 45 'ten büyük olan için $f(QRS-T)$ kestirim değeri $61,5^\circ$ olarak hesapladık. Dogan ve arkadaşları çalışmalarında ortalama $f(QRS-T)$ değerinin NSTEMI ($100,5^\circ \pm 55,3^\circ$) STEMI hastalarına (81° , ortalama) kıyasla daha yüksek olduğunu, bunda NSTEMI patofizyoloji ve kliniğinin daha kompleks olmasıyla ilişkili olduğunu savunmuşlardır¹⁰. Gensini skorunun yüksek olması ile saptanan artmış aterosklerotik yük miyokardiyal iskemiye sebep olmakta ve bunun sonucunda da bozulmuş depolarizasyon ve repolarizasyon mekanizmaları ile miyokardiyal heterojenite artmaktadır. Artmış miyokardiyal heterojenite ise $f(QRS-T)$ ile değerlendirilebilmektedir. Tüm bu sonuçlar incelendiğinde NSTEMI hastalarında MI lokalizasyonuna bakılmaksızın artmış $f(QRS-T)$ açısı ile miyokardiyal hasar dokusu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz. Bundan dolayı yüksek riskli olan NSTEMI hastalarında erken tanı ve erken revaskülarizasyon önem arz etmektedir. Bu noktada yüksek riskli hastaları erken tanılamamıza ve hastalara erken revaskülarizasyon stratejisi planlamamıza yardımcı olacak ucuz, pratik, kullanışlı bir yöntem olan EKG üzerinden $f(QRS-T)$ açısının değerlendirilmesinin klinik pratikte faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın temel kısıtlılığı tek merkezli bir çalışma olması ve kısıtlı sayıda hasta sayısı ile yapılmış olmasıdır. Kardiyovasküler sonlanımlarının eksik oluşu, yeniden hastaneye yatış ve mortalite oranları olmayışı diğer kısıtlılıklardır. Koroner anjiyografik değerlendirmenin görsel yorumlama ile yapılması da bir diğer kısıtlama olmakla birlikte birbirinden bağımsız olarak iki farklı kardiyolog tarafından değerlendirilerek kısıtlılık giderilmeye çalışılmıştır. Çalışmamızda uzaysal (spatial) $QRS-T$ açısının değerlendirilmemiş olması başka bir kısıtlılık olmakla birlikte frontal $QRS-T$ değerlendirmenin uzaysal QRS değerlendirmesine iyi bir alternatif olarak kabul edilmiş olması kısıtlılığı giderektedir. Ayrıca, koroner arter hastalığının yaygınlığı ve ciddiyetinin göstergesi olan diğer skorlamalar ile karşılaştırma yapılması makelemize daha fazla katkı sağlayabilirdi. Bu konuda, daha fazla hasta sayısı ile yapılan ve uzun dönem takiplerin yapıldığı ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak; frontal $QRS-T$ açısı, NSTEMI hastalarında Gensini skorunun gösterdiği gibi koroner aterosklerotik yükü bağımsız olarak öngörür. Böylece erken tanı ve gerekli olan hastalara erken invaziv girişim planlanmasına önemli katkılar sunabilir.

Kaynaklar

1. He C, Song Y, Wang CS, Yao Y, Tang XF, Zhao XY et al. Prognostic value of the clinical SYNTAX score on 2-year outcomes in patients with acute coronary syndrome who underwent percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2017;119(10):1493–9.
2. Gensini GG(1983). A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606.
3. Oehler A, Feldman T, Henrikson CA, Tereshchenko LG. QRS-T angle: a review. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2014;19(6):534–42.
4. Macfarlane PW. The frontal plane QRS-T angle. *Europace* 2012;14(6):773–5.
5. Lown MT, Munyombwe T, Harrison W, West RM, Hall CA, Morrell C et al. Association of frontal QRS-T angle-age risk score on admission electrocardiogram with mortality in patients admitted with an acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2012;109:307–13.
6. Bayam E, Yıldırım E, Kalcık M, Karaduman A, Kalkan S, Guner A et al. Relationship between P wave peak time and coronary artery disease severity in non-ST elevation acute coronary syndrome. *Herz* 2019.
7. Lang R. M., Badano LP, Avi VM, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2015;28:1–39.
8. Dogan A, Kahraman S. Frontal QRS-T Angle Predicts Coronary Atherosclerotic Burden in Patients With ST Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Electrocardiol* 2019;58:155–9.
9. Terkelsen CJ, Lassen JF, Nørgaard BL, Gerdes CJ, Jensen T, Gotsche LBH, et al. Mortality rates in patients with ST-elevation vs. non-ST elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. *Eur Heart J* 2005;26:18–26.
10. Hevia JC, Antzelevitch C, Barzaga FT, Sanchez MD, Balea FD, Molina RZ, et al. T peak-T end and T peak-T end dispersion as risk factors for ventricular tachycardia/ventricular fibrillation in patients with the Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1828–34.
11. Zencirci AE, Zencirci E, Degirmencioglu A, Karakus G, Ugurlucan M, Gunduz S et al. The relationship between Gensini score and ST-segment resolution in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Kardiol Pol* 2014;72(6):494–503.
12. Aytemir K, Ozer N, Atalar E, Sade E, Aksöyek S, Ovünç K et al. P wave dispersion on 12-lead electrocardiography in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2000;23(7):1109–12.
13. Turhan H, Yetkin E, Senen K, Yılmaz MB, İleri M, Atak R et al. Effects of percutaneous mitral balloon valvuloplasty on P-wave dispersion in patients with mitral stenosis. *J Cardiol* 2002;89(5):607–9.
14. Okin PM. Electrocardiography in women: taking the initiative. *Circulation* 2006;113(4):464–6.
15. Zhang ZM, Prineas RJ, Case D, Soliman EZ, Rautaharju PM; ARIC Research Group. Comparison of the prognostic significance of the electrocardiographic QRS/T angles in predicting incident coronary heart disease and total mortality (from the atherosclerosis risk in communities study). *Am J Cardiol* 2007;100(5):844–9.
16. Gungor M, Celik M, Yalcinkaya E, Polar AT, Yuksel UC, Yildirim E et al. The value of frontal planar QRS–T angle in patients without angiographically apparent atherosclerosis. *Medical Principles and Practice* 2017;26:125–31.
17. Palaniswamy C, Singh T, Aronow WS, Ahn C, Kalapatapu K, Weiss MB et al. Aplanar QRS-T angle N90 degrees is associated with multivessel coronary artery disease in patients undergoing coronary angiography. *Med Sci Monit* 2009;15:31–4.
18. Colluoglu T, Tanriverdi Z, Unal B, Ozcan EE, Dursun H, Kaya D. The role of baseline and post-procedural frontal plane QRS-T angles for cardiac risk assessment in patients with acute STEMI. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2018;23: e12558.
19. Selvaraj S, Ilkhanoff L, Burke MA, Freed BH, Lang RM, Martinez EE et al. Association of the frontal QRS-T angle with adverse cardiac remodeling impaired left and right ventricular function, and worse outcomes in heart failure with preserved ejection fraction. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2013;27:74–82.
20. Raposeiras-Roubin S, Virgos-Lamela A, Bouzas-Cruz N, Lopez AL, Busto MC, Garda RF et al. Usefulness of the QRS-T angle to improve long-term risk stratification of patients with acute myocardial infarction and depressed left ventricular ejection fraction. *Am J Cardiol* 2014;113:1312–9.



The Importance of the Tumor Sidedness and Its Relationship with Other Clinicopathological Features in Patients with Colorectal Cancer

Kolorektal Kanserli Hastalarda Tümör Tarafılığının Önemi ve Diğer Klinikopatolojik Özelliklerle İlişkisi

Nilgun Sogutcu¹, Sahin Lacin², Halis Yerlikaya³, Deniz Yılmaz⁴

¹Department of Pathology, SBU Gazi Yasargil Training and Research Hospital, Diyarbakir; ²Department of Medical Oncology, Yeditepe University, Faculty of Medicine, İstanbul; ³Medical Oncology Clinic, UHS, Gazi Yasargil Training and Research Hospital; ⁴Pathology Department, Dicle University, Diyarbakir, Turkey

ABSTRACT

Aim: Colorectal cancer (CRC) is one of the most common and mortal diseases and prognostic factors have a crucial role in stratifying patients. We aimed to evaluate the importance of CDX2 expression, serum CEA level, and tumor sidedness in CRC patients.

Material and Method: Patients diagnosed with colorectal cancer between September 2014 and December 2019 were included in the study. Serum CEA level, primary tumor bias, CDX2 expression and other demographic characteristics were recorded as variables. All study analyzes were performed using SPSS version 22 statistical software (IBM Corporation).

Results: 152 patients with CRC were included, 64 (42.1%) of patients were female and 88 (57.9%) of patients were male, the median age of patients was 55 (range 18–93). The median survival of patients with serum CEA level <3.5ng/ml, and the patients with CEA level >3.5 ng/ml was 35.1 and 26.6 months, respectively, and the difference between groups was a statistically significant ($p=0.006$). There was a positive correlation between disease stage and serum CEA level, metastatic patients had higher serum CEA level than non-metastatic patients ($p=0.009$). In terms of tissue CDX2 expression, eleven patients (7.2%) had CDX2 expression negative, 136 (89.5%) of patients had CDX2 expression positive. The difference between OS rates of patients according to CDX2 expression status was not significant ($p=0.7$). Despite the longer survival of patients with left-sided than right-sided, the difference was not significant, the median OS was 67.6 and 29.7 months, respectively ($p=0.3$). The median follow-up time was 24.1 months.

Conclusion: The serum CEA level was found as a clear prognostic factor for CRC patients. Additionally, CDX2 expression positive and left-sided primary tumors had longer survival as reported in the literature. Also, our patient stratification model based on tumor sidedness and serum CEA level obtained promising outcomes but need to be confirmed by larger and prospective trials.

Key words: CDX2; CEA; colorectal cancer; serum, sidedness

ÖZET

Amaç: Kolorektal kanser (KRK) en yaygın ve ölümcül hastalıklardan biridir ve hastaların sınıflandırılmasında prognostik faktörler çok önemlidir. Bu çalışmada, KRK hastalarında CDX2 ekspresyonu, serum CEA düzeyi ve tümör tarafılığının önemini değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: Eylül 2014-Aralık 2019 tarihleri arasında hastalık evresine bakılmaksızın kolorektal kanser tanısı alan hastalar dahil edildi. KRK tanısı primer veya metastatik lezyondan elde edilen patolojik doku bulguları ile doğrulandı. Serum CEA düzeyi, primer tümör tarafılığı (sağ taraf veya sol taraf), CDX2 ekspresyonu ve elde edilen diğer demografik özellikler çalışma değişkeni olarak kaydedildi. Tüm çalışma analizleri SPSS sürüm 22 istatistik yazılımı (IBM Corporation) kullanılarak yapıldı.

Bulgular: KRK'li 152 hasta dahil edildi, 64 hasta (%42,1) kadın, 88 hasta (%57,9) erkek, ortalama yaş 55 (18–93 yaş) idi. Serum CEA düzeyi <3,5ng/ml olan hastalarda ve CEA düzeyi >3,5 ng/ml olan hastalarda ortalama sağkalım sırasıyla 35,1 ve 26,6 aydı ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,006$). Hastalık evresi ile serum CEA düzeyi arasında pozitif korelasyon vardı, metastatik hastalarda serum CEA düzeyi metastatik olmayan hastalara göre daha yüksekti ($p=0,009$). Doku CDX2 ekspresyonu açısından, on bir hastada (%7,2) CDX2 ekspresyon negatif, 136 hastada (%89,5) CDX2 ekspresyon pozitif bulundu. CDX2 ekspresyon durumuna göre hastaların OS oranları arasındaki fark anlamlı değildi ($p=0,7$). Sol taraflı hastaların sağ taraflılara göre daha uzun süre hayatta kalmasına rağmen, fark anlamlı değildi, medyan OS sırasıyla 67,6 ve 29,7 aydı ($p=0,3$). Ortalama takip süresi 24,1 aydı.

Sonuç: Serum CEA düzeyi, CRC hastaları için belirgin bir prognostik faktör olarak bulundu. Ek olarak CDX2 ekspresyonu pozitif ve sol taraflı primer tümörlerin literatürde bildirildiği gibi daha uzun sağkalımı vardı. Ayrıca, tümör tarafılığı ve serum CEA düzeyine dayanan hasta sınıflama modelimiz umut verici sonuçlar elde etmiştir, ancak daha büyük ve prospektif çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: CDX2; CEA; kolorektal kanser; serum; tümör gelişim tarafı

İletişim/Contact: Nilgun Sogutcu, SBU Gazi Yasargil Training and Research Hospital, Department of Pathology, Diyarbakir, Turkey • Tel: 0505 397 84 21 • E-mail: nilgunsogutcu@gmail.com • Geliş/Received: 19.06.2020 • Kabul/Accepted: 13.10.2020

ORCID: Nilgün Söğütçü, 0000-0002-2455-2964 • Şahin Lacin, 0000-0002-8770-9842 • Halis Yerlikaya, 0000-0003-4300-9972 • Deniz Yılmaz, 0000-0003-3934-5914

Introduction

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common and mortal diseases. According to the World Health Organization GLOBOCAN database, CRC is the third most commonly diagnosed cancer in males and the second in females, and the incidence of the disease is higher in males than in females¹. There are diverse subtypes of colorectal tumors such as carcinomas, neuroendocrine neoplasms, hamartomas, mesenchymal tumors, lymphomas. Among carcinomas, more than 90 percent are adenocarcinomas, however, other histologic types such as neuroendocrine neoplasms, hamartomas, mesenchymal tumors, lymphomas are relatively uncommon². Adenocarcinoma is classified according to its histological differentiation, and some of these histologic variants carry prognostic significance. In this context, signet ring, poorly differentiated, or undifferentiated carcinomas are aggressive adenocarcinoma subtypes with a poor prognosis³⁻⁵. Immunohistochemistry (IHC) evaluation of tumor tissue is done routinely by pathologists and generally used to provide clues to the origin. Among these evaluations, cytokeratin 7 (CK7) and CK20 are used routinely to evaluate metastatic adenocarcinoma of the unknown primary site⁶⁻⁸. CK20 and CK7 are particularly used for the differentiated diagnosis of a primary colorectal malignancy from mucinous ovarian cancer⁹. In addition to IHC for CK20 and CK7, especially for the colorectal origin, caudal type homeobox transcription factor 2 (CDX2) is commonly used as a highly specific tissue biomarker for well-differentiated intestinal epithelium. Therefore, there is a correlation between lack of CDX2 expression and poorly differentiated adenocarcinoma. The tumor tissues of around 7% –13% of CRC cases don't express CDX2 and these patients have a worse prognosis¹⁰. Besides the aforementioned parameters like pathologic stage, the histologic grade of differentiation, and CDX2, serum level of serum carcinoembryonic antigen (CEA) is a prognostic parameter in CRC. Elevated serum CEA levels have an adverse impact on survival that is independent of tumor stage^{11,12}. The investigations regarding prognostic factors for patients with colorectal cancer are ongoing and a dynamic field. Recently accumulated data suggest that the primary tumor site may be prognostic and predictive of the benefit from the therapies¹³. Because primary tumors that originate from the left and right sides of the colon have different clinical and molecular features¹⁴. However, the particular essential functions of the left and right sides in the colon are not completely understood and the researches that try to define the meaning

of sidedness are continuing¹⁵. The aim of our study is to evaluate the importance of CDX2 expression, serum CEA level, and tumor sidedness in CRC patients and to examine their prognostic values.

Material and Method

Patients

The patients who diagnosed with colorectal cancer regardless of disease stage between September 2014 and December 2019 were included. The diagnosis of CRC was confirmed with pathological tissue findings obtained from the primary or metastatic lesion. The inclusion criteria were patients who had a diagnosis of CRC based on histopathological or cytological findings, with any stage of the disease, any level of serum CEA concentrations, adequate hematological and biochemical parameters, and patients aged 18 years or older. Patients were excluded if they had a different diagnosis other than CRC. Patient stages were evaluated according to the TNM staging system. Patients' stages classified as metastatic and non-metastatic due to the unbalanced distribution of patients according to disease stages. The patients' treatment options had been discussed in our interdisciplinary tumor boards and the treatment options have been suggested based on the most commonly used guidelines. The conducted treatment options like systemic cytotoxic treatment with/without biologic agents, a tyrosine kinase inhibitor, and best supportive care (BSC) were determined as study variables. Biologic agents that applied with systemic cytotoxic chemotherapy in the study were epidermal growth factor receptor inhibitors (anti-EGFR) (panitumumab or cetuximab), and vascular endothelial growth factor inhibitors (anti-VEGF) (bevacizumab, aflibercept, and ramucirumab). Additionally, regorafenib as sole tyrosine kinase inhibitor had been used in beyond second-line treatment of the disease. The survival of the patients was calculated according to all variable that determined for the study like serum CEA level, primary tumor sidedness (right side or left side), gender, CDX2 expression, tumor differentiation, recurrence status, and metastatic site (lung, liver, peritoneum, and others). The distal third of the transverse was adopted as the landmark for distinguishing right-sided vs. left-sided cancers because this location is known as the point that separating the midgut from the hindgut¹⁶. We created prognostic groups with serum CEA levels and tumor sidedness and tried to better estimate of the patients' survival. Prognostic group 1 was composed of patients with right-sided primary tumor

and CEA level ≥ 3.5 ng/ml and prognostic group 2 was composed of patients with left-sided primary tumor and serum CEA levels < 3.5 ng/ml.

Ethical Approval

Our study was designed and conducted according to the Helsinki declaration. The study approval was obtained from the Ethics Committee of the hospital.

Statistical Analysis

The overall survival (OS) was defined as the time from diagnosis date to death or censorship; patients whose follow-up were lost, they censored at the date they were last known to be alive. OS for all patients calculated, and the effects of the determined variable on survival were calculated. Survival rates were estimated by the Kaplan-Meier method, and the log-rank test was used to compare OS rates between groups. The patient characteristics and differences were compared between those receiving different treatment options for CRC. Categorical variables, number of patients and percentage of patients in each category were provided, and Chi-Square test (X^2) or Fisher's exact test was used to test for statistical differences between the determined groups. The Cox proportional hazards model was used for univariable and multivariable associations between survival and the covariates. Hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs) were calculated. All tests were 2-sided with a significance level of 0.05. Analyses were performed using SPSS version 22 statistical software (IBM Corporation, Somers, New York, USA).

Results

152 patients with CRC were determined who were treated or followed up at our hospital. Sixty-four (42.1%) of patients were female and 88 (57.9%) of patients were male, the median age of 152 patients was 55 (range 18–93). The demographic and clinical characteristics of the patients at baseline are listed in Table 1. The disease stage of the patients according to the TNM staging system, in a total of 110 patients, there were 69 (45.4%) CRC patients classified as non-metastatic, 39 (25.7%) of patients classified as the metastatic stage, and 44 (28.9%) of patients were not able to be classified. There was a statistically significant difference between the median overall survival of metastatic CRC patients according to the subtype of chemotherapy and biologic agent which were FOLFOX plus biologic agent and FOLFIRI plus biologic agent, 33.6 months for patients treated with

FOLFOX plus biologic agent, 13.4 months for patients treated with FOLFIRI plus biologic agent ($p < 0.001$) (Figure 1). The patients were divided into two groups according to their serum CEA level, the first group was included the patients with serum CEA level < 3.5 ng/ml, and the second group was included the patients with CEA level > 3.5 ng/ml. There was a statistically significant difference between the median OS rates of the first and the second groups, mOS rate was 35.1 and 26.6 months, respectively ($p = 0.006$) (Figure 2). There was a positive correlation between disease stage and serum

Table 1. Baseline demographic and clinical characteristics of the patients

Characteristics of the patients			Percentage
Total patients (n)		152	100%
Median age of all patients		55 (18–93)	100%
Median age	Female	52 (19–93)	42.1%
	Male	57 (18–90)	57.9%
Gender	Female	64	42.1%
	Male	88	57.9%
Tumor CDX2 status	Positive	136	89.5%
	Negative	11	7.2%
	Not reported	5	3.3%
Prognostic groups	Group 1	32	21.1%
	Group 2	13	8.6%
	Not reported	107	70.3%
Tumor sidedness	Left	86	56.6%
	Right	39	25.7%
	Not reported	27	17.7%
Patient's blood type	A	43	28.3%
	B	14	9.2%
	AB	6	3.9%
	O	44	28.9%
	Not reported	45	29.7%
Disease stage	Non-metastatic	69	45.4%
	Metastatic	39	25.7%
	Not reported	44	28.9%
The first-line treatment	FUFA	2	1.3%
	Capecitabine	21	13.8%
	FOLFOX	21	13.8%
	CAPOX	18	11.8%
	FOLFOX plus biologic agent	17	11.2%
	FOLFIRI plus biologic agent	20	13.2%
	Chemoradiotherapy	6	3.9%
Not reported	47	31%	

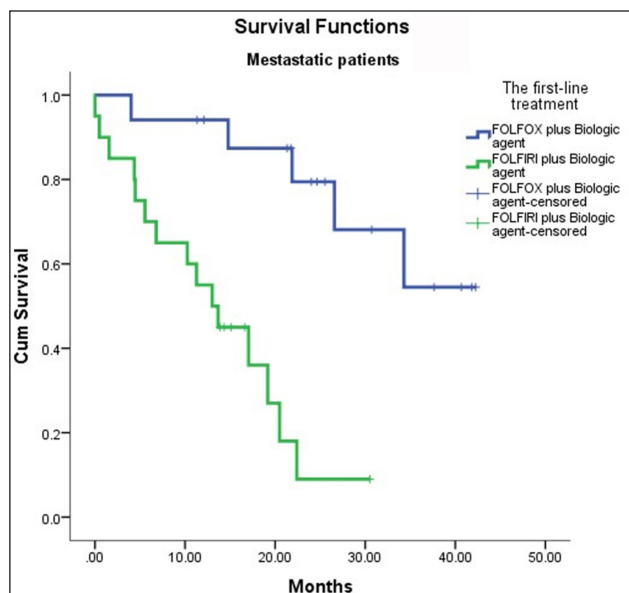


Figure 1. Survival analysis of metastatic patients according to FOLFOX or FOLFIRI with biologic agent.

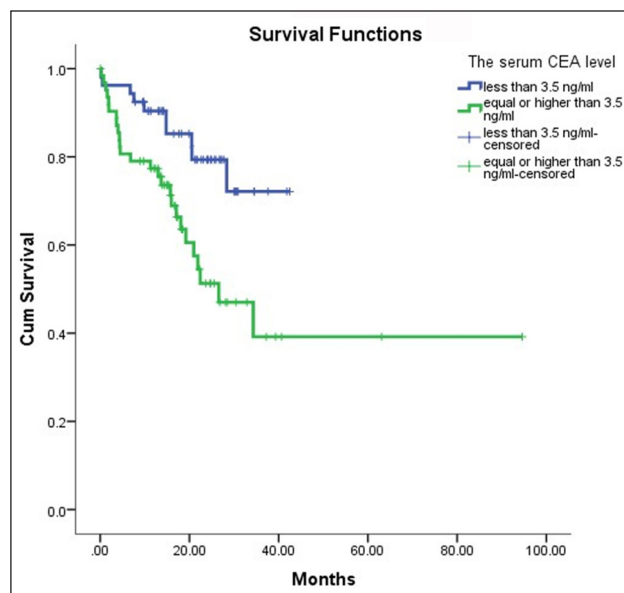


Figure 2. Patients' survival curve according to the serum CEA level.

CEA level, metastatic patients had higher serum CEA level than non-metastatic patients ($p=0.009$). The mean serum CEA level in non-metastatic and metastatic patients was 10.3 ng/ml and 227.8 ng/ml, respectively. In tumor tissue, eleven patients (7.2%) had CDX2 expression negative, 136 (89.5%) of patients had CDX2 expression positive and 5 patients weren't reported. The difference between OS rates of patients with CDX2 expression negative and positive was not significant, the median OS rate was 28.5 and 58.8 months, respectively ($p=0.7$) (Figure 3). Tumor sidedness in patients regardless of disease stage, despite longer survival of patients with left-sided than right-sided, the difference was not significant, the median OS was 67.6 and 29.7 months, respectively ($p=0.3$) (Figure 4). We combined serum CEA level with tumor sidedness to better estimate of the patients' survival, and the survival of patients with left-sided tumor and serum CEA level <3.5 ng/ml as prognostic group 1 was significantly longer than patient with right-sided and serum CEA level ≥ 3.5 ng/ml as prognostic group 2 ($p=0.012$) (Figure 5). The potential factors determined with univariate analyses were further entered into the Cox regression analysis which were patient's gender, serum CEA level, tumor sidedness, tumor differentiation, IHC CDX2 expression, recurrent status, prognostic groups, and tumor metastatic involvement side (Table 2). We found three factors that statistically significantly had effects on the overall survival of

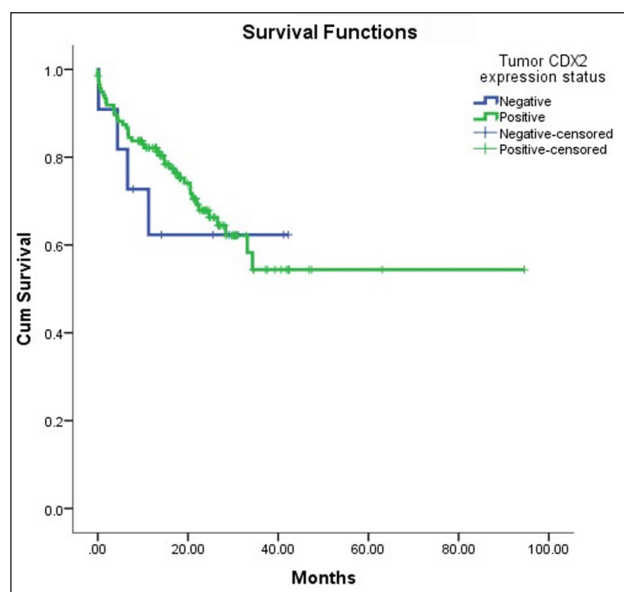


Figure 3. The survival curve according to tumor tissue CDX2 status.

the patients. These factors were serum CEA level, prognostic group, and the disease recurrent status. The higher serum CEA level, prognostic group 2 which includes patients with right-sided primary and serum CEA level ≥ 3.5 ng/ml, and positive recurrence status increased the mortality rate in the patients. Nevertheless, we could not find a significant effect of gender, tumor sidedness, tumor differentiation, IHC CDX2 expression and tumor metastatic involvement side on survival. The median time of follow-up was 24.1 months.

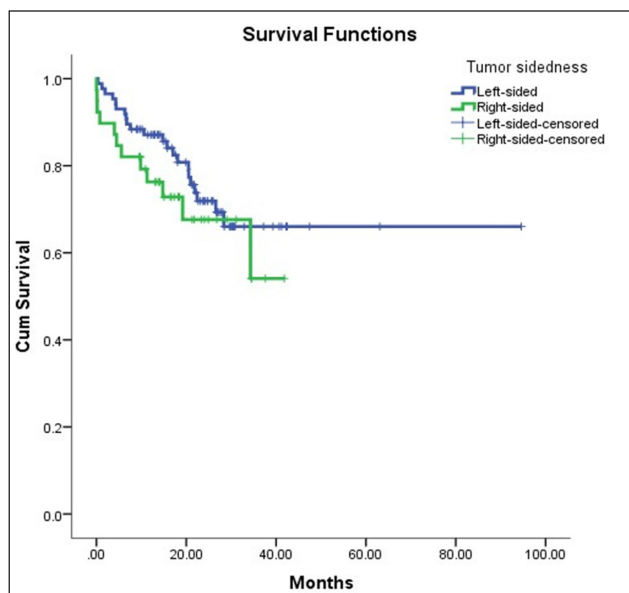


Figure 4. Kaplan-Meier survival curve according to tumor sidedness.

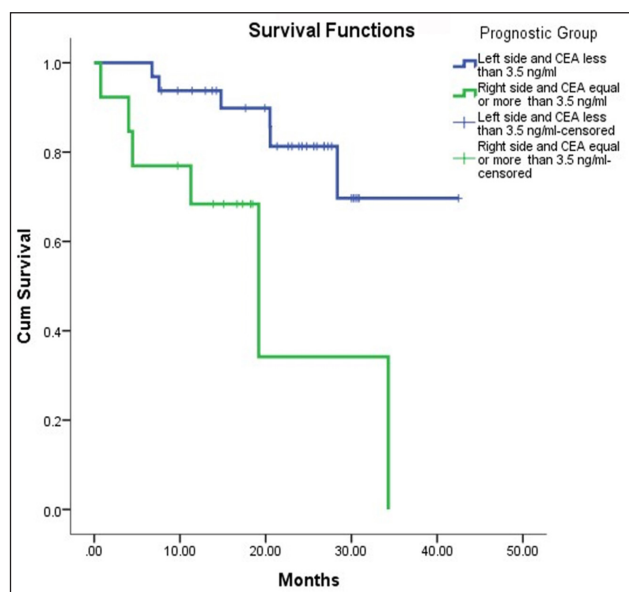


Figure 5. Kaplan-Meier prognostic groups' survival curve.

Discussion

In colon cancer, prognostic factors play a crucial role in patients' risk stratification and treatment options recommendation. In this context, several features which include tumor stage, tumor grade, microsatellite instability (MSI), lymphovascular and perineural invasion, molecular characteristics (KRAS, NRAS, BRAF, and HER2), primary tumor sidedness have been used for stratification and treatment algorithms in colon cancer patients. In our study, we revealed the effects of various

Table 2. The Cox regression analysis of the factors and their effects on survival

Parameters	Hazard ratio (95% CI)¥	P value
Serum CEA level >3.5 ng/ml vs. <3.5 ng/ml	2.69 (1.29–5.59)	0.008*
Right side vs. left side	1.44 (0.71–2.92)	0.3
Metastatic stage vs. non-metastatic stage	4.03 (2.08–8.88)	<0.001*
Prognostic group 2 vs. prognostic group 1	4.36 (1.28–14.85)	0.02*
Male vs. female	1.18 (0.66–2.10)	0.6
IHC CDX2 status negative vs. positive	1.17 (0.42–3.27)	0.7
Moderate diff. vs. Well diff.	1.83 (0.51–6.55)	0.3
Poor diff. vs. Well diff.	2.73 (0.61–12.30)	0.2
Recurrent vs. non-recurrent	6.01 (2.56–14.10)	<0.001*
Metastatic side, lung vs. liver	0.62 (0.19–2.05)	0.4
Metastatic side, peritoneum vs. liver	1.12 (0.45–2.82)	0.8

features of CRC patients on the course of the disease by retrospective analysis. These features like serum CEA level, primary tumor sidedness, disease stage, gender, CDX2 expression, recurrence status, and metastatic involvement side. We could not detect the significant prognostic role of CDX2 in our CRC patient population which has been clearly reported in patients with early-stage cancer in the literature. However, serum CEA level was found as a clear prognostic factor in our general patients' population.

As a member of a caudally related homeobox gene family, the CDX2 gene encodes intestine-specific transcription factor (CDX2). Intestinal epithelial cells need the CDX2 for growing and differentiation and it is particularly expressed in the nuclei of intestinal epithelial cells^{17,18}. The CDX2 protein expression has been evaluated as a potential prognostic factor in particularly in CRC patients with stage II and III disease. In the trial, CDX2-negative tumors were associated with a lower rate of disease-free survival than CDX2-positive tumors across independent data sets of the study. This association was not confounded by other risk factors that are known to affect survival rates among patients with early-stage colon cancer, such as the primary tumor invasion deepness and the number of lymph nodes resected at the surgery. Additionally, the CDX2

expression status has been associated with the benefit of chemotherapy in early-stage colon cancer, and negative patients obtained more benefits from chemotherapy than positive patients¹⁰. However, the role of the CDX2 expression in metastatic CRC remains unclear, because of their poor prognosis, patients with stage IV disease have not been particularly included in the majority of trials. Despite all these inadequacies, the relationship between CDX2 expression and metastatic colon cancer patients has been evaluated in several trials, and the prognostic effect of the expression reported as an independent poor prognostic marker in these patient subgroups as well¹⁹. We analyzed the prognostic effect of CDX2 in our colorectal cancer patients regardless of the disease stage. In our study, we observed to the median survival of patients with CDX2 expression positive tended to be longer than patients with CDX2 negative as demonstrated previously.

There are increasing shreds of evidence about the prognostic and predictive role of primary tumor sidedness in patients with the metastatic stage of colon cancer. The left and right sides of the colon have distinct clinical and molecular characteristics that have affect tumor behavior^{13,14,20}. These distinct clinical and molecular characteristics lead to prognostic and predictive differences. In this context, the relationship between the effectiveness of treatments specifically targeting EGFR and VEGF pathways and the tumors sidedness has been investigated^{21,22}. While left-sided RAS wild type (no mutation) tumors are more sensitive to EGFR inhibitors, right-sided tumors do not respond very well, possibly due to the higher frequency of BRAF mutations and other different molecular features²³. The incidence rate of left-sided CRC is much more common than right-sided, and approximately two-thirds of CRCs are emerging from the left side of the colon²⁴. In our study, despite no statistical significance, the patients who had left-sided tumors lived longer than patients with right-sided tumors. In terms of primary tumor location, left-sided tumors were more frequent than right-sided tumors in our patient's population, and this was consistent with the literature. Additionally, notwithstanding the no significant difference between two different chemotherapy regimens, in our metastatic patients, FOLFOX plus the biologic agent was significantly better than FOLFIRI plus biologic agent. However, it is not possible to interpret the superiority of a chemotherapy regimen with this result due to the unbalanced distribution of the tumor sidedness of the patients and the difference of biological agents.

Carcinoembryonic antigen (CEA) is a glycoprotein and member of intracellular adhesion molecules produced in the epithelium of the large intestine to promotes cellular aggregation^{25,26}. As a biomarker, CEA has been used for diagnosis, treatment and surveillance in colorectal cancer patients, and elevated serum levels of CEA have been associated with a worse prognosis^{27,28}. CEA has been reported to promote aggregation of colon cancer cells and to facilitate tumor metastasis²⁹. The relationship between elevated baseline CEA and the worse prognosis in patients with metastatic disease has been clearly demonstrated by previous studies^{30,31}. In our patient's population, we have clearly reported serum CEA level as a prognostic factor, and patients with lower serum CEA level had significantly longer survival. Additionally, we stratified our patients according to tumor sidedness and serum CEA level, patients with both low serum CEA level and the left-sided tumor had significantly longer survival than patients with right-sided and high serum CEA levels. This stratification may help to better predict the survival of patients with colon cancer but needs to be confirmed by studies with larger and balanced patient distribution.

Our study has several limitations. Firstly, being retrospective makes it difficult to evaluate patients' characteristics effectively and reliably. Secondly, to define the patients to two groups according to the disease stage and not to determine the exact stage's class makes it difficult to obtain accurate information about the survival and prognosis of the patients, so in this sense, it is difficult to make inferences. Thirdly, Classification of all biological agents (anti-EGFR (panitumumab or cetuximab) and anti-VEGF (bevacizumab)) applied to patients in the same group will make insufficient to show the true effectiveness of these agents.

In conclusion, our study evaluated the importance of tumor tissue CDX2 expression, serum CEA level, and tumor sidedness and examined the prognostic values of these factors in our CRC patient population. The serum CEA level was found as a clear prognostic factor for CRC patients. Additionally, despite not statistically significant outcomes, patients with tumor tissue CDX2 expression positive and left-sided primary tumors had longer survival as reported in the literature. Also, our patient stratification model based on tumor sidedness and serum CEA level obtained promising outcomes but need to be confirmed by larger and prospective trials.

References

- 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;68:394–424.
- Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology* 2020;76:182–188.
- Secco GB, Fardelli R, Campora E, Lapertosa G, Gentile R, Zoli S, et al. Primary mucinous adenocarcinomas and signet-ring cell carcinomas of colon and rectum. *Oncology* 1994;51:30–4.
- Hyngstrom JR, Hu CY, Xing Y, You YN, Feig BW, Skibber JM, et al. Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: analysis from the National Cancer Data Base. *Ann Surg Oncol* 2012;19:2814–21.
- Harrison JC, Dean PJ, el-Zeky F, Vander Zwaag R. From Dukes through Jass: pathological prognostic indicators in rectal cancer. *Hum Pathol* 1994;25:498–505.
- Berezowski K, Stastny JF, Kornstein MJ. Cytokeratins 7 and 20 and carcinoembryonic antigen in ovarian and colonic carcinoma. *Mod Pathol* 1996;9:426–9.
- Blumenfeld W, Turi GK, Harrison G, Latuszynski D, Zhang C. Utility of cytokeratin 7 and 20 subset analysis as an aid in the identification of primary site of origin of malignancy in cytologic specimens. *Diagn Cytopathol* 1999;20:63–6.
- Tot T. Cytokeratins 20 and 7 as biomarkers: usefulness in discriminating primary from metastatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 2002;38:758–63.
- Chu P, Wu E, Weiss LM. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol* 2000;13:962–72.
- Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N, et al. CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med* 2016;374:211–22.
- Harrison LE, Guillem JG, Paty P, Cohen AM. Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. *J Am Coll Surg* 1997;185:55–9.
- Thirunavukarasu P, Talati C, Munjal S, Attwood K, Edge SB, Francescutti V. Effect of Incorporation of Pretreatment Serum Carcinoembryonic Antigen Levels Into AJCC Staging for Colon Cancer on 5-Year Survival. *JAMA Surg* 2015;150:747–755.
- Hansen IO, Jess P. Possible better long-term survival in left versus right-sided colon cancer - a systematic review. *Dan Med J* 2012;59:A4444.
- Richman S, Adlard J. Left and right sided large bowel cancer. *BMJ* 2002;324:931–2.
- Hamada H, Meno C, Watanabe D, Saijoh Y. Establishment of vertebrate left-right asymmetry. *Nat Rev Genet* 2002;3:103–13.
- Gervaz P, Bucher P, Morel P. Two colons-two cancers: paradigm shift and clinical implications. *J Surg Oncol* 2004;88:261–6.
- Olsen J, Espersen ML, Jess P, Kirkeby LT, Troelsen JT. The clinical perspectives of CDX2 expression in colorectal cancer: a qualitative systematic review. *Surg Oncol* 2014;23:167–76.
- Verzi MP, Shin H, Ho LL, Liu XS, Shivdasani RA. Essential and redundant functions of caudal family proteins in activating adult intestinal genes. *Mol Cell Biol* 2011;31:2026–39.
- Aasebo K, Dragomir A, Sundstrom M, Mezheyeuski A, Edqvist PH, Eide GE, et al. CDX2: A Prognostic Marker in Metastatic Colorectal Cancer Defining a Better BRAF Mutated and a Worse KRAS Mutated Subgroup. *Front Oncol* 2020;10:8.
- Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, Di Narzo AF, Sonesson C, Budinska E, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol* 2014;25:1995–2001.
- Moretto R, Cremolini C, Rossini D, Pietrantonio F, Battaglin F, Mennitto A, et al. Location of Primary Tumor and Benefit From Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies in Patients With RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist* 2016;21:988–94.
- Venook AP. Metastatic Colorectal Cancer: Lessons Learned, Future Possibilities. *J Natl Compr Canc Netw* 2016;14:666–8.
- Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right Versus Left Colon Cancer Biology: Integrating the Consensus Molecular Subtypes. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15:411–419.
- Meza R, Jeon J, Renehan AG, Luebeck EG. Colorectal cancer incidence trends in the United States and United Kingdom: evidence of right- to left-sided biological gradients with implications for screening. *Cancer Res* 2010;70:5419–29.
- Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousova M, Holubec L, et al. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer* 2014;134:2513–22.
- Beauchemin N, Arabzadeh A. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) in cancer progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2013;32:643–71.
- Mitsuyama Y, Shiba H, Haruki K, Fujiwara Y, Furukawa K, Iida T, et al. Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19–9 are prognostic predictors of colorectal cancer with unresectable liver metastasis. *Oncol Lett* 2012;3:767–771.
- Strimpakos AS, Cunningham D, Mikropoulos C, Petkar I, Barbachano Y, Chau I. The impact of carcinoembryonic antigen flare in patients with advanced colorectal cancer receiving first-line chemotherapy. *Ann Oncol* 2010;21:1013–9.
- Benchimol S, Fuks A, Jothy S, Beauchemin N, Shirota K, Stanners CP. Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell* 1989;57:327–34.
- Prager GW, Braemswig KH, Martel A, Unseld M, Heinze G, Brodowicz T, et al. Baseline carcinoembryonic antigen (CEA) serum levels predict bevacizumab-based treatment response in metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2014;105:996–1001.
- Yoshino T, Obermannova R, Bodoky G, Garcia-Carbonero R, Ciuleanu T, Portnoy DC, et al. Baseline carcinoembryonic antigen as a predictive factor of ramucirumab efficacy in RAISE, a second-line metastatic colorectal carcinoma phase III trial. *Eur J Cancer* 2017;78:61–69.



Tiroid Nodüllerinde Sitopatolojik ve Histopatolojik Uyum Değerlendirmesi: 425 Olgu İçeren Tek Merkez Çalışması

Evaluation of Cytopathological and Histopathological Compatibility in Thyroid Nodules: Single Center Study with 425 Cases

Nazlı Sena Şeker¹, Şeyhmus Kaya¹, Ayhan Şenol², Hikmet Soylu³

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü; ²Girişimsel Radyoloji Bölümü; ³Endokrinoloji Bölümü; Diyarbakır, Türkiye

ABSTRACT

Aim: Thyroid nodules are a common health problem, which is common in the community, and its rates of detection are increasing in proportion to the increasing use of imaging methods. For this reason, cytopathological classification of Bethesda has a very important place for the differentiation of the cases that will be followed in the clinical approach to the thyroid nodules and directed to the operation. This classification system consists of 6 categories and it is possible to put all thyroid nodules into one classification. We aimed to evaluate the compliance in our center by retrospectively examining the patients who underwent thyroid fine needle aspiration cytology (FNAC) and subsequently operated surgically.

Material and Method: In our study, we included 425 patients who were operated between 2014–2019 and who had undergone thyroid FNAC in the Diyarbakır Gazi Yaşargil Training and Research Hospital. Histopathological diagnoses of thyroid Bethesda class 4 (Follicular neoplasia/Follicular neoplasia suspicion) cases and cytopathological diagnoses of cases diagnosed with papillary microcarcinoma and Hashimoto/lymphocytic thyroiditis were also evaluated.

Results: According to the Bethesda thyroid cytopathology classification, 53 of the cases were reported as nondiagnostic, 193 as benign, 85 as Atypia of Undetermined Significance or Follicular Lesion of Undetermined Significance (AUS/FLUS), 22 as suspicious in terms of follicular neoplasia, 61 as suspicious in terms of malignancy, and 11 as malignant cytology. 33 cases diagnosed with thyroid papillary microcarcinoma, cytopathologically; 10 (31%) were reported as AUS/FLUS, 7 (21%) were non-diagnostic, 7 (21%) were benign, 7 (21%) were Suspicious for Malignancy, 1 (3%) were Follicular Neoplasm or Suspicious for a Follicular Neoplasm, and 1 (3%) was reported as malignant cytology. The diagnoses of 51 cases diagnosed with Hashimoto thyroiditis or lymphocytic thyroiditis in the cytology preparation are; benign 17 (33%), AUS/FLUS 16 (51%), suspicious of malignancy 11 (21%), nondiagnostic 4 (8%), Follicular Neoplasm or Suspicious for a Follicular Neoplasm 2 (4%) and malignant cytology 1 (2%).

Conclusion: In our study, our case rates are generally compatible with the literature. However, we observed that papillary microcarcinomas may increase the false negative diagnosis rate, while Hashimoto's thyroiditis/Lymphocytic thyroiditis cases may increase cases of AUS/FLUS and suspicious of malignancy cytology. In our study with a single center, we think that the case should be evaluated together with clinical, sonographic and laboratory findings in these aspects, and that we can overcome this situation.

Key words: thyroid nodule; cytopathology; fine needle aspiration

ÖZET

Amaç: Tiroid nodülleri, toplumda sık görülen ve görüntüleme yöntemleri arttıkça insidental saptanma oranları da gittikçe artan bir sağlık problemidir. Bu nedenle ki tiroid nodüllerine klinik yaklaşımda takip edilecek ve operasyona yönlendirilecek olguların ayırımı için, sitopatolojik Bethesda sınıflaması çok önemli bir yer tutmaktadır. Bu sınıflama sistemi 6 kategoriden oluşmaktadır ve tiroid nodüllerinin hepsini bir sınıflamaya koymak mümkündür. Biz çalışmamıza tiroid ince iğne aspirasyon sitoloji (İİAS) yapılan ve sonrasında cerrahi opere edilen olguların retrospektif olarak inceleyerek, kendi merkezimizdeki uyumu değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza, SBÜ Diyarbakır Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, 2014–2019 yılları arasında opera edilen ve öncesinde tiroid İİAB uygulanan 425 olgu dâhil ettik. Tiroid Bethesda sınıf 4 (Foliküler neoplazi/Foliküler neoplazi kuşkusu) olgularının histopatolojik tanıları ile papiller mikrokarsinom ve Hashimoto/lenfositik tiroidit tanısı alan vakaların sitopatolojik tanıları ayrıca belirtilmiştir.

Bulgular: Bethesda tiroid sitopatoloji sınıflamasına göre, olguların 53'ü yetersiz, 193'ü benign, 85'i önemli belirsiz atipi/önemi belirsiz foliküler lezyon, 22'si foliküler neoplazi açısından kuşkulu, 61'i malignite açısından kuşkulu ve 11'i malign sitoloji olarak raporlanmıştır. Histopatolojik olarak tiroid papiller mikrokarsinom tanısı alan toplam 33 olgunun çoğunluğu 10 (%31) önemi belirsiz atipi tanısı almış olup sırasıyla; yetersiz 7 (%21), benign 7 (%21), malignite açısından kuşkulu 7 (%21), foliküler neoplazi kuşkusu 1 (%3) ve malign sitoloji 1 (%3) tanıları almıştır. Hashimoto tiroiditi ya da lenfositik tiroidit tanısı alan toplam 51 vakanın sitoloji preparatında aldığı tanıları sırasıyla; benign 17 (%33), önemi belirsiz atipi 16 (%51), malignite kuşkulu 11 (%21), yetersiz 4 (%8), foliküler neoplazi kuşkusu 2 (%4) ve malign sitoloji 1 (%2)'dir.

Sonuç: Çalışmamızda, vaka oranlarımız genel olarak literatür ile uyumludur. Ancak papiller mikrokarsinomların yanlış negatif tanı oranını arttırabileceğini, Hashimoto tiroiditi/lenfositik tiroidit olgularının ise önemli belirsiz atipi ve malignite kuşkulu sitoloji tanıları arttırabileceği gözlemlenmiştir. Tek merkezle yaptığımız çalışmamızda sitolojik tanı verirken olgunun bu yönlere klinik, sonografik ve laboratuvar bulgularıyla birlikte değerlendirilmesi gerektiğini böylece bu durumu aşabileceğimizi düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: tiroid nodül; sitopatoloji; ince iğne aspirasyon

İletişim/Contact: Nazlı Sena Şeker, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü, Diyarbakır, Türkiye • Tel: 0506 738 95 81 • E-mail: nazlisenadadem@gmail.com • Gelir/Received: 10.08.2020 • Kabul/Accepted: 29.03.2021

ORCID: Nazlı Sena Şeker, 0000-0003-4588-7250 • Şeyhmus Kaya, 0000-0003-4059-9946 • Ayhan Şenol, 0000-0001-5467-0307 • Hikmet Soylu, 0000-0003-4118-366x

Giriş

Tiroid nodülleri toplumda sık görülen sağlık problemleri arasındadır, erişkin popülasyonda prevalansı %4–7'dir; ve bunların %5'i maligndir¹. Tiroid kanser oranı Amerika Birleşik Devletleri'nde son üç dekatta %300 artış ile en hızlı artış gösteren kanser türü olarak yer almaktadır². Tiroid nodüllerinin değerlendirilmesi en başta anamnez ve fizik muayene ile başlamaktadır. Aynı zamanda TSH (tiroid uyarıcı hormon) seviyeleri takip edilir ve ultrasonografi yapılır. Eğer malignite kesin olarak dışlanamazsa ince iğne aspirasyon sitolojisi (İİAS) yapılır³.

Ancak uygulanan ultrasonografi gibi görüntüleme yöntemlerinin artmasıyla birlikte, insidental nodül saptanma oranları da artış göstermektedir⁴. Bir çalışmada insidental saptanan tiroid nodüllerinde, insidental saptanmayanlara göre malignite oranlarının daha fazla olduğu gösterilmiştir ve insidental saptanan nodüllerin görüntüleme yöntemleri ile takibinin yapılması sonucuna varılmıştır⁵. İnsidental saptanan 1–2 cm boyutlarındaki tiroid nodüllerinde ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) tanısal ve maliyet etkinliği açısından en etkin yöntemdir⁶. İnce iğne aspirasyon biyopsileri hasta başında, intraoperatif konsültasyon benzeri hızlı bir incelemeyle de değerlendirilebilmektedir. Bu yöntemle hasta başı yeterlilik değerlendirilen bir çalışmada sitoloji yeterlilik oranlarının arttığı bildirilmektedir³.

Tiroid İİAB'lerinde sitopatolojik bulgular ile vakaların malignite potansiyelini belirlemek üzere Bethesda sistemi uygulanmaktadır. Tiroid sitopatolojisi için olan Bethesda sisteminden önce, tiroid sitolojileri merkezler arasında farklılık gösteriyordu ve sitopatolojik bulguların klinik yansımaları çok farklı idi⁷. Bethesda sistemi, tiroid sitopatolojileri için uniform, altı kategoriye ayrılan bir raporlama sistemidir. Bu altı kategori: 1- Tanısal olmayan, 2- Benign, 3- Önemi belirsiz atipi veya önemi belirsiz foliküler lezyon, 4- Foliküler neoplazi ya da foliküler neoplazi kuşkusu, 5- Malignite açısından kuşkulu, 6- Malign şekildedir⁸. Bu sınıflamadaki kategorilere göre klinik uygulama belirlenmektedir. Tanısal yünden yetersiz ve önemi belirsiz atipi kategorisinde sitoloji tekrarı, benign kategorisi için klinik takip, foliküler neoplazi kuşkusu için lobektomi ve malignite kuşkulu ve malign sitolojiler için bilateral total tiroidektomi önerilmektedir⁷.

Bu çalışmada, tiroid İİAB sonrasında tiroidektomi operasyonu olan olgularda, Bethesda sistemine göre sitopatolojik tanıların, operasyon materyali ile uyumu araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmamızda SBÜ Diyarbakır Gazi Yaşargil Eğitim Araştırma Hastanesinde, 2014–2019 yılları arasında, tiroid İİAB sonrasında bilateral ya da unilateral tiroidektomi uygulanan 425 olguda, tanı uyumu değerlendirilmiştir. Olgulara ait demografik veriler patoloji raporlarından elde edilmiştir. Çalışmaya tiroid ince iğne aspirasyon sitolojisi sonrasında tiroidektomi operasyonu olan olgular dahil edilmiştir. Aynı nodülden birden çok işlem yapılan vakalarda, operasyondan önceki en son tiroid ince iğne aspirasyon sonucu çalışmaya dahil edilmiştir. Operasyon materyalinde olguların aldığı nodüler hiperplazi, koloidal nodül, hashimoto tiroiditi (kronik lenfositik tiroidit) ve lenfositik tiroidit tanıları benign kategorisinde değerlendirilmiştir. Papiller karsinom, foliküler karsinom ve medüller karsinom tanıları malign kategorisinde değerlendirilmiştir. Ayrıca papiller benzeri nükleer özellikler gösteren papiller benzeri nükleer özellikler gösteren non invaziv foliküler neoplazm (NIFTP) tanısı alan olguların sitopatolojik olarak aldığı tanıları ayrıca belirtilmiştir. Bethesda sınıfı 4 "foliküler neoplazi kuşkusu" 'nun operasyon materyalinde aldığı tanıları ayrıca değerlendirilmiştir. Ayrıca operasyon materyalinde Hashimoto tiroiditi (kronik lenfositik tiroiditi) ve papiller mikrokarsinom tanısı alan olguların sitoloji preparatlarında aldığı tanı kategorisine ayrıca bakılmıştır. Sonuçlar SPSS 16.0 programında değerlendirilmiştir. Sitoloji preparatının patoloji sonucu ve operasyon materyali patoloji sonuçlarının uyumu değerlendirilmiştir.

Çalışmamız Diyarbakır Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurulundan 03/07/2020 tarihinde 497 numaralı etik kurul onayını almıştır.

Bulgular

Olguların 363 (%85,4) 'ü kadın, 62 (%14,6) 'si erkektir. Ortalama hasta yaşı 46'dır (minimum 19, maksimum 92). Bethesda tiroid sitopatoloji sınıflamasına göre göre olguların 53'ü yetersiz, 193'ü benign, 85'i önemi belirsiz atipi/önemi belirsiz foliküler lezyon, 22'si foliküler neoplazi açısından kuşkulu sitoloji, 61'i malignite açısından kuşkulu ve 11'i malign sitoloji olarak raporlanmıştır. Sitoloji preparatlarındaki tanı ve operasyon materyalindeki tanı sayıları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 1).

Tablo 2'de, gösterildiği üzere Bethesda tiroid sitopatoloji sınıflama sistemine göre foliküler neoplazi kuşkusu tanısı alan toplam 22 olgudan altısı foliküler adenom;

beşi foliküler karsinom, yedisi papiller karsinom foliküler variant (FV) ve geri kalan dört olgu diğer benign kategorisinde değerlendirilmiştir. Tiroid papiller mikrokarsinom tanısı alan toplam 33 olgunun çoğunluğu 10 (%31) önemi belirsiz atipi tanısı almış olup sırasıyla; yetersiz 7 (%21), benign 7 (%21) ve malignite açısından kuşkulu 7(%21), foliküler neoplazi kuşkusu 1 (%3) ve malign sitoloji 1 (%3) tanıları almıştır. Ayrıca Hashimoto tiroiditi ya da lenfositik tiroidit tanısı alan toplam 51 vakanın sitoloji preparatında aldığı tanıları sırasıyla; benign 17 (%33), önemi belirsiz atipi 16 (%51), malignite kuşkulu 11 (%21), yetersiz 4 (%8), foliküler neoplazi kuşkusu 2 (%4) ve malign sitoloji 1 (%2) şeklindeydi (Tablo 3).

Tartışma

Tiroid nodüllerinin sınıflandırmasında kullanılan Bethesda sistemi, altı sınıf içeren, raporlama şekilleri

standartize edilmiş, sitopatolojik bir sınıflama sistemi olup, her kategoride malignite risklerinin belirlenmesi açısından etkili bir yöntemdir. Ayrıca toplamda altı sınıf olması, tüm tiroid lezyonlarının sitopatolojik olarak kategorize edilebilmesi açısından da önemlidir⁹.

Çalışmamızda sitopatolojik olarak tanısal açıdan yetersiz tanısı almış 53 vakanın 11 (%20)'i operasyon materyalinde malign tanısı almıştır. Tiroid 2017 Bethesda sınıflamasına göre tanısal yönden yetersiz kategorisinin malignite risk oranı %5–10'dur¹⁰. Buna göre bizim merkezimizde tanısal yönden yetersiz değerlendirdiğimiz olguların operasyon materyalinde malign çıkma olasılığı yüksektir. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında da, tanısal yönden yetersiz kategorisindeki olguların %16,8'inde histolojik olarak malignite saptanmıştır ki buna göre de merkezimizde yetersiz tanı alan olgularımızın malignite riski yüksektir¹⁰. Merkezimizde malign tanısı alan 11 olguya

Tablo 1. Tiroid Bethesda sitoloji sınıflaması ve operasyon materyal tanılarının karşılaştırması

			Operasyon spesmeni			Toplam
			Benign	Malign	NIFTP	
Tiroid Bethesda sitopatoloji sınıflaması	Sınıf 1	Sayı	42	11	0	53 (%12,5)
	Sınıf 2	Sayı	177	15	1	193 (%45,4)
	Sınıf 3	Sayı	59	26	0	85 (%20)
	Sınıf 4	Sayı	10	12	0	22 (%5,4)
	Sınıf 5	Sayı	21	37	3	61 (%14,4)
	Sınıf 6	Sayı	2	9	0	11 (%2,6)
		Toplam		311	110	4

Tablo 2. Bethesda sınıf 4 olguların histopatolojik tanı sayı/oranları

Tiroid Bethesda sitopatoloji sınıf	Foliküler adenom sayısı	Foliküler Karsinom sayısı	Papiller karsinom foliküler varyant	Diğer benign lezyonlar	Toplam
4	6	5	7	4	22
Yüzde (%)	%27,2	%22,7	%31,8	%18,1	%100

Tablo 3. Tiroid papiller mikrokarsinom ve Hashimoto tiroiditi/lenfositik tiroidit olgularının sitopatolojik olarak Bethesda sınıflamasına göre oranları

Bethesda tiroid sitopatoloji sınıflaması	Tiroid papiller mikrokarsinom	Hashimoto tiroiditi ve lenfositik tiroidit
1 Sayı	7 (%21)	4 (%8)
2 Sayı	7 (%21)	17 (%33)
3 Sayı	10 (%31)	16 (%31)
4 Sayı	1 (%3)	2 (%4)
5 Sayı	7 (%21)	11 (%22)
6 Sayı	1 (%3)	1 (%2)
Toplam	33 (%100)	51 (%100)

baktığımızda yedi tanesinin papiller mikrokarsinom tanısı aldığını saptanmıştır. Bu yedi olgunun altısı ise ≤ 5 mm olup, diğer bir olgu ise 6 mm'dir. Bu durumda bu olguların yetersiz olarak tanı alma sebebinin sitopatoloji laboratuvarımızın teknik alt yapı yetersizliklerinden kaynaklandığını düşünebiliriz.

Benzer şekilde merkezimizde sitoloji preparatında benign tanısı alıp, operasyon materyalinde malign tanısı alan 15 (%7,8) olgu vardır. Literatüre baktığımızda bu oran diğer benzer çalışmalarda saptanan %3,7 ve %5,6 oranlarından yüksektir^{10,11}. Zarif ve ark.'nın yaptığı çalışmada 128 benign tanısı alan olgunun histopatolojik incelemesinde 20'sinin malign raporlandığını saptamışlardır. Bu çalışmadaki oran %15,6 olup geriye yönelik bu 20 olguyu tekrar incelediklerinde vakaların 12'sinin papiller mikrokarsinom olduğunu göstermişlerdir. Bu vakaları dışladıktan sonra yeniden hesapladıklarında literatürle uyumlu şekilde %6 bulmuşlardır¹². Elbistanlı MS'nin¹³ yaptığı çalışmada ise sitolojide benign tanısı alan 45 olgunun 10'u malign saptanmıştır. Bu malign saptanan vakaların altısı papiller mikrokarsinomdur. Bizim çalışmamızda da malign tanısı alan 15 olgunun yedisi papiller mikrokarsinomdur ve bunların beşi ≤ 5 mm'dir. Biz de bu vakaları ekarte edip yeniden değerlendirdiğimizde oranımız literatürle uyumlu olarak %4 olmaktadır. Ancak bu durumda çok küçük, özellikle 5 mm'den küçük nodüllerde, örnekleme yetersizliğine bağlı yanlış negatif tanı olabileceği akılda tutulmalıdır.

Çalışmamızda Bethesda raporlama sistemi ile uyumlu olarak Bethesda sınıf 3 olgularda malignite riski %30 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızla uyumlu olan başka bir çalışmada ise opere edilen Bethesda sınıf 3 olguların %26'sı malign olarak raporlanmıştır¹⁴.

Sınıf 4 olguların Bethesda raporlama sistemine göre beklenenden daha yüksek malignite riski olduğu tespit edilmiştir. Foliküler neoplazm kuşkusu olarak raporlanan toplam 22 olgunun, 12'si malign olarak raporlanmıştır. Operasyon materyalinde malign tanısı alan olguların ise yedisi papiller karsinom foliküler varyant, beşi minimal invaziv foliküler karsinom olarak raporlanmıştır. Geri kalan 10 olgunun ise altısı foliküler adenom olarak raporlanmıştır. Literatüre baktığımızda Bethesda sınıf 4 olguların malignite riski değişkenlik göstermektedir. Örneğin bir çalışmada %50, başka bir çalışmada ise bu oran %79'dur^{11,15}. Bethesda kategori 4 olgularının foliküler adenom veya foliküler karsinom olasılığı vardır ve tedavisi lobektomi ya da

hemitiroidektomidir. Biz çalışmamızda bu kategori içerisinde, malign olarak yalnızca papiller tiroid karsinomlarını ele aldığımızda, malignite oranımız %31'e düşmektedir. Bu da Bethesda tiroid raporlama sisteminin öngördüğü malignite riski ile uyumludur.

Çalışmamızda malignite kuşkulu tanısı alan olguların %60'ı maligndir. Bu oran da Bethesda sistemine göre öngörülen malignite riski ile uyumludur¹⁰. Yang ve ark.'nın çalışmasında ise bu oran %65'tir¹⁶. Bethesda sınıflamasının ön görüşü malignite riski ile uyumludur. Ayrıca malign sitoloji olarak raporlanan 11 vakanın dokuzu (%81) papiller karsinom tanısı almıştır. Başka bir çalışmada 156 malign sitoloji tanısı alan olgunun 152'si (%97) histopatolojik olarak malign tanısı almıştır. Benign raporlanan dört olgunun, üçü foliküler adenom, biri hyalinize trabeküler hücreli tümördür¹⁷. Başka bir meta-analiz çalışmasında malign sitoloji tanısı alan olguların, operasyon materyalinde malign tanısı alma oranı %98,6'dır⁹. Zarif ve ark.'nın çalışmasında ise malign sitoloji tanısı alan olguların %100'ü malign tanısı almıştır¹². Yang ve ark.'nın çalışmasında malign sitoloji tanısı alan 276 olgunun, biri nodüler guatr (%0,4), üçü foliküler adenom (%1,1) tanısı almıştır¹⁶. Bizim çalışmamızda malign sitoloji tanısı alıp, benign olarak raporlanan iki olgu vardır. Bu olguların biri Hashimoto tiroiditi tanısı almış olup, diğeri nodüler hiperplazi tanısı almıştır.

Çalışmamızda saptanan malignite oranları ile Bethesda sınıflama sisteminin malignite risk oranları Tablo 4'te gösterilmektedir.

NIFTP (papiller benzeri nükleer özellikler gösteren non invaziv foliküler neoplazm) terimi son zamanlarda tanımlanan, daha konservatif bir yaklaşımla tedavi edilmesi gereken (tiroidektomi yerine lobektomi gibi) aynı zamanda hastayı kanser tanısı endişesinden uzak tutan bir tanıdır¹⁸. NIFTP olgularının sitolojik olarak genellikle önemi belirsiz atipi, foliküler neoplazi kuşkusu ya da malignite kuşkusu kategorisinde yer aldığı bilinmektedir^{19,20}. Sitopatolojik olarak bu olgulara nasıl tanı verilmesi gerektiği konusunda bir konsensus henüz yoktur. Ancak NIFTP'yi ön görebilecek bazı sitomorfolojik bulgular vardır. Örneğin papiller nükleer özelliklerle birlikte küçük folikül yapılarının olması ve gerçek fibrovasküler kor içeren papiller yapının ve psammom tipi kalsifikasyonun izlenmemesi gibi¹⁸. Bizim çalışmamızda toplam dört adet NIFTP tanısı alan olgu vardır, bu vakaların 3'ü malignite kuşkulu, biri önemi belirsiz atipi şeklinde raporlanmıştır.

Tablo 4. 2017 Bethesda raporlama sistemine göre malignite risk yüzdeleri ve merkezimizdeki malignite oranları karşılaştırması

Tanısıl kategori	Malignite riski (%)	Merkezimizdeki malignite oranları (%)
Tanısıl yünden yetersiz	5–10	20,8
Benign	0–3	7,8
Önemi belirsiz atipi/önemi belirsiz foliküler lezyon	10–30	30,6
Foliküler neoplazm ya da foliküler neoplazi kuşkusu	25–40	54,5
Malignite kuşkulu	50–75	60,7
Malign	97–99	81,8

Çalışmamızda Hashimoto ve lenfositik tiroidit tanısı alan olguların sitopatolojik tanıları ayrıca değerlendirilmiştir. Hashimoto tiroiditi vakalarının çoğunluğu sitopatolojik olarak benign tanısı almış olmakla birlikte, devamında oransal olarak sırasıyla önemi belirsiz atipi ve malignite kuşkulu tanıları gelmektedir. Bir çalışmada kolloidin az olması ve onkositik hücreler görülmesi sebebiyle Bethesda kategori 3 tanısı verilen olguların %2'si lenfositik tiroidit olarak raporlanmıştır²¹. Bizim çalışmamızda ise Hashimoto tiroiditi ve lenfositik tiroidit tanılı olguların %31'i önemi belirsiz atipi tanısı almıştır. Yang ve ark.'nın çalışmasında 52 önemi belirsiz atipi tanısı alan ve opere edilen olguda vakaların 14'üne (%26,9) Hashimoto tiroiditi tanısı verilmiştir. Yine aynı çalışmada 105 malignite açısından kuşkulu kategorisindeki olguların 4'ünde (%3,8) Hashimoto tiroiditi tanısı verilmiştir¹⁶.

Sonuç olarak, altı kategori içeren Bethesda sınıflaması, tiroid nodüllerinin klinik yönetiminde faydalıdır. Bizim çalışmamız genel olarak literatür oranları ile uyumludur. Ancak çalışmamızda farklı olarak, papiller mikrokarsinomların yanlış negatif tanı oranını arttırabileceğini, Hashimoto tiroiditi/lenfositik tiroidit olgularının ise önemli belirsiz atipi ve malignite kuşkulu sitoloji vakalarını arttırabileceğini gözlemlemiş bulunmaktayız. Tek merkez olarak yaptığımız çalışmamızda sitolojik tanı verirken olgunun klinik, sonografik ve laboratuvar bulgularıyla birlikte değerlendirmesinin olguya daha doğru bir yaklaşım sağlayacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- Hegedüs, L. The thyroid nodule. *New England Journal of Medicine* 2004;351(17):1764–71.
- Seib, C. D. and J. A. Sosa. Evolving understanding of the epidemiology of thyroid cancer. *Endocrinology and Metabolism Clinics* 2019;48(1):23–35.
- Toyran, T, Fındık Güvendi, G, Adalı, Y, Üstün, H. Effects of bedside adequacy assessment in thyroid cytology on cytological sufficiency and the final histopathological diagnosis. *Cukurova Medical Journal* 2020;45:1173–81.
- Rothberger GD, Cohen M, Sahay P, Szczepanczyk PT, Islam S. Method of detection of thyroid nodules: correlation with frequency of fine-needle aspiration and malignancy rate. *Head & Neck* 2020;42(2):210–6.
- Liebeskind A, Sikora AG, Komisar A, Slavik D, Fried K. Rates of malignancy in incidentally discovered thyroid nodules evaluated with sonography and fine-needle aspiration. *Journal of ultrasound in medicine* 2005;24(5):629–34.
- Wong, C., X. Liu, and B. Lang. Cost-effectiveness of fine-needle aspiration cytology (FNAC) and watchful observation for incidental thyroid nodules. *Journal of Endocrinological Investigation* 2020;1–10.
- Cibas, E. S. and S. Z. Ali. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid* 2009;19(11):1159–65.
- Bongiovanni M, Spitale A, Faquin W, C, Mazzucchelli L, Baloch Z, W. Overview of diagnostic terminology and reporting in The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Springer* 2018;1–6.
- Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: a meta-analysis. *Acta cytologica* 2012; 56(4):333–9.
- Cibas, E. S. and S. Z. Ali, The 2017 Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Thyroid* 2017;27(11):1341–6.
- Park JH, Yoon SO, Son EJ, Kim HM, Nahm JH, Hong S. Incidence and malignancy rates of diagnoses in the bethesda system for reporting thyroid aspiration cytology: an institutional experience. *Korean Journal of Pathology* 2014;48(2):133–9.
- Zarif HA, Ghandurah SE, Al-Garni MA, Binmahfooz SK, Alsaywid BS, Satti MB. Thyroid nodules cytopathology applying the Bethesda system with histopathological correlation. *Saudi journal of medicine & medical sciences* 2018;6(3): p.143–8.

13. Elbiastanlı, M. S. Tiroid nodüllerinde ince iğne aspirasyon biyopsisi sonuçlarının ameliyat sonrası patoloji sonuçları ile karşılaştırılması. *KBB Uygulamaları* 2019;7(2):59-3.
14. Heller KS. Malignancy rate in thyroid nodules classified as Bethesda category III (AUS/FLUS): Is there a correct answer?. *Thyroid* 2014;24(5):787-8.
15. Lee, Kyungji, Jung, Chan Kwon, Lee, Kyo Young, Bae, Ja Seong, Lim, Dong Jun, Jung, So Lyung. Application of Bethesda System for Reporting Thyroid Aspiration Cytology. *The Korean Journal of Pathology* 2010;44(5): p.521-7.
16. Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer Cytopathology*, 2007;111(5):306-5.
17. Yassa L, Cibas ES, Benson CB, Frates MC, Doubilet PM, Gawande AA, et al. Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cancer Cytopathology: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society* 2007;111(6):508-6.
18. Krane JF, Alexander EK, Cibas ES, Barletta JA. Coming to terms with NIFTP. a provisional approach for cytologists. *Cancer cytopathology* 2016;124(11):767-2.
19. Strickland KC, Howitt BE, Marqusee E, Alexander EK, Cibas ES, Krane JF, Barletta JA. The impact of noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on rates of malignancy for fine-needle aspiration diagnostic categories. *Thyroid* 2015;25(9): 987-2.
20. Faquin WC, Wong LQ, Afrogheh AH, Ali SZ, Bishop JA, Bongiovanni M. Impact of reclassifying noninvasive follicular variant of papillary thyroid carcinoma on the risk of malignancy in The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Cancer cytopathology* 2016;124(3):181-7.
21. Kim SJ, Roh J, Baek JH, Hong SJ, Shong YK, Kim WB, Song DE. Risk of malignancy according to sub-classification of the atypia of undetermined significance or follicular lesion of undetermined significance (AUS/FLUS) category in the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *Cytopathology* 2017;28(1):65-3.



Knowledge, Attitude and Practice Towards COVID-19 Among People in Adiyaman, Turkey

Türkiye'nin Adiyaman İlinde İnsanların COVID-19 Salgınına Yönelik Bilgi, Tutum ve Uygulamaları

Emel Dundar¹, Ferit Kaya², Edibe Pirincci³

¹Department of Family Medicine; ²Department of Public Health, Adiyaman University, Adiyaman; ³Department of Public Health, Fırat University, Elazığ, Turkey

ABSTRACT

Aim: This study was conducted to examine the knowledge, attitude and practices of individuals aged 18 and over towards one of the coronavirus outbreak COVID-19.

Material and Method: This cross-sectional study was carried out by applying a questionnaire to individuals who were registered to a family medicine unit in Adiyaman between 12 May and 10 July. The study population consists of 1842 people registered in the family physician unit. With 95% confidence interval, 50% prevalence, 0.5 margin of error, the number of people to be sampled was calculated as 255. The questionnaire was applied through face to face interviews. Averages were given with standard deviations. χ^2 and t test were used as statistical analysis method. The $p < 0.05$ was considered significant.

Results: The average age of participants included in the study was 39.92 ± 13.52 years and 63.0% were women. 84.3% were married. The mean knowledge score of the participants was found to be 5.68 ± 1.71 . In our study, the mean knowledge score was significantly higher in men, employees, and those with an associate degree or above ($p < 0.05$). The average attitude score of the participants was 2.40 ± 0.78 , and mean practice score was 12.17 ± 1.17 . The most known symptom in information questions was fever. If vaccination is available, 84.7% wanted to get vaccinated.

Conclusion: The mean score of knowledge, attitude and practice of individuals about COVID-19 was lower than expected. The mean score and attitude mean score were significantly higher in men. Therefore training programs should be planned to increase the knowledge level, positive attitudes and good practices of individuals in the struggle against COVID-19.

Key words: COVID-19; attitude; practice; outbreak

ÖZET

Amaç: Bu çalışma 18 yaş ve üzeri bireylerin koronavirüs grubundan olan COVID-19 salgınına karşı bilgi, tutum ve uygulamalarını incelemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: Kesitsel tipte olan bu çalışma 12 Mayıs 2020–10 Haziran 2020 tarihleri arasında Adiyaman ilinde bir Aile Hekimliği Birimine kayıtlı olan bireylere anket formu uygulanarak yapılmıştır. Aile Hekimliği Birimine kayıtlı olan 1842 kişi çalışmanın evrenini oluşturmaktadır. %95 güven aralığı, %50 prevalans, 0,5 hata payı ile örnekleme alınacak kişi sayısı 255 olarak hesaplanmıştır. Anket formu yüz yüze görüşmeler yapılarak uygulanmıştır. Ortalamalar standart sapmalar ile birlikte verilmiştir. İstatistiksel analiz yöntemi olarak X^2 ve t testi ve kullanılmıştır. $P < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen katılımcıların yaş ortalaması $39,92 \pm 13,52$ yıl olup, %63,0'ı kadındır. %84,3'ü ise evliydi. Katılımcıların bilgi düzeyi ortalaması $5,68 \pm 1,71$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızda bilgi puan ortalaması erkeklerde, çalışanlarda ve ön lisans ve üzeri eğitim seviyesine sahip olanlarda anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$). Katılımcıların tutum puanı ortalaması $2,40 \pm 0,78$, uygulama puanı ortalaması $12,17 \pm 1,17$ idi. Bilgi sorularında en çok bilinen semptom ateşti. Aşı olması durumunda %84,7'si aşı yaptırmak istiyordu.

Sonuç: Bireylerin COVID-19 hakkında bilgi düzeyi, tutum ve uygulamaları beklenenden düşüktü. Erkeklerde bilgi puan ortalaması ve tutum puan ortalaması anlamlı olarak daha yüksekti. Bu yüzden bireylerin COVID-19 ile mücadelede bilgi düzeyini, olumlu tutum ve uygulamalarını artıracak eğitimler yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: COVID-19; tutum; uygulama; salgın

İletişim/Contact: Ferit Kaya, Department of Public Health, Adiyaman University, Adiyaman, Turkey • **Tel:** 0516 164 24 03 • **E-mail:** drferitkaya83@gmail.com • **Geliş/Received:** 20.08.2020 • **Kabul/Accepted:** 17.05.2021

ORCID: Emel Dünder, 0000-0002-7223-7950 • Ferit Kaya, 0000-0002-0261-6293 • Edibe Pirincci, 0000-0002-1344-4562

Introduction

Coronaviruses are enveloped, positive single-stranded RNA viruses that infect both animals and humans¹. Human infections are known to cause diseases ranging from the common cold to the Middle East Respiratory Syndrome (MERS) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). The new coronavirus (SARS-CoV-2) was detected first time with a case report in Wuhan city China in December 2019 and causing COVID-19 disease². Detailed researches have revealed that SARS-CoV transmitted to people from Musk cats in China in 2002 and MERS-CoV from dromedary camels in Saudi Arabia in 2012. The animal source of SARS-CoV-2 has not been identified yet. It is emphasized that some of the first human infections were caused by a live animal market in China³. Studies to date show that the virus causing COVID-19 is mainly transmitted through respiratory droplets².

The confirmed cases of COVID-19 varied from mild symptoms to severe disease conditions and death. Symptoms can include fever, cough, and shortness of breath. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) believe that symptoms of COVID-19 may appear 2 to 14 days after exposure. This information is based on the incubation time of the MERS-CoV virus previously determined⁴. Standard recommendations to prevent the spread of infection includes regular hand washing, maintaining the physical distance at least 1 meter, avoiding touching eye, mouth and nose and respiratory hygiene².

Following the advice of the Emergency Committee on January 30 2020, World Health Organization General Director has declared the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV) a Public Health Emergency of International Concern⁵. World Health Organization General Director stated in media briefing on 11 March 2020 that COVID-19 could be described as a pandemic⁶. At the Situation Report-158, published by WHO on 26 June 2020, 9 473 214 cases and 484 249 deaths was reported worldwide⁷.

It is thought that the knowledge, attitude and practices of the public have an important effect on taking preventive measures and closing the gap in providing health information. Weak attitudes and bad practices related to the information gap, has a negative effect on disease prevention and control and contributes to an increased risk of infection during mass meetings⁸.

The COVID-19 pandemic, like other pandemics, causes significant increases in morbidity and mortality, damaging the economy through many channels. It causes individual practice changes, such as fearful avoidance from workplaces and other public gathering areas. It causes social and political negative effects⁹.

This study was conducted to examine the knowledge, attitude and practice of individuals aged 18 and over against the COVID-19 outbreak.

Material and Method

This study, which is a cross-sectional type, was carried out between the dates of 12 May and 10 July 2020 in the population of family medicine unit-81 of Adiyaman, aged 18 and over. According to the data of Adiyaman Provincial Health Directorate the registered 1842 people aged 18 and over in the family medicine unit-81 constituted the study population of the study. In determining the number of people to be sampled, the formula $n = Nt^2pq/d^2 (N-1) + t^2pq$ was used and the number of people to be sampled was calculated as 254 with 95% confidence interval, 50% prevalence and 0.5% deviation.

The questionnaire was prepared after literature review^{8,10}. The questionnaire had 8 questions regarding knowledge, 5 questions regarding attitude and 7 questions regarding practices. Assessment was made by giving one point to each correct answer about knowledge and attitude, and giving 2 points to always option, 1 point to sometimes option and 0 point to never option about practices Knowledge questions were evaluated as total 8 points, attitude questions were evaluated as total 5 points and practices related questions were evaluated as total 14 points.

Inclusion criteria were determined as being 18 years of age and over and accepting to participate the study. People included in study was 254, determined by using random numbers table from the study population. Then, people were called by phone and invited to the family health center. Participation in the survey was voluntary, after giving information and signing the consent form it was applied in the waiting area in front of family health center outdoor. The questionnaires were applied by face-to-face interviews by the responsible researcher, after obtaining the ethics committee approval dated 20.04.2020 no: 2020/5 from the Adiyaman University Ethics Committee with permission of ministry of health.

Table 1. Some socio-demographic characteristics of participants and the distribution of the resources of the knowledge about outbreak

Variables		Numbers	Percentage
Age	≤30	68	26.8
	>30	186	73.2
Gender	Male	94	37.0
	Female	160	63.0
Marital status	Married	214	84.3
	Single	40	15.7
Education level	Uneducated	23	9.1
	Primary school	67	26.4
	Secondary school	44	17.3
	High school	48	18.9
	Associate degree/university	72	28.3
Employment	Yes	85	33.5
	No	169	66.5
Source of information	Television	224	88.2
	Internet	24	9.4

The data obtained were recorded in the SPSS 22 program, error checks, tables and statistical analyzes were made through this program. Averages are given with standard deviations. χ^2 and t test were used as statistical analysis method. “ $p < 0.05$ ” was considered significant.

Results

The average age of the participants is 39.92 ± 13.52 years and 63.0% are women. Of them 84.3% are married. Of the participants 28.3% are associate degree-university graduates and 66.5% do not work in any job (Table 1). In our study, the frequency of those who heard that the outbreak was 97.6%, the frequency of those who knew the name of the outbreak was 81.5%, the frequency of those who knew the city where the outbreak first appeared was 35.0%, the frequency of those who knew the incubation period was 47.2%, the frequency of those who knew that it could be transmitted from person to person was 95.7% and the frequency of those who knew the possibility of transmission from animal to person was 71.3%. The majority of the participants (88.2%) stated television broadcasts as a source of information (Table 2).

When the answers of the participants to the questions about the attitudes are evaluated; the frequency of those who considered to be dangerous was 96.9%, the

frequency of those who thought that the epidemic was preventable was 68.1%, the frequency of those who thought that education might decrease the probability of transmission 77.6%, the frequency of those who thought that it would affect the economy negatively was 92.9% and the frequency of those who would like to have vaccination was 84.7% (Table 3).

In order to measure the practices of the participants towards preventing the epidemic, the frequency of practice was questioned as “always, sometimes, never” options. “Always” option was preferred the most in all questions posed. This frequency is 94.1% for hand washing practice, 49.6% for physical distancing practice, 46.5% for avoiding touching the eyes, mouth and nose, 87.8% for closing the mouth and nose while coughing and sneezing, 96.4% for the not using the napkin again, 91.0% for mask-wearing practice and 79.5% for avoiding consumption of raw or undercooked foods (Table 4).

In our study, the mean knowledge score was significantly higher in men, employees, and those with an associate degree or above ($p < 0.05$). Although not significant, it was high in the group over 30 years old and those who showed internet use as a source of information. In our study, the mean attitude score was high, although not significant, in men, employees, over 30 years of age, and those who showed internet use as a source of information. In our study, the mean score of practice was high in women, those who do not work in any job, those with an associate degree and above education level, in the group over 30 years of age and those who showed internet use as a source of information (Table 5).

Discussion

The main source of information about outbreak is television in our study. Its observed in a similar study that main source was television¹⁰ and in some others it was internet^{11,12}. It is thought that these different results may result from the socio-economic and socio-cultural differences of the residents of the country.

When the responses given to information questions are analyzed according to gender, the level of knowledge of men is significantly higher in “which city the outbreak originated” and “the incubation period” questions. In other information questions, although the answers given by men are high, they are not significant. The most known symptom in both sexes was fever. This has been evaluated as a parallel result of the fever being the most common initial symptom¹³.

Table 2. Answers given by participants to information questions about the outbreak and their distribution by gender

Knowledge questions		Total		Male		Female		Test and p value
		n	%	n	%	n	%	
Name of outbreak	Knows	248	97.6	81	86.2	127	79.4	$X^2=1.844$ $p>0.05$
	Doesn't know	6	2.4	13	13.8	33	20.6	
Which city outbreak originated?	Knows	89	35	48	51.1	41	25.6	$X^2=16.83$ $p<0.001$
	Doesn't know	165	65	46	48.9	119	74.4	
Fever	Yes	226	89	86	91.5	140	87.5	$X^2=0.961$ $p>0.05$
	No/no idea	28	11	8	8.5	20	12.5	
Cough	Yes	189	74.4	74	78.7	115	71.9	$X^2=1.458$ $p>0.05$
	No/no idea	65	25.6	20	20.3	45	28.1	
Breathing difficulties	Yes	189	74.4	71	75.5	118	73.8	$X^2=0.099$ $p>0.05$
	No/no idea	65	25.6	23	24.5	42	26.3	
Incubation period	knows	120	47.2	53	56.4	67	41.9	$X^2=5.000$ $p<0.05$
	Doesn't know	134	52.8	41	43.6	93	58.1	
Transmission from human to human	Yes	243	95.7	90	95.7	153	95.6	$X^2=0.002$ $p>0.05$
	No/no idea	11	4.3	4	4.3	7	4.4	
Transmission from animal to human	Yes	181	71.3	71	75.5	110	68.8	$X^2=1.330$ $p>0.05$
	No/no idea	73	28.7	23	24.5	50	31.2	
Total knowledge score	Mean \pm SD	5.68 \pm 1.71		6.10 \pm 1.58		5.44 \pm 1.75		t=0.788 $p<0.05$

Table 3. Attitudes of participants towards the outbreak of COVID-19 and their distribution by gender

		Total		Male		Female		p value
		n	%	n	%	n	%	
Is it dangerous?								
Yes		246	96.9	91	96.8	155	96.9	$X^2=0.001$ $p>0.05$
No/no idea		8	3.1	3	3.2	5	3.1	
Is it preventable?								
Yes		173	68.1	68	72.3	105	65.6	$X^2=1.229$ $p>0.05$
No/no idea		81	31.9	26	27.7	55	34.4	
Can be decreased by education?								
Yes		197	77.6	79	84	118	73.8	$X^2=3.604$ $p>0.05$
No/no idea		57	22.4	15	16	42	26.2	
Does it effect world economics negatively?								
Yes		236	92.9	91	96.8	145	90.6	$X^2=3.438$ $p>0.05$
No/no idea		18	7.1	3	3.2	15	9.4	
Do you vaccinate if present?								
Yes		215	84.7	78	83	137	85.6	$X^2=0.319$ $p>0.05$
No/no idea		39	15.3	16	17	23	14.4	
Attitude score (mean \pm SD)		2.40 \pm 0.78		2.45 \pm 0.72		2.37 \pm 0.082		t=1.827 $p>0.05$

Table 4. Practices of participants towards preventing the COVID-19 outbreak

Practice questions	Always		Sometimes		Never	
	n	%	n	%	n	%
Hand washing	239	94.1	15	5.9	0	0
Social distancing	126	49.6	111	43.7	17	6.7
Avoid touching eyes, mouth and nose	118	46.5	111	43.7	25	9.8
Covering mouth when coughing and sneezing	223	87.8	23	9.1	8	3.1
Not to use napkin again	245	96.4	7	2.8	2	0.8
Wearing mask	231	91	11	4.3	12	4.7
Avoid consuming raw or undercooked animal products	202	79.5	47	18.5	5	2

Table 5. Comparative evaluation of the participants' knowledge, attitude and practice scores

	Knowledge		Attitude		Practices	
	score	test	score	test	score	test
Age						
≤30	5.57±1.62	t=0.136	2.32±0.88	t=4.47	12.00±1.59	t=1.119
>30	5.73±1.75	p>0.05	2.43±0.74	p>0.05	12.24±1.84	p>0.05
Gender						
Male	6.10±1.58	t=0.788	2.45±0.72	t=1.827	12.01±1.92	t=1.585
Female	5.44±1.75	p<0.05	2.37±0.82	p>0.05	12.27±1.68	P>0.05
Education						
High school and below associate	5.42±1.79	t=8.227	2.40±0.79	t=0.155	12.13±1.87	t=2.095
Degree/university	6.36±1.28	p<0.001	2.40±0.78	p>0.05	12.27±1.50	p>0.05
Employment						
Yes	6.38±1.38	t=3.597	2.44±0.73	t=1.510	12.07±1.52	t=1.962
No	5.33±1.76	p<0.001	2.38±0.81	p>0.05	12.23±1.89	p>0.05
Source of information						
Television	5.74±1.61	t=2.061	2.39±0.79	t=0.00	12.23±1.71	t=0.112
Internet	6.16±1.27	p>0.05	2.41±0.77	p>0.05	12.08±1.66	p>0.05
Total score	5.68±1.71		2.40±0.78		12.17±1.17	

When questioned whether or not they will get vaccinated if vaccine is available, the frequency of participants rejecting vaccination or unsure about getting vaccinated was 15.3%. In other study done by an on-line survey both in Turkey and UK, 34.0% of the participants in Turkey was rejecting vaccination or unsure about getting vaccinated. It has been thought that a relatively high level of vaccination desire may result from the difference of the study population. In the study analyzing 38 studies which are examining attitudes towards vaccines, concerns about reliability and side effects were among the primary causes of hesitation against vaccines¹⁵. In another study, it was observed that even health care professionals was unsure about vaccination, 35% of healthcare professionals in study

population preferred to wait for extensive community experiences before recommending a new vaccine¹⁶.

When the average age and the information score were compared, the mean score below the age of 30 was found to be lower but it was not significant. Similar results were obtained in a study of COVID-19 for healthcare workers and in another study with MERS for healthcare workers^{12,17}. When the knowledge score was examined according to gender, it was observed that the information score of men was significantly higher than women ($p<0.05$). In a study conducted in China, it was observed that women had significantly higher knowledge¹⁸. In two different studies conducted for health workers with MERS was observed to have a higher level of knowledge of the male^{19,11}. Considering

these different results, these result in our study was thought to be result of the male dominant culture in Turkey.

The knowledge score of associate degree/university graduates was significantly higher than that of high school and below graduates ($p < 0.01$). A similar study in Covid-19 in China showed a parallel relationship between education level and knowledge level¹⁸. And in a study conducted in Northern Thailand, the level of knowledge was found higher in those who had a higher education level¹⁰.

The knowledge score was higher in employees than the ones who are not working in any job ($p < 0.001$). In a similar study, the knowledge score was higher among the employees¹⁸. It was thought that this result obtained in the employees may be due to the fact that these people feel more at risk due to the fact that they encounter other people more and therefore they need to be informed about the epidemic.

The knowledge score of the participants who stated the internet as the source of information was higher than those who stated the television as the source of information, but it was not significant. In a similar study, when the information source and the average score were compared, the knowledge score was found to be higher in those who stated internet as source of information¹⁰.

It was observed that participants over the age of 30 had a higher attitude score but it was not significant. As similar, in two other studies related to COVID-19, under 30 years of age had the lowest attitude score average^{18,10}.

In the attitude questions posed to the participants; men have a higher score than women. In a similar study conducted by Srichan et al.¹⁰, the frequency of having adequate attitude scores in women was higher than men, but when the knowledge score was examined in the same study, it was noticed that women had higher knowledge score than men. The results in two similar studies showing the relationship between the frequency of knowledge and positive attitude were thought to support this result^{18,20}. Men thought more than women that it would have a negative impact on the economy. It is thought that this attitude about the effects on the economy may result from the higher economic responsibilities of men.

The attitude score of employees is higher than those who do not work in any job. In a study conducted in

China, when the occupational groups and attitude scores were analyzed comparatively, it was observed that those who did not work had a lower score than the employees¹⁸. Our study is compatible with the literature.

In our study, there was no difference in terms of attitude score among those using the internet or television as a source of information. In a similar study conducted in Northern Thailand, the attitude score of those who use television broadcasts as an information source was found to be higher¹⁰. The difference between studies may have resulted from the difference between the sample groups.

When the practice score average was examined according to age groups, it was higher in those over 30 but not significant. When the similar study examined, it was seen that participants younger than age of 30 had the lowest average¹⁸.

When the practices that should be done for protection from infection examined, it was observed that women had higher practice scores, although not significant. When similar studies were examined, it was seen that women had higher practice scores for protection from infection¹⁰.

When the practices are analyzed in comparison with the education level, it is seen that associate degree/university graduates have higher mean scores in practice scores, although not significant. When the practices were examined in two studies on influenza pandemics, the relationship between education level and practice scores attracted attention^{21,22}.

As a result, participants knowledge of COVID-19 was moderate and their attitudes were positive, and the knowledge and attitudes of men were higher than women. The most known symptom in knowledge questions was fever. If there is vaccination, 84.7% wanted to get vaccinated. Practice score was positive and no difference was found between the genders. Therefore training programs, that will increase the level of knowledge, positive attitudes and practices of individuals in the struggle against COVID-19 should be planned.

References

1. Velavan TP, Meyer CD. The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Heal* 2020;100:278-80.
2. WHO. COVID-19, <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses/>;2020 [accessed 15.03.20].

3. WHO. Coronavirus, <https://www.who.int/health-topics/coronavirus/;2020> [accessed 18.02.20].
4. CDC. Symptoms, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html/;2020> [accessed 15.03.20].
5. WHO. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV), [https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)/;2020](https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)/;2020) [accessed:15.03.20].
6. WHO. Emergencies, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen/;2020> [accessed 1.03.20].
7. WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Reports, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/;2020> [accessed 27.06.20].
8. Goni MD, Hasan H, Naing NN, Arfah N, Deris ZZ, Arifin WN et al. Assessment of knowledge, attitude and practice towards prevention of respiratory tract infections among hajj and umrah pilgrims from Malaysia in 2018. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16(22):1–11.
9. NCBI. Pandemics:risks, impacts, and mitigation, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525302/;2020> [accessed 15.03.20].
10. Srichan P, Apidechkul T, Tamornpark R, Yeemard F, Khunthason S, Kitchanapaiboon S et al. Knowledge, Attitude and Preparedness to respond to the 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) among the bordered population of northern Thailand in the early period of the outbreak:A cross-sectional study. *SSRN Electronic Journal* 2020:SSRN 3546046.
11. Khan MU, Shah S, Ahmad A, Fatokun O. Knowledge and attitude of healthcare workers about middle east respiratory syndrome in multispecialty hospitals of Qassim, Saudi Arabia. *BMC Public Health* 2014;14(1):1–7.
12. Nour MO, Babilghith AO, Natto HA, Al-Amin FO, Alawneh SM. Knowledge, attitude and practices of healthcare providers towards MERS-CoV infection at Makkah hospitals KSA. *IRJMMS* 2015;3:103–12.
13. Chen J, Qi T, Liu L, Yun L, Qian Z, Li T et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *J. Infect* 2020;80(5):1-6.
14. Sağlık Bakanlığı. Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2018, <https://dosyasb.saglik.gov.tr/Eklenti/36134,siy2018trpdf.pdf?0/;2020> [accessed 19.04.2020].
15. Yaqub O, Castle-Clarke S, Sevdalis N, Chataway J. Attitudes to vaccination:a critical review. *Soc Sci Med* 2014;112:1-11.
16. Bakhache P, Rodrigo C, Davie S, Ahuja A, Sudavar B Crudup T et al. Health care providers' and parents' attitudes toward administration of new infant vaccines-A multinational survey. *Eur J Pediatr* 2013;172 (4):485–92.
17. Huynh H, Nguyen TN, Tran VK, Vo KN, Vo VT, Pham LA. Knowledge and attitude toward COVID-19 among healthcare workers at district 2 Hospital, Ho Chi Minh City. *Asian Pac J Trop Med* 2020;13:6–11.
18. Zhong BL, Luo W, Li HM, Zhang QQ, Liu XG, Li WT et al. Knowledge, attitudes, and practices towards COVID-19 among Chinese residents during the rapid rise period of the COVID-19 outbreak: a quick online cross-sectional survey. *Int J Biol Sci* 2020;16(10):1745–52.
19. Albarrak AI, Mohammed R, Elayan AA, Fawaz FA, Masry MA, Shammari MA et al. Middle East Respiratory Syndrome (MERS): Comparing the knowledge, attitude and practices of different health care workers. *J Infect Public Health* 2019;617:6–13.
20. Aziz MM, Abd El-Megeed HS, Abd Ellatif MAM. Pre-travel health seeking practices of Umrah pilgrims departing from Assiut International Airport Egypt. *Travel Med Infect Dis* 2018;23:72–6.
21. Balkhy HH, Abolfotouh MA, Al-hathloul RH, Al-jumah MA. Awareness, attitudes, and practices related to the swine influenza pandemic among the Saudi public. *BMC* 2010;10(42):1–7.
22. Sadique MA, Edmunds WJ, Smith RD, Meerding WJ, Zwarts O, Brugs J. et al. Precautionary behavior in response to perceived threat of pandemic influenza. *Emerg. Infect. Dis* 2007;13(9):1307–13.



Measurement of Fetal Penile Length in Thrace Region of Turkey

Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde Fetal Penis Uzunluk Ölçümü

Cem Yener, Fusun Varol, Esra Altan Erbilin, Sinan Ates, Cenk Sayin

Department of Obstetrics and Gynaecology, Division of Perinatology, Trakya University Faculty of Medicine, Edirne, Turkey

ABSTRACT

Aim: To provide a reference range for fetal penile length obtained by prenatal sonography between 19th and 23rd weeks of pregnancy.

Material and Method: The medical records of pregnant women who were followed-up in our department of Perinatology during the time period of 1st of January 2019 to 31st of December 2019 were reviewed retrospectively. Total 103 patients between 19th and 23rd weeks of gestation were included in the study.

Results: Fetal penile length increased as the gestation proceeded. Mean \pm SD penile length (cm) between 19th and 23rd weeks of gestation was found to be 0.81 ± 0.23 .

Conclusion: Ultrasound measurements of fetal penile length can be performed within the second-trimester anomaly scan, and these measurements appear to be necessary because identification of true penile maldevelopment obligates further diagnostic workup.

Key words: penis; prenatal diagnose; ultrasound

ÖZET

Amaç: On dokuz ile yirmi üçüncü hafta arasındaki fetüslerde fetal penis uzunluğu için referans aralığı hazırlamayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Perinatoloji Kliniğimizde 1 Ocak 2019 ile 31 Aralık 2019 tarihleri arasında takip edilen gebelerin dosyaları retrospektif incelendi. Çalışmaya 19 ile 23 gebelik hafta arasındaki 103 hasta alındı.

Bulgular: Fetal penis uzunluğu gebelik haftası ilerledikçe artmış gözlemlendi. 19 ile 23 haftalar arası mean \pm SD fetal penis uzunluğu (cm) $0,81 \pm 0,23$ olarak bulundu.

Sonuç: İkinci trimester ultrason muayenesi sırasında fetal penis uzunluğu ölçülebilir. Penis gelişimindeki kusurların belirlenmesi daha ileri tanılacak çalışmayı zorunlu kıldığından bu ölçümler gerekli görülmektedir.

Anahtar kelimeler: penis; prenatal tanı; ultrason

Introduction

Determination of fetal sex with ultrasound is performed not only by family request, but also for defining normal gender development¹. Determination accuracy of sex increases with gestation from 70% at 11 weeks, to 100% at 13 weeks². Visualization of the fetal gender is necessary because early diagnosis of anomalies of the genitalia may help to provide expeditious diagnosis of different diseases, such as miscellaneous genetic syndromes and endocrinological disorders³.

In this retrospective study our objective was to set a reference chart for fetal penile length acquired by detailed sonography between the 19th and 23rd weeks of pregnancy.

Material and Method

The medical records of pregnant women who were followed-up in Trakya University School of Medicine, Department of Obstetrics&Gynaecology, Division of Perinatology between 1st of January 2019 to 31st of December 2019 were reviewed retrospectively. Ethical approval was obtained from Trakya University Human Ethics Committee (No: 2020/275). We studied 25 patients in between 19 weeks (w) and 19 w 6 days (d), 27 patients between 20 w and 20 w +6 d, 26 patients between 21 w and 21 w+6 d and 25 patients between 22 w and 22 w+6 d. All pregnancies were singleton and accurately dated by first-trimester sonography. Fetuses were free of structural and chromosomal abnormalities. We excluded patients with abnormal first and second trimester screening tests or cell-free DNA test. We

İletişim/Contact: Cem Yener, Trakya University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, Division of Perinatology, Edirne, Turkey • Tel: 0532 748 61 80 • E-mail: drcemyener@hotmail.com • Geliş/Received: 25.08.2020 • Kabul/Accepted: 16.06.2021

ORCID: Cem Yener, 0000-0002-3976-4492 • Fusun Varol, 0000-0003-1918-4746 • Esra Altan Erbilin, 0000-0002-2859-1039 • Sinan Ates, 0000-0001-9650-8340 • Cenk Sayin, 0000-0001-5491-5431

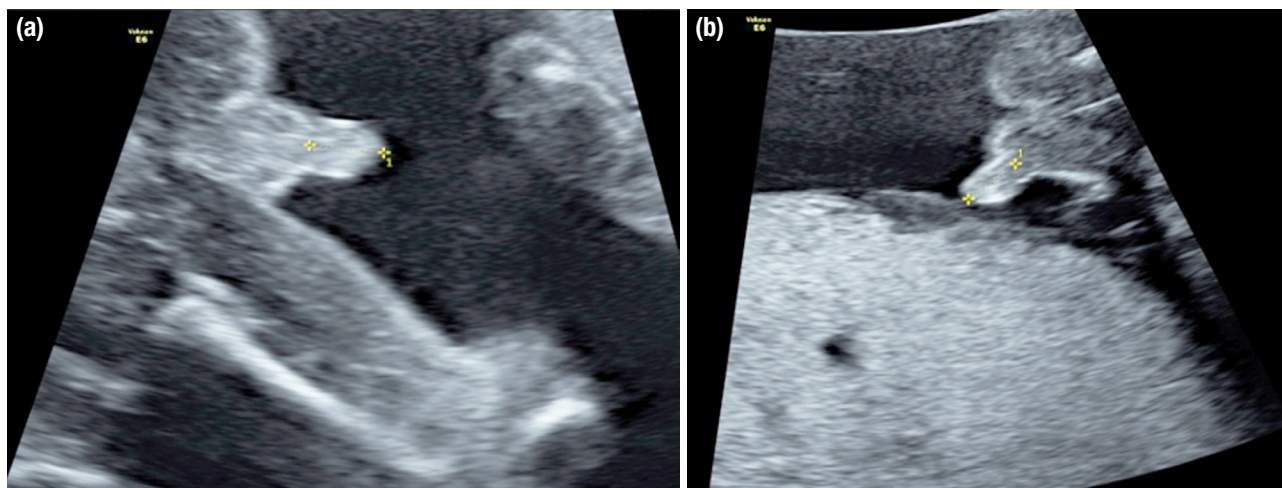


Figure 1. a, b. Measurement of penile length at 19 weeks (a) and 21 weeks (b) of gestation.

also excluded patients that developed abnormal signs on ultrasonography in late weeks of pregnancy or pregnancies complicated by fetal growth restriction, oligo-hydramnios and polyhydramnios.

For measuring the penile length, a clear view of the longitudinal axis of the scrotum and penis was obtained. The image was magnified and penile length was measured from the edge of the scrotum to the tip of the glans (Figure 1).

All measurements were acquired by 1 of 2 different obstetric sonographers (C. Y, E. A). In all cases, Voluson E6 ultrasound systems (GE Healthcare, Milwaukee, WI) with a 2D (4.5–16.5 MHz) transabdominal probe was used.

The statistical analysis was performed using SPSS Statics v25. Mean \pm standart deviation (SD) and percentile values of penile length were calculated for appropriate gestational weeks.

Results

The study group included 103 pregnancies at gestational ages between 19 w and 22 w+6 d. Mean \pm SD and 5th, 95th percentile of penile length between 19 w and 19 w+6 d (n=25) were 0.76 ± 0.22 cm, 0.3 cm, and 1.12 cm. Between 20 w and 20 w+6 d (n=27) were 0.79 ± 0.23 cm, 0.34 cm and 1.18 cm. Between 21 w and 21 w+6 d (n=26) were 0.83 ± 0.24 cm, 0.4 cm and 1.24 cm. Between 22 w and 22 w+6 d (n=25) were 0.88 ± 0.23 cm, 0.47 cm and 1.28 cm respectively (Table 1), (Figure 2).

Discussion

Between 19th and 23rd weeks of the pregnancy, all systems of the fetus should be evaluated during sonographic screening. Since the abnormal appearance of genitalia is associated with various congenital and structural anomalies, fetal penile length assessment is a plausible parameter for target ultrasonography. In present study, the fetal penile length varied from 0.3 cm to 1.28 cm between 19th and 23rd weeks of the gestation. In literature there are studies from various geographies. For Israel population between 19th and 24th weeks of the gestation, penile length varied from 0.4 cm to 1.2 cm⁴. There is one study for Turkish population in literature which observed median fetal penile lengths between 0.79 cm and 0.85 cm in the same gestational weeks compatible with our results⁵. When we compared our measurements with previous

Table 1. Mean values and 5th and 95th percentiles of penile length by gestational week

Gestational week	Mean (cm) \pm SD	Percentiles	
		%5	%95
19 w-19 w+6 d (n=25)	0.76 ± 0.22	0.3	1.12
20 w-20 w+6 d (n=27)	0.79 ± 0.23	0.34	1.18
21 w-21 w+6 d (n=26)	0.83 ± 0.24	0.4	1.24
22 w-22 w+6 d (n=25)	0.88 ± 0.23	0.47	1.28

w, weeks; d, days; SD, standart deviation n: number.

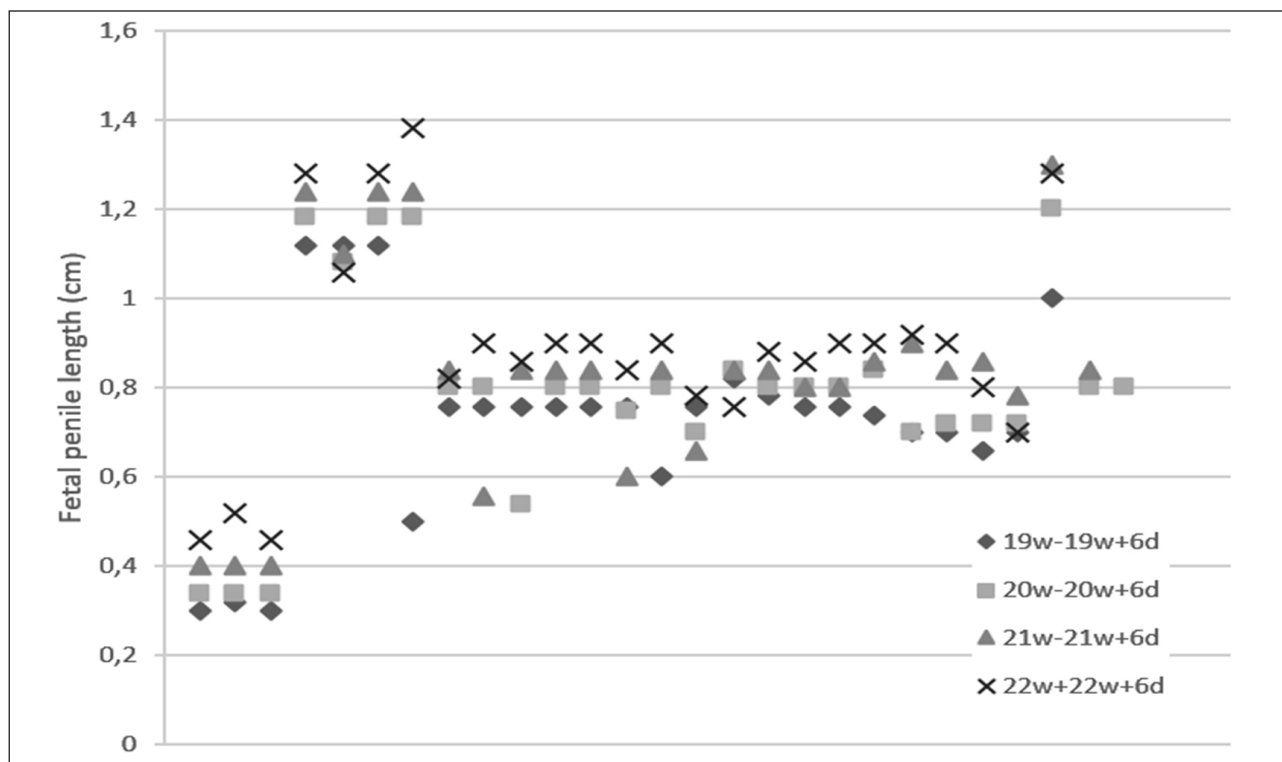


Figure 2. Fetal penile length measurements according to the gestational weeks (w, weeks; d, days).

reports of English⁶ and American⁷ populations, we observed that our reference ranges were similar to their reports. Based on these findings, we may conclude that our nomogram for penile measurements is applicable to Caucasian populations in utero.

Micropenis refers to small penis length less than 2.5 SD. It is observed in male fetus with ambiguous genitalia. When it is detected it can be associated with chromosomal abnormalities such as trisomy 13 and triploidy⁸. In addition, it can be related to genetic syndromes such as Smith-Lemli-Opitz, Noonan, Prader-Willi and WAGR syndrome⁹⁻¹¹. Male hypogonadism is a condition in which the body does not produce enough of the testosterone hormone and it can cause micropenis. Primary hypogonadism is caused by various genetic syndromes such as Klinefelter, Prader-Willi and Bardet-Biedl¹². When micropenis is identified, a diligent search for other defects is essential. In the presence of micropenis, genetic counselling should be considered as well as diagnostic testing. Amniocentesis with microarray testing should be contemplated for karyotype, particularly if there are other associated anomalies. When prenatal genital anomaly is detected,

it is also necessary to deliver these fetuses in multidisciplinary hospitals to decrease morbidity because newborns should go through diagnostic tests. Neonate should be examined carefully to assess for other anomalies. Postnatal management of micropenis requires a multidisciplinary approach involving specialist in urology, endocrinology and genetics.

In differential diagnosis of bladder outflow obstructions, fetal penile length measurement is also useful. When the cause of bladder outflow obstruction is posterior urethral valves, penile length is usually normal. However, in case of urethral agenesis the penis may be very small. This differentiation can help the physician when informing the parents because while the former anomaly is associated with normal external genitalia appearance and function, the latter is related to poor outcome¹³.

In conclusion, we set normal ranges for the fetal penile length in the Thrace Region of the Turkey. The results of the study were consistent with the previous studies that evaluated fetal penile measurements. Identifying maldevelopment of the male genitalia is important because it helps early diagnosis of different diseases,

such as genetic syndromes and endocrinological disorders. When micropenis is detected, careful ultrasound examination should be performed to search for coexisting structural anomalies. Diagnostic genetic tests should be considered for karyotype and molecular testing. Delivery in tertiary care facility is recommended. Neonate should be examined for additional malformations. Consultation with geneticist, endocrinologist and urologist is indispensable.

References

1. Achiron R, Pinhas-Hamiel O, Zalel Y, Rotstein Z, Lipitz S. Development of fetal male gender: prenatal sonographic measurement of the scrotum and evaluation of testicular descent. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;11(4):242–245.
2. Efrat Z, Akinfenwa O, Nicolaides K. First-trimester determination of fetal gender by ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:305–307.
3. Indyk JA. Disorders/differences of sex development (DSDs) for primary care: the approach to the infant with ambiguous genitalia. *Transl Pediatr* 2017;6(4):323–334.
4. Zalel Y, Pinhas-Hamiel O, Lipitz S, Mashiach S, Achiron R. The development of the fetal penis—an in utero ultrasonographic evaluation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17(2):129–131.
5. Akpınar F, Yılmaz S, Akdag C, Cirik D, Kayıkcioglu F, Dilbaz B, Yucel H, et al. Sonographic Assessment of the Fetal Penile Development. *Fetal Pediatr Pathol* 2016;35(2):88–92.
6. Johnson P, Maxwell D. Fetal penile length. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(4):308–310.
7. Pinette MG, Wax JR, Blackstone J, Cartin A. Normal growth and development of fetal external genitalia demonstrated by sonography. *J Clin Ultrasound* 2003;31(9):465–472.
8. Yatsenko SA, Witchel SF. Genetic approach to ambiguous genitalia and disorders of sex development: What clinicians need to know. *Semin Perinatol* 2017;41(4):232–243.
9. Yart A, Edouard T. Noonan syndrome: an update on growth and development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2018;25(1):67–73.
10. Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J Endocrinol Invest* 2015;38(12):1249–1263.
11. Fischbach BV, Trout KL, Lewis J, Luis CA, Sika M. WAGR syndrome: a clinical review of 54 cases. *Pediatrics* 2005;116(4):984–988.
12. Hatipoğlu N, Kurtoğlu S. Micropenis: etiology, diagnosis and treatment approaches. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2013;5(4):217–223.
13. Berrocal T, López-Pereira P, Arjonilla A, Gutiérrez J. Anomalies of the distal ureter, bladder, and urethra in children: embryologic, radiologic, and pathologic features. *Radiographics* 2002;22(5):1139–1164.



Effects of *Scilla autumnalis* Extracts on U87-MG Human Glioblastoma Cells

Scilla autumnalis Ekstrelerinin U-87 MG İnsan Glioblastoma Hücreleri Üzerinde Etkileri

Murat Pekmez¹, Gagatay Tarhan¹, Ali Zeytinluoğlu², Murat Turan³, Sefika Beyza Mete¹, Aylin Koseler⁴

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul University Faculty of Science, Istanbul; ²Department of Electronics and Automation, Pamukkale University Vocational School of Technical Sciences, Denizli; ³Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Erzurum Technical University, Erzurum; ⁴Department of Biophysics, Pamukkale University Faculty of Medicine, Denizli, Turkey

ABSTRACT

Aim: This study aimed to measure the effects of *Scilla autumnalis* extracts which might act as potential plant based chemotherapeutic, on U87 glioblastoma cell line.

Material and Method: Cytotoxicity assays were performed by determining the cell viability of the samples with MTT (3 – (4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide). Gene expression levels of glucose transporter 1 (GLUT1), Glucose transporter 3 (GLUT3), Glucose transporter 4 (GLUT4), Hexokinase 1 (HK1) and Hexokinase 2 (HK2), multidrug resistance1 (MDR1), Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1 (CYP2E1) and Pregnane X receptor (PXR) was analyzed in glioblastoma cells using quantitative real-time RT-PCR.

Results: According to the analysis, we observed a 10% increase in the expression of Glut1, however, we did not observe a difference in Glut3 expression. For Glut4, root ethanol extract decreased its expression by 13% but shoot extracts elevated the expression levels by only 5–6%. We determined the low expression levels of HK1 and HK2 in glioblastoma compared to the control group. *S.autumnalis* root extract led to a slight increase in MDR1 expression. We found that the expression level of CYP2E1 was 20% lower in glioblastoma cells treated with *Scilla autumnalis* root and shoots extracts compared to the control group. We determined downregulation in PXR expression.

Conclusion: This study may contribute significantly to the understanding of the cytotoxic effect of *Scilla autumnalis*. This approach may allow the possibility of *Scilla autumnalis* plant extract as a candidate drug for the treatment of glioblastoma.

Key words: *Scilla autumnalis*; glioblastoma; cancer treatment

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada U87 glioblastoma hücre hattı üzerinde bitkisel temelli kemoterapötik olarak davranma potansiyeli taşıyan *Scilla autumnalis* özütünün etkinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Sitotoksikite deneyleri örneklerin canlılığının MTT (3 – (4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) yöntemiyle belirlenmesiyle saptanmıştır. Glioblastoma hücrelerindeki Glukoz transporter 1 (GLUT1), Glukoz transporter 3 (GLUT3), Glukoz transporter 4 (GLUT4), Heksokinaz 1 (HK1) and Heksokinaz 2 (HK2), Multidrug resistance1 (MDR1), Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1 (CYP2E1) ve Pregnane X receptor (PXR) gen anlatım düzeyleri kantitatif RT-PCR kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre GLUT1 anlatımı %10 düzeyinde artarken GLUT3 anlatımında bir değişiklik saptanmamıştır. Kök etanol özütü GLUT4 anlatımını %13 kadar azaltırken gövde özütü %5–6 civarında artırmıştır. Glioblastomadaki HF1 ve HK2 anlatım düzeyleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük olarak bulunmuştur. *S.autumnalis* kök özütü MDR1 anlatımında küçük bir miktar artışa yol açmıştır. CYP2E1'nin anlatım düzeyinin *S. autumnalis*'in kök ve gövde özütü uygulanmış glioblastoma hücrelerinde kontrol grubuna göre %20 oranında düştüğü saptanmışken PXR anlatımının da azaldığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma *S.autumnalis*'in sitotoksik etkisinin anlaşılmasına önemli bir katkı sunabilir. Bu yaklaşım *S.autumnalis* bitki özütünün glioblastoma tedavisinde aday ilaç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: *Scilla autumnalis*; glioblastoma; kanser tedavisi

İletişim/Contact: Murat Pekmez, Istanbul University Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Turkey • Tel: 0536 277 43 17 • E-mail: mpekmez@istanbul.edu.tr • Geliş/Received: 24.09.2020 • Kabul/Accepted: 13.06.2021

ORCID: Murat Pekmez, 0000-0002-6150-8372 • Çağatay Tarhan, 0000-0001-5265-4610 • Ali Zeytinluoğlu, 0000-0002-2534-7241 • Murat Turan, 0000-0003-2900-1755 • Şefika Beyza Mete, 0000-0002-3386-6244 • Aylin Koseler, 0000-0003-4832-0436

Introduction

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common malignant primary brain tumor in adults, which is also difficult to diagnose and treat. The treatment has not changed over the years^{1,2}. 90% of cases develop de novo (primary glioblastoma) from normal glial cells with multistep tumorigenesis. The remaining 10% glioma is secondary neoplasm cases that progress from low-grade tumors (diffuse or anaplastic astrocytomas) lasting 4–5 years^{3,4}. The main developmental location of glioblastoma multiforme is the brain. The tumor is indistinguishable from normal tissue because it is characterized by infiltrating growth^{1,5}. It is localized in the hemispheres or subcutaneously in the brain stem and the cerebellum^{6,8}. The result may sometimes be hydrocephaly, as a growing tumor causes increased intracranial pressure⁹.

As it is known, cancer, which caused approximately 8.2 million deaths in 2012, is one of the most common diseases¹⁰. The effect of various risk factors, including age, geographical region, and race, on cancer development, has been reported¹¹. Although chemotherapy is the main treatment approach, resistance to chemotherapeutic drugs has been observed in 30–80% of cancer patients in recent years. Therefore, plant-based substances have received great interest among researchers. Plant kingdom comprised approximately 250 000 plant species but nearly 10% of them have been studied for the treatment of different diseases. That's why it is important to evaluate the potential of untested or endemic plant species extracts or their purified compounds.

The Hyacinthaceae family has approximately 900 species in about 70 genera in the world¹². *Scilla* species are widely used in folk medicine in the treatment of different illnesses. As phytochemical compounds, the alkaloids, cardiac glycosides, ergosterol glycosides, triterpenoids, triterpenoids glycosides, nortriterpenoids glycosides, stilbenes, and homoisoflavanoids was reported^{13,14}. These compounds are responsible for a large number of different biological activities such as analgesic^{15,16}, anti-tumoral^{12,17–20}, anti-inflammatory^{16,21–24}, anti-oxidative²², and antioxidant^{24–26}.

Scilla autumnalis is found in the Mediterranean region from Portugal to Turkey and the Caucasus²⁶. There are only a few data on the anti-tumoral activity of the *Scilla* species, however, there are no data on the anti-tumoral activity of *Scilla autumnalis*. In the present study, we assessed the anti-tumoral effects of *Scilla autumnalis* extracts on glioblastoma multiforme.

Materials and Methods

Preparation of Plant Extract

Scilla autumnalis was collected from Denizli, Turkey. The herbarium sample was separated from the collected plant samples and stored in the Herbarium of the University of Pamukkale, Denizli, Turkey (Voucher specimen number: RM1002). Systematic identification of the collected plant species was made using reference books and identification keys.

The plant extraction was performed with method described by Mammadov et al.²⁶ Firstly, the root (7) and shoot (8) parts of plants were dried in the shade and were powdered with grinder. 10 g plant sample was added into erlenmeyer which contains 100 mL solvent [ethanol (G) or methanol (H)] and then shaken at 50° C for 6 h. The solvent extract was filtered and evaporated using rotary evaporator. The dry solvent extract was solved with distilled water and was frozed at –80° C. The frozed sample was lyophilized with lyophilizer. Obtained extracts were stored at –20° C until use.

U87 Glioblastoma Cell Line

U87 MG cells were used from the cell culture collection of Molecular Biology and Genetics Department, Istanbul University. The cells that were used in the experiments had a passage number between 6–9. Glioblastoma cells were grown and subcultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) supplemented with Glucose (4.5 mg/mL), 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% antibiotics and antimycotic (penicillin, streptomycin and amphotericin B) and 1% non-essential amino acids (NEAA) at 37° C with 5% CO₂ in an incubator.

Cytotoxicity Assay

Cytotoxicity assays were performed by determining the cell viability of the samples with MTT (3 – (4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay Briefly, U87MG cells (1.5x10⁴ per well) were seeded in 96-well plates and incubated at 37° C for 24 h. Different concentrations of 7G, 8G, 8H (1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 µg/mL) were tested on the cells for 24, 48 and 72 h. After treatments, the cells were incubated with MTT at a final concentration of 0.5 mg/ml at 37° C for 4 h, followed by the addition of DMSO (150 µl) to dissolve the formazan crystals. The absorbance of each well was measured at 570 nm

using a microplate reader (EON, BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA). Half-maximal inhibitory concentrations (IC_{50}) of the extracts were calculated by fitting the data to a sigmoidal dose-response curve using nonlinear regression analysis. All test samples were measured in triplicate.

Gene Expression Analysis Using Quantitative Real-time RT-PCR Analysis

Gene expression of GLUT1 (SLC2A1), GLUT3 (SLC2A3), GLUT4 (SLC2A4), Hexokinase 1 (HK1) and Hexokinase 2 (HK2), MDR, CYP2E1, PXR was analyzed in glioblastoma cells. After 48 hours of treatment with *S. autumnalis* root (ethanol and shoot ethanol and methanol) extracts, total RNA was extracted with Human Blood RNA Purification Kit (GMBiolabs, Taichung City, Taiwan) according to the procedure recommended by the manufacturer. Conversion of total RNA to single-strand complementary DNA (cDNA) was done with High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA) with random primers. Real-time PCR was performed with GM SYBR qPCR Kit (without ROX) (GMBiolab, Taichung City, Taiwan) with the specified conditions as initial denaturation at 95 °C for 120 seconds (sec.), following 45 cycles at 95 °C for 20 sec., at 55 °C for 30 sec., at 72 °C for 45 sec. Primer sequences and expected product lengths are given in Table 1. Expression of each target genes was normalized to the expression of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH).

Table 1. Primers used in quantitative real-time RT-PCR

Gene	Forward Primer 5'→3'	Reverse Primer 5'→3'
HK1	TCAGATCGAGAGTGACCGATT	CACACTGTCTTGACGAGGATAC
HK2	ACGAGAGTTTCTGGTCTCA	TCAAAGTCCCTCTCCTCTG
GLUT1	GTTTCATCGTGGCTGAACTCT	ACAGTTGCTCCACATACTGG
GLUT3	CGCCTGATTATTGGCATCTT	TCCAAACCAAAGACTGAGC
GLUT4	CAGTATGTTGCGGAGGCTAT	AGTTCTGTGCTGGGTTTCAC
CYP2E1	ATGTCTGCCTCGGAGTGA	GGAAGAGGTTCCCGATGATG
MDR	TGGACCCAGCACAATGAA	CTAAGTCATAGTCCGCTAGAAGCA
PXR	GGCCACTGGCTATCACTTCAA	GTTTCATGGCCCTCTGAAA

HK1, hexokinase 1; HK2, hexokinase 2; GLUT1, glucose transporter 1; GLUT3, glucose transporter 3; GLUT4, Glucose transporter 4; MDR1, multidrug resistance 1; CYP2E1, Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1; PXR, Pregnane X receptor.

Statistical Analysis

Statistical software Graph Pad Prism 6.0 (Graph Pad, San Diego, CA) was used for all statistical analyses. IC_{50} values were calculated with non-linear regression analysis.

Results

Cytotoxicity on glioblastoma cells. To evaluate the cytotoxic effects of extracts on U87MG cells and determine IC_{50} value, the MTT cell viability test was performed after 24 h, 48 h, and 72 h. In the experiments, the final DMSO concentration did not exceed 0.75% and this concentration does not affect cell viability. The results showed that all of the extracts (7G, 8G, and 8H) inhibit U87MG cell proliferation in a dose-dependent manner. For further experiments 48 h incubation was chosen and IC_{50} values were calculated as 79.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 237.342 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 188.919 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively for 7G, 8G, and 8H. The ethanolic root extract has the most inhibitory effect on the U87 glioma cell line. The effect of different extracts on the survival of the U87 glioblastoma cell line was shown in Fig 1, Fig 2, and Fig 3. In our study, gene expression of GLUT1 (SLC2A1), GLUT3 (SLC2A3), GLUT4 (SLC2A4), Hexokinase 1 (HK1) and Hexokinase 2 (HK2), MDR, CYP2E1, PXR was analyzed. The expression profile of the groups was shown in Fig 4.

Discussion

85–90% of primary central nervous system (CNS) tumors are brain tumors. Glioblastoma (GBM) accounts for approximately half of all malignant adult brain tumors and is associated with the shortest survival²⁷. After the resistance to chemotherapeutics, natural product-based therapy has started to be used. This method has gained popularity as a potentially less toxic treatment. Podophyllotoxin and its semi-synthetic derivatives, Teniposide, Etoposide, and Etopophos, have been extensively used to treat many cancers²⁸. Plant-based products have long been involved in cancer treatment. Their effect in this treatment is used to influence cancer development, progression, and metastasis. Some studies have demonstrated antitumor potential in the use of this plant-based therapy alone or combination with radiotherapy. During the 1960 s and 1985 s, the National Cancer Institute (NCI) conducted an anti-cancer drug screening program. In this screening,

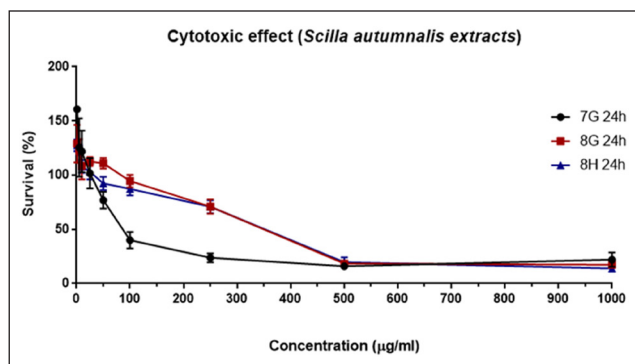


Figure 1. Effect of *Scilla autumnnalis* root ethanolic (7G), shoot ethanolic (8G) and shoot methanolic (8H) extracts on the survival of U87 glioblastoma cells. Serially diluted (1-1000 µg/mL) extracts were added on U87 cells and incubated for 24 hours. Cell viability was evaluated with MTT assay. Line graphs were obtained with GraphPad Prism 7.0.

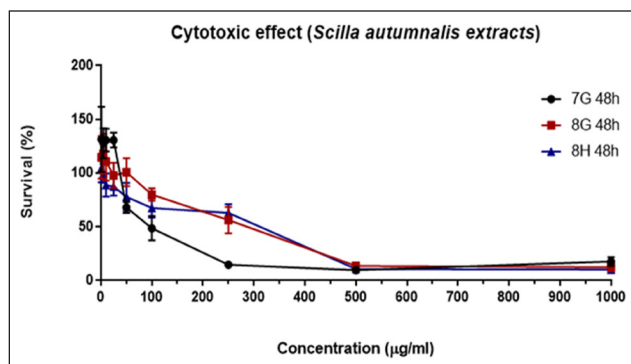


Figure 2. Effect of *Scilla autumnnalis* root ethanolic (7G), shoot ethanolic (8G) and shoot methanolic (8H) extracts on the survival of U87 glioblastoma cells. Serially diluted (1-1000 µg/mL) extracts were added on U87 cells and incubated for 48 hours. Cell viability was evaluated with MTT assay. Line graphs were obtained with GraphPad Prism 7.0.

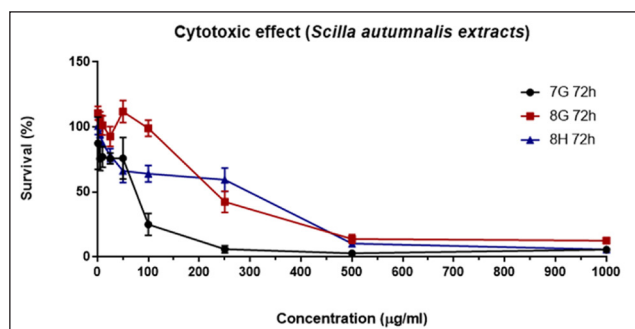


Figure 3. Effect of *Scilla autumnnalis* root ethanolic (7G), shoot ethanolic (8G) and shoot methanolic (8H) extracts on the survival of U87 glioblastoma cells. Serially diluted (1-1000 µg/mL) extracts were added on U87 cells and incubated for 72 hours. Cell viability was evaluated with MTT assay. Line graphs were obtained with GraphPad Prism 7.0.

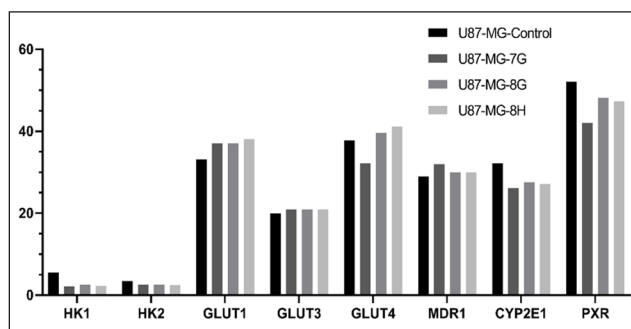


Figure 4. Gene expression of Hexokinase 1 (HK1) and Hexokinase 2 (HK2), Glucose transporter 1 (GLUT1), Glucose transporter 3 (GLUT3), Glucose transporter 4 (GLUT4), multidrug resistance 1 (MDR1), Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1 (CYP2E1) and Pregnane X receptor (PXR). *Scilla autumnnalis* root ethanolic (7G), shoot ethanolic (8G) and shoot methanolic (8H) extracts.

an important compound, Taxol (paclitaxel) isolated from the bark of *Taxus brevifolia*, used to treat many solid tumors, was identified^{29,30}.

It has been investigated the toxicological properties of *Scilla* species in the various cancer cell lines: A 15-de-oxoeucosterol oligosaccharide isolated from *Scilla peruviana* L. was found to be toxic to against cervical cancer (HeLa cells)¹². The four compounds isolated from *Scilla luciliae* was showed the cytotoxic activity against Human Oral Squamous Cell Carcinoma (HSC-2) cells³¹. The homoisoflavanones isolated from *Scilla nervosa* have been effective significantly against colon cancer (HT-29) and breast cancer (MDAMB-435) cell lines²⁰. Scillascillin isolated from the fresh bulb of *Scilla scilloides* showed significantly active against human cancer cell lines MCF-7 (breast cancer) and DU-145 (prostate cancer)^{32,33}. The scilla scilloside E-1 isolated from *Scilla scilloides* were evaluated for their cytotoxic

activity against eight cancer lines in vitro and in vivo experiments. Particularly, it was found to be more effective against Fibrosarcoma Tumor (HT1080)¹⁹. The phenolic compounds isolated from *Scilla autumnnalis* was showed a significant effect against human lung cancer (H1299) in vitro conditions²⁶. Research studies have shown that *Scilla* species are associated with many types of cancer and have demonstrated their effectiveness.

When we investigated the inhibitory effect of *S. autumnnalis* extracts on the proliferation of U87 cells, we observed that 500 µg/ml of both root and shoot extracts decreased the survival of more than 50% in all tested conditions. However, root extract was more effectively such that even 100 µg/ml inhibited U87 cells by 50%. This indicates the importance of analyzing especially the root content and revealing effective compounds.

Enhanced glycolysis is one of the most important cancer metabolic hallmarks^{34,35}. In neurons, glucose uptake is facilitated by a family of glucose transporters (GLUTs) with the glucose transporter 1 (GLUT1) and 3 isoforms are believed to be responsible for the majority of glucose uptake within the brain³⁶. As early as 1992, differential expression of glucose transporters has been noted in various grades of glioma, with an observed upregulation of GLUT1, the most prevalent type of GLUT³⁷. There was contention as to whether GLUT1 was overexpressed³⁷ or underexpressed³⁸ in GBM, but it is now believed that there are areas of which both increase and decrease in GLUT1 expression was observed in GBM tissue³⁹. The most significant overexpression of the glucose transporters was observed in the intermediate zone of the tumor⁴⁰. In this study, we observed a 10% increase in the expression of Glut1 following the treatment of *Scilla autumnalis*, however, we did not observe the differences in glucose transporter 3 (GLUT3) expression. In another study, it was observed in biopsied glioblastoma that while expression of GLUT1 and GLUT3 was not significantly changed, glucose transporter 4 (GLUT4) expression was relatively low⁴¹. In our study, following *Scilla autumnalis* extract treatment for 48 hours, we observed a 10% increase in the expression of Glut1, however, we did not observe a difference in Glut 3 expression. As for Glut4, root ethanol extract decreased its expression by 13% but shoot extracts elevated the expression levels by only 5–6%. In various studies, different extracts or even purified phytochemicals showed variable effects on GLUT gene expression depending on the cancer type. For example, Resveratrol, a trihydroxystilbene, inhibited GLUT1 and thereby the glucose uptake in human leukemic cell lines⁴². Similarly, Rubusoside (a steviol glycoside), curcumin (flavanoid) and plumbagin (naphthoquinone) have also been shown to have a down-regulating activity on GLUT1 expression^{43,44}. On the other hand, daidzein (isoflavone) and epigallocatechin gallate (catechin) cause elevated GLUT1 expression in breast cancer. Thus, differential expression of GLUT genes may result from combined effects of the phytochemical content of the root.

The Cytochrome P450 enzyme family contains several subcategories (CYP1, CYP2, and CYP3) which are responsible for the breakdown of foreign compounds in mammals. Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1 (CYP2E1) can also activate toxic compounds and procarcinogens found in tobacco smoke and nitrosamine compounds⁴⁵. In the

previous study; it has been determined as slightly induced with *Scilla nervosa* aqueous extract of CYP3A4 activity⁴⁶. In our study, we found that the expression level of CYP2E1 was 20% lower in glioblastoma cells treated with *Scilla autumnalis* root and shoots extracts compared to the control group. Because CYP2E1 metabolizes the aforementioned molecules and pro-carcinogens such as nitrosamines and azo compounds⁴⁷ and metabolism of these molecules produce toxic intermediates and reactive oxygen species that cause various pathological conditions⁴⁸, elevated expression of CYP2E1 may also be responsible for cancer progression. A study, suggest a possible link between CYP2E1 activity and breast cancer through ethanol metabolism⁴⁹. On the other hand, it was shown in another study that CYP2E1 is upregulated in the nontumor tissue and downregulated in tumor tissue in hepatocellular carcinoma⁵⁰. Thus, a natural therapeutic target must be evaluated in each cancer cell type.

P-glycoprotein (P-gp), a 170-kDa protein encoded by the multiple drug resistance human (MDR1) gene, which is a member of the ABC superfamily of energy-dependent transport systems. P-gp displays broad specificity, accepting many structurally, functionally, and mechanistically unrelated compounds and its role in limiting drug penetration across biological barriers is well established⁵¹. An enhancement of ABC transporter expression represents one of the major MDR mechanisms that protect cancer cells from different drugs. Nardinocchi et al. observed that the downregulation of HIF-1 α was associated with a decrease in MDR1 transcript levels⁵¹. In this study, we observed that especially *S. autumnalis* root extract led to a slight increase in MDR1 expression. Although it can be considered as a drawback for the outcome of chemotherapy, the root extract itself is more toxic to glioblastoma cells than shoot extracts even lower doses. So it seems that the total effect of the extract on glioblastoma overshadows this slight increase.

Pregnane X receptor (PXR) are known major nuclear transcription factors in regulating drug efflux transporters and also plays a role in cell proliferation, apoptosis, carcinogenesis and cancer treatments⁵². PXR can alter the outcome of chemotherapy in different cancers by regulating especially drug metabolism, drug transport, proliferation, and apoptosis. But it seems that the PXR expression may be context-specific in these cancers. For example, it was reported that, in human prostate cancer,

PXR expression was higher in cancerous tissues when compared to normal tissues⁵³. In breast cancers, some studies suggested elevated PXR expression in cancer tissue⁵⁴ but others reported no significant difference in the expression between healthy and cancerous tissues⁵⁵. Besides, in breast cancer, pharmacologic induction of PXR causes a significant expression of MDR1 and resistance to Taxol⁵⁶. According to our results, *S. autumnalis* extract downregulated the PXR expression. This reflects the importance of cancer type or the context specificity when an anti-cancer plant, natural product or a drug is considered as a therapeutic agent.

Hexokinases (HK) are comprised of a family of four isoforms. Hexokinase 1 (HK1) and Hexokinase 2 (HK2) are the most abundant, with HK1 (“the brain HK”) ubiquitous in most tissues, especially brain and red blood cells where glycolysis plays a critical role in energy production. When compared to normal cells, tumor cells preferentially utilize this far less efficient process for ATP production, which also increased the cell’s proliferation, invasiveness, and apoptosis resistance. This high rate of glycolysis in tumor cells, including glioma cells, was presumably ascribed to the up-regulation of key catalytic enzymes in glycolysis, especially hexokinases, more specifically HK2. In addition to its critical metabolic role, HK2 could also promote glioma survival, against chemo or radiation insult, by repressing mitochondria-mediated apoptotic pathway in glioma cells⁵⁷. Here in this study, we determined the low expression levels of HK1 and HK2 in glioblastoma compared to the control group. In two different studies, the inhibition of HK2 by some chemicals such as 2-deoxy-D-glucose (2-DG) or by 3-bromopyruvate (3BP) was shown to inhibit glycolysis in tumor cells^{58,59}. But the potential toxicity of these chemicals to normal cells limits their use in cancer treatment. Therefore, it becomes very important to find natural products that do not have such side effects. In this study, we determined the expression levels of HK1 and HK2 in glioblastoma were nearly 55% lower than the control group when treated with *S. autumnalis* root and shoot extracts. Several phytochemicals exert HK2 downregulating activity. For example, a bioactive flavone chrysin was shown to decrease of HK2 expression, thereby glucose uptake and tumor glycolysis in hepatocellular carcinoma (Chrysin inhibited tumor glycolysis and induced apoptosis in hepatocellular carcinoma by targeting HK2). Other compounds, such as betulinic acid and ursolic acid also have HK2 downregulating activity⁶⁰.

All these results suggest that despite the other effects of *S. autumnalis* plant extract, the cytotoxic effect on glioblastoma is mediated by reducing the level of HK1 and HK2 expressions. *S. autumnalis* plant extract may be a candidate, especially for glioblastoma treatment drugs. Mechanism of action, chemical properties for the usage in glioblastoma and the effect of the extract on glioblastoma could be the further issues to be considered.

Authors’ Contributions

A. K., Ç. T., M. P., and A. Z. designed the study. A. K., Ç. T., M. P., and A. Z. analyzed data. A. K., M. T., and Ş. B. M. performed experiments, A. K., Ç. T., M. P., and A. Z. contributed ideas and insights. A. K., Ç. T., M. P., and A. Z. wrote the article with input from all Authors.

Conflicts of Interest

The authors declare no competing interests regarding this study.

References

1. Karcher S, Steiner HH, Ahmadi R, Zoubaa S, Vasvari G, Bauer H et al. Different angiogenic phenotypes in primary and secondary glioblastomas. *Int J Cancer* 2006;18:2182–2189.
2. Moore MP, Bagley RS, Harrington ML and Gavin PR. Intracranial tumours. *Clin North Am Small Anim Pract Vet* 1996;26:759–777.
3. Kabat GC, Etgen AM and Rohan TE. Do steroid hormones play a role in the etiology of glioma? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2421–27.
4. Tso CL, Freije WA, Day A, Chen Z, Merriman B, Perlina A, et al. Distinct transcription profiles of primary and secondary glioblastoma subgroups. *Cancer Res* 2006;66:159–167.
5. Zhen L, Yufeng C, Zhenyu S and Lei X. Multiple extracranial metastases from secondary glioblastoma multiforme: a case report and review of the literature. *J Neurooncol* 2010;99:165–176.
6. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, et al. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain* 2007;130:2596–2606.
7. Lakhani SE and Harle L. Difficult diagnosis of brainstem glioblastoma multiforme in a woman: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep* 2009;3:87.
8. Hur H, Jung S, Jung TY and Kim IY. Cerebellar glioblastoma multiforme in an adult. *J Korean Neurosurg Soc* 2008;43(4):194–197.
9. De Castro-Costa CM, de Araújo RW, de Arruda MA, de Araújo PM and de Figueiredo EG. Increased intracranial pressure in a case of spinal cervical glioblastoma multiforme. Analysis of these two rare conditions. *Arq Neuropsiquiatr* 1994;52:64–8.

10. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J and Jemal A(2015)Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 65(2):87–108.
11. Millimouno FM, Dong J, Yang L, Li J, and Li X. Targeting apoptosis pathways in cancer and perspectives with natural compounds from mother nature. *Cancer Prev Res (Phila)*2014;7(11):1081–1107.
12. Mulholland DA, Schwikkard SL and Crouch NR. The chemistry and biological activity of the Hyacinthaceae. *Nat Prod Rep* 2013;30(9):1165–1210.
13. Ghoran SF, Pouneh Ebrahimi P, Hossein Mighani H and Soudabeh Saeidnia S. Isolation and characterization of homoisoflavonoids from *Scilla persica* Hausskn. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015;51(4):949–955.
14. Ghoran SF, Saeidnia S, Babaei E, Kiuchi F and Hussain H *Scilla persicene*: a new homoisoflavonoid with cytotoxic activity from the bulbs of *Scilla persica* Hausskn. *Natural Product Research* 2016;30(11):1309–1314.
15. Kalaiselvan M and Gopalan R. Ethnobotanical studies on selected wild medicinal plants used by Irula tribes of bolampatty valley, nilgiri biosphere reserve (NBR), southern Western Ghats, India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2014;7(1):22–26.
16. Du Toit K, Kweyama A and Bodenstein J. Anti-inflammatory and antimicrobial profiles of *Scilla nervosa* (Burch.) Jessop (Hyacinthaceae). *South Afr J Sci* 2011;107(5–6):96–100.
17. Clark AM. Natural Products as a Resource for New Drugs. *Pharmaceutical Research* 1996;13(8):1133–1141.
18. Mimaki Y, Nishino H, Kuroda M, Matsui T and Sashida Y. Lanosterol Oligosaccharides from the Plants of the Subfamily Scilloideae and Their Antitumor Promoter Activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1994;42(2):327–332.
19. Lee HB and Lee SM. Antimicrobial Activity of Eucosterol Oligosaccharides Isolated from Bulb of Squill (*Scilla scilloides*). *Pharmacology & Pharmacy* 2013;4:110–114.
20. Abegaz BM. Novel phenylanthraquinones, isofuranonaphthoquinones, homoisoflavonoids, and biflavonoids from African plants in the genera *Bulbine*, *Scilla*, *Ledebouria*, and *Rhus*. *Phytochem Rev* 2002;1:299–310.
21. Sakthivel K, Palani S, Selvaraj R, Venkadesan D, Sivasankari H and Senthil Kumar B. Cardioprotective and Antioxidant Potential of *Scilla hyacinthina*. *Journal of Biological Sciences* 2013;13(5):313–322.
22. Yeo EJ, Kim KT, Han YS, Nah YS and Paik HD. Antimicrobial, anti-inflammatory and anti-oxidative activities of *Scilla scilloides* (Lindl.) Druce root extract. *Food Sci Biotechnol*, 2006;15:639–642.
23. Nishida Y, Sugahar S, Kensuke Wada K, Toyohisa D, Tanaka T, Ono M et al. Inhibitory effects of the ethyl acetate extract from bulbs of *Scilla scilloides* on lipoxygenase and hyaluronidase activities. *Pharmaceutic al Biology* 2014;52(10):1351–1357.
24. Alluri N, Ravi BV, Kumari H, Latha P, MAjumdar M. Evaluation of in vitro antioxidant, anti-inflammatory and thrombolytic activities of *Scilla hyacinthina*, an endangered medicinal plant. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2015;7(4):84–88.
25. Gupta LM and Raina R. Antioxidant property of the bulb of *Scilla indica*. *Current Science* 2001;80(10):1267–1269.
26. Mammadov R, Kaska A, Ozay C. Phenolic Composition, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Prospero autumnale*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017;79(4):585–590.
27. Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Liu M, Blanda R, Kromer C. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008–2012. *Neuro Oncol* 2015;17: iv1-iv62.
28. Schacter L. Etoposide phosphate: what, why, where, and how? *Semin Oncol* 1996;23:1–7.
29. Mann J. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. *Nat Rev Cancer* 2002;2:143–148.
30. Altmann KH and Gertsch J. Anticancer drugs from nature-natural products as a unique source of new microtubule stabilizing agents. *Nat Prod Rep* 2007;24:327–357.
31. Ori K, Kuroda M, Mimaki Y, Sakagami H and Sashida Y. Lanosterol and Tetranorlanosterol glycosidised from the bulbs of *Muscari paradoxum*. *Phytochemistry* 2003;64(8):1351–1359.
32. Wang YM, Fan MY, Li J, Wang ZM, Gao HM. Homoisoflavonones and stilbenes from fresh bulb of *Scilla scilloides*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2014;39(19):3788–3793.
33. Chinthala Y, Chinde S, Kumar AN, Srinivas KV, Kumar JK, Sastry KP, et al. Anticancer Active Homoisoflavone from the Underground Bulbs of *Ledebouria hyderabadensis*. *Pharmacognosy Res* 2014;6(4):303–5.
34. Cantor JR and Sabatini DM. Cancer cell metabolism: one hallmark, many faces. *Cancer Discov* 2012;2(10):881–898.
35. Hanahan D and Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011;144:646–674.
36. Duelli R and Kuschinsky W. Brain glucose transporters: relationship to local energy demand. *News Physiol Sci* 2001;16:71–76.
37. Nishioka T, Oda Y, Seino Y, Yamamoto T, Inagaki N, Yano H et al. Distribution of the glucose transporters in human brain tumors. *Cancer Res* 1992;52:3972–3979.
38. Tsukamoto H, Boado RJ and Pardridge WM. Differential expression in glioblastoma multiforme and cerebral hemangioblastoma of cytoplasmic proteins that bind two different domains within the 3'-untranslated region of the human glucose transporter 1 (GLUT1) messenger RNA. *J Clin Invest* 1996;97:2823–2832.
39. Pistollato F, Abbadi S, Rampazzo E, Persano L, Della Puppa A, Frasson C. Intratumoral hypoxic gradient drives stem cells distribution and MGMT expression in glioblastoma. *Stem Cells* 2010;28:851–862.
40. Pistollato F, Rampazzo E, Persano L, Abbadi S, Frasson C, Denaro L et al. Interaction of hypoxia-inducible factor-1alpha and Notch signaling regulates medulloblastoma precursor proliferation and fate. *Stem Cells* 2010;28:1918–1929.
41. Nagamatsu S, Sawa H, Wakizaka A and Hoshino T. Expression of facilitative glucose transporter isoforms in human brain tumors. *J Neurochem* 1993;61(6):2048–2053.

42. Zambrano A, Molt M, Uribe E and Salas M. Glut 1 in Cancer Cells and the Inhibitory Action of Resveratrol as A Potential Therapeutic Strategy. *Int J Mol Sci* 2019;20(13):3374.
43. George Thompson AM, Iancu CV, Nguyen TT, Kim D and Choe JY. Inhibition of human GLUT1 and GLUT5 by plant carbohydrate products; insights into transport specificity. *Sci Rep* 2015;26(5):12804.
44. Liao H, Wang Z, Deng Z, Ren H and Li X. Curcumin inhibits lung cancer invasion and metastasis by attenuating glut1/mt1-mmp/mmp2 pathway. *Int J Clin Ex. Med* 2015;8:8948–8957.
45. García-Suástegui WA, Ramos-Chávez LA, Rubio-Osornio M, Calvillo-Velasco M, Atzin-Méndez JA, Guevara J et al. The Role of CYP2E1 in the Drug Metabolism or Bioactivation in the Brain. *Oxid Med Cell Longev* 2017;4680732.
46. Pillay P, Phulukdaree A, Chaturgoon AA, Du Toit K and Bodenstern J. The cytotoxic effects of *Scilla nervosa* (Burch.) Jessop (Hyacinthaceae) aqueous extract on cultured HepG2 cells. *J Ethnopharmacol* 145(1)2013;(1):200–204.
47. Gonzalez FJ. Mutant Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. *Res* 2005;569(1–2):101–110.
48. Knockaert L, Fromenty Band Robin MA. Mechanisms of mitochondrial targeting of cytochrome P450 2E1: physiopathological role in liver injury and obesity. *FEBS J* 2011;278(22):4252–4260.
49. Leung T, Rajendran R, Singh S, Garva R, Krstic-Demonacos M and Demonacos C. Cytochrome P450 2E1(CYP2E1) regulates the response to oxidative stress and migration of breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2013;15(6): R107.
50. Ho JC, Cheung ST, Leung KL, Ng IO and Fan ST. Decreased expression of cytochrome P450 2E1 is associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2004;111(4):494–500.
51. Da Ros M, De Gregorio V, Iorio AL, Giunti L, Guidi M, de Martino M, et al. Glioblastoma Chemoresistance: The Double Play by Microenvironment and Blood-Brain Barrier. *Int J Mol Sci* 2018;19(10): pii: E2879.
52. Zhuo W, Hu L, Lv J, Wang H, Zhou H and Fan L. Role of pregnane X receptor in chemotherapeutic treatment. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014;74(2):217–227.
53. Chen Y, Tang Y, Wang MT, Zeng S, Nie D. Human pregnane X receptor and resistance to chemotherapy in prostate cancer. *Cancer Res* 2007;67:10361–10367.
54. Conde I, Lobo MV, Zamora J, Perez J, Gonzalez FJ, Alba E, et al. Human pregnane X receptor is expressed in breast carcinomas, potential heterodimers formation between hPXR and RXR-alpha. *BMC Cancer* 2008;8:174.
55. Qiao EQ and Yang HJ. Effect of pregnane X receptor expression on drug resistance in breast cancer. *Oncology letters* 2014;7:1191–1196.
56. Chen Y, Tang Y, Chen S and Nie D. Regulation of drug resistance by human pregnane X receptor in breast cancer. *Cancer Biol Ther* 2009;8:1265–1272.
57. Liu H, Liu N, Cheng Y, Jin W, Zhang P, Wang X. Hexokinase 2(HK2), the tumor promoter in glioma, is downregulated by miR-218/Bmi1 pathway. *PLoS One* 2017;12(12): e0189353.
58. Zhang D, Li J, Wang F, Hu J, Wang S and Sun Y 2-Deoxy-D-glucose targeting of glucose metabolism in cancer cells as a potential therapy. *Cancer Lett* 2014;355(2):176–83.
59. Azevedo-Silva J, Queiros O, Baltazar F, Ulaszewski S, Goffeau A, Ko YH et al. The anticancer agent 3-bromopyruvate: a simple but powerful molecule taken from the lab to the bedside. *J Bioenerg Biomembr* 2016;48(4):349–362.
60. Lewinska A, Adamczyk-Grochala J, Kwasniewicz E, Deregowska A and Wnuk M. Ursolic acid-mediated changes in glycolytic pathway promote cytotoxic autophagy and apoptosis in phenotypically different breast cancer cells. *Apoptosis* 2017;22(6):800–815.



Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Investigation of CTX-M, TEM and SHV Type Extended Spectrum Beta-Lactamase Activity with Automated System and Molecular Methods in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains Isolated from Individuals with Urinary Track Infections

Sibel Deniz¹, Fatih Büyük², Kenan Murat³

¹T.C. Sağlık Bakanlığı Kars İl Sağlık Müdürlüğü Kars Verem Savaş Dispanseri; ²Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı; ³T.C. Sağlık Bakanlığı Kars İl Sağlık Müdürlüğü, Kars Harakani Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü, Kars, Türkiye

ABSTRACT

Aim: This study aimed to investigate ESBL positivity among *E.coli* and *K.pneumoniae* strains isolated from urine samples belonging to individuals who applied to Kars Harakani State Hospital with urinary tract complaints by automated identification system and molecular methods.

Material and Method: 5000 urine samples obtained between April and August 2019 were included. The samples were cultured on Mac Conkey and 7% sheep blood agar, identification was done by ID panel of BD Phoenix™ 100 and antibiotic susceptibility and ESBL activities were determined by AST panel. CTX-M, TEM and SHV genes were analyzed by PCR.

Results: 19.5% aerobic bacteria culture positivity was obtained from the urine samples and 120 (13.33%) of them were found to have ESBL activity. 102 (85%) of the isolates were identified as *E.coli* and 14 (11.67%) as *K.pneumoniae*. The ESBL positivity was obtained 2.4% for total urine samples, and 2.04% and 0.28% for *E.coli* and *K.pneumoniae*, respectively. While the total resistance to beta-lactam antibiotics was 57.46%, the most common resistance was observed against cephalosporins (92.53%) and the most common sensitivity (47.19%) was to carbapenems. At least one or more resistance genes were detected in 90.52% of ESBL positive isolates by PCR and CTX-M was the most common resistance gene. While there was no statistically significant relationship between ESBL positivity and age groups, however, a positive relationship was found between ESBL and gender of the patients at a rate of 21.9%.

Conclusion: In addition to eliminating risk factors in reducing the incidence of ESBL-related infections, identification of microorganism, disclosure of relevant ESBL profiles and the right antibiotic preference to be developed according to these emerged models are important. It is hoped that this systematic study carried out in a limited location in Kars region of Turkey will benefit in this context.

Key words: human; urine; ESBL; culture; Phoenix; PCR; *E.coli*; *K.pneumoniae*

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Kars Harakani Devlet Hastanesi'ne idrar yolları yakınması ile başvuran bireylere ait idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları arasında GSBL pozitifliğinin otomatize identifikasyon sistemi ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmaya, Nisan-Ağustos 2019 tarihleri arasında örneklenen 5000 idrar örneği dâhil edildi. Örnekler, Mac Conkey ve %7 koyun kanlı agarda kültüre edildikten sonra elde edilen izolatların identifikasyonu BD Phoenix™ 100 ID paneli, antibiyotik duyarlılıkları ve GSBL aktiviteleri ise AST paneli ile belirlendi. İzolatların CTX-M, TEM ve SHV genleri PCR ile analiz edildi.

Bulgular: İdrar örneklerinden %19,5 oranında aerobik bakteriyel etken kültür pozitifliği elde edildi ve bunların 120 (%13,33)'sinin GSBL aktivitesi olduğu saptandı. GSBL pozitif izolatların 102 (%85)'si *E.coli* ve 14 (%11,67)'ü *K.pneumoniae* olarak tanımlandı. GSBL pozitifliği toplamda idrar örneklerinde %2,4, *E.coli* ve *K.pneumoniae* için ise sırasıyla %2,04 ve %0,28 olarak belirlendi. İzolatların, beta laktam grubu antibiyotiklere toplam direnci %57,46 belirlenirken, en yaygın dirençlilik sefalosporinlere (%92,53) ve en yaygın duyarlılık ise karbapenemlere (%47,19) karşı saptandı. PCR ile GSBL pozitif izolatların %90,52'sinde en az bir veya birden fazla direnç geni saptandı ve en yaygın saptanan direnç geni CTX-M idi. GSBL pozitifliği ile yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamazken, hastaların cinsiyetleri arasında %21,9 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı.

Sonuç: GSBL kaynaklı enfeksiyonların insidansının azaltılmasında risk faktörlerinin ortadan kaldırılmasının yanı sıra enfeksiyöz etkenlerin identifikasyonu, ilgili GSBL profillerinin çıkarılması ve bu modellerine göre geliştirilecek doğru antibiyotik tercihi oldukça önemlidir. Sınırlı bir lokasyonda, Kars yöresinde, yapılan bu sistematik çalışmanın bu yönde fayda sağlayacağı umulmaktadır.

Anahtar kelimeler: insan; idrar; GSBL; kültür; Phoenix; PCR; *E.coli*; *K.pneumoniae*

İletişim/Contact: Fatih Büyük, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye • **Tel:** 0544 376 09 07 • **E-mail:** fatibbyk08@gmail.com • **Geliş/Received:** 13.10.2020 • **Kabul/Accepted:** 26.03.2021

ORCID: Sibel Deniz, 0000-0001-7248-6642 • Fatih Büyük, 0000-0003-3278-4834 • Kenan Murat, 0000-0001-9654-2311

Giriş

Antibiyotiklere karşı direnç, son yıllara giderek artan ve tüm dünyayı tehdit eden önemli bir klinik problemidir. Direnç geliştiren bakteriler arasında, beta-laktamaz enzim üreterek beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve inaktif hale getiren başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türü bulunmaktadır. Günümüzde 350'ye yakın betalaktamaz enzimi tanımlanmış olup bunların büyük bir çoğunluğunu (yaklaşık 150'sini) Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL) (Extended-Spectrum Beta-Lactamases, ESBL) oluşturmaktadır^{1,2}. GSBL'ler, genellikle ekstrasomozomal yapılar tarafından kodlandıkları için bakteriler arası kolaylıkla aktarılır ve böylece yaygınlıkları artar. GSBL'ler, yaygın olarak *Enterobacteriaceae* bakteri ailesinin üyeleri, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* tarafından sentezlenirler. *E.coli* ve *K.pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonları ve buna bağlı gelişen bakteriyemilerin yaygın etkenleri arasındadır. Ayrıca bu iki bakteri türü sıklıkla nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu olan bakteri türleridir^{3,4}.

Klinik sahada GSBL'den kaynaklanan hastalıkların sağaltımında penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Bu antibiyotiklere direnç sayesinde bu bakterilerden kaynaklanan hastane enfeksiyonu sıklığını artırmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavide güçlüklerle yol açmaktadırlar. GSBL kaynaklı enfeksiyon riski, insanların hastanede ve yoğun bakım ünitelerinde uzun süre kalması, idrar ve venöz kateter gibi çeşitli girişimler uygulamalar ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımı gibi faktörlerle de artmaktadır⁵.

Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazların teşhisinde, farklı sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahip GSBL enzimlerini belirleyen fenotipik yöntemler ile GSBL enzimlerini kodlayan genlerin belirleyen moleküler yöntemler kullanılır. Fenotipik yöntemlerden disk difüzyon tekniği GSBL pozitifliğini tarama testi olarak, çift disk sinerji testi, otomatize mikrobiyoloji sistemleri ve E-test metodu ise doğrulama testleri olarak kullanılır. Moleküler teknikler ise hem GSBL üretiminden sorumlu olan spesifik genin analizini sağlarken hem de fenotipik yöntemlerin saptayamadığı düşük seviyeli antibiyotik direncini saptar. Bu amaçla GSBL enzimlerini kodlayan CTX-M, TEM, SHV ve varyantlarına ait genler spesifik oligonükleotid primerler eşliğinde *in vitro* amplifiye edilerek PCR aracılığıyla kolaylıkla saptanabilmektedir^{6,7}.

Escherichia coli ve *K.pneumoniae* gibi GSBL üreten etkenler insanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açmakta ve bu etkenler birçok antimikrobiyal maddeye çoklu direnç göstermektedirler. Özellikle etken identifikasyonu ve antimikrobiyal duyarlılık belirlenmeden yapılan ampirik tedavi girişimleri çoklu dirence sahip GSBL'lerin ortaya çıkmasının temel nedenidir. Yine de bu tür etkenlerden kaynaklanan enfeksiyonların sağaltımında aminoglikozidler, kinolonlar, tigesilinler ve fosfomisinler gibi antimikrobiyallere başvurulabilir^{8,9}.

Bu çalışmada, Kars Harakani Devlet Hastanesi'ne idrar yolları yakınması ile başvuran bireylere ait idrar örneklerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları arasında GSBL pozitifliğinin otomatize sistem ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma İzni ve Çalışma Materyali

Etik kurul izni, Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 30.10.2019 tarih ve 26 nolu kararıyla ve kurum izni ise Kars İl Sağlık Müdürlüğü'nün 29.11.2019 tarihli oluru ile alınmıştır.

Kesitsel bir çalışma şeklinde yürütülen bu çalışmada çalışma materyalini, Nisan-Ağustos 2019 tarihleri arasında Kars Harakani Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümüne idrar yolları yakınması ile gelen ve mikrobiyolojik inceleme amaçlı başvuran 0 ile 70 yaş arası bireylere ait idrar numuneleri oluşturdu. Bu kapsamda hastaneye başvuran bireylere ait 5.000 adet idrar örneği çalışmaya dahil edildi.

BD Phoenix™ 100 Sistemi ile Analiz

Steril tüplere yaklaşık 10–20 ml orta idrar alındıktan sonra idrar örnekleri, 3000 devirde 10 dk. santrifüj edildi. Sedimentten 1 µl alınarak Mac Conkey (Thermo Fisher Sci., ABD) ve %7 koyun kanlı agara (Thermo Fisher Sci., ABD) ekimler yapıldı. Ekilen besiyerleri aerobik şartlarda ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Saf koloni varlığı ile kültür pozitif olarak nitelendirilen örnekler Mac Conkey besiyerinde laktoz aktivitesi ve Gram boyanma özellikleri değerlendirildi¹⁰. Laktoz pozitif Gram negatif bakterilerin identifikasyonu BD Phoenix™ 100 sisteminin (Becton, Dickinson and Company, ABD) ID paneli (Gram negatif idrar paneli) ile gerçekleştirildi. İdentifiye edilen bakterilerin antimikrobiyal madde duyarlılıkları ve GSBL aktiviteleri AST paneli ile belirlendi.

Moleküler Analiz

İzolatların GSBL direnç gen (CTX-M, TEM ve SHV) analizleri PCR yöntemleri ile gerçekleştirildi. Bu amaçla bakteriyel total DNA tek koloni lizis buffer (SCLB) eşliğinde ısıl işlem aracılığıyla ekstrakte edildi¹¹. CTX-M'in araştırılmasında

CTX-M-F: 5'-TTTGCATGTGCAGTACCAGTAA-3'
ve

CTX-M-R: 5'-CGATATCGTTGGTGGTGCCATA-3'¹²,
TEM'in araştırılmasında

blaTEM-F: 5'-ATGAGTATTCAACATTTCCGTG-3'
ve

blaTEM-R: 5'-TTACCAATGCTTAATCAGTGAG-3'¹³
ve

SHV'nin araştırılmasında

blaSHV-F: 5'-TTATCTCCCTGTTAGCCACC-3'
ve

blaSHV-R: 5'-GATTTGCTGATTTTCGCTCGG-3'¹⁴

primer çiftleri kullanıldı. Single-step PCR şeklinde gerçekleştirilen analizlerde üniform reaksiyon bileşenleri kullanıldı. Reaksiyon 25 µl hacimde ve 2,5 µl PCR buffer (x10), 0,5 µl dNTP miks (10 mm), 1 µl Primer F (10 pmol), 1 µl Primer R (10 pmol), 0,4 µl Taq polimeraz, 13,6 µl H₂O ve 3 µl DNA bileşenlerinden oluşturuldu. Termal döngü; 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon, takiben 94°C'de 1 dk denatürasyon, 57°C'de 1 dk primer bağlanması ve 72°C'de 1 dk zincir uzaması şeklinde 35 siklus ve 72°C'de 10 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Elektroforezde 544 bp boyutundaki amplifiye ürünler CTX-M, 861 bp ürünler TEM ve 795 bp ürünleri SHV geni olarak yorumlandı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistic 22.0 paket programı ile gerçekleştirildi. Bu kapsamda parametrik olmayan test yöntemlerine başvuruldu. Bu amaçla nominal (sınıflayıcı) ölçüğe sahip iki değişkenin veri analizinde Pearson, Fisher ve Yates Ki kare testleri uygulandı. Üç değişkenin veri analizinde Cochran-Mantel-Haenszel testi uygulandı. Küçük örnek hacmine sahip verilerin analizlerde Likelihood Ratio (G²) istatistiği tercih edildi. İki kategorik değişken arasındaki ilişkinin yönü ve gücü Fi (Phi-) katsayısı ile belirlendi. Ordinal (sıralayıcı) ölçüğe sahip verilerin analizinde ise Mann-Whitney-Wilcoxon testi kullanıldı^{15,16}.

Bulgular

İdrar örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonucu %19,5 (n: 975) kültür pozitifliği (aerob bakteri) elde

edildi. Bunların %92,3 (n: 900)'ü laktoz pozitif Gram negatif bakteriler olarak saptandı ve bu bakterilerin %13,33 (n: 120)'ünün Phoenix AST paneli ile GSBL pozitif olduğu belirlendi. GSBL pozitifliği, kültür pozitif aerob bakteriler içerisinde %12,31 oranında ve incelenen tüm idrar örnekleri içerisinde %2,4 oranında saptandı. Phoenix ID paneli ile GSBL pozitif 120 bakterinin 102 (%85)'si *Escherichia coli*, 14 (%11,66)'ü *Klebsiella pneumoniae* ve 4 (%3,33)'ü *Enterobacter cloacae* olarak tanımlandı. İncelenen tüm idrar örnekleri içerisinde GSBL pozitif *E.coli* oranı %2,04 ve GSBL pozitif *K.pneumoniae* oranı %0,28 olarak belirlendi.

Çalışmada GSBL pozitif saptanan 116 izolatın (102 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae*) izole edildiği hastaların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de özetlendi. Hastaların 67 (%57,8)'sini kadınlar ve 49 (%42,2)'unu erkekler oluşturmaktaydı. *E.coli* izole edilen hastaların 63 (%61,76)'ü kadın ve 39 (%38,24)'ü erkek, *K.pneumoniae* izole edilen hastaların ise 4 (%28,57)'ü kadın ve 10 (%71,43)'ü erkekti. Bu veriler eşliğinde tanımlanan bakteri türleri ile hastaların cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak %21,9 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı (Yates ki kare test istatistiği anlamlılık düzeyi 0,039 ve Fi katsayısı anlamlılık düzeyi 0,018) (Tablo 1). Çalışmadaki hastaların yaş gruplandırması, Birleşmiş Milletler (UN)'in yaş skalası esas alınarak yapıldı¹⁷. Bu skalaya göre örnek yetersizliğinden dolayı 0-14 ile 15-24 yaş aralığındaki bireyler "24 ve altı" kategorisinde toplandı. Buna göre, hastaların 41 (%35,3)'i 24 yaş ve altı, 20 (%17,2)'si 25 ile 44 yaş aralığında, 18 (%15,5)'i 45 ve 64 yaş aralığında ve 37 (%31,9)'si ise 65 yaş ve üzeri grupta yer almaktaydı. İdentifiye edilen bakteriler ile yaş dağılımı ise Tablo 1'de yer almaktadır. Bu verilere göre tanımlanan bakteri türü ile hastaların yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Mann-Whitney U istatistiği 605,5 ve anlamlılık düzeyi 0,337). Fakat bu üç değişken birlikte incelendiğinde 25-44 yaş grubundaki hastalarda tanımlanan bakteri türü ile cinsiyet arasında %66,7 oranında pozitif yönde bir ilişki saptandı (Cochran ve Mantel-Haenszel testleri anlamlılık değerleri sırasıyla 0,006 ve 0,017, Fi katsayısı güven düzeyi 0,003).

Çalışmada tanımlanan 102 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae* izolatının antimikrobiyal duyarlılıkları Phoenix AST paneli ile belirlendi. Bu kapsamda tüm izolatların Ampisilin, Seftriakson, İmipenem, Meropenem ve Piperasilin/Tazobaktam duyarlılıkları, 115 izolatın (101 *E.coli* ve 14 *K.pneumoniae*) Seftazidim, 114 izolatın (100 *E. coli* ve 14 *K.pneumoniae*) Ertapenem, 88

Tablo 1. Phoenix ID ile tanımlanan GSBL pozitif bakteriler ile demografik özellikler arasındaki ilişki

Yaş	Cinsiyet	Bakteri türü			Yates Ki Kare Test / Mann-Whitney- Wilcoxon Test Sig. değerleri	Cochran's/Mantel- Haenszel Sig. değerleri *	Fi Katsayısı / yaklaşık Sig. değerleri
		E.coli	K.pneumoniae	Toplam			
24 ve altı	Kadın	23	1	24	0,337	0,006/0,017	0,144/0,357
	Erkek	15	2	17			
	Toplam	38	3	41			
25-44	Kadın	16	2	18	0,337	0,006/0,017	0,667/0,003
	Erkek	0	2	2			
	Toplam	16	4	20			
45-64	Kadın	11	0	11	0,337	0,006/0,017	0,304/0,197
	Erkek	6	1	7			
	Toplam	17	1	18			
65 ve üzeri	Kadın	13	1	14	0,337	0,006/0,017	0,192/0,243
	Erkek	18	5	23			
	Toplam	31	6	37			
Toplam	Kadın	63	4	67	0,039	0,039	0,219/0,018
	Erkek	39	10	49			
	Toplam	102	14	116			

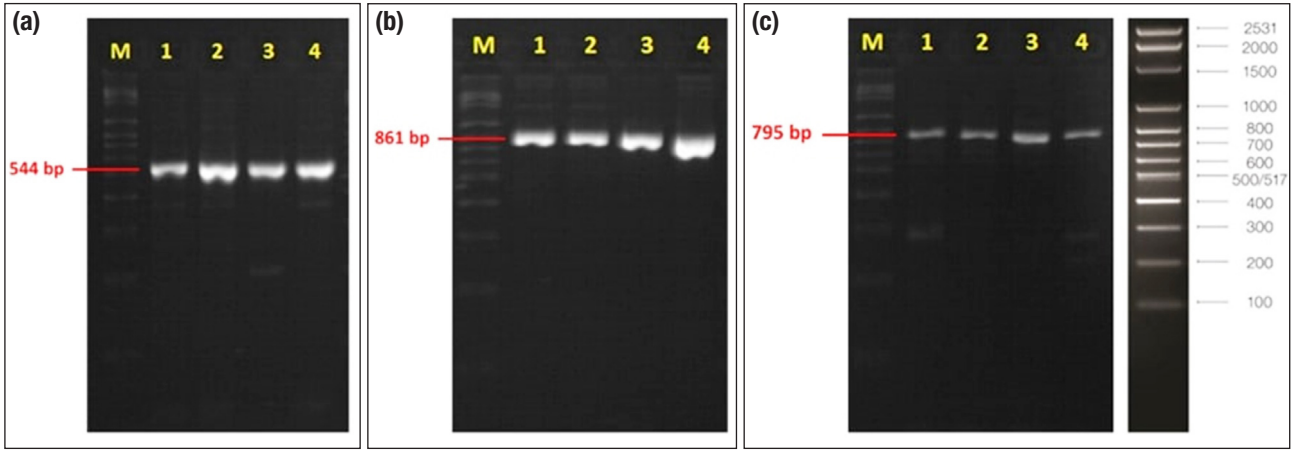
* Odds oranlarının homojenliği Breslow-Day ve Tarone's testleri (anlamlılık değeri sırasıyla 0,414 ve 0,436) ile saptandı.

izolatın (74 *E. coli* ve 14 *K. pneumoniae*) Sefiksım, 84 izolatın (71 *E. coli* ve 13 *K. pneumoniae*) Amoksisilin-Klavulanat, 29 izolatın (24 *E. coli* ve 5 *K. pneumoniae*) Aztreonam ve 29 izolatın (24 *E. coli* ve 5 *K. pneumoniae*) Sefepim aktiviteleri belirlendi. Aztreonam hariç izolatların tümünün test edildiği en az bir Beta-laktam antibiyotik grubu bulunmaktaydı. GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %57,46 olarak saptandı. İzolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu sefalosporinler (%92,53) ve en duyarlı olduğu antibiyotik grubu karbapenemler (%47,1) olup, direnç bakımından izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,329$). *E. coli* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %55,97 saptandı ve izolatların en (%92,49) dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler, en (%92,43) duyarlı olduğu antibiyotik grubu ise karbapenemler olarak belirlendi. *E. coli* izolatlarının en yaygın dirençlilik gösterdiği antibiyotik türü %100 ile Ampisilin ve Sefiksım olurken, en duyarlı olduğu antibiyotik türü ise %99,02 ile Imipenemdir. *K. pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %67,41 saptandı ve izolatların en (%100) dirençli olduğu antibiyotik grubu monobaktamlar, en (%85,71) duyarlı olduğu antibiyotik grubu ise

karbapenemler olarak belirlendi. *K. pneumoniae* izolatlarının en yaygın (%100) dirençlilik gösterdiği antibiyotik türü Ampisilin, Aztreonam, Sefiksım, Sefepim ve Seftriakson olurken, en (%92,86) duyarlı olduğu antibiyotik türü Imipenem ve Meropenemdir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının beta laktam grubu antibiyotiklere olan duyarlılık/dirençlilik farklılıkları istatistiksel olarak oldukça anlamlı ($p<0,00001$) saptandı.

Çalışmada tanımlanan 116 izolatın PCR ile 105 (%90,52)'inde bir veya birden fazla direnç geni saptanırken, 11 (%9,48)'i negatif bulundu (Şekil 1). Bu bağlamda PCR'nin sensitivitesi %90,52 olarak belirlenirken, spesifitesi hesaplanmadı. En yaygın direnç geni 91 (%78,45) izolatla (82 *E. coli* ve 9 *K. pneumoniae*) saptanan CTX-M olup, bunu 70 (%60,34) izolat (63 *E. coli* ve 7 *K. pneumoniae*) ile SHV ve 57 (%49,14) izolat (51 *E. coli* ve 6 *K. pneumoniae*) ile TEM izledi. Bireysel, ikili ve üçlü GSBL direnç genlerinin saptandığı izolat sayısı Tablo 2'de verilmiştir.

Phoenix AST ve PCR bulguları karşılaştırıldığında; yalnız CTX-M, yalnız TEM ve yalnız SHV geni saptanan izolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatlar karbapenem grubu antibiyotiklere genelde duyarlı ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörü antibiyotiğe (Piperasilin/



Şekil 1. a–c. PCR'lere ait elektroforetik analiz görüntüsü: CTX-M-PCR (a), TEM-PCR (b), SHV-PCR (c). M: DNA Ladder (Hyperladder 100 bp plus/Bioline), 1–4: *E. coli* ve *K.pneumoniae* izolatları.

Tazobaktam) reaksiyonu ise değişkenlik göstermektedir. Yalnız SHV pozitif 1 izolatta ise sefalosporin duyarlılığı ve yalnızca penisilin direnci belirlendi. Benzer durum CTX-M ve TEM, CTX-M ve SHV ve TEM ve SHV direnç genlerinin eş zamanlı saptandığı izolatlar için geçerlidir. Sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe (Aztreonam) ise izolatların reaksiyonu değişkenlik gösterdi. CTX-M, TEM ve SHV direnç genlerinin eş zamanlı saptandığı izolatların en dirençli olduğu antibiyotik grubu penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatlar karbapenem ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörüne (Piperasilin/Tazobaktam) antibiyotiğe genelde duyarlı ve sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe (Aztreonam) ise tümü dirençli saptandı. CTX-M, TEM ve SHV direnç genlerinin negatif saptandığı

izolatların (7 *E.coli* ve 4 *K.pneumoniae*) en dirençli olduğu antibiyotik grubu yine penisilinler ve sefalosporinler olurken, bu izolatların karbapenemler ve Beta-laktam/Beta-laktam inhibitörü antibiyotiğe duyarlılıkları değişkenlik gösterdi ve sınırlı sayıdaki monobaktam grubu antibiyotiğe 1 *E.coli* ve 3 *K.pneumoniae* izolatu dirençli saptandı.

PCR ile saptanan GSBL genleri ile bakteri türü dağılımı incelendiğinde; CTX-M pozitif olan 91 izolattan 82'si *E.coli* ve 9'unda *K.pneumoniae*; TEM pozitif olan 57 izolattan 51'i *E.coli* ve 6'sı *K.pneumoniae* ve SHV pozitif olan 70 izolattan 63'ü *E.coli* ve 7'si *K.pneumoniae* olarak tanımlandı. PCR ile saptanan GSBL genleri ile bakteri türlerinin birbirinden bağımsız olduğu belirlendi (Pearson ki kare test istatistiği 0,017 ve bu

Tablo 2. İzolatların PCR ile saptanan GSBL direnç gen profilleri

Etken	Cinsiyet	GSBL direnç genleri							
		PCR pozitif					PCR negatif		
		Yalnız CTX-M	Yalnız TEM	Yalnız SHV	CTX-M / TEM	CTX-M / SHV	TEM / SHV	CTX-M / TEM / SHV	CTX-M / TEM / SHV
<i>E.coli</i>	Kadın (N: 63)	7	0	0	9	19	6	16	6
	Erkek (N: 39)	7	2	3	6	8	2	10	1
<i>K.pneumoniae</i>	Kadın (N: 4)	0	0	0	0	1	1	2	0
	Erkek (N: 10)	2	0	0	1	1	0	2	4
Toplam	Kadın (N: 67)	7	0	0	9	20	7	18	6
	Erkek (N: 49)	9	2	3	7	9	2	12	5
	116	16	2	3	16	29	9	30	11

Tablo 3. GSBL direnç genlerinin (toplam) demografik özelliklere göre dağılımı

Bakteri türü	Cinsiyet	PCR ile saptanan GSBL direnç genleri			Pearson ki kare test sig. değerleri	
		CTX-M	TEM	SHV		
24 yaş ve altı						
E.coli	Kadın (N: 23)	19	11	14	0,930	
	Erkek (N: 15)	10	7	7		
K.pneumoniae	Kadın (N: 1)	1	1	1	*	
	Erkek (N: 2)	2	2	2		
Toplam	Kadın (N: 24)	20	12	15	0,934	
	Erkek (N: 17)	12	9	9		
25–44 yaş arası						
E.coli	Kadın (N: 16)	13	8	12	*	
	Erkek (N: 0)	0	0	0		
K.pneumoniae	Kadın (N: 2)	2	1	2	*	
	Erkek (N: 2)	1	1	0		
Toplam	Kadın (N: 24)	15	9	14	*	
	Erkek (N: 17)	1	1	0		
45–64 yaş arası						
E.coli	Kadın (N: 11)	8	8	9	*	
	Erkek (N: 6)	5	2	5		
K.pneumoniae	Kadın (N: 0)	0	0	0	*	
	Erkek (N: 1)	1	0	1		
Toplam	Kadın (N: 24)	8	8	9	0,472	
	Erkek (N: 17)	6	2	6		
65 yaş ve üzeri						
E.coli	Kadın (N: 13)	11	5	6	0,893	
	Erkek (N: 18)	16	10	10		
K.pneumoniae	Kadın (N: 1)	0	1	1	*	
	Erkek (N: 5)	2	0	0		
Toplam	Kadın (N: 24)	11	6	7	0,970	
	Erkek (N: 17)	18	10	10		
Toplam						
E.coli	Kadın (N: 63)	51	32	41	0,934	0,992
	Erkek (N: 39)	31	19	22		
K.pneumoniae	Kadın (N: 4)	3	3	4	*	
	Erkek (N: 10)	6	3	3		
Toplam	Kadın (N: 67)	54	35	45	0,152 ^a	0,829 ^b
	Erkek (N: 49)	37	22	25		

^a CTX-M verilerinin %25'inin 5'den küçük olması nedeniyle Fisher'in kesinlik testi.

^b TEM ve SHV verilerinin 5 ile 25 arasında olması nedeniyle Yates ki kare testi ile elde edildi.

^c Saptanmadı.

istatistiğe ait anlamlılık düzeyi 0,992'dir). Benzer istatistiksel bağımsızlık tanımlanan GSBL direnç genleri için de geçerlidir (CTX-M ile bakteri türleri için Fisher'in kesin test istatistiğine ait anlamlılık düzeyi 0,152; TEM ve SHV ile bakteri türleri için Yates ki kare testi istatistiğine ait anlamlılık düzeyleri sırasıyla 0,829 ve 0,581'dir). *E.coli* bakterilerinde PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini

etkilemediğini söylemek mümkündür (Pearson ki kare test istatistiğine ait anlamlılık düzeyi 0,934'tür). Benzer bir ilişki sayısal yetersizlikten dolayı *K.pneumoniae* için hesaplanamadı (Tablo 3). Çalışmada, yaş alt grupları ve bakteri türü kapsamında, PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetleri arasındaki ilişki de ele alındı (Tablo 3). Yetersiz örnek hacminden dolayı, 24 yaş ve altı gruptaki hastalar için *K.pneumoniae*, 25–44

yaş arasındaki hastalarda genel ve her iki bakteri türü, 45–64 yaş arasındaki hastalarda her iki bakteri türü ve 65 yaş ve üzeri gruptaki hastalarda tespit edilen *K.pneumoniae* ile ilgili istatistiksel analizler yapılamadı. Yapılan analizlerde ise Pearson ki kare testi sonuçları ile G² test istatistikleri birbirine paralel olduğundan sadece Pearson ki kare testi sonuçlarına göre yorum yapıldı. Buna göre; 24 yaş ve altı gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,934); *E.coli* tespit edilen 24 yaş ve altı gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,930); 45–64 yaş grubundaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,472); 65 yaş ve üzeri yaş grubundaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,970) ve *E.coli* tespit edilen 65 yaş ve üzeri gruptaki hastalarda saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetlerinin birbirini etkilemediği (0,893) belirlendi (Tablo 3).

Tartışma

Üriner sistem enfeksiyonları insanlarda enfeksiyöz hastalıklar içerisinde en sık rastlanan hastalıklardır. Dünya genelinde her yıl yaklaşık 150 milyon yeni üriner sistem enfeksiyonu bildirilmekte ve bunlardan kaynaklanan tedavi giderleri ise yaklaşık 150 milyar dolar olarak hesaplanmaktadır¹⁸. Üriner sistem enfeksiyonları, sepsis gelişmeden ayaktan tedavi edilebilen toplum kaynaklı enfeksiyonlar olabileceği gibi uzun süre hastanede kalan veya immunsupresif bireylerde ortaya çıkan hastane kaynaklı enfeksiyonlar da olabilir. Ayrıca bu enfeksiyonlar genital ve üriner sistemin yapısal ve fonksiyonel bozukluklarının eşlik edip etmediğine göre de komplike veya komplike olmayan şeklinde sınıflandırılır⁵. Komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında sıklıkla *E.coli* ve takiben *Klebsiella*, *Proteus* ve *Acinetobacter* gibi bakteriler tanımlanmıştır. Komplike olanlarda ise etken çeşitliliği çok daha fazladır. Üriner sistem enfeksiyonlarında hastanın hastanede kalış hikayesine ve komplikasyon durumuna göre değişmek üzere bakteriyel etken izolasyonu %8,7–63 arasında değişkenlik göstermektedir. Bu etkenler arasında *E.coli* neredeyse çalışmaların tamamında dominant tür olarak yer alırken, bunu *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp., Stafilokok ve Streptokok türleri takip etmiştir^{19–22}. Bu çalışma ile aynı merkezli 2016 yılında yapılan bir araştırmada 7365 idrar örneğinin %18,5'inden bakteriyel

etken izole edilmiş ve izolatların %68,5'i *E.coli*, %4,7'si *Enterococcus* spp. ve %4,5'i *Klebsiella* spp. olarak tanımlanmıştır²³. Bu çalışmada, Yılmaz ve ark.²³ bulgularına benzer nitelikte idrar örneklerinden %19,5'inden bakteriyel etken izolasyonu gerçekleştirilmiş ve *E.coli*, tanımlanan bakteri türleri arasında ilk sırada yer almıştır. Oldukça benzer olan bu veriler eşliğine son birkaç yılda yörede üriner sistem enfeksiyonlu bireylerde bakteriyel etken yaygınlığının yaklaşık %20 olduğuna dair bir genelleme yapmak mümkün gözükmemektedir. Ancak, diğer çalışmalarla kıyaslandığında izolasyon oranındaki önemli farklılıkların temel nedenleri arasında çalışmaların temporal ve spasyal dağılım farklılıkları ve yöntem çeşitlilikleri düşünülmektedir. Ayrıca sadece aerob bakteriyel etken kültürünün yapıldığı bu çalışmadaki izolasyon oranının, farklı atmosferik şartlara adapte olabilen bakteriyel etkenlerin izolasyon oranlarına kıyasla daha düşük olması beklenen bir durumdur.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında halen birçok bakteriyel enfeksiyonun tanısı etken izolasyonu ve identifikasyonunu içeren fenotipik yöntemlere bağlıdır. Fakat yoğun iş gücü ve uzun zaman alan bu yöntemler günümüzde yerini modern otomatize tekniklere bırakmıştır. Otomatize teknikler etken identifikasyonunun yanı sıra antimikrobiyal duyarlılıkları test edilebilen hızlı ve kolay uygulanabilir yöntemlerdir²⁴. Bu kapsamda birçok araştırma ve hastane laboratuvarlarında Phoenix, Vitek 2, MicroScan, MALDI-TOF MS gibi otomatize sistemlerden faydalanılmaktadır^{25,26}. Phoenix sistemi, bir seri konvansiyonel, kromatojenik ve florojenik biyokimyasal maddeler ile 100'e yakın bakterinin hızlı tanımlanmasını sağlayan ve antibiyotik duyarlılıklarını belirleyen güvenilir bir araç olarak tanımlanmıştır²⁷. Ayrıca bu sistem CLSI standartlarını esas alarak klavulanik asitli veya klavulanik asit olmadan seçilen çeşitli sefalosporinlere karşı bakterinin üreme yanıtını kullanarak bakterilerin GSBL özelliklerini de belirleyebilmektedir. Bu özellikleri sayesinde Phoenix, *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında rastlanan GSBL, AmpC beta-laktamazlar ve *K.pneumoniae* karbapenemazlar (KPC) gibi direnç özelliklerini belirleyebilmektedir. Bu sistem, GSBL ürettiği genotipik olarak doğrulanan suşların %90'ından daha büyük kısmında GSBL üretimini saptayabilmektedir²⁸. Benzer tanılal üstünlükleri CLSI ve EUCAST tarafından optimize edilen yöntemlerle de kıyaslanarak kanıtlanmıştır^{28–30}. *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinde GSBL aktivitesinin test edildiği bir çalışmada %89 tanılal doğruluğu ile Phoenix otomatize sistemler arasında GSBL'yi saptamada en iyi performansa sahip sistem olarak kabul

edilmiştir.²⁹ Phoenix'in mikroorganizmaların GSBL özelliklerinin taranmasında yüksek sensitivite ve nispeten ılımlı spesifitesini gösteren birçok çalışma bildirilmiştir.^{28,30} Bu çalışmada, Mac Conkey agarda pozitif laktoz aktivitesi saptanan ve Gram negatif morfolojiye sahip bakteri ön tanısı almış 900 izolattın Phoenix ile identifikasyonu ve antimikrobiyal madde duyarlılıkları test edilmiştir. Fakat GSBL aktivitesinin belirlenmesinde başvurulabilecek referans fenotipik yöntemler (dilüsyon veya difüzyon yöntemleri) bu çalışmada kullanılmadığı için Phoenix GSBL'lerin saptanmasındaki etkinliğini tam olarak karşılaştırma imkânı olmamıştır. Ancak GSBL üretiminde sorumlu yaygın gen bölgelerinin (CTXM, TEM ve SHV) PCR ile analizi gerçekleştirilmiş ve Phoenix ve PCR'nin GSBL'leri saptamadaki yeterlilikleri karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Üriner sistem enfeksiyonlarından tanımlanan bakterilerdeki GSBL üretimi sosyokültürel yapı, çalışılan coğrafya ve çalışılan zaman dilimine göre farklılık göstermektedir. Vakaların toplum/hastane kaynaklı oluşu veya komplikasyonlu/komplikasyonsuz oluşuna göre de GSBL pozitifliği artmaktadır.²⁰ Arana ve ark.³² tarafından İspanya'da gerçekleştirilen bir çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında GSBL üretkenliğinin son sekiz yıldaki artışı oldukça dikkat çekicidir. Türkiye'de 2013 yılında yapılan bir meta-analizde idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli*'lerde GSBL pozitifliği %20'nin altında bildirilmesine³³ rağmen son dönemlerde hem *E.coli* hem de *K.pneumoniae*'de GSBL üretiminde bir artış söz konusudur.^{21,34,35} Bu çalışmada izolatların Phoenix AST ile yapılan analizleri sonucu 120 (%13,33)'sinin GSBL aktivitesi olduğu saptanmıştır. İdrar örneklerinde toplam GSBL pozitifliği %2,4, bakteri düzeyinde ise *E.coli* için %2,04 ve *K.pneumoniae* için %0,28 olarak saptanmıştır. Dünya genelinde^{20,32} ve ülkemizde^{21,34,35} gerçekleştirilen çalışmalarla kıyaslandığında hem toplam hem de bakteri türü için GSBL pozitifliği oldukça düşük kalmıştır. Bunun nedeni olarak yörede idrar yolları enfeksiyonlarından sorumlu olan *E.coli* ve *K.pneumoniae* bakterilerinin GSBL üretkenliklerinin düşük olma olasılığı sayılabilir. Bu durum, idrar yolları enfeksiyonlarında doğru ve akılcı ilaç kullanımının bir yansıması olabilen çoklu ilaç direnci hatta GSBL direncine imkân verecek mutasyonların olmadığı suşların varlığına işaret eder. Ayrıca GSBL pozitifliğindeki oransal farklılıklar, bu çalışmada benzer bir kategorik sınıflandırmanın yapılmadığı olguların enfeksiyon orijinleriyle (hastane kaynaklı veya toplum kaynaklı)^{32,34} ve komplikasyon durumlarıyla²⁰ yakından ilişkilidir.

Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz üretiminden sorumlu genlerin tanımlanması, direnç epidemiyolojisinin aydınlatılması ve buna bağlı geliştirilecek uygun tedavi ve korunma stratejilerinin planlanması açısından önemlidir. *E.coli* ve *K.pneumoniae* türlerinde GSBL enzimleri genellikle plazmid kaynaklı CTX-M, TEM ve SHV gibi genler tarafından kodlanmakta ve bu enzimler özellikle sefalosporinler olmak üzere monobaktamlar, penisilinler ve hatta karbapenemlere karşı dirence yol açmaktadır.³⁶ Dünya genelinde ve ülkemizde GSBL enzimlerini kodlayan genlere sahip *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının bildirimleri her geçen gün artmaktadır. Bunlar içerisinde birçok varyant ile CTX-M'ler en yaygın GSBL genleri olarak yer almaktadır.^{6,37,38} Bu çalışmada GSBL pozitif 116 izolat içerisinde en yaygın direnç geni 91 (%78,45) izolatta (82 *E.coli* ve 9 *K.pneumoniae*) saptanan CTX-M olup, bunu 70 (%60,34) izolat (63 *E.coli* ve 7 *K.pneumoniae*) ile SHV ve 57 (%49,14) izolat (51 *E.coli* ve 6 *K.pneumoniae*) ile TEM izlemiştir. Bakteri düzeyinde bakıldığında CTX-M yine en yaygın gen olarak belirlenmiştir. Diğer çalışmalarla kıyaslandığı GSBL üretiminden sorumlu olan genlerde oransal farklılıklar olsa da bu bulgular direnç genleri içerisinde en yaygın genin CTX-M olduğunu ifade eden birçok çalışma ile benzer niteliktedir.^{6,37,38} Bunun olası nedeni olarak CTX-M türü genlerin horizontal yollarla daha yaygın aktarılabirlikleri ve hızlı yayılım özellikleri düşünülebilir. GSBL pozitif olgularda birden fazla direnç genini barındıran *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatları da bildirilmiştir.^{6,37} Bu çalışmada da diğer çalışmalara^{6,37} benzer nitelikte GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında CTX-M ve TEM'nin birlikte pozitifliği %13,79, CTX-M ve SHV'nin birlikte pozitifliği %25, TEM ve SHV'nin birlikte pozitifliği %7,76 ve her üç genin birlikte pozitifliği %25,86 olarak belirlenmiştir. GSBL pozitifliğinden sorumlu olan bu gen aranjmanındaki farklılıklarla ilgili daha detaylı bir yorum yapmak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, Phoenix ile GSBL pozitif saptanmasına rağmen 11 (%9,48) izolatta (7 *E.coli* ve 4 *K.pneumoniae*) PCR ile aranan gen bölgeleri bulunamamıştır. Bu durum, bu suşlarda analiz edilmeyen fakat ekspresyonunun ve dolayısıyla fenotipik yansımasının sorunsuz olduğu GSBL pozitifliğinin diğer genlerden (OXA, PER, GES gibi) kaynaklı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Antibiyotik dirençliliği üriner sistem enfeksiyonlarının sağaltımında oldukça önemli bir klinik problemdir. Bu enfeksiyonlara yol açan GSBL üreten *Enterobacteriaceae* etkenleri birçok antibiyotiğe eş

zamanlı direnç göstermişlerdir³⁹. GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarından ileri gelen enfeksiyonların tedavisinde genellikle sefalosporinlerin faydasız olduğu, karbapenemlerin ise tercih edilebilir başlıca antibiyotikler olduğu ileri sürülmüştür^{7,34,35}. Bu bakterilerin penisilin, ampisilin, amoksisilin-klavulonat ve piperasilin-tazobaktam gibi antibiyotiklere karşı reaksiyonları ise değişkenlik göstermiştir^{7,34,35}. Bu çalışmada GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %57,46 olarak belirlenmiş, duyarlılık bakımından bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. GSBL pozitifliğindeki farklılıkların nedenleri arasında çalışılan lokasyon, çalışma yılı ve örneklerin alındığı bireylerdeki demografik ve klinik farklılıklar sayılabilir. Ayrıca birçok çalışmada GSBL pozitifliğine *E.coli* ve *K.pneumoniae* harici bakterilerin katkı sağladığı da açıklanmıştır^{30,34}. *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarında en yaygın (%92,53) dirençlilik sefalosporinlere karşı saptanırken, en duyarlı (%47,1) antibiyotikler karbapenemler olmuştur. Bakteri düzeyinde bakıldığında, GSBL pozitif *E.coli* izolatlarının tüm beta laktam grubu antibiyotiklerine olan direnci %55,97 ve GSBL pozitif *K.pneumoniae* izolatlarının ise %67,41 olarak saptanmıştır. *E.coli* izolatlarında en yaygın dirençlilik penisilinlere, *K.pneumoniae* izolatlarında ise monobaktamlara karşı saptanmıştır. Her iki bakterinin de en duyarlı olduğu antibiyotik grubu Imipenem ve Meropenem başta olmak üzere karbapenemler saptanmıştır. Bu bulgular, GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının hem birlikte hem de bakteri düzeyinde bildirilen^{7,34,35} beta laktam grubu antibiyotiklere olan *in vitro* yanıtlarına oldukça benzer niteliktedir. GSBL pozitif suşlarda sefalosporinlere karşı artan direncin bu ilaçların gelişigüzel kullanımına bağlı şekillenmiş olabileceği düşünülmektedir.

GSBL kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının insidensinin artışında yaş, cinsiyet ve etnik yapı gibi demografik özelliklerin yanı sıra, antibiyotik kullanımı, hastanede uzun süre yatış, idrar yollarının kateterizasyonu ve cerrahi operasyonu gibi predispozisyon oluşturacak birçok faktör bildirilmiştir^{40,41}. GSBL pozitif suşlarla ilişkili risk faktörlerinin değerlendirilmesi bu etkenlerden kaynaklanacak komplikasyonların önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada, GSBL pozitifliğinin demografik özelliklerle karşılaştırılmasında Phoenix ile elde edilen veriler dikkate alınmıştır. Yaşlılık GSBL pozitifliğinde bağımsız bir risk faktörü olarak görülmekte⁴⁰ ve ileri yaştaki bireylerde uygunsuz ve artan antimikrobiyal ilaç kullanımına paralel olarak

artmaktadır^{42,43}. Benzer durum bu çalışmada da bildirilmiş ve 65 ve üzeri yaş grubu bireylerde yüksek oranda (%31,9) GSBL pozitifliği elde edilmiştir. Bakteri düzeyinde ise bu dağılım değişkenlik göstermektedir. Cinsiyet, GSBL pozitif etkenlerden kaynaklanan üriner sistem enfeksiyonlarında önemli bir belirleyicidir. GSBL üreten etkenler, erkeklerde prostat salgıları ve uzun üretra yapısı gibi bariyerleri kolaylıkla aşabilmekte ve üriner sisteme daha kolay penetre olabilmektedir⁴²⁻⁴⁴. Fakat GSBL pozitifliğinde kadın dominantlığının olduğu çalışmalar da mevcuttur^{45,46}. Bu çalışmada GSBL pozitifliği saptanan bireylerin 67 (%57,76)'si kadın ve 49 (%42,24)'u erkeklerden oluşmaktaydı ve GSBL pozitifliği ile cinsiyet (kadın) arasında %21,9 oranında anlamlı bir ilişki saptandı. Benzer bir ilişki (%66,7 pozitiflik) 25-44 yaş alt grubundaki bireylerde de saptanmıştır. Fakat *E.coli* bakterisi için PCR ile saptanan GSBL genleri ile hastaların cinsiyetleri birbirinden bağımsızdır ($p > 0,05$). Bu bulgular, GSBL pozitifliği ile cinsiyet arasında erkek hastalardaki pre-dominantlığı bildiren çalışmalardan⁴²⁻⁴⁴ farklılık göstermektedir. Fakat benzer durum %71,43'ünün erkek bireylerden elde edildiği GSBL pozitif *K.pneumoniae* izolatları için söylenemez.

Sonuç olarak, Kars yöresinde idrar yolları yakınması ile başvuran bireylerde GSBL pozitifliği düşük (%2,4) oranlarda saptanmasına rağmen, bu oranın gelişigüzel antibiyotik kullanımının yaygın olduğu ülkemizde bu sınırlarda kalacağı anlamına gelmemelidir. Saptanan GSBL genleri ile bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olmasa da GSBL pozitif izolatların en dirençli olduğu beta laktam antibiyotikler penisilin ve sefalosporinler olmuştur. İzolatların karbapenem duyarlılıkları ise ilk sırada yer almıştır. Ampirik ilaç kullanımına bağlı GSBL pozitifliğinde meydana gelebilecek artış veya mutasyonel durumlar şu an en etkili antibiyotikler olan karbapenemlerin etkinliğini ilerleyen yıllarda olumsuz etkileyebilir. Gelişigüzel ilaç kullanımının engellenmesinin yanı sıra risk faktörlerinin azaltılması GSBL pozitif etkenlerden kaynaklanacak enfeksiyonların insidensini önemli ölçüde azaltacaktır.

Üriner sistem enfeksiyonlarında prognozun iyileştirilmesinin en iyi yolu tedavinin idrar kültürü sonuçlarına göre yapılmasıdır. Ayrıca yöreye özgü etken profilinin çıkarılması, GSBL modellerinin belirlenmesi ve bu modellerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi tedavide başarı şansını artırmaktadır. Bakterilerde bu tür envanterin çıkarılmasında

konvansiyonel ve otomatize yöntemler başarıyla kullanılmaktadır. Nitekim bu çalışmada idrar yolları yakınması ile başvuran bireylerden kültüre edilen idrar örneklerinden BD Phoenix™ 100 otomatize sistemi ile etken identifikasyonu gerçekleştirilmiş, antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş ve izolatların 120 (%13,33)'inde GSBL aktivitesi saptanmıştır. Tanımlanan *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının 105'inde PCR ile bir veya daha fazla gen bölgesi saptanmış ve böylelikle GSBL tanısında PCR'nin sensitivitesi %90,52 olarak hesaplanmıştır. Kapsamlı veri sağlayan otomatize sistemler tanı ve araştırma laboratuvarlarında avantajlı olsa da bu çalışmada olduğu gibi zaman, performans ve ekonomik yönden avantajlı oluşu ile PCR'nin GSBL'lerin tanısında fayda sağlayacağı öngörülebilir. Bu çalışma, sınırlı bir lokasyonda, Kars yöresinde, üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan GSBL pozitif etkenlerin profillerinin, antibiyotik duyarlılıklarının ve GSBL üretimiyle ilgili gen dağılımlarının belirlendiği ve tüm bu modellerle hastaların demografik özelliklerinin karşılaştırıldığı ilk sistematik çalışmadır. Elde edilen bu lokal bulguların GSBL için tanımlanan global epidemiyolojik verilerden çok farklı olmadığı saptanmıştır. Yine de farklı orijin ve komplikasyonlara sahip bireylerden elde edilecek mikroorganizmaların GSBL pozitifliğinin irdelenmesi ve filogenetik modellerinin belirlenmesine yönelik yapılacak yeni çalışmaların bu etkenlerin evrimi hakkında daha fazla bilgi edinmeye olumlu katkılar sağlayacağı umulmaktadır.

Kaynaklar

1. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289:321–31.
2. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009;73:345–54.
3. Calbo E, Garau J. The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: The CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiol* 2015;10:1063–75.
4. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 2008;13:19044.
5. Kadanalı A. Üriner sistem enfeksiyonları. *Eurasian J Med* 2006;38:119–23.
6. Bektaş A, Güdücüoğlu H, Gürsoy NC, Berktaş M, Gültepe BS, Parlak M, ve ark. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının GSBL genlerinin araştırılması. *FLORA* 2018;23:116–23.
7. Gholipour A, Soleimani N, Shokri D, Mobasherizadeh S, Kardi M, Baradaran A. Phenotypic and molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase produced by *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates in an educational hospital. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7: e11758.
8. Lim YK, Lee MK, Kim TH. Management of extended-spectrum beta-lactamase-positive Gram-negative bacterial urologic infections. *Urogenit Tract Infect* 2015;10:84–91.
9. Rodriguez-Bano J, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-, AmpC-, and carbapenemase producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev* 2018;31: e00079–17.
10. Arda M. Temel Mikrobiyoloji 2011. Medisan Yayınevi, 4. Baskı, Ankara.
11. Marmur J. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. *J Mol Biol* 1961;3:208–18.
12. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Chemother Agent* 2003;47:3724–32.
13. Hosoglu S, Gundes S, Kolaylı F, Karadenizli A, Demirdağ K, Günaydın M, et al. Extended spectrum β -lactamases in ceftazidime resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Turkish hospitals. *Indian J Med Microb* 2007;25:346–50.
14. Arlet G, Rouveau M, Philippon A. Substitution of alanine for aspartate at position 179 in the SHV-6 extended-spectrum-lactamase. *FEMS Microbiol Lett* 1997;152:163–7.
15. Arıcıgil Çilan Ç. Sosyal Bilimlerde Kategorik Verilerle İlişki Analizi 2013. Pegem Akademi, 2. Baskı, Ankara.
16. Karagöz Y. İlişki katsayıları ile öğrenci başarısını etkileyen faktörlerin belirlenmesi. *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi* 2010;9:425–46.
17. United Nations. Provisional Guidelines on Standard International Age Classifications 1982. United Nations Publication, Sales no. E 82. XVII 5. New York: United Nations.
18. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: Disease panorama and challenges. *J Infect Dis* 2001;183: S1–4.
19. Amin M, Mehdinejad M, Pourdangchi Z. Study of bacteria isolated from urinary tract infections and determination of their susceptibility to antibiotics. *Jundishapur J Microbiol* 2009;2:118–23.
20. Begum SA, Afreen S, Ahamed F, Chowdhury A, Jobayer M, Samsuzzaman SM. Etiology of UTI and frequency of ESBL producing bacteria isolated from patients of Dhaka Medical College Hospital with their antimicrobial susceptibility pattern. *J Dhaka Med Coll* 2016;25:26–31.
21. Mert D, Çeken S, Ertek M. İdrar yolu enfeksiyonlarında kültürden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2020;77:25–32.
22. Mollick S, Dasgupta T, Hasnain J, Ahmed M. Isolation and characterization of pathogens responsible for urinary tract infection in Bangladesh and determination of their antibiotic susceptibility pattern. *J Appl Pharm Sci* 2016;6:72–6.

23. Yılmaz Y, Tazegun ZT, Aydın E, Dulger M. Bacterial uropathogens causing urinary tract infection and their resistance patterns among children in Turkey. *Iran Red Crescent Med J* 2016;18:e26610.
24. Carroll KC, Weinstein MP. Manual and Automated Systems for Detection and Identification of Microorganisms, pp:192–217. In: Murray PR (ed), *Manual of Clinical Microbiology* 2007, 9th ed. ASM Press, Washington, DC.
25. Marucco AP, Minervini P, Snitman GV, Sorge A, Guelfand LI, Moral LL, et al. Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™ and Maldi-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3 1). *Rev Argent Microbiol* 2018;50:337–40.
26. Snyder JW, Munier GK, Johnson CL. Direct comparison of the BD Phoenix System with the MicroScan WalkAway System for identification and antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae and nonfermentative Gram-negative organisms. *J Clin Microbiol* 2008;46:2327–33.
27. Swati M, Balasubramanian U. Comparison of BD Phoenix Automated System with conventional methods for identification & susceptibility testing of common bacteria. *Int J Sci Res* 2017;6:252–5.
28. Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T, Ciccaglione D, Romano L, Fiori B, et al. Characterization of clinical isolates of Enterobacteriaceae from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum beta-lactamase detection method. *J Clin Microbiol* 2003;41:1463–8.
29. Leverstein-van HMA, Fluit AC, Paauw A, Box ATA, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum β -lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol* 2002;40:3703–11.
30. Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Stürenburg E, Seifert H. Detection of extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semiautomated microbiology systems and manual detection procedures. *J Clin Microbiol* 2007;45:1167–74.
31. Doi Y, Park YS, Rivera JI, Adams-Haduch JM, Hingwe A, Sordillo EM, et al. Community-associated extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* infection in the United States. *Clin Infect Dis* 2013;56:641–8.
32. Arana DM, Rubio M, Alós JI. Evolution of antibiotic multiresistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections: A 12-year analysis(2003–2014). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2017;35:293–8.
33. Aykan SB, Ciftci IH. Türkiye’de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. *Mikrobiyol Bul* 2013;47:603–18.
34. Çelikkilek N, Gözalan A, Özdem B, Kırca F, Açıkgöz ZC. Ayaktan başvuran hastaların idrar kültürlerinde üretilen Enterobacteriaceae izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi: Yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul* 2015;49:259–65.
35. Temoçin F, Köse H. Poliklinik hastalarının idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretim oranları ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* 2018;32:79–86.
36. Sid Ahmed MA, Bansal D, Acharya A, Elmi AA, Hamid JM, Sid Ahmed AM, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from intensive care units at Hamad Medical Corporation, Qatar. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016;5:2–6.
37. Elhassan MM, Ozbazk HA, Hemeg HA, Ahmed AA. Dissemination of CTX-M extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Al-Madenah Al-Monawwarah region, Saudi Arabia. *Int J Clin Exp Med* 2016;9:11051–7.
38. Tutun H, Karagöz A, Altıntaş L, Koçak N. Determination of antibiotic susceptibility, ESBL genes and pulsed-field gel electrophoresis profiles of extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2019;66:407–16.
39. Peterson DL, Bonomo RA. Extended spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657–86.
40. Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gomez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:780–3.
41. Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martinez JA, Munoz A, et al. Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: Predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:568–74.
42. Karamanlioğlu D, Aysert-Yıldız P, Kaya M, Sarı N. Extended-spectrum β -lactamase production rates and antibiotic susceptibilities among Enterobacteriaceae isolated from urine. *Klinik Derg* 2019;32:233–9.
43. Mahesh E, Ramesh D, Indumathi VA, Punith K, Raj K, Anupama HA. Complicated urinary tract infection in a tertiary care center in South India. *Al Ameen J Med Sci* 2010;3:120–7.
44. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae: Related to age and gender. *New Microbiol* 2002;25:363–6.
45. Al-Garni SM, Ghonaim MM, Ahmed MMM, Al-Ghamdi AS, Ganai FA. Risk factors and molecular features of extended-spectrum beta-lactamase producing bacteria at southwest of Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2018;39:1186–94.
46. Marković T, Jeinić L, Smitran A, Petković M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase producing urinary isolates of *Escherichia coli* in outpatients. *Srp Arh Celok Lek* 2013;141:775–9.



The Protective Effect of Taxifolin Against Amikacin-induced Ototoxicity in Rats: a Biochemical and Histopathological Evaluation

Taxifolinin Sıçanlarda Amikasin ile İndüklenen Ototoksisteye Karşı Koruyucu Etkisi: Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme

Ertugrul Erhan¹, Ismail Salcan², Muhammet Dilber³, Cebrail Gursul⁴, Sevil Karahan Yılmaz⁵, Taha Abdulkadir Coban⁶, Ferda Keskin Cimen⁷, Halis Süleyman⁸

¹Department of Otorhinolaryngology, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Erzincan, Turkey; ²Department of Otorhinolaryngology, Mengücek Gazi Training and Research Hospital, Erzincan, Turkey; ³Dilber ENT & Aesthetic Clinic, Istanbul, Turkey; ⁴Department of Physiology, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Erzincan, Turkey; ⁵Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Erzincan Binali Yildirim University, Erzincan, Turkey; ⁶Department of Biochemistry, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Erzincan, Turkey; ⁷Department of Medical Pathology, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Erzincan, Turkey; ⁸Department of Pharmacology, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Erzincan, Turkey

ABSTRACT

Aim: Amikacin is a semi-synthetic aminoglycoside derivative antibacterial drug. Amikacin's cochleotoxic effects causing permanent hearing loss have been reported. Over-production of reactive oxygen species (ROS) are responsible for the ototoxicity of amikacin. The study investigates the protective effect of Taxifolin (3.5.7.3.4-pentahydroxy flavanone), an antioxidant flavonoid, against amikacin-induced ototoxicity. The objective is to biochemically and histopathologically investigate the protective effect of taxifolin against amikacin-induced ototoxicity in male albino Wistar rats.

Material and Method: TAK group animals were administered taxifolin 50 mg/kg (n-6) by oral gavage. AMK (n-6) and HG (n-6) groups were administered distilled water as solvent using the same method. One hour after taxifolin and distilled water administration, TAK and AMK groups were given 200 mg/kg amikacin by intramuscular route. This procedure was performed once a day for 14 days. Cochlear tissues extracted from the animals killed after this period with high doses of ketamine (120 mg/kg) were investigated biochemically and histopathologically.

Results: Histopathological damage such as edema and deconstruction was observed in cochlear tissues of the AMK group where malondialdehyde (MDA) and total oxidant status (TOS) were high and total glutathione (tGSH) and total antioxidant status (TAS) were low. However, no histopathological finding except for mild edema was observed in the TAK group where MDA, TOS, tGSH, and TAS levels were close to those of the HG group.

Conclusion: Taxifolin may be beneficial in terms of preventing amikacin-induced cochlear damage.

Key words: amikacin; taxifolin; ototoxicity; rat

ÖZET

Amaç: Amikasin, yarı sentetik aminoglikozid türevi antibakteriyel bir ilaçtır. Amikasinin kalıcı işitme kaybına yol açan kokleotoksik etkileri rapor edilmiştir. Amikasin ototoksitesinden, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi sorumlu tutulmaktadır. Çalışmamızda amikasin ile indüklenen ototoksisteye karşı koruyucu etkisini araştıracağımız Taxifolin (3.5.7.3.4-pentahydroxy flavanone) antioksidan bir flavonoiddir. Taxifolinin albino Wistar türü erkek sıçanlarda amikasin ile indüklenen ototoksisteye karşı koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmak amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Hayvanların TAK grubuna taxifolin 50 mg/kg (n-6) oral yoldan gavajla verildi. AMK (n-6) ve HG (n-6) gruplarına ise çözücü olarak distile su aynı hacimde aynı yöntemle uygulandı. Taxifolin ve distile su verildikten bir saat sonra TAK ve AMK gruplarına amikasin 200 mg/kg intramusküler yoldan enjekte edildi. Bu prosedür günde bir defa 14 gün boyunca uygulandı. Bu süre sonunda yüksek doz ketamile (120 mg/kg) öldürülen hayvanlardan çıkarılan koklea dokular biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Malondialdehid (MDA) ve total oksidan statusun (TOS) yüksek, total glutatyon (tGSH) ve total antioksidan statusun (TAS) düşük bulunduğu AMK grubunun koklea dokusunda ödem ve destrüksiyon gibi histopatolojik hasar görülmüştür. Ancak, MDA, TOS, tGSH ve TAS düzeyleri HG grubuna yakın olan TAK grubunda hafif ödem dışında herhangi bir histopatolojik bulgulara rastlanmadı.

Sonuç: Taksifolin, amikasinle ilişkili koklea hasarının önlenmesinde yararlı olabileceğini işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: amikasin; taksifolin; ototoksistite; rat

İletişim/Contact: Halis Süleyman, Erzincan Binali Yildirim University Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Erzincan, Turkey • Tel: 0446 226 18 18, 0530 921 19 09 • E-mail: halis.suleyman@gmail.com • Geliş/Received: 07.12.2020 • Kabul/Accepted: 08.02.2021

ORCID: Ertugrul Erhan, 0000-0002-7172-0174 • Ismail Salcan, 0000-0001-8034-1064 • Muhammet Dilber, 0000-0001-5835-3181 • Cebrail Gursul, 0000-0001-6521-6169 • Sevil Karahan Yılmaz, 0000-0002-7446-4508 • Taha Abdulkadir Coban, 0000-0003-1711-5499 • Ferda Keskin Cimen, 0000-0002-1844-0827 • Halis Süleyman, 0000-0002-9239-4099

Introduction

Amikacin is a semi-synthetic aminoglycoside derivative antibacterial drug obtained by acetylation of kanamycin¹. Amikacin is resistant to bacterial enzymes that can inactivate other natural aminoglycosides². Aminoglycoside antibiotics (AGAs) are known for their rapid activity, low bacterial resistance, synergistic activity with beta lactams and their low cost³. Although AGAs include a wide range and have numerous areas of application, their adverse effects limit their use⁴. According to various studies, the ototoxicity incidence of AGAs range between 10% and 80%⁵. Similar to other AGAs, amikacin also has cochleotoxic effects causing permanent hearing loss⁴. Ototoxicity is a clinical condition caused usually by the harmful effects of some chemical agents on hearing and balancing functions of the ear⁶. Over-production of reactive oxygen species (ROS) is held responsible for the pathogenesis of amikacin ototoxicity^{7,8}. Aksoy F. et al.⁹ reported that there were many experimental studies demonstrating that antioxidant agents can prevent AGA ototoxicity.

The present study investigate the protective effect of Taxifolin (3,5,7,3,4-pentahydroxy flavanone or dihydroquercetine), against amikacin-induced ototoxicity. Taxifolin is an antioxidant flavonoid that can be found in citrus and onion in high quantities¹⁰. In literature, flavonoids have been reported to inhibit lipid peroxidation and enzymatic reactions that produce ROS¹¹. Taxifolin has been reported to protect tissues from oxidative damage by inhibiting malondialdehyde (MDA) increase in various organ tissues and glutathione (GSH) decrease, which is an endogenous antioxidant¹²⁻¹⁴. Taxifolin use is also recommended to minimize lipid oxidation in food and pharmaceutical products¹⁵. All this information demonstrate that ROS is a major component in the pathogenesis of amikacin-induced ototoxicity. It is believed that taxifolin can be beneficial in treating amikacin-induced ototoxicity damage. There was no information in the literature about the protective effect of taxifolin against amikacin-induced ototoxicity. For this reason, the objective of our study is to biochemically and histopathologically investigate the protective effect of taxifolin against amikacin-induced ototoxicity in male albino Wistar rats.

Material and Methods

Animals

Male albino Wistar rats to be used in the study were obtained from the Medical Experimental Research and

Application Center of Ataturk University. A total of 18 male albino Wistar rats weighing between 290 and 305 grams were used for the experiment. Prior to the experiment, animals were housed and fed in groups at normal room temperature (22°C).

Chemicals

Ketamine used in the experiment was supplied from Pfizer İlaçları Ltd. Şti. (Turkey), amikacin from Sanofi İlaç San. (Turkey) and taxifolin from Evalar-Russia.

Animal Groups

Experimental animals were divided into three groups: amikacin (AMK) administered, taxifolin+amikacin administered and the control group (HG).

Experimental Procedure

Pharmacological procedure: TAK group animals were administered taxifolin 50 mg/kg (n-6) by oral gavage. AMK (n-6) and HG (n-6) groups were administered distilled water as solvent using the same method. One hour after taxifolin and distilled water administration, TAK and AMK groups were given 200 mg/kg amikacin by intramuscular route. This procedure was performed once a day for 14 days. Cochlear tissues extracted from the animals killed after this period with high doses of ketamine (120 mg/kg) were investigated biochemically and histopathologically. Biochemical and histopathological examinations were performed on removed cochlear tissues. Biochemical and histopathological results obtained from TAK and HG animal groups were compared with those of the AMK group.

Biochemical analyses: Homogenates of cochlear tissues were prepared for biochemical analysis. Total glutathione (tGSH) and malondialdehyde (MDA) levels of supernatants, which were obtained from the homogenates, were determined using appropriate methods based on the literature.

Preparation of samples: At this stage of the study, 0.2-gram from each removed tissue was weighed. They were rounded up to 2 ml in 1.15% potassium chloride solution for determining the MDA and in phosphate buffer with a pH of 7.5 for determining the tGSH and homogenized in an ice-cold medium. It was then centrifuged at 10000 rpm at +4°C for 15 minutes. The supernatant was used as an analysis sample.

Determination of MDA: It is based on spectrophotometric measurement at 532 nm wavelength of the

absorbance of the pink colored complex formed by thiobarbituric acid (TBA) and MDA at a high temperature (at 95°C) ¹⁶. Homogenates were centrifuged at 5000 g for 20 minutes and these supernatants were used to identify the MDA amount. 250 µl homogenate, 100 µl 8% sodium dodecyl sulfate (SDS), 750 µl 20% acetic acid, 750 µl 0.08% TBA and 150 µl distilled water were put into capped test tubes via pipetting and vortexed. The mixture was incubated at 100 °C for 60 minutes, and then, 2.5 ml of n-butanol was added and measured spectrophotometrically. The red color intensity was read using 3 ml cuvettes at 532 nm and MDA amount of samples was determined by a standard graph developed using an MDA stock solution prepared by considering the dilution coefficients.

Determination of tGSH: DTNB [5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)] in the measuring medium is a disulfide chromogen easily reduced by sulfhydryl compounds. Yellow color intensity was measured spectrophotometrically at 412 nm¹⁷. Homogenates were centrifuged for 10 minutes at 12000 g and supernatants were used to determine the GSH amount. 1500 µl measuring buffer (200 mM Tris-HCl containing 0.2 mM EDTA, pH=8.2), 500 µl supernatant, 100 µl 5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) and 7900 µl of methanol were put into capped test tubes via pipetting and then vortexed. The mixture was incubated at 37 °C for 30 minutes and measured spectrophotometrically. The amount of yellow form was read using 3 ml quartz cuvettes at 412 nm and GSH amount of samples was determined by a standard graph developed using an GSH stock solution prepared by taking into consideration dilution coefficients.

Measurements of TOS and TAS: TOS and TAS levels of cochlear tissue homogenates were determined using a novel automated measurement method and commercially available kits (Rel Assay Diagnostics, Turkey), both developed by Erel^{18,19}. The TAS method is based on the bleaching of characteristic color of a more stable ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical cation by antioxidants and, measurements is performed 660 nm. The results are expressed as nmol hydrogen peroxide (H₂O₂) equivalent/L. In TOS method, the oxidants present in the sample oxidized the ferrous ion-o-dianisidine complex to ferric ion. The oxidation reaction was enhanced by glycerol molecules, abundantly present in the reaction medium. The ferric ion produced a colored complex with xylenol orange in an acidic medium. The

color intensity, which could be measured at 530 nm spectrophotometrically, was related to the total amount of oxidant molecules present in the sample. The results were expressed as µmol Trolox equivalent/L. The percentage ratio of TOS to TAS was used as the oxidative stress index (OSI). OSI was calculated as TOS divided by 100xTAS.

Histopathological examination: Following a routine tissue monitoring, sections of 5 µm were obtained for histopathological examination. These sections were stained using Hematoxylin-Eosin (H&E) and cochlear tissues were evaluated using light microscopy (Olympus BX 51, Japan) by a pathologist uninformed of the treatment protocol, and the photographs were taken using a digital camera (Olympus DP71).

Statistical Analyses

Results obtained from the experiments were expressed as "mean value ± standard error" (x ± SEM). Level of significance of the difference among groups were determined using the one-way ANOVA test. After that, Fisher's post-hoc LSD (least significant differences) was conducted. All statistical procedures were carried out on "IBM SPSS Statistics Version 20" and p<0.05 was considered significant.

Results

Biochemical Findings

MDA and tGSH Analysis Results: As can be seen in Figure 1, the amount of MDA in cochlear tissues of animals administered amikacin increased significantly compared to healthy and taxifolin groups. However, the difference in MDA amount in healthy and taxifolin groups was statistically insignificant. The tGSH amount in amikacin group was found to be less compared to that of healthy and taxifolin groups. The difference in the amount of tGSH in the healthy group and the taxifolin group was found insignificant.

TOS and TAS analysis results: It was found that amikacin significantly increased the level of TOS in the cochlear tissue of animals compared to healthy and taxifolin groups. TOS levels were similar in healthy and taxifolin groups. Amikacin led to a decrease in TAS level in the cochlear tissue of animals. However, taxifolin significantly prevented the decrease of TAS level associated with amikacin and the difference in TAS level between the healthy and the taxifolin groups was found to be insignificant (Figure 2).

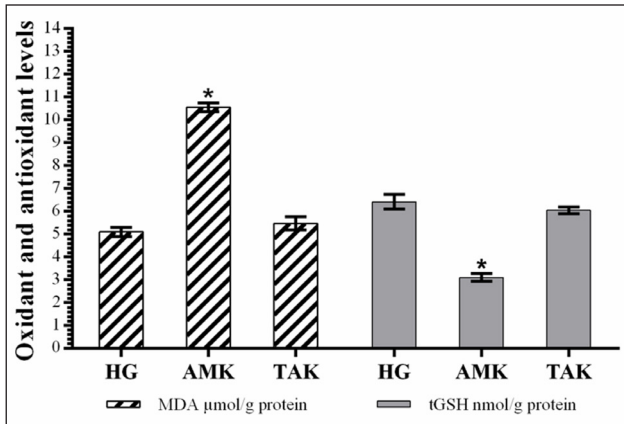


Figure 1. MDA and tGSH levels in the cochlea tissue of study groups. According to HG and TAK groups $*=p<0.0001$, (n=6).

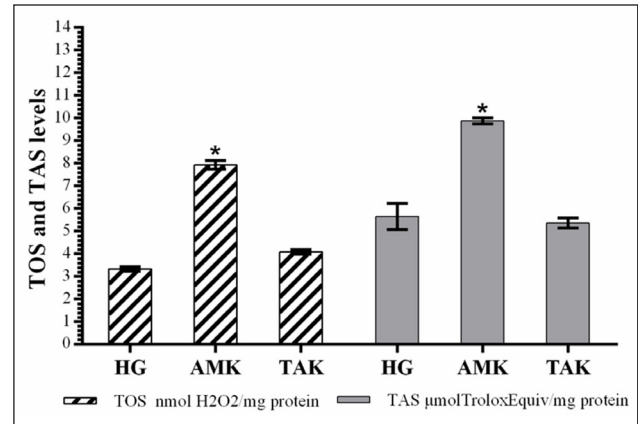


Figure 2. TOS and TAS levels in the cochlea tissue of study groups. According to HG and TAK groups $*=p<0.0001$, (n=6).

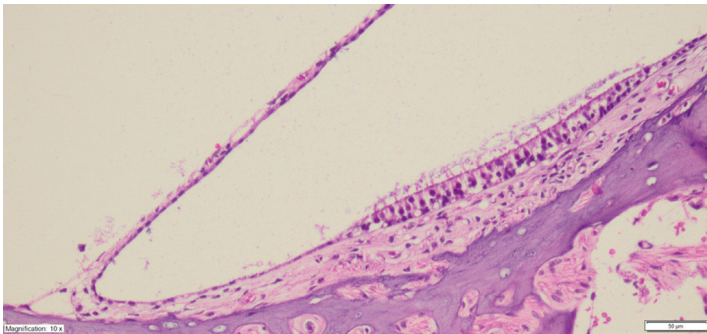


Figure 3. Cochlear tissue of the healthy animal group (HE×200).

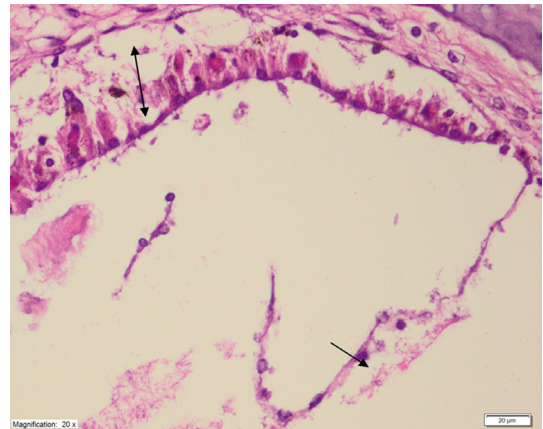


Figure 4. Animal group administered only amikacin: cochlear edema and deconstruction (double-headed arrow), vestibular membrane degeneration (single-headed arrow, HE×400).

Histopathological Findings

Figure 3 shows normal cochlear tissue of the healthy group. Severe edema and deconstruction can be seen in cochlea of the group only administered amikacin. Vestibular membrane degeneration was also detected in the amikacin group (Figure 4). In addition to edema in the cochlea, no other histopathological finding was observed in the animal group treated with taxifolin (Figure 5).

Discussion

Since any other alternatives have not been found for amikacin and other AGAs, ototoxicity caused by these drugs is still open to discussion. Even though there have been various experimental studies to prevent amikacin-induced ototoxicity, clinical studies are still conducted for new strategies on its prevention¹. The present study investigated the protective effect of taxifolin on amikacin-induced ototoxicity in rats biochemically and histopathologically. Literature suggests that AGAs are both vestibulotoxic and cochleotoxic⁸. In this group, streptomycin and gentamycin

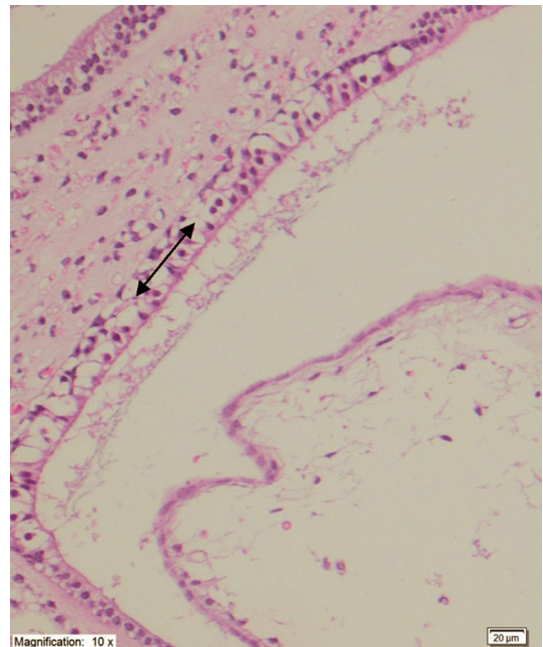


Figure 5. Animal group treated with taxifolin: Edema in cochlea (double-headed arrow, HE×200).

were reported to be more vestibulotoxic, while other AGAs were reported to be cochelotoxic¹. As mentioned above, over-production of ROS is responsible for the pathogenesis of amikacin ototoxicity^{7,8}. The results of the biochemical experiments performed under this study show that MDA and TOS levels in the cochlear tissues of animals administered amikacin significantly increased, while tGSH and TAS levels decreased compared to healthy and taxifolin groups. A correlation was reported between increased MDA levels associated with amikacin in the cochlea and auditory dysfunction²⁰. Aksoy F et al. reported that the increase in total oxidant level (TOS) due to amikacin led to sensorineural hearing loss in rats⁹. In our study, tGSH level in the amikacin group was found to be lower compared to healthy and taxifolin groups. In addition to low tGSH, TAS level was also low in the amikacin group. These results suggest that the physiological balance between the oxidant and the antioxidant is disrupted in the amikacin group. Literature reveals that the disruption of this balance leads to tissue damage, which is called oxidative stress²¹. It has been reported that a decrease in the amount of antioxidants in the cochlear tissue may result in auditory dysfunction²⁰. It has also been reported that low TAS caused hearing loss in rats⁹.

In our study, we used high MDA and low tGSH levels as a base for evaluating the oxidative damage to cochlear tissue. MDA is a reliable end product of lipid peroxidation (LPO)²². This is the reason why MDA is widely used as an indicator of oxidative status²³. Increased MDA level indicates increased ROS. The MDA formed as a result of LPO is toxic and may cause further destruction²⁴. However, in healthy tissues, the harmful effects of these oxidants are prevented by GSH and other enzymatic and non-enzymatic antioxidants. GSH is an antioxidant tripeptide composed of L-glutamate, L-cysteine, and glycine found in cells. GSH reacts with hydrogen peroxide (H₂O₂) and organic peroxides to detoxify and protect cells from oxidative damage²⁵.

The cochlear structure (architecture) was examined histopathologically to prove the accuracy of the results of our biochemical experiment. While edema and destruction were observed in the cochlear tissue of the group only administered amikacin, degeneration was identified in the vestibular membrane. In a study, which was conducted long ago by Lenoir M et al. amikacin was shown to result in morphological changes in the cochlea²⁶. Cazals et al. reported that

amikacin caused destruction of the cochlea²⁷. No destruction was observed on the cochlear tissue of the taxifolin group. In addition, degeneration was found in the vestibular membrane. Our histopathological findings are consistent with biochemical findings. There is no information in the literature about the protective effect of taxifolin on the cochlea. However, there are studies showing that taxifolin has a cytoprotective effect and protects tissues from oxidative damage^{13,28,29}. Taxifolin has been reported to prevent bone loss due to osteoporosis by inhibiting ROS and proinflammatory cytokine overproduction³⁰. In conclusion: Amikacin caused oxidative cochlear damage in animals. The cochleotoxic effect of amikacin has been demonstrated by biochemical and histopathological findings. It has been understood that taxifolin prevents amikacin-associated oxidative cochlear damage. This suggests that taxifolin may be beneficial in treating amikacin-associated ototoxicity.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest was reported by the author (s).

References

- Selimoglu E. Aminoglycoside-induced ototoxicity. *Curr Pharm Des* 2007;13(1):119–26.
- Hutchin T, Cortopassi G. Proposed molecular and cellular mechanism for aminoglycoside ototoxicity. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38(11):2517–20.
- Begg EJ, Barclay ML. Aminoglycosides:50 years on. *Br J Clin Pharmacol* 1995 6;39(6):597–603.
- Aksoy F, Dogan R, Ozturan O, Tugrul S, Veyseller B, Ozer OF, et al. An evaluation of the protective effects of thymoquinone on amikacin-induced ototoxicity in rats. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2015;8(4):312–19.
- Murillo-Cuesta S, Contreras J, Cediell R, Varela-Nieto I. Comparison of different aminoglycoside antibiotic treatments to refine ototoxicity studies in adult mice. *Lab Anim* 2014;44(2):124–31.
- World Health Organization Report of an Informal Consultation on Strategies for Prevention of Hearing Impairment from Ototoxic Drugs, vol 95, WHO/PDH(1994), p.2.
- Huth ME, Ricci AJ, Cheng AG. Mechanisms of aminoglycoside ototoxicity and targets of hair cell protection. *Int J Otolaryngol* 2011;2011:937861.
- Rizzi MD, Hirose K. Aminoglycoside ototoxicity. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;15(5):352–57.
- Aksoy F, Dogan R, Ozturan O, Eren SB, Veyseller B, Pektas A, et al. Protective effect of trimetazidine on amikacin-induced ototoxicity in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014;78(4):663–69.

10. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 1996;20(7):933–56.
11. Cotellet N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem* 2001;1(6):569–90.
12. Ahiskali I, Pinar CL, Kiki M, Cankaya M, Kunak CS, Altuner D. Effect of taxifolin on methanol-induced oxidative and inflammatory optic nerve damage in rats. *Cutan Ocul Toxicol* 2019;12:1–6.
13. Eken H, Cimen O, Cimen FK, Kurnaz E, Yildirim M, Tasova V, et al. Effect of taxifolin on oxidative gastric injury induced by celiac artery ligation in rats. *Acta Cir Bras* 2019;34(4): e201900404.
14. Unver E, Tosun M, Olmez H, Kuzucu M, Cimen FK, Suleyman Z. The effect of taxifolin on cisplatin-induced pulmonary damage in rats: a biochemical and histopathological evaluation. *Mediators Inflamm* 2019;12:3740867.
15. Topal F, Nar M, Gocer H, Kalin P, Kocyigit UM, Gülçin İ, et al. Antioxidant activity of taxifolin: an activity-structure relationship. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2016;31(4):674–83.
16. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95(2):351–8.
17. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25(1):192–205.
18. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37:112–9.
19. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103–11.
20. Klemens JJ, Meech RP, Hughes LF, Somani S, Campbell K. Antioxidant enzyme levels inversely covary with hearing loss after amikacin treatment. *J Am Acad Audiol* 2003;14(3):134–43.
21. Kisaoglu A, Borekci B, Yapca OE, Bilen H, Suleyman H. Tissue damage and oxidant/antioxidant balance. *Eurasian J Med* 2013;45(1):47–9.
22. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005;15:316–28.
23. Draper H, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990;186:421–31.
24. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984;222:1–15.
25. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, VM. R. Harper's Biochemistry 25. Baski. USA, McGraw-Hill Press, 2000.
26. Lenoir M, Daudet N, Humbert G, Renard N, Gallego M, Pujol R, et al. Morphological and Molecular Changes in the Inner Hair Cell Region of the Rat Cochlea After Amikacin Treatment. *J Neurocytol* 1999;28(10–11):925–37.
27. Cazals Y, Aran JM, Erre JP, Guilhaume A. Acoustic responses after total destruction of the cochlear receptor: brainstem and auditory cortex. *Science* 1980;210(4465):83–6.
28. Tang Z, Yang C, Zuo B, Zhang Y, Wu G, Wang Y, et al. Taxifolin protects rat against myocardial ischemia/reperfusion injury by modulating the mitochondrial apoptosis pathway. *Peer J* 2019;31(7): e6383.
29. Ye Y, Wang X, Cai Q, Zhuang J, Tan X, He W, et al. Protective Effect of Taxifolin on H₂O₂-induced H9C2 Cell Pyroptosis. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2017;42(12):1367–74.
30. Cai C, Liu C, Zhao L, Liu H, Li W, Guan H, et al. Effects of taxifolin on osteoclastogenesis in vitro and in vivo. *Front Pharmacol* 2018;12(9):1286.



A Rare Finding of Vitamin B12 Deficiency in Infancy: Lethargy

İnfantta Vitamin B12 Eksikliğinin Nadir Bir Bulgusu: Letarji

Sema Ates¹, Mehmet Gundüz²

¹Child Health and Diseases Clinic; ²Pediatric Metabolism Clinic, Health Ministry Ankara City Hospital, Ankara, Turkey

ABSTRACT

Vitamin B12 is one of the essential vitamins that affects various systems in the body. Vitamin B12 deficiency can be seen at any age. During infancy, hematological and neurological disorders, including macrocytic anemia, neurodevelopmental delay or regression, irritability, weakness, hypotonia, ataxia, apathy, tremor and seizures are caused. Vitamin B12 deficiency in patients with different nonspecific neurological findings should be considered in differential diagnosis. In this article, we present a case of lethargic girl who was referred for eleven months of sleep and awakening. Vitamin B12 levels were found to be low due to the presence of a finding compatible with macrocytic anemia in the whole blood count and peripheral smear of the case and because of the backwardness in the neuro motor developmental stages. Following the first dose with Vitamin B12 treatment, the clinical presentation began to improve and the findings disappeared completely over time.

Key words: vitamin B12 deficiency; lethargy; infancy

ÖZET

Vitamin B12, vücutta çeşitli sistemleri etkileyen esansiyel vitaminlerden biridir. Vitamin B12 eksikliği her yaşta görülebilir. Süt çocukluğu döneminde sıklıkla makrositer anemi, nörolojik gelişimsel gecikme ya da gerileme, irritabilite, güçsüzlük, hipotoni, ataksi, apati, tremor ve nöbetleri kapsayan hematolojik ve nörolojik bozukluklara neden olmaktadır. Farklı nonspesifik nörolojik bulgularla gelen hastalarda Vitamin B12 eksikliği ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmelidir. Bu makalede devamlı uyku hali, uyanamama nedeniyle başvuran Vitamin B12 eksikliği ile ilişkili koma saptanan on bir aylık kız olgu sunulmuştur. Olgunun tam kan sayımı ve periferik yaymasında makrositer anemi ile uyumlu bulgusunun olması ve nöro motor gelişim basamaklarında da gerilik olması nedeniyle bakılan Vitamin B12 düzeyi düşük olarak saptanmıştır. Hastaya Vitamin B12 tedavisi yapılmış ve takipte klinik tablo dramatik olarak tamamen düzelmiştir.

Anahtar kelimeler: vitamin B12 eksikliği; letarji; süt çocukluğu

Introduction

Vitamin B12, which is in the form of cobalamin in foods, is mostly of animal origin and can not be synthesized in the human body. The most important function is the synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA), which is necessary for cell division and proliferation. Lack of vitamin B12 is associated with megaloblastic anemia, psychiatric and hematological disturbances, and physical and neuro-motor retardation. Due to the demyelination effect, brain and nervous system development is significantly affected. In children with Vitamin B12 deficiency, delays in all motor functions such as head control, sitting, walking, and speaking can be seen with findings such as irritability, apathy, hypotonia, and loss of appetite¹⁻³. Especially in developing countries, children in the first 2-year-old group may develop megaloblastic anemia and neurological degeneration due to deficiency in the mother's milk and defective intake⁴. It is important to consider Vitamin B12 deficiency during childhood, to be diagnosed and treated. Although the treatment cost is quite low, delayed treatment can lead to serious complications such as deep anemia, irreversible neurological damage⁵. In this article, we present a case of eleven months old girl with delayed and marked lethargy – sleepy state on her neuromotor developmental stages due to deficiency of Vitamin B12 and her dramatically improved post-treatment findings.

Case Presentation

An 11-month-old girl was admitted to our hospital with complaints of drowsiness-sleepy, anorexia,

İletişim/Contact: Sema Ates, Health Ministry, Ankara City Hospital, Child Health and Diseases Clinic, Ankara, Turkey • **Tel:** 0507 613 41 88 • **E-mail:** drcici86@hotmail.com • **Geliş/Received:** 30.01.2020 • **Kabul/Accepted:** 16.07.2021

ORCID: Sema Ates, 0000-0002-1899-9794 • Mehmet Gundüz, 0000-0002-6005-5623

decreased interest in her environment, sleeplessness in her sitting position, and difficulty in awakening.

Cranial computed tomography (CT) at the external center, previously referred to these complaints He was diagnosed with mastoiditis and 1 week with ceftriaxone and 4 days with cefixime due to the presence of mucinous densities in bilateral mastoid cells. The patient applied to our clinic for complaints.

There is no kinship between mother and father. The patient had no pathological features in prenatal, natal and postnatal. It was stated that the vaccinations were made in accordance with the Ministry of Health vaccination schedule. Some steps in neuromotor development have been found to be delayed: head restraint 5–6th month, assisted sitting 8th month, unsupported sitting 9th month, no crawling and stepping, Speech was in 1–2 words in the 8th month.

On physical examination; body weight was measured as 8915 gr (25–50 percentile), height 73 cm (25 percentile), and head circumference 43 cm (3 percentile).

On the neurological examination the general condition was moderate, consciousness was lethargy, no orientation and no cooperative. There was no auditory evoked response, and there was a brief awake state with painful stimuli. Muscle strength was complete and there was no pathological reflex. Pupil reflex bilateral positif, deep tendon reflexes are active in all extremities and plantar responses flexor. The other system examinations of the patient were natural.

In laboratory examinations; In full blood count; hemoglobin 11 g/dL, leukocyte count $7.6 \times 10^3/\text{mm}^3$, mean erythrocyte volume (OEH) 99.7 fL, platelet $436 \times 10^3/\text{mm}^3$ reticulocyte: 8.3% (control: 2.5% and corrected: 2.1%). Erythrocytes hypochromic macrocyter in peripheral spread, anisocytosis and poichilocytosis were present. Serum biochemistry, blood gas, thyroid function tests, ammonia, ferritin, folate, urine and blood amino acids, tandem and urine organic acid were normal. Hearing and eye examination were normal. Cranial magnetic resonance imaging (MRI) and cranial computed tomography were reported as normal. MRI spectroscopy was normal. Electroencephalogram (EEG) of the patient had no pathological findings other than mild cerebral dysfunction.

Blood Vitamin B12 level: 83 pg/mL, homocysteine: >50 (N: 0–13) urine methyl malonic acid: 0.481 ng/mL (N: 0–0.4). Vitamin B12 level in the mother's blood was 108 pg/mL.

Based on these results, cyanocobalamin intramuscular therapy was initiated in the patient who was thought to be deficient in Vitamin B12. Vitamin B12 treatment protocol to be applied to the patient; A total of six months of treatment consisting of 100 mcg/day in the first week, 100 mcg in the second week every other day, 100 mcg in the third week every three days, 100 mcg/week in the fourth week and then 100 mcg of intramuscular per month. In follow-up, cyanocobalamin increased the activity of the patient by the second dose, and the prolongation of the wakefulness was seen The sleeping periods continued at the same level as their peers, the interest in the surroundings increased, and the answers began to give appropriate responses to the stimuli. The patient was discharged in this condition. Vitamin B12 level observed after 1 month was 855 pg/mL.

Discussion

Vitamin B12 is a vitamin that plays a role in DNA synthesis and causes a variety of deficiencies that affect all age groups⁶. Vitamin B12, which is not synthesized in humans and primarily in animal origin, is an important cofactor involved in the methylation of homocysteine in methylionine and the conversion of methylmalonil coenzyme A to succinylcoenzyme A. Vitamin B12 deficiency accumulates in these precursors, so measurement of homocysteine and methylmalonic acid levels is helpful in the diagnosis⁷. Her blood methylmalonic acid level was normal but homocysteine level was high.

Vitamin B12 is actively transmitted through the placenta in pregnancy from mother to baby. In healthy newborns, 25–50 µg of total Vitamin B12 is found in the liver and is sufficient until the end of age^{7,8}. However, in infants are fed with mother's milk which is deficient in Vitamin B12 or who consume little amounts of animal food, Vitamin B12 deficiency may develop between 6–12 months³. The most common cause of vitamin B12 deficiency in our country during infancy is vitamin B12 deficiency during pregnancy⁹.

In the study of Koç et al.¹⁰, Vitamin B12 deficiency was found in 72% of pregnancies and 41% of newborns. Vitamin B12 deficiency may be overlooked because anthropometric measurements are not affected if there is a deficiency in the Newborn period¹¹. As the child grows and the deficit deepens, clinical signs usually appear between 3–18 months. Vitamin deficiency is thought to be due to low intake due to the infant being fed with breast milk, insufficient intake of

animal food as supplementary food and lack of vitamin B12 in mother. The first clinical finding was delayed in head holding and mild hypotonia. The amount of Vitamin B12 in the mother's milk is related to the intake amount of Vitamin B12 in the diet rather than Vitamin B12 deposits in the mother. Vitamin B12 support to mothers during pregnancy and timely delivery of supplemental nutrients to dairy children prevent signs of vitamin deficiency.

The long-term deficiency of vitamin B12 causes insufficient myelination in the spinal cord and brain. Many non-specific neurological findings such as lethargy, apathy, weakness, irritability, hypotonia, seizures, developmental retardation, movement disorders, personality changes, memory loss may occur due to Vitamin B12 deficiency, especially in infancy³. West syndrome and epileptic cases rarely seen due to Vitamin B12 deficiency have also been reported in the literature^{12,13}. It is also emphasized that in a study conducted in adults, Vitamin B12 deficiency may be associated with daytime extreme sleepiness¹⁴. Hoey et al.¹⁵ reported that vitamin B12 deficiency in a 14-month-old female patient, who was fed only breast-milk, drowsiness, seizures in the eyes, on the face, arms and legs with constant splashes, had a role in the etiology. There were obvious drowsiness in our presence, and there was no orientation and no cooperation. There was no auditory stimulus response and there was a brief awakening with painful stimulus. Also some steps in neuromotor development have been found to be delayed: head restraint 5th–6th month, assisted sitting 8th month, unsupported sitting 9th month, no crawling and stepping.

Although complete blood count is not a diagnostic value alone, Vitamin B12 deficiency should be considered in the presence of macroscopic anemia. In case of accompanying iron deficiency anemia, thalassemia carriage or inflammatory bowel diseases, normocytic and even micrositeritic erythrocytes may be seen in peripheral blood smear. Pancytopenia can also be seen in severe Vitamin B12 deficiencies¹⁶. In our case, hemoglobin value was in the lower border and mean corpuscular volume (MCV) was high. Hipocrom macrositer erythrocytes, anisocytosis and poichilocytosis were present in the peripheral spread. Elevated levels of homocysteine or serum/urinary methylmalonic acid in patients who are thought to be deficient in vitamin B12 but whose levels are normal are considered significant for diagnosis¹⁷. Bone marrow aspiration is recommended in cases with diagnostic difficulties. Investigations to

investigate etiology are not affected by Vitamin B12 treatment. Therefore, the treatment of the patient should be started before the etiologic investigation is concluded. Determination of etiology is of importance in order to decide the duration of treatment.

Vitamin B12 deficiency is a common condition, especially in developing countries. The majority of Vitamin B12 deficiencies encountered during infancy are due to mothers. Therefore, Vitamin B12 deficiency should be sought in the mothers of infants with a diagnosis of Vitamin B12 deficiency. Vitamin B12 support to mothers during pregnancy and timely delivery of supplemental nutrients to dairy children prevent signs of vitamin deficiency. However, long-term deficiency of Vitamin B12 may cause permanent neurological disturbances as it causes demyelination in the spinal cord and brain. Vitamin B12 deficiency should be kept in mind in patients with nonspecific neurological findings such as sleeping and unconsciousness, apathy, seizures, hypothermia. Early diagnosis and treatment should be avoided complications that may occur.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest

References

1. Fenech M. Chromosomal damage rate, aging, and diet. *Ann N Y Acad Sci* 1998;854:23–36.
2. Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab* 1999;67(4):317–23.
3. Black M. Effects of vitamin B12 and folate deficiency on brain development in children. *Food Nutr Bull* 2008;29:126–31.
4. Roschitz B, Plecko B, Huemer M. Nutritional infantile vitamin B12 deficiency: pathobiochemical considerations in seven patients. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:281–2.
5. Brocadello F, Levedianos G, Piccione F, Manara R, Pesenti FF. Irreversible subacute sclerotic combined degeneration of the spinal cord in a vegan subject. *Nutrition* 2007;23(7–8):622–4.
6. Singh B, Arora S. Acute presentation of dizziness in vitamin B12 deficient old patient of cardiac disease: A case report. *Clin Chim Acta* 2010;411:2104–6.
7. Rasmussen SA, Fernhoff PM, Scanlon KS. Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. *J Pediatr* 2001;138:10–7.
8. Incecik F, Herguner MO, Altunbasak S, Leblebisatan G. Neurologic findings of nutritional vitamin B12 deficiency in children. *Turk J Pediatr* 2010;52:17–21.

9. Oner T. Sağlıklı yenidoğanlarda ve annelerinde vitamin B12 eksikliğinin sıklığı. (Uzmanlık Tezi). İstanbul: T. C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2008.
10. Koc A, Kocyigit A, Soran M, Demir N, Sevinc E, Erel O, et al. High frequency of maternal vitamin B12 deficiency as an important cause of infantile vitamin B12 deficiency in Sanliurfa province of Turkey. *Eur J Nutr* 2006;45:291–7.
11. Halicioglu O, Sutcuoglu S, Koc F, Ozturk C, Albudak E, Colak A, et al. Vitamin B12 and folate statuses are associated with diet in pregnant women, but not with anthropometric measurement in term newborns. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25:1618–21.
12. Serin HM, Kara AO, Oğuz B. B12 vitamini eksikliğine bağlı West sendromu. *Turk Pediatri Ars* 2015;50:251–3.
13. Eren E, Akyol P, Türedi A, Olgar Ş, Ayata A, Tunç B. B12 vitamini eksikliği epilepsi ilişkisi. *S. D. Ü Tıp Fak Derg* 2005;12(4):49–52.
14. Sobczynska-Malefora A, Ramachandran R, Cregeen D, Green E, Bennett P, Harrington DJ, et al. An infant and mother with severe B(12)deficiency: vitamin B(12)status assessment should be determined in pregnant women with anaemia. *Eur J Clin Nutr* 2017;71(8):1013–5
15. Hoey H, Linnell JC, Oberholzer VG, Laurance BM. Vitamin B12 deficiency in a breastfed infant of a mother with pernicious anaemia. *J R Soc Med* 1982;75:656–8.
16. Akça H, Polat E, Malbora B, Tuynun N, Karacan CD. Süt çocukluğu döneminde bir pansitopeni nedeni B12 vitamini eksikliği. *TJPD* 2016;1:67–69.
17. Honzik T, Adamovicova M, Smolka V, Magner M, Hrubá E, Zeman J, et al. Clinical presentation and metabolic consequences in 40 breastfed infant with nutritional vitamin B12 deficiency –What have we learned? *Eur J Paediatr Neurol* 2010;14:488–95.



Rectus Sheath Hematoma After Prophylactic Subcutaneous Enoxaparin Treatment in a COVID-19 Patient

Bir COVID-19 Hastasında Profilaktik Subkutan Enoksaparin Tedavisi Sonrası Rektus Kılıf Hematomu

Muharrem Bayrak¹, Kenan Cadirci¹, Mustafa Kahraman²

¹Department of Internal Medicine; ²Department of Radiology, Health Sciences University, Erzurum Regional Training and Research Hospital, Erzurum, Turkey

ABSTRACT

COVID-19 is a disease that causes microvascular thrombosis with respiratory failure. Anticoagulant treatments sometimes cause life-threatening gastrointestinal, intracranial, and abdominal bleeding. A 68-year-old male patient was admitted to the infectious diseases service because the COVID-19 PCR-RT test performed in the emergency department was positive and it was compatible with COVID-19 pneumonia on thoracic tomography. Prophylactic subcutaneous enoxaparin treatment was initiated considering that the patient would have a high risk of microvascular thrombosis due to hypertension and coronary artery disease. On the 10th day of his treatment, the patient whose general condition was deteriorated and had severe abdominal pain, hemoglobin was 6.4 mg/dl in the hemoglobin examination performed for diagnosis, and a diagnosis of hematoma spreading to the pelvis starting from the rectus sheath of 15×11×14 cm was made in abdominal tomography.

Key words: COVID-19; hematoma; enoxaparinsodium; computed tomography

ÖZET

COVID-19, solunum yetmezliği ile birlikte mikrovasküler tromboza neden olan bir hastalıktır. Antikoagülan tedaviler bazen yaşamı tehdit eden gastrointestinal, intrakraniyal ve abdominal kanamaya neden olur. 68 yaşındaki erkek hasta, acil serviste yapılan COVID-19 PCR-RT testinin pozitif olması ve toraks tomografisinde COVID-19 pnömonisi ile uyumlu olması nedeniyle enfeksiyon hastalıkları servisine kabul edildi. Hastanın hipertansiyon ve koroner arter hastalığına bağlı mikrovasküler tromboz riskinin yüksek olacağı düşünülerek profilaktik subkutan enoksaparin tedavisi başlandı. Tedavisinin 10. gününde, genel durumu kötüleşen ve şiddetli karın ağrısı gelişmesi üzerine, tanı amaçlı olarak bakılan hemoglobin incelemesinde hemoglobin 6,4 mg/dl, ve batin tomografisinde ise rektus kılıfından başlayarak pelvise yayılan 15×11×14 cm abadlı hematoma tespit edilmesi üzerine rektus kılıf hematomu tanısı konuldu.

Anahtar kelimeler: COVID-19; hematoma; enoksaparin sodyum; bilgisayarlı tomografi

Introduction

COVID-19 is a highly fatal disease that causes 34 million cases and 1 million deaths in the world^{1,2}. COVID-19 is a disease that causes microvascular thrombosis with respiratory failure³. It is thought that the formation of microvascular thrombosis in COVID-19 disease is caused by the increase in hypercoagulability caused by proinflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis alpha (TNF-alpha), and other atherosclerotic changes⁴. Prophylactic anticoagulant treatment due to increased hypercoagulability reduces the risk of ischemia and pathologies related to microvascular thrombosis in patients with COVID-19⁵. Rectus sheath hematoma is a rare complication and is usually seen after trauma or due to anticoagulant therapy⁶. Rectus sheath hematomas have a mortality rate of 4%⁷. Cases of rectus sheath hematoma due to low molecular weight heparin have been reported in the literature, although it is not very common⁸. As far as we know in our case, we present a case of rectus sheath hematoma that developed on the 10th day of subcutaneous enoxaparin treatment, which was initiated prophylactically while receiving COVID-19 treatment. We would like to emphasize that it is very important that anticoagulant treatment and potentially fatal bleeding after treatment in COVID-19 patients require very close follow-up.

Case Presentation

The 68-year-old male patient had hypertension and coronary artery disease. The patient had been using

İletişim/Contact: Muharrem Bayrak, Health Sciences University, Erzurum Regional Training and Research Hospital, Department of Internal Medicine, Erzurum, Turkey • **Tel:** 0538 555 59 33 • **E-mail:** muhabayrak@gmail.com • **Geliş/Received:** 06.12.2020 • **Kabul/Accepted:** 07.06.2021

ORCID: Muharrem Bayrak, 0000-0003-2760-4181 • Kenan Cadirci, 0000-0002-2765-4288 • Mustafa Kahraman, 0000-0001-5573-4106

100 mg/day acetylsalicylic acid and ramipril/hydrochlorothiazide (10/12.5 mg) for five years. Fever of 38.6° C that started in the last five days, pulse 102/min, respiratory rate 21/min, blood pressure 146/92 mm Hg, and oxygen saturation measurement by pulse oximetry was 79%.

Bilateral breathing sounds in the lower lobes of the lungs had rales and crepitations on physical examination. In his laboratory, hemoglobin 11.8 g/dL (14.1–17.8), white blood cell (WBC) 5.32×10^3 (3.91 – 10.9×10^3), thrombocyte 153×10^3 (152 – 383×10^3), neutrophil 72.5% (40–74%), lymphocyte 11.9% (%) 17–47), absolute lymphocyte count $0.8 \times 10^3/\mu\text{L}$ (1.21 – $3.77 \times 10^3/\mu\text{L}$), serum reactive protein (crp) 48.2 mg/L (0–5 mg/L), D-dimer 1590 mg/L (0–500 mg/L, procalcitonin 0.193 ng/ml (0–0.05 ng/ml), fibrinogen 506 mg/dL (200–400 mg/dL), INR: 1.09 (08.1.2) (Table 1).

Table 1. Laboratory results of the COVID-19 patient on the 1st day of treatment and the 10th-day of treatment when hematoma develops

Laboratory results	1. Day	10. Day
Hemoglobin (g/dL) (14.1–17.8)	11.8	6.4 **
White blood cell $\times 10^3$ (3.91–10.9)	5.32	4.58
Platelet $\times 10^3$ (152–383)	153	132
% Neutrophil (% 40–74)	72.5	75.6
% Lymphocyte (% 17–47)	11.9	9.7
Absolute lymphocyte count $\times 10^3/\mu\text{L}$ (1.21 – $3.77 \times 10^3/\mu\text{L}$)	0.8	0.6
CRP mg/L (0–5)	48.2	54.7
D-dimer mg/L (0–500)	1590	1684
Procalcitonin ng/ml (0–0.05)	0.193	0.254
Fibrinogen mg/dL (200–400)	506	624
Ferritin $\mu\text{g/L}$ (30–400)	459	584
INR	1.09	1.11
S/D ABP mmHg	146/92	72/44
Pao ₂ /Fio ₂ ratio	302	289
GFR (ml/dk/1.73 m ²)	79	62

** On the 10th day, a severe decrease in hemoglobin is observed.

CRP, C-reactive protein; GFR, glomerular filtration rate; INR, international normalized ratio; S/D ABP, systolic/diastolic arterial blood pressure.

More prominent peripherally located diffuse ground glass densities were observed in all lobes, lower lobes, and subpleural areas of both lungs in the thoracic tomography of the patient, and were found to be compatible with COVID-19 pneumonia (Figure 1). Favipiravir 2×1600 mg loading and 2×600 mg maintenance therapy, levofloxacin, 5 lt/min oxygen therapy with a nasal cannula, subcutaneous 60 mg/day enoxaparin, acetylcysteine 900 mg/day treatment was started for COVID-19 treatment. Acetylsalicylic acid and ramipril/hydrochlorothiazide (10/12.5 mg) were continued. Daily saturation and vital signs of the patient were followed closely. Sudden onset of severe abdominal pain, nausea, vomiting, blood pressure 72/44 mmHg, and pulse: 118/min. on the 10th day of the patient's treatment. Increased sensitivity in the abdomen was observed in the physical examination of the patient. The skin and mucous membranes in the body had an anemia appearance. Hemoglobin was found to be 6.4 g/dL in the hemogram of the patient. Unenhanced abdominal tomography was performed. A hematoma measuring $15 \times 11 \times 14$ cm starting from the rectus sheath and continuing to the pelvic region was detected (Figure 2). The patient was transferred to the intensive care unit. Anticoagulant treatment of the patient was discontinued and intravenous fluid therapy was started at 3000 ml/day, 4 units of erythrocyte suspension and 2 units of fresh frozen plasma treatment were given. After the patient stayed in the intensive care unit for 7 days, a control abdominal tomography was performed because the Hb was 10.5 g/dL and the condition was stable. No invasive procedure was performed on the patient as the hematoma shrank to $10 \times 11 \times 10$ cm, but a conservative treatment was applied. Our case was transferred to the normal infection service again. A written consent form was obtained from our patient to write the case.

Discussion

One of the most important causes of mortality in COVID-19 patients is venous thromboembolism and disseminated intravascular coagulopathy (DIC)⁹. COVID-19 is a disease that causes microvascular thrombosis together with respiratory failure³. It is thought that the formation of microvascular thrombosis in COVID-19 disease is caused by the increase in hypercoagulability caused by proinflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis alpha (TNF-alpha), and other atherosclerotic changes⁴. Proinflammatory cytokines released in COVID-19 infection are among the leading factors in



Figure 1. Thoracic tomography shows consolidated areas of peripherally located diffuse ground glass density and crazy paving findings, which are evident in the lower lobe basal segments in both lungs.

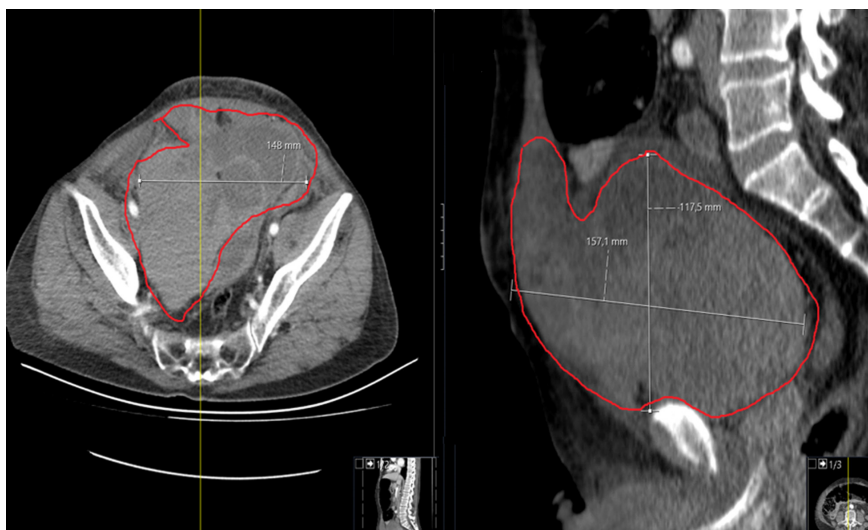


Figure 2. 15×11×14 cm hematoma image starting from the rectus sheath and extending to the pelvis and compressing the bladder on abdominal tomography.

the development of DIC¹⁰. Prophylactic anticoagulant therapy is used to prevent microvascular complications in COVID-19 infection. Our case was also using subcutaneous enoxaparin 60 mg and 100 mg acetylsalicylic acid. Gastrointestinal and intracranial bleeding associated with prophylactic anticoagulant treatment has been reported in patients with COVID 19^{11,12}. To the best of our knowledge, rectus sheath hemorrhage due to subcutaneous enoxaparin has not been reported in COVID-19 infection in the literature. Patel et al¹³, reported a 10×17×24 cm psoas muscle hematoma in a 69-year-old male patient with COVID-19. According to the classification of rectus sheath hematoma in our case, it was classified as Type 3 because of the presence

of blood in the peritoneum and prevesical space and the hematocrit being affected and in the literature¹⁴. Peripherally located ground-glass opacities, consolidated areas, reticular pattern, Crazy Paving findings are observed in thorax tomography in COVID-19 pneumonia. In our case, prevalent tomography findings consistent with the literature were observed in thorax tomography¹⁵.

Subcutaneous enoxaparin treatment was used as prophylactic and hematoma developed on the 20th day of treatment in this case. 60 mg of enoxaparin and 100 mg of acetylsalicylic acid were used in our case, whereas 81 mg of acetylsalicylic acid and 40 mg of enoxaparin were used in the case of Patel et al.¹³ We think that earlier

hematoma in our case is due to differences in drug doses, clinical and genetic differences in patients, and the fact that COVID infection causes different systemic symptoms and signs in each patient. While D-dimer was 1590 mg/L in our case, it was measured as 570 mg/L in the other case. Highness in both patients was a common feature in both patients. D-dimer height was an important factor for the initiation of prophylactic anticoagulants in our case. In the 126 case series of Cherry et al.⁶, which is the largest case series of rectus sheath hematoma in the literature, Median age 73 and 81 (64%) of the patients with female rectus sheath hematoma, 87 (69%) patients used at least one anticoagulant treatment, while 30 (24%) used anticoagulant and antiplatelet therapy together. The age of the patient and the development of rectus sheath hematoma secondary to anticoagulant treatment were similar in our case, while the fact that our patient being male was different.

As a result, in COVID-19 patients, as in our case, anticoagulant therapy is used prophylactically in the existence of additional risk factors such as hypertension, coronary artery disease, as well as a serious infection (viral pneumonia, etc.), CRP, and high D-dimer and also against the risk of microvascular thrombosis due to proinflammatory cytokine release in COVID-19 infection. Anticoagulant therapy was used because of many risk factors in our case, and secondary rectus sheath hematoma developed as a complication in this treatment. We think that we contribute to the literature with the fact that our case was the first reported rectus sheath hematoma as far as we know in COVID-19 patients, and also by drawing attention to the fact that subcutaneous enoxaparin treatment, which is widely used in the treatment of COVID-19 in the world, will be a serious bleeding complication, and by reporting that patient monitoring and treatment can be performed with non-invasive conservative methods in case of a hematoma that may develop.

Disclosure Statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Authors' Contribution

All authors (MB, KÇ and MK) contributed equally to this manuscript and approved the final manuscript.

References

1. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center [Internet]. Johns Hopkins University & Medicine; 2020 [cited] 2020 Available form: <https://coronavirus.jhu.edu/data/mortality>.
2. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* 2020;584(7821):430–6.
3. Connors JM, Levy JH. Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020;18(7):1559–61.
4. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395(10229):1054–62.
5. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood* 2020;135(23):2033–40.
6. Cherry WB, Mueller PS. Rectus sheath hematoma: review of 126 cases at a single institution. *Medicine (Baltimore)* 2006;85(2):105–10.
7. Velicki L, Cemerlić-Adić N, Bogdanović D, Mrdanin T. Rectus sheath haematoma: enoxaparin-related complication. *Acta Clin Belg* 2013;68(2):147–9.
8. Denard PJ, Fetter JC, Zacharski LR. Rectus sheath hematoma complicating low-molecular weight heparin therapy. *Int J Lab Hematol* 2007;29:190–4.
9. Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, de Almeida Monteiro RA, da Silva LFF, de Oliveira EP, Saldiva PHN, et al. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020;18(6):1517–9.
10. Iba T, Levy JH, Levi M, Trachil J. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020;18(9):2103–9.
11. Gadiparthi C, Perisetti A, Sayana H, Tharian B, Inamdar S, Korman A. Gastrointestinal Bleeding in Patients with Severe SARS-CoV-2. *Am J Gastroenterol* 2020;115(8):1283–5.
12. Gogia B, Fang X, Rai P. Intracranial Hemorrhage in a Patient With COVID-19: Possible Explanations and Considerations. *Cureus* 2020;12(8): e10159.
13. Patel I, Akoluk A, Douedi S, Upadhyaya V, Mazahir U, Costanzo E, et al. Life-Threatening Psoas Hematoma due to Retroperitoneal Hemorrhage in a COVID-19 Patient on Enoxaparin Treated With Arterial Embolization: A Case Report. *J Clin Med Res* 2020;12(7):458–61.
14. Matalon SA, Askari R, Gates JD, Patel K, Sodickson A D, et al. Don't forget the abdominal wall: Imaging spectrum of abdominal wall injuries after nonpenetrating trauma. *Radiographics* 2017;37(4):1218–1235.
15. Özdemir M, Taydaş O, Öztürk M. COVID-19 Enfeksiyonunda Toraks Bilgisayarlı Tomografi Bulguları. *J Biotechnol & Strategic Health Res* 2020;4:91–96.



What is Metabolic Surgery? To Whom and When Should It Be Applied?

Metabolik Cerrahi Nedir? Kime ve Ne Zaman Yapılmalıdır?

Fatih Ciftci

Istanbul Gelisim University, Istanbul, Turkey

ABSTRACT

Metabolic syndrome is a cluster of cardiometabolic risk factors that cause some complications. Each component of the syndrome needs to be treated. For this purpose, anti-hypertensive, anti-diabetic, and anti-lipidemic agents are used, but weight control plays a key role in treatment. Exercise, reduction of daily calories with diet and increasing physical activity play a role in the control of body weight. Various medical treatments have been tried, but they have not been very effective. The most effective way is still surgery. Although there is no definite accepted definition of metabolic surgery, it can be defined as surgical interventions to treat metabolic syndrome.

The general perception in bariatric surgery is that type 2 diabetes enters remission due to patients' weight loss. After the operation in these patients, blood sugar control has been shown to be achieved while patients are still in the hospital. It has been understood that the gastrointestinal system plays an essential role in glucose homeostasis, and its mechanisms have been tried to be revealed. The foregut hypothesis and the hindgut hypothesis have been suggested.

A hindgut surgery like a duodenal switch has been shown to improve insulin sensitivity and glucose homeostasis without causing a hyperinsulinemic response compared to a foregut surgery like a gastric bypass. Surgeries that modulate the hindgut have more potential to disrupt the absorption of vitamins and minerals than foregut surgeries.

To prevent this, the transit bipartition technique has been developed in recent years. As a result, various methods have been used in metabolic surgery. The choice of a surgical technique should be specific to the patient.

Key words: metabolic surgery; timing; type 2 diabetes mellitus

ÖZET

Metabolik sendrom bazı komplikasyonlara neden olan kardiyometabolik risk faktörleri demetidir. Sendromu oluşturan her bileşen tedavi edilmelidir. Bunun için antilipidemik, antidiyabetik, antihipertansif ilaçlar kullanılır fakat tedavideki kilit rolde kilo kontrolü oynar. Vücut ağırlığının kontrolünde egzersiz, diyetle günlük alınan kalorinin azaltılması ve fiziksel faaliyetlerin artırılması rol oynar. Değişik tıbbi tedavilerde deneme yapılmış olup çok başarılı olunamamıştır. Hala

en etkin yol cerrahi seçenektir. Kesin kabul edilen tanımı olmamakla beraber metabolik cerrahi, metabolik sendromu tedavi etmek için yapılan cerrahi müdahaleler olarak tarif edilebilir.

Genel algı bariatrik cerrahi geçiren hasta kişilerin kilo vermeye ilişkin tip 2 diyabet hastalığının remisyonuna girmesidir. Ameliyat sonrası bu hastalar hastanede yatarken kan şekeri değerlerinin düzelmeye başladığı görülmüştür. Kan glukozu dengelenmesinde gastrointestinal sistemin önemli rol aldığı anlaşılınca, mekanizmasının ortaya çıkması için çalışmalar yapılmıştır. Ön ve arka barsak hipotezleri ortaya atılmıştır.

Arka barsak ameliyatı olan Duodenal switch'in ön barsak ameliyatı olan gastrik by-pass'a göre hiperinsülinemik cevaba neden olmadan glukoz dengesini ve insülin duyarlılığında iyileşme sağladığı ortaya konmuştur. Arka barsak modülasyonu yapılan ameliyatlara, ön barsak modülasyonu yapılan ameliyatlara göre mineral-vitamin dengesini daha çok bozma eğilimindedir. Son zamanlarda bunu önlemek için transit bipartition ameliyatı geliştirilmiştir. Sonuçta metabolik cerrahi ameliyatlarında değişik teknikler tercih edilmektedir. Yapılacak ameliyat yönteminin kişiye özel olması gerektir.

Anahtar kelimeler: metabolik cerrahi; zamanlama; tip 2 diyabet

The adipose tissue accumulated in the body due to irregular and uncontrolled nutrition causes various diseases. These can include hepatosteatosis, hypertension (HT), cardiovascular diseases, osteoarthritis, type 2 diabetes mellitus (T2DM), alveolar ventilation deficiency, cerebrovascular diseases, hypertriglyceridemia, and varicose veins. Some of the risk factors that occur mainly due to insulin resistance play a role in the development of cardiovascular diseases. This association, which was first emphasized in 1988 and previously called Syndrome X, is called metabolic syndrome nowadays. Among them, there are abdominal obesity, increased blood pressure, T2DM, and lipid disorders. Insulin resistance results in

İletişim/Contact: Fatih Çiftçi, Istanbul Gelisim University, Istanbul, Turkey • **Tel:** 0505 616 42 48 • **E-mail:** oprdrfatihciftci@gmail.com • **Geliş/Received:** 25.03.2020 • **Kabul/Accepted:** 08.09.2020

ORCID: Fatih Çiftçi, 0000-0001-9125-8696

decreased glucose uptake into cells in various tissues, primarily skeletal muscle, increased lipolysis in adipose tissue, and decreased gluconeogenesis in the liver. Obesity, sedentary lifestyle, smoking, low birth weight, and perinatal malnutrition have also been associated with the development of insulin resistance. Adipose tissue and hormones secreted from this tissue, hypothalamus-pituitary-adrenal axis disorders, advancing age, genetic and environmental causes also contribute to the development of insulin resistance¹. The frequency of metabolic syndrome increases with increasing age and body weight of the studied population and shows social variability. According to the results of the Turkish Metabolic Syndrome Research conducted in 2004 in our country, the frequency of metabolic syndrome in adults aged 20 years and older was found to be 35%².

The definition of metabolic syndrome refers to the coexistence of at least three of the following medical conditions: abdominal obesity, high blood pressure, high blood sugar, high serum triglyceride level, and low high-density lipoprotein level. However, different study groups can use different definitions (Table 1). The data obtained in the metabolic syndrome research study is based on the evaluations made by accepting the waist circumference as 102 cm in men and 88 cm in women. A higher frequency of metabolic syndrome could be detected if the 94–88 cm accepted today is considered a limit.

Metabolic syndrome, of course, leads to life-threatening complications. Therefore, each component of the syndrome needs to be treated. For this purpose, anti-hypertensive, anti-diabetic, and anti-lipidemic agents are used, but weight control plays a key role in treatment because the production of substances such as TNF-alpha, adiponectin, resistin, and PAI-1 induced by increased visceral fat, and the complex and not yet fully illuminated inflammatory processes caused by them underlie the metabolic syndrome. Although the ideal way to control weight is to reduce the daily calorie intake and increase physical activity with diets and exercises, unfortunately, there is not much success in today's society.

For this purpose, various medical treatments have been tried, but very effective results have not been achieved. Nowadays, the most effective way to treat obesity is still bariatric surgery. The definition of bariatric surgery is derived from the Greek words *baros* (weight) and *iaticos* (treatment). The concept has evolved into metabolic surgery over time due to the positive effects of bariatric surgery on weight control as well as diabetes, hypertension, and blood lipid profile. Although

there is no precise definition of metabolic surgery, it can generally be defined as surgical interventions to treat metabolic syndrome.

The studies that started in the field of bariatric surgery in the 1950s enabled the introduction of the frequently used surgical methods when the 80s were reached and the spread of these methods with the introduction of laparoscopy in gastrointestinal surgery in the 90s. The general perception during this period was that type 2 diabetes entered remission due to patients' weight loss. However, in a study conducted in 1995³, the whole perception began to change when they published studies showing that patients with type 2 diabetes who underwent a gastric bypass had blood glucose control achieved while the patients were still in the hospital, that is, before losing significant weight. Since then, it has been understood that the gastrointestinal tract plays a vital role in glucose homeostasis, and its mechanisms have been tried to be revealed. Gastric bypass surgery has been shown to divert food from the duodenum, reducing glucagon release with anti-insulin activity. Beyond that, the early access of foods to the lower parts of the small intestine stimulates the release of incretins, and it is known that glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and gastric inhibitory polypeptide (GIP) with typical incretin activity have trophic effects on pancreatic beta cells and increase insulin secretion.

At this point, two different views emerged. According to the first view: "disabling the duodenum improves type 2 diabetes (the foregut hypothesis), which occurs as a result of disruption of the balance between incretins and peptides with anti-incretin activity in the body"⁴. The second view is that the increase in the production of GLP-1 released from the L cells with the early arrival of the food in the terminal ileum plays a major role in the control of diabetes (the hindgut hypothesis)⁵. Although the place of surgery remains controversial for the treatment of T2DM, which has been tried to be treated with insulin despite the hyperinsulinemic condition for decades, at the point we have reached today, even the American Diabetes Association recommends metabolic surgery with a high level of evidence (category A) in candidates eligible for surgery even for the treatment of T2DM regardless of the level of glycaemic control if the body mass index (BMI) is 40 kg/m² or more, and in patients with a BMI of 35–39.9 kg/m² when hyperglycemia cannot be adequately controlled despite the lifestyle changes and optimal medical treatment⁶. Even in the same guideline, it was emphasized that metabolic surgery could be considered in cases

Table 1. Metabolic syndrome definitions

	IDF	NCEP	WHO	AACE
Diagnosis	If the blood glucose level is abnormal and if at least two of the following are present	If 3 out of the 5 criteria below are present	If the blood glucose level is abnormal and if at least two of the following are present	Shows risk factors
Glycemia	Fasting blood sugar of 100–125 mg/dL or T2DM	Blood sugar of 100-125 mg/dL	Glucose intolerance, T2DM or insulin resistance	Fasting blood sugar of 100–125 mg/dL or >140 mg/dL at the 2nd hour after OGTT
Abdominal obesity	Waist circumference: ≥94 cm in men ≥80 cm in women	Waist circumference: >102 cm in men >88 cm in women	BMI>30 and Waist-to-hip ratio: >0.9 in men >0.85 in women	BMI≥25 and Waist circumference: >102 cm in men >88 cm in women
Lipid profile	T G≥150 mg/dL or HDL <40 in men <50 in women	T G≥150 mg/dL or HDL <40 in men <50 in women	T G≥150 mg/dL or HDL <35 in men <39 in women	T G≥150 mg/dL or HDL <40 in men <50 in women
Hypertension	Being treated for systemic arterial HT or Blood Pressure of ≥130/85 mmHg	Blood Pressure of ≥130/85 mmHg	Being treated for systemic arterial HT or Blood Pressure of ≥160/90 mmHg Microalbuminuria ≥20 mcg/dk	Blood Pressure of ≥130/85 mmHg

OGTT, oral glucose tolerance test; T2DM, Type 2 diabetes mellitus; TG, triglyceride; HDL, high (density) lipoprotein; NCEP, US national cholesterol education program; IDF, international diabetes federation; WHO, World Health Organization; AACE, American College of Endocrinology / American Association of Clinical Endocrinologists.

when hyperglycemia could not be controlled despite oral and injectable treatments even in those with a BMI of 30–34.9 kg/m² (category B).

However, the incident is not limited to the incretin activity, obese individuals, or T2DM. Important pathophysiological mechanisms that mediate the beneficial effects of metabolic surgery include multi-organ insulin sensitivity (hepatic and skeletal muscle), beta-cell function, changes in the bile acid composition and flow, and increased metabolic activity in brown adipose tissue. Furthermore, the increase in microbial diversity in the intestine and changes in the ratio of some specific bacterial species may contribute to this metabolic activity^{5–7}. There are studies reporting that complete remission was achieved in T2DM in up to 85% of patients after metabolic surgery, even in individuals with a BMI of 28–35 kg/m², and that the rates of patients using anti-hypertensive and anti-lipidemic agents decreased from 38% to 11% and from 56% to 4%⁸. One of the problems is that the metabolic effect of each type of surgery is different from each other, and individual differences between patients can affect

the results. For example, a hindgut surgery like a duodenal switch has been shown to improve insulin sensitivity and glucose homeostasis without causing a hyperinsulinemic response compared to a foregut surgery like a gastric bypass⁹. Of course, surgeries that modulate the hindgut have more potential to disrupt the absorption of vitamins and minerals than foregut surgeries. In order to prevent this, in recent years, methods for ensuring the effectiveness of the posterior intestine are being tried in the form of transit bipartition without preventing contact of the food with any small intestinal tissue. In order to prevent this, in recent years, methods for ensuring the effectiveness of hindgut surgeries, in the form of transit bipartition, without preventing contact of food with any small intestine tissue, have been tried.

The difference between metabolic surgery and traditional bariatric surgery is mainly based on the characteristics of patients. Patients who prefer bariatric surgery are typically young, predominantly female, and patients with a relatively lower T2DM prevalence than patients with a similar BMI. On the contrary, although patients who are

considered eligible for metabolic surgery are often obese, they are older, predominantly male, and have more severe T2DM and cardiovascular diseases^{10,11}. It is not surprising that these differences have an impact on surgical outcomes (such as diabetes remission rates and cost-effectiveness) and patient care issues. Traditional bariatric surgery is perceived as an attempt to reduce the risk of future diseases (such as obesity-related metabolic or cardiovascular complications) rather than treating existing diseases. This false perception is observed in many bariatric surgery guidelines nowadays, but it should not be forgotten that T2DM is a progressive disease that causes an increased risk for cardiovascular diseases and microvascular complications. Furthermore, the rate of metabolic recovery after surgery in patients with T2DM is related to the duration of T2DM. The shorter the duration of the disease is, the better the outcomes are¹²⁻¹⁴. This means reduced success and cost-effectiveness if surgical treatment is unnecessarily delayed. The patient acceptance criteria used for bariatric surgery have low significance for metabolic surgery. For example, the BMI cannot be considered as a stand-alone criterion for metabolic surgery because the BMI is neither a standard diagnostic parameter nor a measure that determines the severity of T2DM. For this reason, it was concluded that metabolic surgery should be considered even in Class I obese individuals, in which diabetic control is difficult, at the 2nd Diabetes Surgery Summit, where 75% of the participants consisted of diabetologists or endocrinologists¹⁵⁻¹⁷.

Conclusion

Definitions related to bariatric surgery are shifting towards metabolic surgery due to the positive effects of the method on metabolic status. The bariatric surgery procedures considered as the most effective way of treating obesity are regarded as the most effective methods in the treatment of T2DM nowadays. Due to differences in the effectiveness of these methods, there is a need for patient-specific method choices rather than creating treatment protocols indexed to a non-standard parameter such as BMI.

References

1. Janković D, Wolf P, Anderwald CH, Winhofer Y, Promintzer-Schifferl M, Hofer A, et al. Prevalence of endocrine disorders in morbidly obese patients and the effects of bariatric surgery on endocrine and metabolic parameters. *Obes Surg* 2012;22(1):62-9.

2. Elshaer M, Hamaoui K, Rezai P, Ahmed K, Mothojakan N, Al-Ta'an O. Secondary Bariatric Procedures in a High-Volume Centre: Prevalence, Indications and Outcomes. *Obes Surg* 2019;29(7):2255-2262.
3. Cottam S, Cottam D, Cottam A. Sleeve Gastrectomy Weight Loss and the preoperative and postoperative predictors: A systematic Review. *Obes Surg* 2019;29(4):1388-1396.
4. Worm D, Madsbad S, Hansen DL. Metabolic Healthy in severely obese subjects: A Descriptive study. *Metab Syndr Relat Disord* 2019;17(2):115-119.
5. Wang L, Wang J, Jiang T. Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy on Type 2 Diabetes Mellitus in patients with Body Mass Index less than 30 kg/m². *Obes Surg* 2019;29(3):835-842.
6. Rubino F, Shukla A, Pomp A, Moreira M, Ahn S. M, Dakin G, et al. Bariatric, metabolic, and diabetes surgery: what's in a name? *Ann Surg* 2014;259:117-22.
7. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg* 2006;244:741-9.
8. Nora M, Guimarães M, Almeida R, Martins P, Gonçalves G, Santos M, et al. Excess Body Mass Index Loss Predicts Metabolic Syndrome Remission After Gastric Bypass. *Diabetol Metab Syndr* 2014 2;6(1):1.
9. Cazzo E, Gestic MA, Utrini MP, Machado RR, Geloneze B, Pareja JC, et al. Impact of Roux-en-Y-Gastric Bypass on Metabolic Syndrome and Insulin Resistance Parameters. *Diabetes Technol Ther* 2014;16(4):262-5.
10. Li JF, Lai DD, Ni B, Sun KX. Comparison of Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass With Laparoscopic Sleeve Gastrectomy for Morbid Obesity or Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *Can J Surg* 2013;56(6):158-64.
11. Aftab H, Rissstad H, Søvik TT, Bernklev T, Hewitt S, Kristinsson JA, et al. Five-year Outcome After Gastric Bypass for Morbid Obesity in a Norwegian Cohort. *Surg Obes Relat Dis* 2014 J; 10(1):71-8.
12. Gloy VL, Briel M, Bhatt DL, Kashyap SR, Schauer PR, Mingrone G, et al. Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2013 22;347: f5934.
13. Desiderio J, Trastulli S, Scalercio V, Mirri E, Grandone I, Cirocchi R, et al. Effects of laparoscopic sleeve gastrectomy in patients with morbid obesity and metabolic disorders. *Diabetes Technol Ther* 2013;15(12):1004-9.
14. Neff KJ, le Roux CW. Bariatric Surgery: The indications in Metabolic Disease. *Neff KJ, le Roux CW. Dig Surg* 2014;31(1):6-12.
15. Williams S, Cunningham E, Pories WJ. Surgical Treatment of metabolic syndrome. *Med Princ Pract* 2012;21(4):301-9.
16. Gass M, Beglinger C, Peterli R. Metabolic Surgery-Principles and Current concepts. *Langenbecks Arch Surg* 2011;396(7):949-72.
17. Sabench Pereferrer F, Hernández González M, Del Castillo Déjardin D. Experimental Metabolic Surgery: Justification and Technical Aspects. *Obes Surg* 2011;21(10):1617-28.



Diyabet ve Aterosklerozda İnflamasyon: Makro ve Mikro Besin Öğeleri ile NLRP3 İnflamazomu İlişkisi

Inflammation in Diabetes and Atherosclerosis: Relationship Between Macro/Micronutrients and the NLRP3 Inflammasome

Gülden Arman, Reyhan Nergiz Ünal

Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara

ABSTRACT

Chronic diseases, such as type II diabetes and cardiovascular diseases, have become an increasingly health problem in society. In recent years, mortality of chronic diseases has also been increased. Type II diabetes and cardiovascular diseases have been caused or resulted from many factors. In generally, inflammation is most common factor that links with these diseases. It is known that inflammation develops chronic diseases, and vice versa. In this case, NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3) which is a sensor molecule involved in development of inflammation is thought to be associated with chronic diseases. Inflammasomes are induced or suppressed by pathogen-associated or damage-associated molecules such as nutrients. Since type II diabetes and atherosclerosis are associated with inflammation, it is also thought to be related to inflammasomes and dietary components. Therefore, nutrition is seen as an important factor that can modulate inflammation through NLRP3. Dietary content, micro and macronutrients affect the formation of inflammation or affect prognosis of the diseases. Dietary factors (hyperglycemia, high levels of fatty acids, cholesterol and ATP), changes in cell signaling, toxins, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, mitochondria and lysosome dysfunction can regulate NLRP3 inflammasome. Multiple studies have been shown that nutrients like fatty acids, cholesterol, fructose, sodium are stimuli in terms of inflammation and disease. This review presents a brief overview of the possible effects of macro and micronutrients on NLRP3 inflammasome and chronic diseases.

Key words: nutrients; chronic diseases; inflammation; inflammasomes; NLRP3

ÖZET

Tip II diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklar, toplumda giderek artan temel sağlık sorunları haline gelmiştir. Son yıllarda kronik hastalıklarla birlikte bunlara bağlı mortalitenin arttığı bildirilmiştir. Kronik hastalıkların nedenleri ve sonuçları araştırıldığında çeşitli etmenler ile birlikte genel olarak inflamasyonun bu hastalıklara eşlik ettiği ve kronik hastalıkların da hücrenel veya metabolik inflamasyon oluşturduğu bildirilmektedir. Ancak bunun tam tersinin, yani inflamasyonun da kronik hastalık oluşumuna ve ilerlemesine etki ettiği düşünülmektedir. Bu sebeple, inflammatuar yanıtta görevli hücre içi reseptörlerden biri olan NLRP3 (NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3) ve oluşturduğu inflamazom kompleksin hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnflamatuar yanıt oluşumunda patojen ile ilişkili uyarılar veya patojen dışı uyarılar NLRP3 inflamazomunu indüklenmekte veya baskılanmaktadır. Patojen dışı hücrenel uyarılar olarak nitelendirilen, hücre sinyalizasyonundaki değişimler, toksinler, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, mitokondri fonksiyon bozukluğu, lizozom fonksiyon bozukluğu ve hiperglisemi, lipotoksinite, hücrenel ATP gibi diyetel etmenler NLRP3 inflamazomunu regüle eden ve beslenme ile ilişkilendirilen nedenlerden biri olarak gösterilmektedir. Bu sebeple tip II diyabet ve ateroskleroz gibi hastalıklarda NLRP3 aracılı inflamasyonun modüle edilmesinde beslenmenin rolü olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla diyetin içeriği, makro ve mikro besin ögesi gibi etmenlerin hücrenel inflammatuar etkilediği düşünülmektedir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda yağ asitleri, kolesterol, fruktoz ve sodyum gibi besin öğelerinin, NLRP3 inflamazomu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bu derleme diyetin temel bileşimi olan makro ve mikro besin öğelerinin NLRP3 inflamazomuna etkisine ve kronik hastalıklarla olan ilişkisine genel bir bakış açısı sunmak amacıyla yazılmıştır.

Anahtar kelimeler: besin öğeleri; kronik hastalıklar; inflamasyon; inflamazom; NLRP3

İletişim/Contact: Reyhan Nergiz Ünal, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sıhbye Kampüsü, 06100, Ankara, Türkiye • **Tel:** 0312 305 10 94/194 • **E-mail:** rnergizunal@gmail.com • **Geliş/Received:** 20.04.2020 • **Kabul/Accepted:** 17.08.2020

ORCID: Gülden Arman, 0000-0003-2358-5307 • Reyhan Nergiz Ünal, 0000-0002-3143-7710

Giriş

Kronik diğer bir adıyla bulaşıcı olmayan hastalıklar, tüm dünyada başlıca ölüm nedenleri arasında yer alan sağlık sorunlarından¹. Dünya Sağlık Örgütü son verilerine göre her yıl 30–69 yaş arası 15 milyon kişi kronik hastalık sebebiyle hayatını kaybetmektedir^{2,3}. Dünya genelinde erken yaşlardan itibaren kronik hastalıklara bağlı ölümlerin artması, bu hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için yapılan araştırmaların gündeme gelmesine neden olmuştur. Tip II diyabet (T2DM), kardiyovasküler hastalıklar ve obezite gibi küresel ölüm oranı yüksek hastalıklar, beslenme ve yaşam tarzı değişiklikleriyle önlenmektedir. Bu hastalıkların patogeneze etki eden mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da hastalıkların temelinde veya ilerlemesinde inflamasyonun yer aldığı bildirilmektedir^{2,3}.

Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain benzeri reseptör (NLR) ailesi alt sınıfında yer alan: NACHT, LRR ve PYD domain içeren protein 3 (NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3) (NLRP3)'ün önemli bir inflamasyon mediyatörü olarak kronik hastalıklar ile ilişkili ve diyet bileşenlerinin bu molekül üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir⁴⁻¹⁰. Besin öğelerinin doğrudan veya dolaylı olarak; hücreyel olaylarda, inflamazom aracılı inflamatuvar süreçte, kronik hastalıklar ve beslenme ile ilişkili olaylarda etkili olduğu bildirilmektedir⁴⁻¹⁰. Bu sebeple, bu derlemede tip II diyabet ve aterosklerozda makro ve mikro besin öğelerinin NLRP3 inflamazom aracılı inflamasyonla olan ilişkisi incelenmiştir.

İnflamasyon ve NLRP3 İnflamazomu

Geçmiş yıllarda inflamasyonun sadece doku yaralanmasına veya patojenlere bağlı olarak geliştiği düşünülürken son yıllarda bu kavram değişerek; herhangi bir yaralanmaya veya patojene bağlı olmaksızın klinik belirti göstermeden meydana geldiği gösterilmektedir¹¹⁻¹³. Sadece homeostatik dengenin bozulmasıyla dahi inflamasyonun oluşabileceği bildirilmiştir¹¹⁻¹³. Metabolik stres, glukoz yoksunluğu veya fazlalığı, intraluminal kalsiyum seviyelerinin değişimi, hücrede değişen redoks durumu, hipoksi, toksinler, sitokinler, virüsler, protein kaçığında artış, besin ögesi eksikliği veya fazlalığı gibi etkenler hücrede homeostatik stres oluşturmaktadır⁴. Fizyolojik ve metabolik stres, hücreyel fonksiyonlarda ve homeozotazıda bozulmalara neden olduğu için inflamasyon oluşmakta ve normal dengenin tekrar sağlanması için bazı mediyatör molekülleri

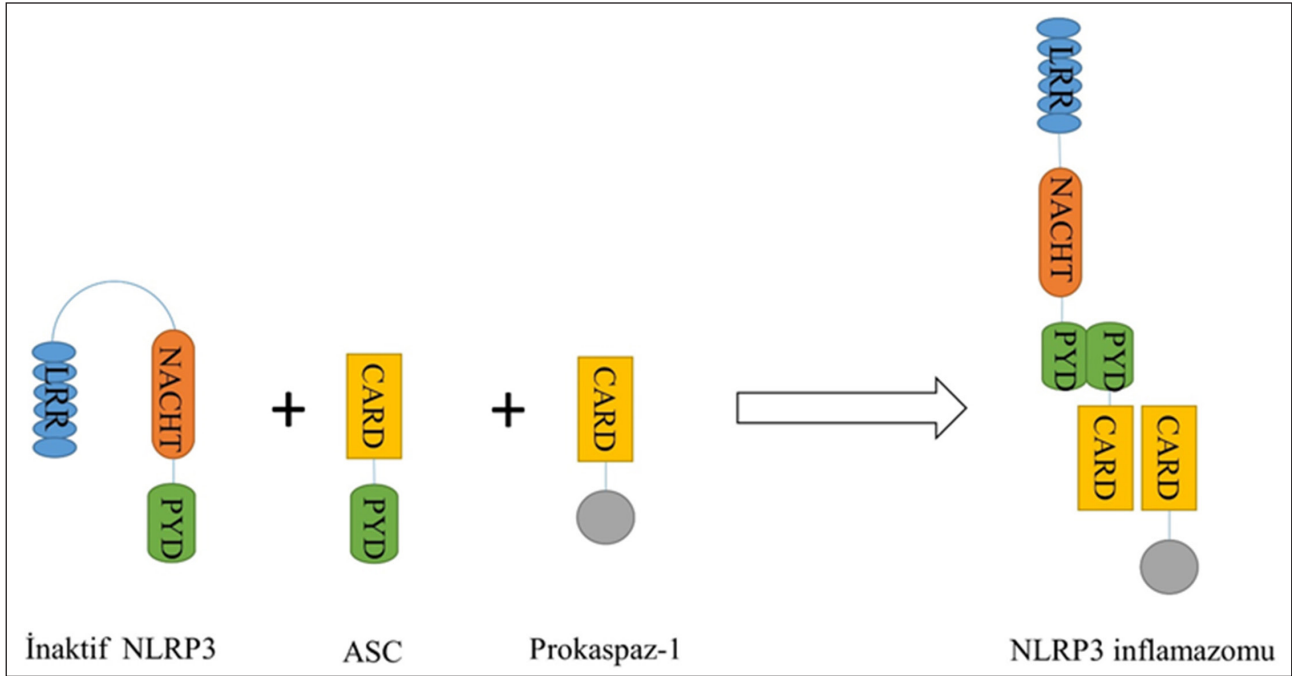
uyarmaktadır¹¹. Hücreleri uyaran ve sistemleri düzenleyen mediyatör moleküller (Toll-benzeri reseptörler (TLR) gibi), homeostazı bozan etkilere yanıt olarak; çeşitli genleri, proteinleri ve bunları uyaran nükleer faktör kapp B (NF- κ B) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir¹¹. İnterlökin (IL)-1 β , IL-18, IL-6, tümör nekroz faktör (TNF- α), histamin, bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, trombositler, adezyon molekülleri ve inflamazomlar; inflamatuvar sürece katılan düzenleyici moleküllerdir^{11,14}.

İnflamazom; hücre içi patojenlerin tanınması ile birlikte proinflamatuvar bağışıklık yanıtını düzenleyen, organizmanın immün savunma mekanizmasının temelini oluşturan bileşendir¹⁵. Sadece hücrede patojen varlığı ile değil aynı zamanda hücreyel stres ile de aktifleşerek doğuştan gelen bağışıklık savunmasında görevli IL-1b ve IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinlerin olgunlaşmasını sağlamaktadır⁵. Hücreyel stres ile aktive olan inflamazomların temel amacı; homeostatik dengeyi yeniden kurmak ve homeostatik dengenin normale dönmesi için, artmış veya azalmış protein translyasyonlarının normal seviyelere dönmesi için uyarmaktır¹¹. Ancak inflamazomların regüle edilememesi, kalıtsal ya da sonradan kazanılmış birçok inflamatuvar hastalığın oluşumuna sebep olmaktadır⁵.

İnflamazom, ilk kez 2002 yılında tanımlanmış bir hücre bileşenidir^{15,16}. Yapısında genellikle; bir sensör proteini (PRR), bir adaptör protein (ASC) ve inflamatuvar bir proteazdan (örn.; kaspaz-1) oluşan multi protein kompleksidir¹⁷. Tanımlanan birçok inflamazom türü vardır ve bir kısmı; IL-1b ve IL-18'in gibi sitokinlerin aktivasyonuna ve/veya inflamasyona bağlı hücre ölümüne neden olmaktadır⁶.

İnflamazom komplekste hangi tür molekülün kullanılacağı ya da adaptör proteinin kullanılıp kullanılmayacağı; uyarının türüne (patojen kaynaklı veya patojen dışı uyarın) ve ortamın koşullarına göre değişmektedir^{18,19}.

Uyarı türleri açısından bakıldığında; hücreler için tehlike sinyalleri olarak adlandırılan iki tür uyarı vardır ve bunlar inflamazomları indükleyebilmektedir^{6,18,20}. Bunlardan biri enfekte yani patojen kaynaklı uyarı türü olan, patojen ile ilişkili moleküler paterndir (PAMP)^{18,19}. Diğerisi ise, hücre dışı matrikste hasar tanıyan hücrelerden türetilen ve patojen dışı uyarıcılar olarak nitelendirilen; hasarla ilişkili moleküler paterndir (DAMP)⁶. Patojen ile ilişkili moleküler patern, adından da anlaşılacağı üzere genellikle; bakteri, virüs gibi patojenler ve bunların oluşturduğu metabolitlerden meydana gelmektedir. Hasarla ilişkili moleküler patern ise, endojen



Şekil 1. NLRP3 ve inflamazom yapısı^{22,23,25} (ASC, CARD içeren apoptoza bağlı speck-benzeri protein; CARD, c-terminal kaspaz uyaran domain (bölge); LRR, löysin-den zengin tekrarlı c-terminal domain; NATCH, nükleotid bağlayıcı domain; NLRP3, NATCH ve LRR ve PYD domain içeren protein 3 [NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3]; PYD, n-terminal pirin domain).

ve ekzojen olmak üzere (genellikle hücre dışı) hücre hasarı ile ilişkili olan ve hücrel homeostazı bozan (adenozin trifosfat (ATP), kolesterol, inflamatuvar sitokinler vb.) uyarılardan meydana gelmektedir^{6,7}. Her iki tip uyarı da hücrede bulunan ve inflamazomun bir parçası olan PRR sensör reseptörlerini uyarmaktadır⁶.

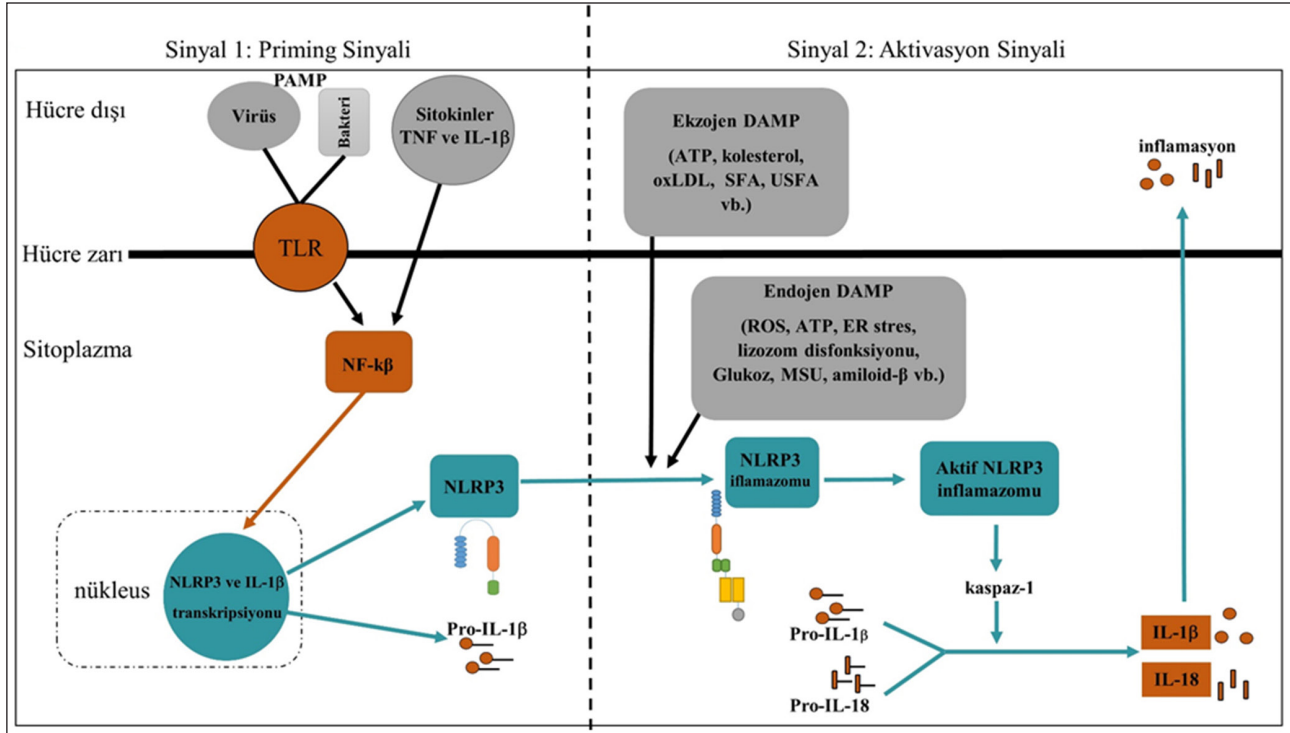
İnflamazom komplekste genellikle görev alan PRR, inflamazomun bulunduğu lokasyona göre değişmektedir. Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain (NOD) benzeri reseptörler (NLR); inflamasyon sürecinde hücre içinde görev alan reseptörlerdendir. İnsanlarda bu reseptörlerden sorumlu 22, farelerde ise 34 gen olduğu düşünülmektedir²¹.

Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain benzeri reseptörler (NLR) ailesinin alt sınıfında bulunan NLRP (diğer adıyla NALP), NLRP1'den NLRP14'e kadar reseptör barındırmaktadır⁵. Bu ailede en çok bilinen ve incelenen reseptör; kriyopirin, CIAS1 veya NALP3 gibi isimlerle adlandırılan; yapısında LRR, NATCH ve PYD bölgelerini içeren NLRP3 (NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3)'tür^{22,23}. Hücre sitoplazmasında çeşitli inflamazomlar yer alsa da bunlardan sadece NLRP3'ün iki uyarı türüne de (PAMP ve DAMP) yanıt olarak

inflamazom oluşturduğu bilinmektedir^{5,18,24}. Reseptör NLRP3 ve oluşturduğu inflamazomun yapısı Şekil 1'de gösterilmektedir^{22,23,25}.

Pro-kaspaz-1 ve ASC moleküllerini içeren NLRP3 inflamazomu inflamatuvar bir komplekstir ve tek bir uyarı türüne bağlı kalmaksızın çeşitli enfeksiyonlara ve stres uyarılarına yanıt vermektedir²⁵. Bu nedenle NLRP3 inflamazomu hiperglisemi, seramit, yağ asitleri, protein agregatları (β -amiloid, islet amiloid polipeptid), kristaller (kolesterol, sodyum urat, asbest, silika, kalsiyum pirofosfat, alum), hücre dışı ATP, hiyalüronik asit, hemozoin, bakteriyel ve viral nükleik asitler, bakteriyel toksinler (nigerisin), lipopolisakkaritler ve lipooligosakkaritler gibi çok sayıda çeşitli PAMP ve DAMP tarafından aktive edilmektedir^{22,26}. Bu gibi uyarılara yani sitozolik strese bağlı yanıt oluşturan inflamatuvar reseptör, NLRP3'tür²². Bu sebeple, farklı uyarıcılara cevap oluşturduğundan IL-1b ve IL-18 inflamasyon yolağının kilit bileşeni olarak kabul edilmektedir¹⁹.

Sitoplazmada NLRP3 inflamazom aktivitesi, astarlanma (priming) ve aktivasyon basamağı olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır^{6,10,23,27-29}. Ancak aktivasyonun iki basamak şeklinde gerçekleşmediği durumlar da vardır ve bu durumlarda astarlanma aşaması atlanmaktadır.



Şekil 2. NLRP3 sinyalizasyonu^{6,10,23,27-29} (ATP, adenozintrifosfat; DAMP, hasarla ilişkili moleküler patern; ER, endoplazmikretikulum; IL-1 β , interlökin-1 β ; MSU, monosodyum ürat; NF- κ B, nükleer faktör- κ B; NLRP3, NACHT ve LRR ve PYD domain içeren protein 3; oxLDL, okside düşük yoğunluklu lipoprotein; PAMP, patojenle ilişkili moleküler patern; pro-IL-18, prointerlökin-18; pro-IL-1 β , prointerlökin-1 β ; ROS, reaktif oksijen türleri; SFA, doymuş yağ asitleri; TLR, toll-benzeri reseptör; TNF, tümör nekroz faktörü; USFA, doymamış yağ asitleri).

Astarlama basamağında; transkripsiyon modüle edici PRR reseptörleri ve/veya proinflamatuvar sitokin reseptörleri, NF- κ B'ye bağımlı olarak hem pro-IL-1 β ekspresyonunu hem de NLRP3 ekspresyonunu indüklemektedir^{30,31}. Ayrıca bu basamak da NF- κ B'ye ihtiyaç duyulmaksızın pro-IL-18 uyarılmaktadır²³. Çekirdekte ekspresyonları başlatılan NLRP3 ve pro-IL-1 β ile aktivasyon basamağının ilk aşaması olan astarlama gerçekleşmektedir^{23,28}. Aktivasyon basamağında ise; NLRP3 inflamazom kompleks konformasyonel değişiklikler ile birden fazla inflamazom bloklarını oluşturarak kaspaz-1'i tetiklemektedir. Böylece pro-IL-1 β ve pro-IL-18'lerden, IL-1 β ve IL-18 sekresyonu gerçekleşmektedir^{17,30,31}. Ek olarak, hücre ihtiyaç duyarsa inflamasyona bağlı olarak programlanmış hücre ölümü de meydana gelmektedir⁶. Tüm bu NLRP3 aktivasyonu Şekil 2'de gösterilmektedir^{6,10,23,27-29}.

Kesin mekanizmalar net olarak bilinmese de yapılan çalışmalarda çoklu hücrel uyarıcıların NLRP3 inflamazom aktivasyonunda yer aldığını göstermektedir³². Bu sebeple, NLRP3 aktivasyonu ile ilgili çeşitli hipotezler sunulmuştur. Hücredeki potasyum (K⁺), klor

(Cl⁻) ve kalsiyum (Ca²⁺) akışı, mitokondrinin lokasyonu ve fonksiyonu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, lizozom fonksiyon bozukluğu, endojen ATP durumu, endoplazmik retikulum (ER) stresi ve metabolik değişiklikler gibi etmenlerin NLRP3 aktivasyonunu uyardığı düşünülmektedir^{20,28,32}. Ayrıca, hücre volümünün değişmesi, kalsiyum sinyalizasyonu ve lizozomal değişimler NLRP3 seviyesini arttırmak için gereken kritik sinyalizasyonları oluşturmaktadır³². Bu yüzden, yapılan inflamasyon çalışmalarında NLRP3'ün araştırılmasının en büyük nedeni; patojen dışı uyarılara (fiziksel, kimyasal, metabolik, genomik, besin ögesi, endoplazmik retikulum (ER) stresi vb.) yanıt olarak inflamazom oluşturması ve kronik hastalıklarla ilişkili olabileceği düşüncesidir^{19,33}.

Kronik Hastalıklar ve NLRP3 İlişkisi

Tip II Diabetes Mellitus ve NLRP3

Tip II diyabet, genetik ve çevresel faktörlerin neden olduğu kronik inflamasyonun eşlik ettiği yüksek kan glukozu ve insülin direnci ile karakterize olan kronik

bir hastalıktır^{34,35}. Tip II diyabette; TNF, interlökin ve adipoz dokudan salgılanan adipokinler gibi sitokinler dolaşımında yüksek oranda seyretmektedir³⁶. Yapılan çalışmalarda hem T2DM'nin hem de diyabetin indüklediği kardiyovasküler komplikasyonların vücutta metabolik inflamasyon oluşturduğu bilinmektedir^{34,37}. TipII diyabetin inflamasyon ile ilişkisi fare modelleri ile gösterilerek pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1b, IL-6 vb.) ve TNF-a ekspresyonlarının adipoz dokuda arttığı ve bunun insülin direncini indüklediği gösterilmiştir^{38,39}.

Tip II diyabetin inflamasyona ya da inflamasyonun T2DM'ye sebep olduğunu gösteren çeşitli mekanizmalar öne sürülmektedir⁴⁰. Bu mekanizmalardan bazıları düşük derecede kronik inflamasyonun sitokin salınımını arttırması, sitokin artışına bağlı insülin sinyalizasyonunun bozulması ve ROS üretimi, artan ROS ile oksidatif stresin proinflamatuvar sitokin oluşumunu arttırması; lipotoksisite, glukotoksisite gibi durumların pankreas b-hücre harabiyetine sebep olması, inflamasyon şiddetinin artmasına bağlı olarak mitokondri fonksiyonlarının değişmesi, insülin direncinin oluşması ve hipergliseminin DNA metilasyonunu, histon asetilasyonunu etkileyerek proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu indüklemesidir^{34,40,41}. Bu mekanizmalar inflamasyon ile T2DM'nin birbirini tetiklediğini göstermektedir. Bu sebeple inflamasyonun önemli bir bileşeni olan NLRP3 inflamazomunun da bu mekanizmalar aracılığı ile T2DM'ye sebep olabileceği düşünülmektedir⁴².

NLRP3'ün hastalıkların patogenizindeki rolünü belirlemek için; NLRP3 ve ASC genlerisusturulmuş (*knock-out*) fare çalışmalarında, T2DM ve obez farelerin inflamasyondan korunduğu bildirilmiştir^{43,44}. Ayrıca NLRP3 inflamazomunun uyardığı kaspaz-1 aktivasyonunun adipoz doku farklılaşmasında ve adipozitleri etkileyen insülin salınımı üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir^{43,45}. Bunlara ek olarak; genellikle T2DM'li hastaların pankreasında görülen islet amiloid polipeptidin (IAPP veya amilin), makrofajlarda veya dendritik hücrelerde NLRP3 lipopolisakkarit (LPS) astarlama (priming) yoluyla IL-1 β üretimini tetiklediği bulunmuştur⁴⁶. Ayrıca, sadece pankreas ve adipoz doku değil aynı zamanda kasta da NLRP3'e bağlı insülin mekanizmasının değiştiği rapor edilmiştir⁹. Tedavi amaçlı yaklaşımlar açısından metformin kullanan T2DM tanısı almış bireylerde NLRP3 inflamazomunun etkilendiği ve proinflamatuvar sitokin seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir⁴⁷.

Sonuç olarak, çalışmalar incelendiğinde T2DM ve NLRP3 aracılı inflamasyon arasında ilişki olduğu görülmektedir.

Ateroskleroz ve NLRP3

Ateroskleroz, çeşitli lipit moleküllerinin birikimi sonucu oluşan aterosklerotik lezyonlar ile karakterize ve bağışıklık sistemi hücrelerinin süreçte rol aldığı inflamatuvar kardiyovasküler bir hastalıktır^{9,48}. Diyet değişiklikleri başta olmak üzere yaşam tarzı değişiklikleri ve lipit profillerinin iyileştirilmesi kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada en temel yöntemlerdendir⁴⁹. Bu nedenle aterosklerozda inflamasyon ve diyetin bir arada değerlendirilmesi gerekmektedir.

Aterosklerotik lezyonlarda, bağışıklık hücrelerinin (lökositler, makrofajlar, lenfositler vb.) ve aracı moleküllerin (sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri vb.) yer alması, aterogenez oluşumunda inflamatuvar yanıtı bir mekanizma olduğunu göstermektedir⁵⁰. Ateroskleroz oluşumunun inflamatuvar sebeplerinden biri olan vasküler hücre duvarındaki lipoprotein oksidasyonu ve kolesterol birikimi, var olan inflamasyonu şiddetlendirmektedir⁵¹. Ancak ateroskleroz oluşumunda okside lipitlerin yanı sıra proinflamatuvar sitokinleri de rol aldığı bildirilmektedir^{9,52}. Vasküler duvar hücrelerinde sitokin ve inflamasyona ait aracı proteinlerin üretilmesi, ateroskleroz oluşumunda inflamazomun da bir faktör olabileceğini göstermektedir⁴⁸. Bu konuda yapılan bir çalışmada, inflamazom ve kaspaz-1 genleri susturulmuş (*knock-out*) farelerde aterogenezin azaldığı bulunmuştur⁵³. Ancak NLRP3 ile ateroskleroz gelişimi arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır^{54,55}.

NLRP3 inflamazomu ve uyardığı sitokinler; endotel hücrelerde, düz kas hücrelerinde, dendritik hücrelerde, monositlerde, makrofajlarda ve T hücreleri gibi immün sistem hücrelerinde eksprese edilebilmektedir. Ancak ateroskleroz üzerine yapılan çalışmaların çoğu hastalığın patogenezinde etkili olan; monositler/makrofajlar hücreleri, kolesterol ve bunların inflamasyona olan etkileri üzerine yoğunlaşmaktadır⁵⁶. Bunlardan özellikle makrofaj hücreleri ve kolesterolün NLRP3 inflamazomunu ve IL-1 β salınımını aktive ettiği ve böylece aterosklerotik inflamasyon oluşturduğu bildirilmiştir⁹. Ayrıca, *in-vitro* olarak insan ve fare makrofajlarında yapılan bir çalışmada kolesterolün NLRP3'e bağlı kaspaz-1, IL-1 β ve IL-18'i aktive ettiği bildirilmiştir⁵⁷. Sonuç olarak literatüre bakıldığında, NLRP3 ve besin öğelerinin aterosklerozla ilişkili olduğu görülmektedir.

Besin Ögeleri ve NLRP3 İlişkisi

Makro Besin Ögeleri ve NLRP3

Karbonhidrat, lipit ve proteinler hücrede enerji substratı olarak kullanılmalarının yanı sıra; gen ekspresyonu, protein ekspresyonu ve bunlara bağlı inflamatuvar yanıt gibi süreçlerde yer almaktadırlar⁵⁸⁻⁶⁰. Bu sebeple besin öğelerinin inflamazomların indüklenmesi veya inhibisyonunda yer alan faktörlerin başında geldiği düşünülmektedir⁵⁹. Yapılan çalışmalarda makro besin öğelerinin enerji substratı olarak kullanımları sonucunda hücrel enerji homeostazını değiştirmeleri, tek olarak veya diğer besin öğeleri ile etkileşimleri sonucunda NLRP3 inflamazomu uyarıcısı olarak görev almaları, hücredeki metabolik yolların ve organellerin işleyişine etki ederek homeostazıyı değiştirmeleri gibi etkilerle NLRP3'ü regüle ettiği düşünülmektedir⁶¹⁻⁹⁴. Bu sebeple makro besin öğeleri ve NLRP3 ile ilgili yapılan birçok çalışma vardır ve bu çalışmalar Tablo 1 'de özet olarak verilmiştir.

Makro besin öğelerinin enerji substratı olarak kullanılması sonucunda hücrede ATP miktarının veya enerji alımının artması, mitokondri fonksiyonunu ve hücrel enerji düzenlenmesinde rol alan adenosin monofosfat aktive edici protein kinaz (AMPK) fonksiyonunu etkileyebilmektedir^{59,92,95,96}. Hücrel enerji metabolizmasındaki değişimle birlikte meydana gelen mitokondri fonksiyonundaki değişim ROS oluşumuna veya AMPK ekspresyonunda azalmalara neden olarak NLRP3 inflamazomunu indükleyebilmektedir^{59,95,97}. Bu yüzden, diyabet ve obezitede görüldüğü gibi gereksinimin üzerindeki enerji ile hücrel ATP düzeyindeki değişimlerin mitokondri bütünlüğünü bozduğu böylece NLRP3 uyardığı bildirilmektedir⁹⁶. Hangi besin öğesinin hangi dokuda NLRP3 ile ilişkili olduğu kesin olarak bilinmese de hücrel ATP artışının, makrofaj hücrelerinde NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği gösterilmektedir^{59,92}. Artan hücrel enerjiye zıt olarak, bir çalışmada aralıklı açlık (24 saat) ve açlığı takiben alınan kısıtlı enerjinin (500 kkal/öğün) mitokondri aracılığı ile NLRP3'ü baskıladığı bildirilmiştir⁶¹. Bu bağlamda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, NLRP3'ün hücrel enerji metabolizmasındaki homeostazi sağlamada görevli olduğu ve mitokondri, ER gibi organellerin işlevlerinden etkilendiği görülmektedir.

Karbonhidratların NLRP3 üzerine olan etkisi incelendiğinde çoğunlukla fruktoz alımı ile ilgili çalışmaların literatürde yer aldığı görülmektedir^{62-68,94}. Fruktozun

NLRP3 ile olan ilişkisindeki mekanizma, fazla fruktoz (enerjinin %60'ı) alımının sonucunda karaciğerde oluşan trigliseritlerin birikimiyle hücrelerde meydana gelen ER stres veya β -oksidasyonun NLRP3'ü indüklemesi olarak bildirilmektedir^{67,98}. Bu sebeple fruktoz alımının NLRP3 üzerine olan etkisinin büyük oranda hepatik hücrelerde var olduğu belirtilmektedir^{62,67}. Ayrıca fruktoz ile ilgili literatürde yer alan çalışmaların bir kısmında; yüksek fruktoza (enerjinin %20-60'ı) ek olarak doymuş yağ asitleri veya yüksek yağ (enerjinin %35-59'u) alımının eşlik ettiği ve bunların adipoz doku, karaciğer, kalp ve böbrek gibi dokularda NLRP3 aracılı inflamatuvar oluşturduğu bildirilmiştir^{64-68,99}.

Fruktoz dışında diğer karbonhidratlar değerlendirildiğinde, glukozu tek başına inceleyen çalışma sayısı çok azdır. Glukozun doğrudan inflamazoma olan etkisini değerlendiren bir çalışmada, glukozun glikoliz yolağındaki metabolizması sonucunda NLRP3 ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir¹⁰. Buna göre, glukoz oksidasyonu sırasında oluşan NADPH'ların indüklediği ROS'lar ve makrofajlar NLRP3'ü aktive edebilmektedir^{10,100}. Sonuç olarak karbonhidratların oluşturduğu hiperglisemik ortam veya oksidasyon sürecinde ortaya çıkan ROS gibi etkenler, NLRP3'ü indükleyen faktörler arasında düşünülmektedir.

Makro besin öğeleri ile NLRP3 ilişkisine genel olarak bakıldığında; diyetin lipit profilinin (toplam yağ, yağ asitleri türü/miktarı/oranı) etkisini inceleyen çalışmaların, sayıca çok olduğu dikkat çekmektedir⁶⁴⁻⁹⁰. Çalışmalarda; lipitlerin oluşturduğu lipotoksik ortam, lipit stresi, lipit oksidasyonu ile oluşan lizozom fonksiyon bozukluğu gibi hipotezler NLRP3'ü indükleyen mekanizmalar olarak bildirilmiştir^{49,64-90,101}. Çalışmalara göre alınan diyetdeki toplam yağın artmasıyla oluşan lipotoksik ortam veya lizozom fonksiyonundaki bozulma NLRP3 inflamazomunu ve inflamazom komponentlerini (NLRP3, ASC ve prokaspaz-1) etkileyerek inflamasyon oluşturmaktadır^{92,102}. Buna göre, kemirgenlerde yüksek yağlı diyetle (enerjinin %35-59'u) indüklenen obezite modelinde NLRP3 inflamazomu, kaspaz-1 ve adaptör ASC protein ekspresyonlarının arttığı bildirilmiştir¹⁰². Başka bir fare çalışmasında NLRP3ve adaptör ASC genleri susturulduğunda (*knock-out*) glukoz toleransının arttığı ve pankreas β -hücrelerinin inflamasyondan korunduğu bildirilmiştir¹⁰³. Bu çalışmalara göre diyetle alınan lipitlerin miktarı veya lipitlerin oksidasyonu, hücrede ve organellerdeki homeostazi değiştirerek NLRP3 ile inflamasyon oluşturmaktadır.

Tablo 1. Makro besin öğeleri ile NLRP3 ilişkisinin incelendiği çalışmaların özeti

Diyet Bileşeni	Süre	Örneklem	NLRP3 üzerine etkisi	Kaynak
Toplam enerji (aralıklı açlık, açlığı takiben 500 kkal tek öğün)	Açlık: 24 saat	Sağlıklı bireyler (n=19)	Monositte Açlık: ↓ Öğün sonrası: ↑	61
Fruktoz (%20 en)	9 hafta	Wistar sıçan (n=9/grup)	Karaciğerde ↔	62
Fruktoz (%10 en) ve dehidrasyon (6 ml/gün su)	5 hafta	C57BL/6J fare (n=7/grup)	Renal hücrede Fruktoz ve rehidrasyon: ↑	63
Fruktoz (%32 en) ve toplam yağ (%45 en)	15 hafta	C57BL/6J, NLRP3 ^{-/-} fare (n=6-8/grup)	Kardiyak hücrede ↑	64
Fruktoz (%35 en) ve toplam yağ (%45 en)	12 hafta	C57BL/6, NLRP3 ^{-/-} fare (n=4-6/grup)	Karaciğer ve böbrekte ↑	65
Fruktoz (%25 en) ve toplam yağ (%45 en)	12 hafta	C57BL/6J fare (n=12/grup)	Kardiyak hücrede ↑	66
Fruktoz (%60 en) ve toplam yağ (%45 en SFA)	12 hafta	C57BL/6 fare (n=10/grup)	Karaciğerde ↑	67
Toplam yağ (%52,5 en), yağ asitleri (360 mg EPA ve 180 mg DHA) ve fruktoz (%25en)	9 hafta	Sprague Dawley sıçan (n=8/grup)	Hepatik hücrede Yağ ve fruktoz diyetle : ↑ EPA+DHA diyetle: ↓	68
Toplam yağ (%45 en)	10 hafta	Wistar sıçan (n=7/grup)	Serabral kortekste ↑	69
Toplam yağ (%35 en) ve akdeniz diyeti (<%30 en yağ)	3 yıl (156 hafta)	Korener olay geçirmiş bireyler (n=1002)	İki diyetle de: ↔	70
Toplam yağ (%40 en) ve Yağ asitleri (palmitat 500 µM, oleat 500 µM)	Fare: 12 hafta Hücre: 24 saat	C57BL/6, NLRP3 ^{-/-} , Pycard ^{-/-} fare (n=5/grup) Hücre kültürü: palmitat, oleat	Makrofajda ↑	71
Toplam yağ (%45 en) ve yağ asitleri (Palmitik, linoleik asit)	16 hafta	C57BL/6 fare (n=8) Hücre kültürü: palmitik ve linoleik asit	Kemik iliği dendritik hücrede ↑	72
Yağ asitleri (Palmitik, stearik, oleik etil emülsiyon)	24 saat	C57BL/6J, NLRP3 ^{-/-} , IL-1β ^{-/-} fare makrofaj hücreleri (n=7-9/grup)	Makrofajda ↑	73
Toplam yağ (%21,2 en) ve yağ asitleri (%12,8 en SFA)	4 hafta	C57BL/6J, Ldlr ^{-/-} , NLRP3 ^{-/-} fare (n=3-5/grup) İnsan monosit (n=122)	Monositlerde Fare ve insan: ↑	74
Yağ asitleri (%45 en palmitik, oleik asit)	24 hafta	C57BL/6J fare (n=7-8/grup)	Adipoz dokuda Palmitik: ↑ Oleik: ↔	75
Yağ asitleri (2,5 mM stearik, palmitik, oleik, linoleik asit)	8 saat	İnsan makrofajları	Stearik, palmitik: ↑ Oleik, linoleik: ↓	76
Yağ asitleri (%4,3 en linoleik, %17 en linoleik, %4 en okside linoleik asit metaboliti)	8 hafta	C57BL/6J fare (n=8/grup)	Karaciğerde Okside linoleik asit: ↑ Linoleik asit: ↓	77
Yağ asitleri (500mg/kg asetat, propionat, bütirat solüsyon)	4 hafta	C57BL/6J, ASC ^{-/-} fare (n=5/grup)	Arteriyer endotel hücre Bütirat: ↓ Asetat, propiyonat: ↑	78
Toplam yağ (%34 en) ve yağ asitleri (%3- 8 en n-3 PUFA)	4-12 hafta	C57BL/6 fare (n=6-8/grup)	Makrofaj ve adipozitte Yağ: ↑ PUFA: ↓	79
Toplam yağ (%59 en) ve yağ asitleri (%45 en PUFA)	14 hafta	C57BL/6 fare (n=5/grup)	SFA: hepatik hücrede ↑ PUFA: hepatik hücrede ↓	80
Yağ asitleri (250 µM palmitat, stearik, araşidonik ve DHA)	90 dk	İnsan makrofaj hücreleri	SFA: ↑ PUFA: ↓	81
Yağ asitleri (%70 en SFA, %72 en n-6 PUFA)	1 gün-1 öğün	Obez ve non-obez astımlı birey (n=12/grup)	Obez beyaz kan hücreleri SFA: ↑	82
Yağ asitleri (%7 en soya, %6,4 en balık yağı)	6 hafta	Sprague-Dawley sıçan (n=5/grup) İnsan beyin hücreleri	Beyin hücrelerinde Sıçan: n-3 PUFA: ↓ İnsan: ↑	83
Yağ asitleri (%10 en palmye, %0,2 en kolesterol, %10 en balık, %10 en echium, %10 en hodan yağı)	8-16 hafta	C57BL/6, Ldlr ^{-/-} LysMore ve Atg5 flox/flox fare (n=4 /grup)	Makrofajda PUFA: ↓	84
Yağ asitleri (DHA, EPA, DHA ve EPA metaboliti)	40 dk	C57BL/6 fare kalp hücreleri	Kardiyak hücrede DHA metaboliti: ↓	85
Yağ Asitleri (60 mg/kg DHA, EPA, EPA-fosfatidilkolin, EPA-etil ester, DHA-etil ester)	3 hafta	Sprague Dawley sıçan (n=7/grup)	Beyinde EPA-PC: ↓	86
Toplam yağ (%58 en) ve yağ asitleri (n-3 100 mg/kg, 2kez/hafta)	10 hafta	C57BL/6, NLRP3 ^{-/-} fare (n=6-9/grup)	Makrofajda ↓	87
Kolesterol (%0,2 en)	Fare: 12 saat Balık: 6 saat-10gün	Balb/c fare (n=12/grup) Transgenik zebra balık (n=15/grup)	İntestinal hücrede Fare ve Balık: ↔	88
Kolesterol (%3 en)	16 hafta	C57BL/6, NLRP3 ^{-/-} fare (n=10/grup)	Makrofajda ↑	89
Kolesterol ve toplam yağ (%46 en yağ +kolesterol)	18 hafta	C57BL/6J, ApoE ^{-/-} fare (n=12)	Arterde ↑	90
Protein (soya proteini %6-12 en)	1 hafta	CF-1 fare (n=10/grup)	Kolon hücrede Soya proteini: ↓	91
Aminoasit (glutamin eksikliği) ve yağ asitleri (250 µM palmitik asit)	16 saat	C57BL/6J fare	Makrofajda glutamin eksikliği ve SFA: ↔	92
Aminoasit türevi (62,5;125;250 mg/kg/gün betain) ve fruktoz (%10 en)	4 hafta	Sprague Dawley sıçan (n=8/grup)	Hepatik hücrede Betain: ↓ Fruktoz: ↑	94

DHA, dokozahexaenoik asit; EPA, eikozapentaenoik asit; MUFA, monounsaturated fatty acids (tekli doymamış yağ asitleri); PC, fosfatidilkolin; PUFA, polyunsaturated fatty acids (çoklu doymamış yağ asitleri); SFA, saturated fatty acids (doymuş yağ asitleri); ↑, artışı; ↓, azalış; ↔, değişiklik yok.

Diyetle toplam yağ alımını inceleyen çalışmaların büyük bir kısmında, yağlar ile fruktoz bir arada incelenmiştir⁶⁴⁻⁶⁸. Yüksek yağ (enerjinin %35-59'u) ve yüksek fruktozun (enerjinin %20-60'ı) bir arada incelendiği çalışmalarda; insülin direncinin, pro-inflamatuar sitokinlerin, hücrel ROS'un ve düşük seviye inflamasyonun indüklendiği bildirilmiştir^{34,66}. Genellikle insülin direnci, diyabet, kalp yetmezliği, renal bozukluk ve hepatik steatoz çalışmalarında yüksek yağ ve yüksek fruktozlu diyet pro-inflamatuar sitokinleri (IL-1 β , IL-18) aşırı indükleyerek; insülini, insülin reseptörlerini ve anti-ROS molekülleri inhibe etmekte ve böylece NLRP3'e bağlı inflamatuvar yanıt oluşturmaktadır⁶⁵⁻⁶⁷. Bunu destekler nitelikte yapılan NLRP3 *knock-out* fare modelinde, fruktoz ve yağ içeriği yüksek diyetin NLRP3'e bağlı insülin direnci oluşturmadığı bildirilmiştir⁶⁵. Dolayısıyla, toplam yağ açısından bakıldığında yüksek yağ ve yüksek fruktoz içeren diyetlerin diyabet ve diğer kronik hastalıklardaki inflamasyon oluşumunda NLRP3 ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Yağ asitleri açısından bakıldığında; yağ asitlerinin türüne göre hücrenin fazla lipotoksik çevreye maruz kalması, lipit stresi, lizozom fonksiyonunda bozulma, insülin sinyalizasyonunda bozulma, yağ asitlerinin TLR ve NLR reseptörleri için ligand görevi görerek hücredeki ER ve oksidatif stresi oluşturması gibi faktörler NLRP3 uyarıcı etmenler olarak görülmektedir^{10,37,44,92,104}. Ayrıca yapılan çalışmalarda yağ asitlerinin türü, zincir uzunluğu ve doymuşluk durumu gibi etkilerin de NLRP3 aktivitesini değiştirdiği gözlenmiştir^{78,81,84}. Bu kapsamda yapılan bir çalışmaya göre serbest yağ asitlerinin artması hücrede lipotoksik bir çevre oluşturmakta böylece insülin direnci, hücrel ROS meydana gelerek NLRP3 ve kaspaz-1 ekspresyonunu uyarılmaktadır⁷¹. Bu faktörlerden lizozomda meydana gelen değişikliğin temel mekanizması bilinmemekle birlikte yüksek miktarda doymuş yağ asitlerinin (SFA) (enerjinin %15-45'i) bu duruma sebep olduğu düşünülmektedir^{92,105}. Özellikle de doymuş yağ asitlerinden palmitik ve stearik asidin lizozom fonksiyonundaki bozulmalara neden olduğu ve NLRP3 inflamazomunu indüklediği bildirilmiştir^{105,106}. Genel olarak yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde SFA'nın (enerjinin %15-45'i) NLRP3'ü indükleyen bir uyarıcı türü oluşturduğu düşünülmektedir^{7,75,76,80,81}.

Doymuş yağ asitlerinin aksine, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) genellikle inflamazomu inhibe ettiği yönünde sonuçlar bildirilmiştir^{68,79-81,83-87}. PUFA'nın hücrel ATP'nin oluşturduğu veya palmitik asidin

indüklediği inflamatuvar uyarıları engellediği; böylece mitokondri fonksiyon bozukluğunu ve sitokin oluşumunu azaltarak NLRP3 üzerine olumlu etki meydana getirdiği gösterilmiştir^{10,76}. Yapılan çalışmalarda n-3 PUFA takviyesinin (60-180 mg/kg) patojenik uyarılardan azalttığı bildirilmiştir^{10,68,86,87}. Buna ek olarak diyetle indüklenen T2DM ve obezite fare modellerinde, n-3 PUFA yağ asitlerinden DHA takviyesinin (100 mg/kg, iki kez/hafta) insülin duyarlılığını geliştirdiği ve NLRP3 kaynaklı inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir^{10,44,107}. Birçok deneysel çalışmanın bulduğu benzer sonuçlara göre özellikle n-3 PUFA'ların NLRP3 aracılı inflamasyonun baskılanmasında etkili olduğu söylenebilmektedir.

Yağ asidi transport reseptörleri açısından NLRP3'e bakıldığında, CD36 reseptörünün NLRP3 ile ilişkili olduğu düşünülmektedir^{7,10}. NLRP3 inflamazomu tarafından indüklenen aterosklerozda oxLDL ve kolesterol oluşumunun CD36 tarafından regüle edildiği düşünülmektedir^{7,10}. Ancak buna zıt olarak, CD36 *knock-out* farelerde yapılan çalışmada başka uyarılara yanıt olarak da IL-1 β üretildiği gösterilmiştir^{10,108}. Bu sebeple yağ asidi transport reseptörü CD36 ile NLRP3 arasındaki ilişki net olarak değerlendirilemediği için daha fazla araştırmaya gereksinim vardır.

Yağlarla ilişkili moleküllerden biri olan keton cisimciklerinin de inflamatuvar süreçle ilişkili olabileceği hipotezi literatürde yer almaktadır¹⁰⁹. Keton cisimcikleri ile ilgili yapılmış sınırlı sayıda çalışma olmasına rağmen bir fare çalışmasında, keton cisimciklerinden β -hidroksibutiratın (BHB) *in-vitro* olarak NLRP3 inflamazomunu bloke ettiği, IL-1 β sekresyonunu azalttığı ve *in-vivo* olarak inflamatuvar yanıtı azalttığı bulunmuştur¹⁰. Bu bağlamda, daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulsa da BHB'nin NLRP3 ilişkili inflamasyonda olumlu etkisi olabileceğini gösteren bir yayın literatürde yer almaktadır.

Yağlar kadar olmasa da diyet proteinleri ve NLRP3 inflamazomunu inceleyen araştırmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmalarda soya proteini, glutamin amino asiti ve betain gibi amino asit türevlerinin NLRP3 inflamazomu üzerine olan etkisi incelenmiştir^{91,92,94}. Soya proteinlerinin bazı hücre kültürü çalışmalarında anti inflamatuvar aktivite göstermesi bu proteinlerin NLRP3 açısından incelenmesine neden olmuştur^{110,111}. Yapılan bir fare çalışmasında, soya proteinlerine maruz (enerjinin %6-12'si) bırakılan kolon hücrelerinde, NLRP3 inflamazomu ve kaspaz-1 enzimi aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre, soya

proteinleri ile NLRP3 inflamazomu arasında zıt bir ilişki olabileceği ileri sürülmüştür⁹¹.

Amino asitlerden glutamin incelendiğinde; immün yanıtla birlikte aktif makrofaj hücrelerinde glutamin kullanımının artmış olduğu gözlenmiş, böylece glutaminin inflamasyon ve NLRP3 süreçleri ile ilişkili olabileceği fikri ortaya çıkmıştır¹¹². Bu gözlemden yola çıkılarak yapılan bir fare çalışmasında, *in-vitro* olarak hücrelerde oluşturulan inflamasyon ve glutamin eksikliğinin; mitokondri aktivasyonunu, lizozom fonksiyon bozukluğunu ve IL-1baktivasyonunu azalttığı gözlenmiş böylece glutamin ile NLRP3 arasında bir etkileşim olabileceği bildirilmiştir⁹². Amino asit türevi moleküllerden biri olan ve metilasyonda önemli bir bileşen olarak yer alan betain, sıçanlarda yapılan bir çalışmada takviye (62,5; 125; 250 mg/kg/gün) edilmiş böylece hepatik NLRP3 seviyelerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir⁹⁴. Buların yola çıkarak, çalışma sayılarının sınırlı olması nedeniyle, glutamin ve betainin NLRP3 üzerindeki etkisine dair bir yargıya varmak henüz mümkün görünmemektedir.

Tüm makro besin öğeleri ile NLRP3 ilişkisi incelendiğinde, inflamazom kompleksinin oluşumu ve inflamasyon ile kronik hastalıkların besinlerle ilişkili olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Buna göre makro besin öğeleri; toplam enerji alımı, besin öğelerinin diyetdeki diğer öğelerle etkileşimleri ve besin ögesi bazında oluşturdukları uyarılar gibi etkiler ile NLRP3 yolunu aktive etme potansiyeline sahiptir.

Mikro Besin Öğeleri ve NLRP3

Mikro besin öğeleri, NLRP3 ve kronik hastalıklar ilişkisi az sayıda çalışma tarafından ele alınmıştır¹¹³⁻¹²¹. NLRP3'ün mikro besin öğeleri ile olan bağlantısı genellikle; hücrel homeostatik dengenin bozulması, hipoksi, hiperozmotik stres, reaktif oksijen türleri gibi hücrel stres oluşumu ile ilişkilendirilmektedir¹¹⁶. Buna göre, hücrel stres ile kronik inflamasyon meydana gelerek, T2DM ve ateroskleroz gibi çeşitli kronik hastalıklarda inflamasyon oluştuğu düşünülmektedir¹¹⁶. Bu sebeple, NLRP3 inflamazom ve mikro besin öğeleri ile ilgili araştırmaların sayısı son yıllarda artış göstermektedir. Bu kapsamda yapılan bazı çalışmalar Tablo 2 'de özet olarak verilmiştir.

Vitaminler ile NLRP3 incelendiğinde; C ve E vitaminlerinin antioksidan etkiye sahip olması NLRP3 ilişkisini gündeme getirmektedir. Bir NLRP3 uyarıcı olan ROS oluşumları C vitamini tarafından bloke edildiğinden, vitamin C'nin inflamasyonu da inhibe ettiği düşünülmektedir¹¹³. Yapılan bir çalışmaya göre; *in-vitro* olarak inflamasyon oluşturulan insan makrofaj hücrelerinde C vitamini takviyesinin (300µM) NLRP3 ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir¹¹³. Antioksidan etkiye sahip bir başka vitamin olan E vitamininin, makrofaj ve pankreas hücrelerinde anti inflamatuvar etki göstermesi NLRP3 ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir¹¹⁴. Bir fare çalışmasında; E vitamini izomerlerinden gama-tokotrienolün (0,1 g gama-tokotrienol/100 g) T2DM

Tablo 2. Mikro besin öğeleri ile NLRP3 ilişkisinin incelendiği çalışmaların özeti

Diyet Bileşeni	Süre	Örneklem	NLRP3 üzerine etkisi	Kaynak
C vitamini (300µM Askorbik asit) ve quersetin (20µM) ve 5 mM fruktoz	12-24 saat	İnsan makrofaj U937 ve THP-1 hücreleri	Makrofajda ↓	113
E vitamini (%0,1 w/w gama-tokotrienol)	8 hafta	db/db fare (n=6/grup)	Makrofajda ↓	114
E vitamini ve toplam yağ (%60 en)	12 hafta	C57 BL/6 fare (n=9/grup)	Adipoz dokuda Yağ içeren diyet: ↑ Tokoferol içeren diyet: ↓	115
Sodyum (%4 NaCl)	4 hafta	C57BL/6, IL-1R-/-, NLRP3-/-, ASC-/-, casp1-/- fare (n=4/grup)	Makrofajda ↑	116
Sodyum (50,100 mM NaCl)	2-24 saat	İnsan kornea hücreleri	Retina epitel hücrede ↑	117
Sodyum (%8 NaCl)	4 -12 hafta	Sprague Dawley Sıçan (n=6-8/grup)	Hipotalamik paraventriküler nükleus ↑	118
Sodyum (3g/gün, 18g/gün NaCl) ve potasyum (4,5 g/gün KCl)	1 hafta	Sağlıklı bireyler (n=50/grup) makrofaj THP-1 hücre hattı	Makrofajda Yüksek Na içeren diyet: ↑ Yüksek Na ve K içeren diyet: ↓	119
Demir (%2 Karbonil Fe)	8 hafta	db/db fare (n=5-8/grup)	Hepatik doku Fe birikimi: ↑	120
Çinko (10µM ZnSO ₄ veya 1 µM Zn şelatör (TPEN))	24 saat	İnsan peritonel mezotelyal hücre hattı	ZnSO ₄ : ↓ Zn şelatör: ↑	121

↑, artış; ↓, azalış; ↔, değişiklik yok.

gelişimini yavaşlattığı ve NLRP3 aracılı inflamasyon oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir¹¹⁴. Bu sonucu destekler nitelikteki bir başka fare çalışmasında da yüksek yağlı diyetler (enerjinin %60'ı) ile birlikte tokoferol (0,01 mL/g/gün rosa mosqueta yağı) verilmesinin adipoz dokudaki NLRP3 inflamazom ekspresyonunu baskılandığı bildirilmiştir¹¹⁵. Dolayısıyla C ve E vitamini gibi antioksidan vitaminlerin NLRP3 inflamazomunu baskılamada görev alabileceği düşünülmektedir.

Mikro besin öğelerinden mineraller ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, diyetle tuz alımına bağlı olarak yüksek miktarda sodyum alımı (50–100 mM in-vitro; 18 g/gün in-vivo), ozmotik dengenin bozulması ve hücrel stresin oluşumuna bağlı olarak NLRP3'ü indüklemektedir^{116–119}. Farelerde yapılmış bir çalışmada, diyet sodyumunun hiperozmotik etki yaptığı ve inflamazomu etkilediği gösterilmiştir¹¹⁶. İnsan ve sıçanlarda tuz ile *in-vitro* yapılan çalışmalarda ise; dokularda NLRP3 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir^{117,118}. Diyetteki yüksek ve düşük tuz tüketimlerinin araştırıldığı bir insan çalışmasında ise; sodyumun makrofaj hücrelerinde NLRP3 aktivasyonunu arttırdığı, potasyumun ise azalttığı bulunmuştur¹¹⁹. Dolayısıyla çalışmalarda, hücrel ozmotik dengeye olan etkileri sebebiyle sodyumun NLRP3 inflamazomu indükleyici, potasyumun ise baskılayıcı olabileceği düşünülmektedir.

İnflamazom oluşumuna etki edeceği düşünülen bir başka mineral ise demirdir. Demir metabolizmasındaki bozulmalar oksidatif strese katkı sağladığından NLRP3 ile ilişkili olduğu düşünülmektedir¹²⁰. Bu bağlamda diyabetik farelerle yapılan bir çalışmada, demir takviyesinin (%2 karbonil Fe) hepatik dokularda oksidatif stresi artırarak inflamatuvar sitokinleri ve NLRP3 ekspresyonunun indüklendiği bildirilmiştir¹²⁰.

Önemli bir mineral olan çinko; vücutta apoptozis, hücrel farklılaşma, sinyal iletimi, transkripsiyon ve çoğalma gibi sayısız işlevde rol aldığı için NLRP3 açısından da ele alınmıştır. Çinkonun diyet bileşeni olarak incelendiği çalışmalar sayıca fazla olmasa da NLRP3 açısından yapılan *in-vitro* insan çalışmasında, çinko takviyesinin (10µM ZnSO₄) peritonel mezoteloma hücrelerinde IL-1β, IL-18 ve NLRP3 seviyelerini azalttığı bildirilmiştir¹²¹. Sonuç olarak vitamin ve minerallerle ilgili yapılan çalışmalar henüz hücre kültürü ve hayvan modelleri düzeyinde ve sayıca yetersiz olmasına rağmen NLRP3 ile mikro besin öğeleri arasında bir ilişki olabileceği görülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Tip II diyabet ve ateroskleroz gibi kronik hastalıklarda, diyetle yer alan besin öğeleri çeşitli uyarlar sonucunda inflamatuvar yanıt oluşturabilmektedir. Oluşan bu yanıtta NLRP3'ün önemli bir aracı molekül olduğu düşünülmektedir. Hiperglisemi, oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi, hücrel yağ asitlerinin seviyesi/oranı, hücrede ATP durumu, lizozom fonksiyon bozukluğu, hücre içi potasyum değişimleri, kalsiyum sinyalizasyonu, toksinler, patojenler gibi birçok uyarıcı NLRP3 inflamazomunu indüklemekte bu sebeple diyet bileşenlerinin de doğrudan veya dolaylı olarak uyarıcı olabileceği bildirilmektedir.

Diyet örüntüsünün veya enerjisinin metabolik stresi uyarak inflamatuvar yanıt oluşturabildiği veya inhibe edebildiği yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Çalışmalarda makro besin öğelerinden yağların NLRP3 üzerine olan etkisi diğer besin öğelerine göre daha çok araştırılmıştır. Özellikle SFA'nın NLRP3 inflamazomunu indüklediği, PUFA'nın ise inhibe ettiği bildirilmiştir. Karbonhidratlardan früktoz NLRP3'ü indükleme açısından ön plana çıkmıştır. Glutamin gibi amino asitler, diyet proteinleri ve mikro besin öğeleri ile yapılan çalışmalar ise NLRP3 açısından bir sonuca ulaşmak için ciddi anlamda sayıca yetersizdir. Bu çalışmalarda; soya proteinleri ve betainin NLRP3'ü inhibe ettiği, glutaminin ise indüklediği belirtilmiştir. Mikro besin öğelerine bakıldığında, sodyum diğer mikro besin öğelerine kıyasla daha çok incelenmiş ve genellikle tuz alımı ve potasyum açısından bakılarak NLRP3'ü indüklediği bildirilmiştir. Sodyumun indükleme, potasyumun ise inhibe etme özelliği olabileceği bildirilmiştir. Diğer minerallerden demirin NLRP3'ü indüklediği, çinkonun ise inhibe ettiği bildirilmiştir. Vitaminlerden C ve E, antioksidan yapıları sebebiyle, NLRP3 kompleks yapısının oluşumunu inhibe edebileceği belirtilmiştir. Tüm bunlarla birlikte, besinlerden gelen enerjinin, açlık gibi hücrel ATP'yi değiştiren faktörlerin NLRP3'ü etkileyebileceği gözlenmiştir.

Tüm bunlarla birlikte, besin öğeleri ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmının hayvan ve hücre kültürü çalışması olması dikkat çekmektedir. Bu sebeple besin öğeleri ve NLRP3 ilişkisini gösteren mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır. Dolayısıyla, NLRP3 aracılı inflamasyona bağlı bir beslenme modeli geliştirmek henüz mümkün görünmemektedir. Ancak, inflamasyondan ve kronik hastalıklardan korunmada etkili olduğu bilinen yeterli ve dengeli

beslenme veya kronik hastalık gelişimine sebep olan yüksek enerji alımı, SFA ve basit karbonhidrat tüketiminin azaltılması gibi öneriler NLRP3'e dayalı inflamasyonun azaltılmasında uygulanabilecek beslenme önerileri olarak düşünülebilir.

Kaynaklar

- Allen L. Are we facing a noncommunicable disease pandemic? *J Epidemiol Glob Health*, 7(1):5–9, 2017.
- Stylianou E. Epigenetics of chronic inflammatory diseases. *J Inflamm Res*, 12:1–14, 2019.
- WHO. Noncommunicable diseases 2019. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>; Accessed: 04.02.2019.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121):860–7, 2006.
- Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*, 140(6):821–32, 2010.
- Amin J, Boche D, Rakic S. What do we know about the inflammasome in humans? *Brain Pathol*, 27(2):192–204, 2017.
- Karasawa T, Takahashi M. Saturated fatty acid-crystals activate NLRP3 inflammasome. *Aging (Albany NY)*, 11(6):1613–4, 2019.
- Bullon P, Cano-Garcia FJ, Alcocer-Gomez E, Varela-Lopez A, Roman-Malo L, Ruiz-Salmeron RJ, et al. Could NLRP3-Inflammasome Be a Cardiovascular Risk Biomarker in Acute Myocardial Infarction Patients? *Antioxid Redox Signal*, 27(5):269–75, 2017.
- Wen H, Ting JP, O'Neill LA. A role for the NLRP3 inflammasome in metabolic diseases--did Warburg miss inflammation? *Nat Immunol*, 13(4):352–7, 2012.
- Camell C, Goldberg E, Dixit VD. Regulation of Nlrp3 inflammasome by dietary metabolites. *Semin Immunol*, 27(5):334–42, 2015.
- Antonelli M, Kushner I. It's time to redefine inflammation. *The FASEB Journal*, 31(5):1787–91, 2017.
- Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Mol Cell*, 54(2):281–8, 2014.
- Scott A. What is "inflammation"? Are we ready to move beyond Celsus? *British Journal of Sports Medicine*, 38(3):248–9, 2004.
- Ahmed A. An overview of inflammation: Mechanism and consequences 2011.
- Kumar V. Inflammasomes: Pandora's box for sepsis. *J Inflamm Res*, 11:477–502, 2018.
- Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*, 10(2):417–26, 2002.
- Gross O, Thomas CJ, Guarda G, Tschopp J. The inflammasome: an integrated view. *Immunol Rev*, 243(1):136–51, 2011.
- Palazon-Riquelme P, Lopez-Castejon G. The inflammasomes, immune guardians at defence barriers. *Immunology*, 155(3):320–30, 2018.
- Rock KL, Latz E, Ontiveros F, Kono H. The sterile inflammatory response. *Annu Rev Immunol*, 28:321–42, 2010.
- Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 157(5):1013–22, 2014.
- Jin C, Flavell RA. Molecular mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *J Clin Immunol*, 30(5):628–31, 2010.
- Gros Lambert M, Py BF. Spotlight on the NLRP3 inflammasome pathway. *J Inflamm Res*, 11:359–74, 2018.
- Sandall CF, MacDonald JA. Effects of phosphorylation on the NLRP3 inflammasome. *Arch Biochem Biophys*, 670:43–57, 2019.
- de Alba E. Structure, interactions and self-assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Arch Biochem Biophys*, 670:15–31, 2019.
- Place DE, Kanneganti TD. Recent advances in inflammasome biology. *Curr Opin Immunol*, 50:32–8, 2018.
- Abderrazak A, Syrovets T, Couchie D, El Hadri K, Friguet B, Simmet T, et al. NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases. *Redox Biol*, 4:296–307, 2015.
- McDonald B, Kubers P. Innate Immune Cell Trafficking and Function During Sterile Inflammation of the Liver. *Gastroenterology*, 151(6):1087–95, 2016.
- Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol*, 19(8):477–89, 2019.
- Kelley N, Jeltama D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci*, 20(13):3328, 2019.
- Liu Q, Zhang D, Hu D, Zhou X, Zhou Y. The role of mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Mol Immunol*, 103:115–24, 2018.
- Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives. *J Inflamm Res*, 8:15–27, 2015.
- Sharma D, Kanneganti TD. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *J Cell Biol*, 213(6):617–29, 2016.
- Rubartelli A, Lotze MT, Latz E, Manfredi A. Mechanisms of sterile inflammation. *Front Immunol*, 4:398, 2013.
- Prattichizzo F, De Nigris V, Spiga R, Mancuso E, La Sala L, Antonicelli R, et al. Inflammageing and metaflammation: The yin and yang of type 2 diabetes. *Ageing Res Rev*, 41:1–17, 2018.
- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*, 1:15019, 2015.
- Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*, 21(7):677–87, 2015.
- Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2):98, 2011.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 259(5091):87–91, 1993.

39. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science*, 271(5249):665–8, 1996.
40. Schroder K, Zhou R, Tschopp J. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger? *Science*, 327(5963):296–300, 2010.
41. Coletta DK, Mandarino LJ. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance from the outside in: extracellular matrix, the cytoskeleton, and mitochondria. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 301(5): E749–55, 2011.
42. Sepehri Z, Kiani Z, Afshari M, Kohan F, Dalvand A, Ghavami S. Inflammasomes and type 2 diabetes: An updated systematic review. *Immunol Lett*, 192:97–103, 2017.
43. Rheinheimer J, de Souza BM, Cardoso NS, Bauer AC, Crispim D. Current role of the NLRP3 inflammasome on obesity and insulin resistance: A systematic review. *Metabolism*, 74:1–9, 2017.
44. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*, 17(2):179–88, 2011.
45. Stienstra R, Joosten LA, Koenen T, van Tits B, van Diepen JA, van den Berg SA, et al. The inflammasome-mediated caspase-1 activation controls adipocyte differentiation and insulin sensitivity. *Cell Metab*, 12(6):593–605, 2010.
46. Ahechu P, Zozaya G, Marti P, Hernandez-Lizoain JL, Baixauli J, Unamuno X, et al. NLRP3 Inflammasome: A Possible Link Between Obesity-Associated Low-Grade Chronic Inflammation and Colorectal Cancer Development. *Front Immunol*, 9:2918, 2018.
47. Lee HM, Kim JJ, Kim HJ, Shong M, Ku BJ, Jo EK. Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 62(1):194–204, 2013.
48. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(9):2045–51, 2012.
49. Bruins MJ, Van Dael P, Eggersdorfer M. The Role of Nutrients in Reducing the Risk for Noncommunicable Diseases during Aging. *Nutrients*, 11(1), 2019.
50. Pant S, Deshmukh A, Gurumurthy GS, Pothineni NV, Watts TE, Romeo F, et al. Inflammation and atherosclerosis--revisited. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 19(2):170–8, 2014.
51. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 352(16):1685–95, 2005.
52. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, et al. Lack of interleukin-1 β decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(4):656–60, 2003.
53. Gage J, Hasu M, Thabet M, Whitman SC. Caspase-1 deficiency decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Can J Cardiol*, 28(2):222–9, 2012.
54. Menu P, Pellegrin M, Aubert JF, Bouzourene K, Tardivel A, Mazzolai L, et al. Atherosclerosis in ApoE-deficient mice progresses independently of the NLRP3 inflammasome. *Cell Death Dis*, 2(3): e137, 2011.
55. Hoseini Z, Sepahvand F, Rashidi B, Sahebkar A, Masoudifar A, Mirzaei H. NLRP3 inflammasome: Its regulation and involvement in atherosclerosis. *J Cell Physiol*, 233(3):2116–32, 2018.
56. Baldrighi M, Mallat Z, Li X. NLRP3 inflammasome pathways in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 267:127–38, 2017.
57. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 464(7293):1357–61, 2010.
58. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med*, 18(3):363–74, 2012.
59. Kirwan AM, Lenighan YM, O'Reilly ME, McGillicuddy FC, Roche HM. Nutritional modulation of metabolic inflammation. *Biochem Soc Trans*, 45(4):979–85, 2017.
60. Roche HM. Dietary modulation of energy homeostasis and metabolic-inflammation. *Proc Nutr Soc*:1–6, 2019.
61. Traba J, Kwarteng-Siaw M, Okoli TC, Li J, Huffstutler RD, Bray A, et al. Fasting and refeeding differentially regulate NLRP3 inflammasome activation in human subjects. *J Clin Invest*, 125(12):4592–600, 2015.
62. Velickovic N, Teofilovic A, Ilic D, Djordjevic A, Vojnovic Milutinovic D, Petrovic S, et al. Modulation of hepatic inflammation and energy-sensing pathways in the rat liver by high-fructose diet and chronic stress. *Eur J Nutr*, 58(5):1829–45, 2019.
63. Milagres T, Garcia-Arroyo FE, Lanaspá MA, Garcia G, Ishimoto T, Andres-Hernando A, et al. Rehydration with fructose worsens dehydration-induced renal damage. *BMC Nephrol*, 19(1):180, 2018.
64. Pavillard LE, Canadas-Lozano D, Alcocer-Gomez E, Marin-Aguilar F, Pereira S, Robertson AAB, et al. NLRP3-inflammasome inhibition prevents high fat and high sugar diets-induced heart damage through autophagy induction. *Oncotarget*, 8(59):99740–56, 2017.
65. Chiazza F, Couturier-Maillard A, Benetti E, Mastrocola R, Nigro D, Cutrin JC, et al. Targeting the NLRP3 Inflammasome to Reduce Diet-Induced Metabolic Abnormalities in Mice. *Mol Med*, 21(1):1025–37, 2016.
66. Mastrocola R, Collino M, Penna C, Nigro D, Chiazza F, Fracasso V, et al. Maladaptive Modulations of NLRP3 Inflammasome and Cardioprotective Pathways Are Involved in Diet-Induced Exacerbation of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. *Oxid Med Cell Longev*, 2016:3480637, 2016.
67. Nigro D, Menotti F, Cento AS, Serpe L, Chiazza F, Dal Bello F, et al. Chronic administration of saturated fats and fructose differently affect SREBP activity resulting in different modulation of Nrf2 and Nlrp3 inflammasome pathways in mice liver. *J Nutr Biochem*, 42:160–71, 2017.
68. Garay-Lugo N, Dominguez-Lopez A, Miliar Garcia A, Aguilar Barrera E, Gomez Lopez M, Gomez Alcalá A, et al. n-3 Fatty acids modulate the mRNA expression of the Nlrp3 inflammasome and Mtor in the liver of rats fed with high-fat or high-fat/fructose diets. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 38(5):353–63, 2016.

69. Keshk WA, Ibrahim MA, Shalaby SM, Zalat ZA, Elseady WS. Redox status, inflammation, necroptosis and inflammasome as indispensable contributors to high fat diet (HFD)-induced neurodegeneration; Effect of N-acetylcysteine (NAC). *Arch Biochem Biophys*, 680:108227, 2019.
70. Roncero-Ramos I, Rangel-Zuniga OA, Lopez-Moreno J, Alcalá-Díaz JF, Perez-Martínez P, Jiménez-Lucena R, et al. Mediterranean Diet, Glucose Homeostasis, and Inflammasome Genetic Variants: The CORDIOPREV Study. *Mol Nutr Food Res*, 62(9): e1700960, 2018.
71. Wen H, Gris D, Lei Y, Jha S, Zhang L, Huang MT, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nat Immunol*, 12(5):408–15, 2011.
72. Reynolds CM, McGillicuddy FC, Harford KA, Finucane OM, Mills KH, Roche HM. Dietary saturated fatty acids prime the NLRP3 inflammasome via TLR4 in dendritic cells-implications for diet-induced insulin resistance. *Mol Nutr Food Res*, 56(8):1212–22, 2012.
73. Karasawa T, Kawashima A, Usui-Kawanishi F, Watanabe S, Kimura H, Kamata R, et al. Saturated Fatty Acids Undergo Intracellular Crystallization and Activate the NLRP3 Inflammasome in Macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 38(4):744–56, 2018.
74. Christ A, Gunther P, Lauterbach MAR, Duewelling P, Biswas D, Pelka K, et al. Western Diet Triggers NLRP3-Dependent Innate Immune Reprogramming. *Cell*, 172(1–2):162–75 e14, 2018.
75. Finucane OM, Lyons CL, Murphy AM, Reynolds CM, Klinger R, Healy NP, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched high-fat diets impede adipose NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β secretion and insulin resistance despite obesity. *Diabetes*, 64(6):2116–28, 2015.
76. L'Homme L, Esser N, Riva L, Scheen A, Paquot N, Piette J, et al. Unsaturated fatty acids prevent activation of NLRP3 inflammasome in human monocytes/macrophages. *J Lipid Res*, 54(11):2998–3008, 2013.
77. Schuster S, Johnson CD, Hennebelle M, Holtmann T, Taha AY, Kirpich IA, et al. Oxidized linoleic acid metabolites induce liver mitochondrial dysfunction, apoptosis, and NLRP3 activation in mice. *J Lipid Res*, 59(9):1597–609, 2018.
78. Yuan X, Wang L, Bhat OM, Lohner H, Li PL. Differential effects of short chain fatty acids on endothelial Nlrp3 inflammasome activation and neointima formation: Antioxidant action of butyrate. *Redox Biol*, 16:21–31, 2018.
79. De Boer AA, Monk JM, Liddle DM, Hutchinson AL, Power KA, Ma DW, et al. Fish-oil-derived n-3 polyunsaturated fatty acids reduce NLRP3 inflammasome activity and obesity-related inflammatory cross-talk between adipocytes and CD11b(+) macrophages. *J Nutr Biochem*, 34:61–72, 2016.
80. Sui YH, Luo WJ, Xu QY, Hua J. Dietary saturated fatty acid and polyunsaturated fatty acid oppositely affect hepatic NOD-like receptor protein 3 inflammasome through regulating nuclear factor-kappa B activation. *World J Gastroenterol*, 22(8):2533–44, 2016.
81. Martínez-Micela N, González-Abuín N, Pinent M, Ardevol A, Blay M. Dietary fatty acid composition is sensed by the NLRP3 inflammasome: omega-3 fatty acid (DHA) prevents NLRP3 activation in human macrophages. *Food Funct*, 7(8):3480–7, 2016.
82. Wood LG, Li Q, Scott HA, Rutting S, Berthon BS, Gibson PG, et al. Saturated fatty acids, obesity, and the nucleotide oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 143(1):305–15, 2019.
83. Lin C, Chao H, Li Z, Xu X, Liu Y, Bao Z, et al. Omega-3 fatty acids regulate NLRP3 inflammasome activation and prevent behavior deficits after traumatic brain injury. *Exp Neurol*, 290:115–22, 2017.
84. Shen L, Yang Y, Ou T, Key CC, Tong SH, Sequeira RC, et al. Dietary PUFAs attenuate NLRP3 inflammasome activation via enhancing macrophage autophagy. *J Lipid Res*, 58(9):1808–21, 2017.
85. Darwesh AM, Jamieson KL, Wang C, Samokhvalov V, Seubert JM. Cardioprotective effects of CYP-derived epoxy metabolites of docosahexaenoic acid involve limiting NLRP3 inflammasome activation(1). *Can J Physiol Pharmacol*, 97(6):544–56, 2019.
86. Wen M, Ding L, Zhang L, Zhang T, Teruyoshi Y, Wang Y, et al. Eicosapentaenoic Acid-Enriched Phosphatidylcholine Mitigated Abeta1–42-Induced Neurotoxicity via Autophagy-Inflammasome Pathway. *J Agric Food Chem*, 67(49):13767–74, 2019.
87. Yan Y, Jiang W, Spinetti T, Tardivel A, Castillo R, Bourquin C, et al. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity*, 38(6):1154–63, 2013.
88. Progzatky F, Sangha NJ, Yoshida N, McBrien M, Cheung J, Shia A, et al. Dietary cholesterol directly induces acute inflammasome-dependent intestinal inflammation. *Nat Commun*, 5:5864, 2014.
89. Du Q, Wang Q, Fan H, Wang J, Liu X, Wang H, et al. Dietary cholesterol promotes AOM-induced colorectal cancer through activating the NLRP3 inflammasome. *Biochem Pharmacol*, 105:42–54, 2016.
90. Zhang R, Han S, Zhang Z, Zhang W, Yang J, Wan Z, et al. Cereal Fiber Ameliorates High-Fat/Cholesterol-Diet-Induced Atherosclerosis by Modulating the NLRP3 Inflammasome Pathway in ApoE(-/-) Mice. *J Agric Food Chem*, 66(19):4827–34, 2018.
91. Bitzer ZT, Wopperer AL, Chrisfield BJ, Tao L, Cooper TK, Vanamala J, et al. Soy protein concentrate mitigates markers of colonic inflammation and loss of gut barrier function in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem*, 40:201–8, 2017.
92. He L, Weber KJ, Schilling JD. Glutamine Modulates Macrophage Lipotoxicity. *Nutrients*, 8(4):215, 2016.
93. Solon-Biet SM, Cogger VC, Pulpitel T, Wahl D, Clark X, Bagley E, et al. Branched chain amino acids impact health and lifespan indirectly via amino acid balance and appetite control. *Nat Metab*, 1(5):532–45, 2019.

94. Ge CX, Yu R, Xu MX, Li PQ, Fan CY, Li JM, et al. Betaine prevented fructose-induced NAFLD by regulating LXRA/PPAR α pathway and alleviating ER stress in rats. *Eur J Pharmacol*, 770:154–64, 2016.
95. Lyons CL, Roche HM. Nutritional Modulation of AMPK-Impact upon Metabolic-Inflammation. *Int J Mol Sci*, 19(10), 2018.
96. Traba J, Sack MN. The role of caloric load and mitochondrial homeostasis in the regulation of the NLRP3 inflammasome. *Cell Mol Life Sci*, 74(10):1777–91, 2017.
97. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes Dev*, 25(18):1895–908, 2011.
98. Clayton ZE, Vickers MH, Bernal A, Yap C, Sloboda DM. Early Life Exposure to Fructose Alters Maternal, Fetal and Neonatal Hepatic Gene Expression and Leads to Sex-Dependent Changes in Lipid Metabolism in Rat Offspring. *PLoS One*, 10(11): e0141962, 2015.
99. Aragno M, Mastrocola R. Dietary Sugars and Endogenous Formation of Advanced Glycation Endproducts: Emerging Mechanisms of Disease. *Nutrients*, 9(4), 2017.
100. Tan Z, Xie N, Cui H, Moeller DR, Abraham E, Thannickal VJ, et al. Pyruvate dehydrogenase kinase 1 participates in macrophage polarization via regulating glucose metabolism. *The Journal of Immunology*:1402469, 2015.
101. Billingsley HE, Carbone S, Lavie CJ. Dietary Fats and Chronic Noncommunicable Diseases. *Nutrients*, 10(10), 2018.
102. Pavillard LE, Marin-Aguilar F, Bullon P, Cordero MD. Cardiovascular diseases, NLRP3 inflammasome, and western dietary patterns. *Pharmacol Res*, 131:44–50, 2018.
103. Youm YH, Adijiang A, Vandannagsar B, Burk D, Ravussin A, Dixit VD. Elimination of the NLRP3-ASC inflammasome protects against chronic obesity-induced pancreatic damage. *Endocrinology*, 152(11):4039–45, 2011.
104. Moon J-S, Nakahira K, Choi AMK. Fatty acid synthesis and NLRP3-inflammasome. *Oncotarget*, 6(26):21765–6, 2015.
105. Schilling JD, Machkovech HM, He L, Diwan A, Schaffer JE. TLR4 activation under lipotoxic conditions leads to synergistic macrophage cell death through a TRIF-dependent pathway. *J Immunol*, 190(3):1285–96, 2013.
106. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzamelis I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 116(11):3015–25, 2006.
107. Yan Y, Jiang W, Spinetti T, Tardivel A, Castillo R, Bourquin C, et al. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity*, 38(6):1154–63, 2013.
108. Podrez EA, Poliakov E, Shen ZZ, Zhang RL, Deng YJ, Sun MJ, et al. A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *Journal of Biological Chemistry*, 277(41):38517–23, 2002.
109. Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D, et al. The ketone metabolite beta-hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med*, 21(3):263–9, 2015.
110. Elias RJ, Kellerby SS, Decker EA. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48(5):430–41, 2008.
111. Song EK, Hyuck Hwa K, Ji Yeon K, Young Im K, Hee Jong W, Hyong Joo L. Anticancer activity of hydrophobic peptides from soy proteins. *BioFactors*, 12:151–5, 2000.
112. Newsholme P, Curi R, Pithon Curi TC, Murphy CJ, Garcia C, Pires de Melo M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. This review is written to mark the retirement of Prof. Eric A. Newsholme, University of Oxford, United Kingdom, and to acknowledge his contribution to the field of immune cell metabolism. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10(6):316–24, 1999.
113. Choe JY, Kim SK. Quercetin and Ascorbic Acid Suppress Fructose-Induced NLRP3 Inflammasome Activation by Blocking Intracellular Shuttling of TXNIP in Human Macrophage Cell Lines. *Inflammation*, 40(3):980–94, 2017.
114. Kim Y, Wang W, Okla M, Kang I, Moreau R, Chung S. Suppression of NLRP3 inflammasome by gamma-tocotrienol ameliorates type 2 diabetes. *J Lipid Res*, 57(1):66–76, 2016.
115. Tapia G, Silva D, Romero N, Pettinelli P, Dossi CG, de Miguel M, et al. Role of dietary alpha- and gamma-tocopherol from Rosa mosqueta oil in the prevention of alterations induced by high-fat diet in a murine model. *Nutrition*, 53:1–8, 2018.
116. Ip WK, Medzhitov R. Macrophages monitor tissue osmolarity and induce inflammatory response through NLRP3 and NLRC4 inflammasome activation. *Nat Commun*, 6:6931, 2015.
117. Prager P, Hollborn M, Steffen A, Wiedemann P, Kohlen L, Bringmann A. P2Y1 Receptor Signaling Contributes to High Salt-Induced Priming of the NLRP3 Inflammasome in Retinal Pigment Epithelial Cells. *PLoS One*, 11(10): e0165653, 2016.
118. Wang ML, Kang YM, Li XG, Su Q, Li HB, Liu KL, et al. Central blockade of NLRP3 reduces blood pressure via regulating inflammation micro-environment and neurohormonal excitation in salt-induced prehypertensive rats. *J Neuroinflammation*, 15(1):95, 2018.
119. Wan Z, Wen W, Ren K, Zhou D, Liu J, Wu Y, et al. Involvement of NLRP3 inflammasome in the impacts of sodium and potassium on insulin resistance in normotensive Asians. *Br J Nutr*, 119(2):228–37, 2018.
120. Handa P, Morgan-Stevenson V, Maliken BD, Nelson JE, Washington S, Westerman M, et al. Iron overload results in hepatic oxidative stress, immune cell activation, and hepatocellular ballooning injury, leading to nonalcoholic steatohepatitis in genetically obese mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 310(2): G117-G27, 2016.
121. Fan Y, Zhang X, Yang L, Wang J, Hu Y, Bian A, et al. Zinc inhibits high glucose-induced NLRP3 inflammasome activation in human peritoneal mesothelial cells. *Mol Med Rep*, 16(4):5195–202, 2017.



Simultaneous Use of Targeted Radiotherapy with External Beam Radiotherapy in the Treatment of Bone Metastasis

Kemik Metastazı Tedavisinde Hedefleyici Radyoterapinin Eksternal Işın Radyoterapisi ile Eşzamanlı Kullanımı

Yasemin Benderli Cihan

Kayseri City Education and Research Hospital, Department of Radiation Oncology, Kayseri, Turkey

In cancer patients, skeletal system metastases are the third most localized organ after lung and liver. 70% of bone metastases (BM) involve the axial skeleton and are mostly multiple. The most common area is the vertebrae. Metastases to the bone are mostly caused by breast, prostate, lung, kidney and thyroid cancers.¹ Prolonged survival in patients with BM due to developments in cancer treatment and waiting for complications in one of every three cases with bone involvement reveal the importance of an appropriate treatment approach¹⁻³. In our previous study on 181 cases, the rate of bone metastasis was seen most frequently in lung, breast and prostate cancer. In terms of anatomical distribution, the vertebra, lower extremity and upper extremity were found to be the metastatic location, respectively¹. With early diagnosis and treatment, the patient's quality of life will be improved by reducing possible complications such as pain, fracture, hypercalcemia and spinal cord compression that may occur due to BM. Pain is a common symptom in CM and decreases the quality of life. Studies show that cancer patients experience severe pain at a rate of 30% at the time of diagnosis and 60–90% at the advanced stage²⁻⁴.

Treatment of BM is done by palliative methods. Local treatments (surgery and radiotherapy), systemic treatments (cytotoxic chemotherapy, hormone therapy, bisphosphonates, gallium nitrate, etc.) and supportive treatments (analgesics, psychological support and social support) are the main methods used²⁻⁶. Depending on the prevalence of the disease, the severity of the symptoms, previous treatments, and concomitant diseases, one of these treatment methods or its combined use is preferred. A limited number of BM can be treated with surgery and/or radiotherapy (RT). In more diffuse bone involvement, radiopharmaceuticals, hormones and chemotherapeutics are more preferred. Each treatment has its own advantages and disadvantages. The use of analgesics for these long periods is limited due to their side effects. It has been reported that the palliation provided by chemotherapeutics or hormone therapy does not occur in a short time and is not effective and long-lasting⁴⁻⁷.

The purpose of RT in the treatment of BM is to prevent or relieve the symptoms and dysfunctions of the patient for the rest of his life. RT is used for palliative and prophylactic purposes. Palliative application in bone pain, pathological fracture formation, peripheral nerve compression and spinal cord compression. Prophylactic application is applied in cases with risk of cord compression and pathological fracture. RT is usually used to reduce pain due to BM. After treatment, pain response usually begins in the first 48 hours. It becomes apparent within four weeks. This is a permanent response in 70% of the patients^{2,3,4-7}. With RT, 80–90% of the patients respond to pain, while 40–60% of them provide full control. In lesions, it provides symptomatic improvement in 96% and recalcification in 78%⁷.

İletişim/Contact: Yasemin Benderli Cihan, Kayseri City Education and Research Hospital, Department of Radiation Oncology, Kayseri, Turkey • **Tel:** 0536 216 99 87 • **E-mail:** cihany@erciyes.edu.tr • **Gelis/Received:** 17.03.2021 • **Kabul/Accepted:** 09.05.2021

ORCID: Yasemin Benderli Cihan, 0000-0001-9295-4917

Nowadays, radionuclide therapy is successfully applied in refractory metastatic pain. Multiple metastatic foci can be treated simultaneously with radionuclide therapy. The radioisotope administered intravenously to the body shows its therapeutic effect by reaching all targets in the body that show osteoblastic or mixed bone activity. Therefore, this treatment method is also called “targeted radiotherapy”. With this treatment, it improves the quality of life by reducing pain in the patient. It reduces the need for analgesics, RT and chemotherapy. It also improves the course of the disease and survival^{3,5,6,8}. Although the idea of using bone targeted radioisotopes for the treatment of common BM in the advanced stage of the disease is dominant. These agents are also used in the early stages of diseases in order to increase the response to treatment in the early metastatic period⁹. With the targeted radiotherapy method, the complete or partial success rate varies between 60% and 90%, respectively. Pain control can usually start in the first days of treatment, or it may take up to the second or third week. Retreatment can be safely performed on days when there is no adequate response to treatment or when pain begins to recur after successful treatment^{6,8}.

P-32 and Sr-89 radioactive isotopes are the first radiopharmaceuticals used in radionuclide treatments. Clinical use of P-32 has been restricted due to its high energy, the prominence of its side effect of myelotoxicity and long-term beta scattering in the tissue. Sm-153, Re-186, Re-188, which are newly developed radioisotopes that spread beta over time, have taken their places in routine practice^{5,10}. The most common complication is myelotoxicity. It is recommended to reduce the dose by 50% in patients with moderate renal impairment (GFR >30 and <50 mL/min)^{4,6,11}. Although all beta emitting isotopes show different physical properties, the superiority of radionuclides used in the treatment of BM has not been demonstrated in clinical studies. Patient-dependent characteristics appear to be the determining factor in the choice of radionuclide in routine practice⁵.

There is contradiction in the literature regarding which of the external RT or radionuclide treatments are more effective and reliable. The effect of radionuclide therapy on survival is controversial. Studies have shown that the effect of radioisotopes used in palliation of pain is not much different from external RT^{3,12}. In the study of Buchali et al.¹³ comparing the Sr-89 treatment group with placebo in patients with prostate cancer, it was reported that Sr-89 treatment prolonged the survival¹³. In addition, in randomized and multi-center studies conducted in Europe, it has been reported that Sr-89 treatment decreases the life span in painful metastatic bone cancers compared to local RT applications¹². In another study, it was reported that Sr-89 increases the quality of life in the patient, but does not affect the life span².

Nowadays, combined therapies have come into question in cases where pain due to BM cannot be adequately controlled with the treatments applied. There are a limited number of studies in the literature on this subject. One of them is the use of radionuclide treatments (Re 186 HEDP or Sm 153) together with external RT. Hiçsönmez et al.³ examined the efficacy of combined therapy in 33 cancer patients with painful BM and in patients who were given systemic radionuclide therapy after localized external radiotherapy. They stated that between Re 186 HEDP and Sm 153 hematological toxicity was not high and there was no difference in response to treatment. They also reported that combined therapy reduced pain and analgesic intake. In the study conducted by Heianna et al.⁴, they reported that Sr-89 was effective and safe in cases requiring simultaneous emergency treatment with external radiotherapy for more than one CM. In a randomized controlled study involving 126 prostate cancer patients by Porter & McEwan, in the study where RT and Sr-89 were used in combination, they reported no contribution to survival, but the number of new pain zones was significantly lower for the group receiving Sr-89⁴. In another study, it was reported that when adjuvant is used, Sr-89 does not contribute additionally in areas receiving external RT, but prevents pain in areas with CM.

As a result, bone pain caused by skeletal system metastases is the most common type of chronic pain seen among cancer patients. Treatment of bone pain secondary to metastasis is difficult and requires a multidisciplinary approach. This multidisciplinary approach includes treatments such as pain relievers, hormone treatments, chemotherapy, bisphosphonates, RT and systemic radionuclide. Simultaneous use of radionuclide external beam RT in pain palliation in multiple BM seems to be an effective and safe treatment option in cases requiring emergency treatment. However, clinical studies are needed to better evaluate the follow-up and treatment of cancer patients in these combined treatment applications.

References

1. CihanYB, Sarigöz T, Arslan A. Role of season in overall survival of patients with bone metastasis undergoing radiotherapy. *Transl Cancer Res* 2016;5(1):85–88.
2. James N, Pirrie S, Pope A, Barton D, Andronis L, Goranitis I, et al. TRAPEZE: a randomised controlled trial of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of chemotherapy with zoledronic acid, strontium-89, or both, in men with bony metastatic castration-refractory prostate cancer. *Health Technol Assess*. 2016 Jul;20(53):1-288. doi: 10.3310/hta20530. PMID: 27434595 Clinical Trial.
3. Hicsonmez A, Kucuk ON, Andrieu MN, Guney Y, Ibis E. Role of Radionuclide Therapy as Adjuvant to Palliative External Beam Radiotherapy for Painful Multiple Skeletal Metastasis. *World J Oncol* 2010 Aug;1(4):158-166. doi: 10.4021/wjon235w. Epub 2010 Aug 29. PMID: 29147199.
4. Heianna J, Toita T, Endo W, Kasuya G, Ariga T, Hashimoto S, et al. Concurrent use of strontium-89 with external beam radiotherapy for multiple bone metastases: early experience. *Ann Nucl Med* 2015 Dec;29(10):848–53. doi: 10.1007/s12149-015-1010-6. Epub 2015 Aug 13. PMID: 26266885.
5. Liepe K, Franke WG, Kropp J, Koch R, Runge R, Hliscs R. Comparison of rhenium-188, rhenium-186-HEDP and strontium-89 in palliation of painful bone metastases]. *Nuklearmedizin* 2000 Sep;39(6):146–51. PMID: 11057405 Clinical Trial. German.
6. Heron DE, Brufsky A, Beriwal S, Kurman M. Myelotoxicity of samarium Sm 153 lexidronam in patients receiving prior treatment with chemotherapy or radiotherapy. *Ann Oncol* 2008 Sep;19(9):1639–43. doi: 10.1093/annonc/mdn178. Epub 2008 May 7. PMID: 18467311.
7. Blitzer PH. Reanalysis Of The RTOG Study Of The Palliation Of Symtomatic Osseous Metastasis. *Cancer* 1985;55(7):1468–72.
8. Sadremomtaz A, Masoumi M. An assessment of bone-seeking radionuclides for palliation of metastatic bone pain in a vertebral model. *Ann Nucl Med* 2019 Apr;33(4):252–264. doi: 10.1007/s12149-019-01329-w. Epub 2019 Jan 18. PMID: 30659480.
9. Kraeber-Bodere F, Campion L, Rousseau C, Rousseau C, Bourdin S, Chatal JF, et al. Treatment Of Bone Metastases Of Prostate Cancer With Strontium-89 Chloride: Efficacy in Relation to the Degree of Bone Involvement. *Eur J Nucl Med* 2000;27:1487–93.
10. Ayati N, Aryana K, Jalilian A, Hoseinnejad T, Samani AB, Ayati Z, et al. Treatment efficacy of (153)Sm-EDTMP for painful bone metastasis. *Asia Ocean J Nucl Med Biol* 2013 Spring;1(1):27–31. doi: 10.7508/aojnmb.2013.01.006. PMID: 27408839.
11. Paravati AJ, Russo AL, Aitken C. Adverse events in the long-term follow-up of patients treated with samarium Sm 153 lexidronam for osseous metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011 Oct 1;81(2):506–10. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.05.066. Epub 2010 Oct 1. PMID: 20888141.
12. Oosterhof GO, Roberts JT, de Reijke TM, Engelholm SA, Horenblas S, Maase HVD et al. Strontium (89) Chlorid Eversus Palliative Local Field Radiotherapy in Patients with Hormonal Escaped Prostate Cancer; a Phase III Study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer, Genitourinary group. *Eur Urol* 2003;44:519–26.
13. Buchali K, Correns HJ, Schuerer M, Lips H, Sydow K. Results of a Duble Blind Study of Strontium-89 Theraphy of Skeletal Metastases of Prostatic Carcinoma. *Eur J Nucl Med* 1988;14:349–51.
14. Porter AT, McEwan AJ. Strontium-89 as an adjuvant to external beam radiation improves pain relief and delays disease progression in advanced prostate cancer: results of a randomized controlled trial. *Semin Oncol* 1993;20(3 Suppl 2):38–43.
15. Porter AT, McEwan AJ, Powe JE, Reid R, McGowan DG, Lukka H, et al. Results of a randomized phase-III trial to evaluate the efficacy of strontium-89 adjuvant to local field external beam irradiation in the management of endocrine resistant metastatic prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;25(5):805–813. doi: 10.1016/0360-3016(93)90309-J.

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

The Effect of Smartphone Addiction on Neck Pain and Disability in University Students	225
Üniversite Öğrencilerinde Akıllı Telefon Kullanımı Bağımlılığının Boyun Ağrısı ve Disabilite Üzerine Etkisi <i>Sevtaç Badil Guloglu, Umit Yalcin</i> doi: 10.5505/kjms.2021.75057	
The Predictive Value of C-reactive Protein to Albumin Ratio to Detect Contrast-induced Acute Kidney Injury in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Percutaneous Coronary Intervention	231
Akut Miyokart Enfarktüsü Nedeniyle Perkütan Koroner Girişim Uygulanan Hastalarda Kontrast Kaynaklı Akut Böbrek Hasan Tespitinde C-reaktif Protein - Albümin Oranının Öngördürücü Değeri <i>Ahmet Karakurt</i> doi: 10.5505/kjms.2021.13285	
Siirt İlindeki Bruselloz Tanılı 112 Hastanın Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi	244
Retrospective Evaluation of 112 Patients with Brucellosis Diagnosis in Siirt <i>Osman Özudođru, Ömer Acer</i> doi: 10.5505/kjms.2021.55481	
The Use of Complementary and Alternative Medicine Among Patients with Chronic Lung Disease	250
Kronik Akciğer Hastalığına Sahip Hastalar Arasında Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Kullanımı <i>Hasan Oguz Kapıcıbası, Erhan Akinci</i> doi: 10.5505/kjms.2021.96530	
Obes Bireylerde Sosyal Kaygı Düzeyi ve Sosyal Kaygıyı Etkileyen Etmenler	256
Social Anxiety Level Among Obese People and Factors That Influence Social Anxiety <i>M. Ramiz Aktaş, Erol Özmen</i> doi: 10.5505/kjms.2021.73444	
Pupillary Functions and Wavefront Aberrations in Childhood Obesity	263
Çocukluk Çağı Obezitesinde Pupil Fonksiyonları ve Wavefront Aberrasyonları <i>Abdullah İlhan, Umit Yolcu, Salih Altun, Uzeyir Erdem</i> doi: 10.5505/kjms.2021.76094	
ST Segment Yükselmesiz Myokard İnfarktüsünde Gensini Skoru ile Elektrokardiyografik Frontal QRS-T Açısı Arasındaki İlişki	268
The Relationship Between Electrocardiographic Frontal QRS-T Angle and Gensini Score in Non-ST Segment Elevated Myocardial Infarction <i>Sefa Gül, Güney Erdoğan, Osman Can Yontar, Uğur Arslan</i> doi: 10.5505/kjms.2021.35119	
The Importance of the Tumor Sidedness and Its Relationship with Other Clinicopathological Features in Patients with Colorectal Cancer	275
Kolorektal Kanseri Hastalarda Tümör Tarafılığının Önemi ve Diğer Klinikopatolojik Özelliklerle İlişkisi <i>Nilgun Sogutcu, Sahin Lacin, Halis Yertlikaya, Deniz Yilmaz</i> doi: 10.5505/kjms.2021.58751	
Tiroid Nodüllerinde Sitopatolojik ve Histopatolojik Uyum Değerlendirmesi: 425 Olgu İçeren Tek Merkez Çalışması	282
Evaluation of Cytopathological and Histopathological Compatibility in Thyroid Nodules: Single Center Study with 425 Cases <i>Nazlı Sena Şeker, Seyhmus Kaya, Ayhan Şenol, Hikmet Soylu</i> doi: 10.5505/kjms.2021.46362	
Knowledge, Attitude and Practice Towards COVID-19 Among People in Adıyaman, Turkey	288
Türkiye'nin Adıyaman İlinde İnsanların COVID-19 Salgınına Yönelik Bilgi, Tutum ve Uygulamaları <i>Emel Dundar, Ferit Kaya, Edibe Pirincci</i> doi: 10.5505/kjms.2021.02259	
Measurement of Fetal Penile Length in Thrace Region of Turkey	295
Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde Fetal Penis Uzunluk Ölçümü <i>Cem Yener, Fusun Varol, Esra Altan Erbilen, Sinan Ates, Cenk Sayin</i> doi: 10.5505/kjms.2021.08068	
Effects of <i>Scilla autumnalis</i> Extracts on U87-MG Human Glioblastoma Cells	299
<i>Scilla autumnalis</i> Ekstrelerinin U-87 MG İnsan Glioblastoma Hücreleri Üzerinde Etkileri <i>Murat Pekmez, Çagatay Tarhan, Ali Zeytinluoglu, Murat Turan, Sefika Beyza Mete, Aylin Koseler</i> doi: 10.5505/kjms.2021.75688	
Üriner Sistem Enfeksiyonlu Bireylerden İzole Edilen <i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> Suşlarında CTX-M, TEM ve SHV Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Aktivitesinin Otomatize Sistem ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması	307
Investigation of CTX-M, TEM and SHV Type Extended Spectrum Beta-Lactamase Activity with Automated System and Molecular Methods in <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> Strains Isolated from Individuals with Urinary Tract Infections <i>Sibel Deniz, Fatih Büyüđ, Kenan Murat</i> doi: 10.5505/kjms.2021.53367	
The Protective Effect of Taxifolin Against Amikacin-induced Ototoxicity in Rats: a Biochemical and Histopathological Evaluation	318
Taxifolinin Sıçanlarda Amikasin İle İndüklenen Ototoksikiteye Karşı Koruyucu Etkisi: Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme <i>Ertugrul Erhan, Ismail Salcan, Muhammet Dilber, Cebrail Gursul, Sevil Karahan Yilmaz, Taha Abdulkadir Coban, Ferda Keskin Cimen, Halis Suleyman</i> doi: 10.5505/kjms.2021.59375	
OLGU SUNUMU / CASE REPORT	
A Rare Finding of Vitamin B12 Deficiency in Infancy: Lethargy	324
İnfanтта Vitamin B12 Eksikliğinin Nadir Bir Bulgusu: Letarji <i>Sema Ates, Mehmet Gunduz</i> doi: 10.5505/kjms.2021.59144	
Rectus Sheath Hematoma After Prophylactic Subcutaneous Enoxaparin Treatment in a COVID-19 Patient	328
Bir COVID-19 Hastasında Profilaktik Subkutan Enoksaparin Tedavisi Sonrası Rektus Kilif Hematomu <i>Muhammed Bayrak, Kenan Cadirci, Mustafa Kahraman</i> doi: 10.5505/kjms.2021.80000	
DERLEME / REVIEW	
What is Metabolic Surgery? To Whom and When Should It Be Applied?	332
Metabolik Cerrahi Nedir? Kime ve Ne Zaman Yapılmalıdır? <i>Fatih Ciftci</i> doi: 10.5505/kjms.2021.43403	
Diyabet ve Aterosklerozda İnflamasyon: Makro ve Mikro Besin Ögeleri ile NLRP3 İnflamasyonu İlişkisi	336
Inflammation in Diabetes and Atherosclerosis: Relationship Between Macro/Micronutrients and the NLRP3 Inflammation <i>Gülden Arman, Reyhan Nergiz Ünal</i> doi: 10.5505/kjms.2021.37999	
EDİTÖRYAL / EDITORIAL	
Simultaneous Use of Targeted Radiotherapy with External Beam Radiotherapy in the Treatment of Bone Metastasis	350
Kemik Metastazı Tedavisinde Hedefleyici Radyoterapinin Eksternal Şın Radyoterapisi İle Eşzamanlı Kullanımı <i>Yasemin Benderli Cihan</i> doi: 10.5505/kjms.2021.66742	